

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Mouloud Mammeri de Tizi – Ouzou

Faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques

Département de biologie

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de master

En Écologie et Environnement

Spécialité : Biodiversité et écologie végétale.

Thème

**Impact de la pollution automobile sur le métabolisme
primaire, secondaire et l'évaluation de l'activité antioxydante
d'*Olea europaea ssp sylvestris* dans la wilaya de Tizi-Ouzou
(Algérie)**

Présenté par : Mlle CHIKDENE Melissa

Le : 03/10/2019

Devant le jury :

Présidente : Mme SMAIL N.	Professeur	U.M.M.T.O
Promoteur : Mr OUDJIANE A.	Maître assistant A	U.M.M.T.O
Co-promotrice : Mme OUZID Y.	Docteur	U.M.M.T.O
Examineur : Mr MEDJBEUR D.	Maitre conférence B	U.M.M.T.O

PROMOTION 2018-2019

Remerciements

J'exprime d'abord mes profonds remerciements, ma vive reconnaissance et ma sincère gratitude à Mme OUZID Yasmina , docteur , au Département de Biologie, Université Mouloud Mammeri, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa patience, tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Mes chaleureux remerciements vont à Mr OUDJIANE Ahmed, Maître assistant A, à l'Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou pour avoir accepté d'encadrer ce travail, pour ses orientations et conseils.

J'adresse mes sincères remerciements à Mr MEDJBEUR, maitre de conférences B, au Département de Biologie, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou pour l'honneur d'avoir accepté d'examiner ce travail.

J'exprime également mes remerciements à Mme SMAIL Noria, professeur au Département de Biologie, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou d'avoir mis à ma disposition tous les moyens nécessaires afin de me faciliter ma pratique au sein de son laboratoire et d'avoir accepté de présider le jury.

Je ne voudrais pas omettre de remercier également Mme BOUDIAF Malika, maitre de conférences A, au Département d'Agronomie, Université Mouloud Mammeri, pour ses encouragements au quotidien et son soutien constant.

C'est un grand merci que j'adresse à tous les membres du laboratoire « Ressources Naturelles » de l'UMMTO pour leur gentillesse et leurs conseils.

Enfin je remercie gracieusement tous mes enseignants qui m'ont transmis leur savoir le long de mon cursus universitaire.

Dédicaces

Dieu merci

Je dédie ce travail,

A Ma Chère Mère MOHAMMEDI Malika,

Les mots manquent pour exprimer toute ma reconnaissance envers tout ce que tu as fait pour mon bonheur et ma réussite. Que Dieu te protège et t'accorde Bonheur, santé et longue vie. Pour ton grand amour, ta tendresse et tes longues prières qui m'ont été le meilleur gage de réussite, je t'offre ce travail.

A Mon Cher Père Hamid

Nulle expression ne peut traduire le noble sentiment que j'ai à ton égard, Pour l'amour que tu m'as toujours porté, Pour ta patience et ta générosité, Pour ton soutien moral et matériel que tu as consentis en ma faveur, Je te dédie ce travail en témoignage de ma grande reconnaissance et mon grand amour

A Mes Chers frères, Farid et Yacine

A qui, je porte le plus grand amour pour la collaboration et l'aide qu'ils n'ont cessé de m'apporter.

Que dieu vous protège et vous offre le meilleur des avenir.

A ma grand mère Mames et à mes tantes : Lila, Akila et Nadia, qui n'ont pas cessé de me pousser et de me soutenir depuis mon enfance, Qu'elles trouvent ici l'expression de ma plus sincère gratitude.

J'espère avoir été à la hauteur de vos attentes.

A mes chers cousins et cousines, qui m'ont soutenus de loin ou de près, à Ferial ma confidente, je vous dédie ce travail en guise de reconnaissance envers tous vos encouragement et soutiens.

Enfin je dédie ce travail à tous mes collègues de la promo ainsi qu'à mes amis Imene, Thinhinane , Nabila, Messaad , Amel, Toufik , Aghiles, Ghiles , et à tous ceux que je n'ai pas pu citer individuellement. Pour votre présence à mes côtés, je vous souhaite le meilleur.

Résumé

Les polluants atmosphériques présentent un impact sur la santé humaine, sur l'environnement et surtout sur les végétaux, car ils vivent fixés et constituent la base du fonctionnement des écosystèmes terrestres et aquatiques. L'importance de l'impact des polluants atmosphériques sur les végétaux se répercute sur les caractéristiques physiologiques et biochimiques du végétal touché. C'est dans cette optique que nous nous sommes intéressés à l'Oléastre (*Olea europaea sylvestris*) de deux stations différentes de la localité de Tizi-Ouzou à savoir : KRIM BELKACEM, exposée à un trafic routier très dense et ATTOUCHE située en région rurale où le trafic l'est beaucoup moins. Notre travail s'est basé sur un dosage spectrophotométrique des polyphénols, des glucides et une évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrozyl (DPPH•) des extraits aqueux des feuilles de cette essence des deux stations. Nos résultats ont révélés des concentrations en polyphénols et en glucides plus élevées dans les extraits aqueux des feuilles d'oléastre d'ATTOUCHE avec des valeurs de : $2016,226 \pm 45.691$ $\mu\text{gEAG/mg}$ d'extrait, $49,346 \pm 0.812$ $\mu\text{gEG/mg}$ d'extraits respectivement, que ceux retrouvés au niveau des extraits aqueux des feuilles d'oléastre de la station KRIM BELKACEM ($1388,568 \pm 95,363$ $\mu\text{gEAG/mg}$ d'extrait, $38,464 \pm 0.877$ $\mu\text{gEG/mg}$ d'extrait) ainsi qu'une différence hautement significative pour les concentrations de ces deux dernières entre les deux stations. De même, pour l'évaluation de l'effet antioxydant où l'activité antiradicalaire la plus élevée était observée aussi au niveau des extraits aqueux des feuilles d'ATTOUCHE (0.382 ± 0.014 mg/ml) comparativement à ceux de KRIM BELKACEM (0.768 ± 0.355 mg/ml), mais l'analyse de variance n'a révélée aucune différence significative pour cette activité entre les deux stations.

Mots clés : pollution atmosphérique, *Olea europaea sylvestris*, Attouche, Krim Belkacem, polyphénols, glucides, activité antioxydante.

Abstract

Air pollutants have an impact on human health, the environment and especially plants because they live secure and form the basis of the functioning of terrestrial and aquatic ecosystems. The importance of the impact of air pollutants on plants affects the physiological and biochemical characteristics of the plant affected. It is with this in mind that we are interested in the Oléastre (*Olea europea sylvestris*) of two different stations of the locality of Tizi-Ouzou namely: KRIM BELKACEM, exposed to a very dense road traffic and ATTOUCHE located in rural area where the traffic is much less. Our work was based on a spectrophotometric assay of polyphenols, carbohydrates and an in vitro evaluation of antioxidant activity by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrozyl radical (DPPH •) trapping method of aqueous extracts of leaves. of this essence of the two stations. Our results revealed higher concentrations of polyphenols and carbohydrates in the aqueous extracts of ATTOUCHE's Oleatre leaves with values of: 2016.226 ± 45.691 $\mu\text{gEAG} / \text{mg}$ of extract, 49.346 ± 0.812 $\mu\text{gEG} / \text{mg}$ of extracts respectively, than those found at the level of the aqueous extracts of the KRIM BELKACEM plant oilseed leaves (1388.568 ± 95.363 $\mu\text{gEAG} / \text{mg}$ of extract, 38.464 ± 0.877 $\mu\text{g EG} / \text{mg}$ of extract) and a difference significant for the concentrations of the latter two between the two stations. Similarly, for the evaluation of the antioxidant effect where the highest antiradical activity was also observed at the aqueous extracts of the ATTOUCHE leaves (0.382 ± 0.014 mg / ml) compared to those of KRIM BELKACEM (0.768 ± 0.355 mg / ml), but the analysis of variance revealed no significant difference for this activity between the two stations.

Key words: air pollution, *Olea europaea sylvestris*, Attouche, Krim Belkacem, polyphenols, carbohydrates, antioxidant activity.

ملخص

تؤثر ملوثات الهواء على صحة الإنسان والبيئة وخاصة النباتات لأنها تعيش آمنة وتشكل أساس عمل النظم الإيكولوجية الأرضية والمائية. تؤثر ملوثات الهواء على النباتات على الخصائص الفسيولوجية والكيميائية الحيوية للنبات المصاب. من هذا المنطلق ، نحن مهتمون بـ *Olea europea sylvestris* Oléastre من محطتين مختلفتين من محلية تيزي وزو وهما: كريم بلقاسم ، يتعرض لحركة مرور كثيفة للغاية و ATTOUCHE في المنطقة الجبلية حيث حركة المرور أقل بكثير. استند عملنا إلى اختبار طيفي للبوليفينول والكاربوهيدرات وتقييم في المختبر لنشاط مضادات الأكسدة من خلال طريقة محاصرة جذور 2،2-ديفينيل-1-بيكريل هيدروزيل (DPPH) • لمستخلصات الأوراق المائية. من هذا جوهر المحطتين. كشفت نتائجنا عن وجود تركيزات أعلى من البوليفينول والكاربوهيدرات في المستخلصات المائية لأوراق Oleatre من ATTOUCHE بقيم: 45.691 ± 2016.226 ميكروغرام / ملغ من المستخلص ، 0.812 ± 49.346 ميكروغرام / ملغ من المستخلصات على التوالي ، من المستخلصات الموجودة على مستوى المستخلصات المائية لأوراق بذور نبات كريم 1388.568 ± 95.363 KRK BELKACEM ميكروغرام / ملغم من المستخلص ، 38.464 ± 0.877 ميكروغرام من EG / ملغم من المستخلص) وفرق كبيرة لتركيزات الأخيرتين بين المحطتين. وبالمثل، من أجل تقييم تأثير مضادات الأكسدة حيث لوحظ أيضًا أعلى نشاط مضاد للجراثيم في المستخلصات المائية لأوراق 0.382 ± 0.014 ATTOUCHE (ملغ / مل) مقارنةً بتأثيرات كريم كيم (0.355 ± 0.768 mg / مل) ، ولكن تحليل التباين لم يكشف عن وجود فرق كبير لهذا النشاط بين المحطتين.

الكلمات المفتاحية: تلوث الهواء ، أوليا أوروبا سيلفستريس ، أتوش ، كريم بلقاسم ، البوليفينول ،

الكاربوهيدرات ، نشاط مضاد للأكسدة.

Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique de l'évolution décroissante de la concentration d'un polluant depuis l'atmosphère jusqu'à l'intérieur de la feuille	9
Figure 2 : Représentation schématique du comportement des divers polluants vis-à vis des végétaux.....	10
Figure 3 : La production de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO).....	11
Figure 4 : <i>Oléa europaea sylvestris</i>	14
Figure 5 : La voie de la glycolyse	16
Figure 6 : Les réactions mitochondriales	17
Figure 7 : Structure du glucose	18
Figure 8 : Groupe Phénol	20
Figure 9 : Structure de l'isoprène	21
Figure 10 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH*	23
Figure 11 : Structure de l'acide ascorbique	24
Figure 12 : L'hydroxytoluène butylé	25
Figure 13 : Station de Boulevard KRIM BELKACEM	26
Figure 14 : Station d'ATTOUCHE.....	26
Figure 15 : Diagramme Ombrothermique de la commune de Tizi-Ouzou	28
Figure 16 : Station de Makouda.....	28
Figure 17 : Étuve	30
Figure 18 : Feuilles d'Oliver séchées	30
Figure 19 : Filtration des extraits aqueux.....	30
Figure 20 : Schéma récapitulatif du dosage des polyphénols totaux	32
Figure 21 : Schéma récapitulatif du dosage des glucides	33
Figure 22 : Schéma récapitulatif de l'évaluation <i>in vitro</i> de l'effet antioxydant.....	34
Figure 23 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	36
Figure 24 : Histogramme représentant les différentes concentrations en polyphénols pour chaque arbre des deux stations.....	37
Figure 25 : Courbe d'étalonnage du glucose	38
Figure 26 : Histogramme des concentrations en glucides se trouvant chez les différents arbres d'ATTOUCHE et KRIM BELKACEM.....	39
Figure 27 : Courbe étalon d'acide ascorbique	40
Figure 28 : Représentation des composantes principales ACP	42

Liste des tableaux

Tableau I : Composition de l'air sec	3
Tableau II : Principales classes des composés polyphénoliques rencontrées chez les plantes	20
Tableau III : Exemples de composés phénoliques et leurs activités biologiques.....	21
Tableau IV : Exemples d'alcaloïdes et leurs structure chimique	22
Tableau V : Différents matériaux et réactifs utilisés lors des manipulations	29
Tableau VI : Gamme étalon de l'acide gallique	31
Tableau VII : Gamme étalon de glucose	33
Tableau VIII : Gamme étalon de l'acide ascorbique	34
Tableau IX : comparaison multiple des moyennes de polyphénols	37
Tableau X : comparaison multiples des moyennes de glucides	39
Tableau XI : Concentrations inhibitrices 50%	41
Tableau XII : Comparaison multiple des moyennes des IC50%	41
Tableau XIII : Tableau récapitulatif des résultats obtenus	41
Tableau XIV : Matrice de Pearson.....	42

Liste des abréviations

PM : Micro particule

COV : composé organique volatile

PM 10 : particule dont le diamètre fait moins de 10 micromètres

PM 2.5 : particule dont le diamètre fait moins de 2.5micromètres

DRO : Dérivés réactifs d'oxygène

PAN : Peroxy-acyl-nitrates

sommaire

Introduction générale	1
-----------------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur la pollution

I. Généralités sur la pollution	3
1.1. Définition et composition de l'air	3
1.2. Définition de la pollution atmosphérique	4
II. Origines et sources des polluants	4
2.1. Sources naturelles	5
2.2. Sources anthropiques	6
2.3. Les métaux lourds dans l'air	7
2.3.1. Définition des éléments traces métalliques	7
2.3.2. Importances physiologiques des métaux	8
2.3.3. Origines naturelles et humaines des métaux lourds dans l'environnement	8
III. Impacte de la pollution atmosphérique sur la végétation	9
3.1. La réponse de la plante	11
3.2. Dégâts visibles et invisibles	12

Chapitre 2 : *Oléa europaea ssp sylvestris* et métabolisme primaire

I. <i>Oléa europaea sylvestris</i>	13
1.1. Systématique	13
1.2. Description botanique	14
II. Métabolisme végétal	15
2.1. Définition générale	15
2.2. Métabolisme primaire	15
2.2.1. Les glucides	15
2.2.1.1. Rôle structural	17
2.2.1.2. Classification des glucides	18

Chapitre 3 : Métabolisme secondaire et activités biologiques

I. Les métabolites secondaires et activités biologiques	19
1.1. Définition et fonctions des métabolites secondaires	19
1.1.1. Classification des métabolites secondaires	19
1.1.1.1. Les composés Phénoliques	19

1.1.1.2. Les composés terpéniques	21
1.1.1.3. Les composés azotés	22
II. Pouvoir antioxydant	23
2.1. Généralités	23
2.2. Définition	23
2.3. Types d'antioxydants	24
2.3.1. Les antioxydants naturels	24
2.3.1.1. Les antioxydants non-enzymatiques	24
2.3.1.2. Les antioxydants enzymatiques	25
2.3.1.3. Les antioxydants synthétiques	25

Partie expérimentale

I. Description de la zone d'étude	26
1.1. Ville de Tizi-Ouzou	27
➤ Situation géographique	27
➤ Climat	27
➤ Attouche	28
I. Matériels utilisés	29
1.1. Préparations des échantillons	30
II. Tests phytochimiques	31
2.1. Dosage des polyphénols	31
2.2. Dosage des glucides	33
III. Évaluation <i>in vitro</i> de l'effet antioxydant	34
➤ Test de piégeage du radical libre DPPH*	34
I. Résultats	36
1.1. Résultats de l'analyse spectrophotométrique	36
1.1.1 Tests phytochimiques	36
1.1.2 Dosage des polyphénols	36
1.1.3. Dosage des glucides	38
1.1.4. Activité antioxydante	39

1.2. Matrice de Pearson	42
1.3. ACP	42
II. Discussion des résultats	44
Conclusion	46
Perspectives et recommandations	47
Références bibliographiques	48

Introduction générale

Introduction générale

La pollution de l'air a commencé dès l'antiquité avec les regroupements d'hommes et d'animaux. Elle est la résultante de multiples facteurs : croissance de la consommation d'énergie, développement des industries extractives, métallurgiques et chimiques, de la circulation routière et aérienne, de l'incinération des déchets ménagers, des déchets industriels, etc. Ainsi la production et l'utilisation d'énergie en sont les principaux moteurs. La pollution atmosphérique sévit surtout en milieu urbanisé et dans les zones d'activités, non seulement par suite de la concentration des industries et des foyers domestiques, mais aussi à cause de la circulation des véhicules à moteurs (FONTAN, 2004).

La circulation automobile suscite une inquiétude croissante dans beaucoup de pays, parce que les moteurs émettent des composés nuisibles à la biosphère. Ainsi le transport est actuellement un des secteurs les plus importants d'émission de polluants. Ces polluants sont un mélange très complexe constitué de substances chimiques dont la composition varie considérablement en fonction du carburant, du type de moteur, de l'âge du parc des véhicules et de l'intensité du trafic

L'Algérie, à l'instar des autres pays, a connu au cours des dernières années, un important développement économique qui a profité à plusieurs secteurs vitaux implantés essentiellement sur le littoral et autour des grandes agglomérations urbaines. Ce développement économique n'a cependant pas toujours pris en compte la dimension environnementale. Il a généré des rejets polluants sous forme de déchets liquides, solides ou gazeux qui ont altéré les ressources naturelles, et détérioré l'hygiène du milieu et du cadre de vie.

Depuis les années soixante dix, de nombreuses recherches ont été menées sur l'utilisation des végétaux comme bio-indicateurs et bio-accumulateurs de la pollution atmosphérique (MAIZI et *al.*, 2010). Ces végétaux ont la propriété, soit de réagir très rapidement et d'une façon très visible aux polluants, soit d'accumuler très fortement les polluants présents (GARREC, 2007).

L'olivier sauvage (*Olea europea sylvestris*), famille des oléacées, est une espèce largement répandue dans le bassin méditerranéen. Ces propriétés médicinales sont attribuées aux molécules bioactives accumulées au niveau des tiges, racines, graines, fruits, et feuilles qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches scientifiques.

Introduction générale

L'objectif de notre étude est l'utilisation d'une espèce végétale qui est *Olea europea sylvestris* afin d'évaluer l'impact de la pollution automobile sur les métabolites primaires et secondaires. Nous avons donc choisis deux sites en fonction de la densité du trafic automobile, le premier est le boulevard KRIM BELKACEM considéré comme l'avenue la plus encombrée de la ville de Tizi-Ouzou et l'autre est ATTOUCHE qui est située loin des voies de circulation en région montagneuse .

Nous nous sommes intéressés dans ce travail, aux tests phytochimiques à savoir : dosages des polyphénols et des glucides, ainsi ; que l'évaluation de l'effet antioxydant par la méthode de piégeage du radical DPPH* (2,2-diphényl-1-picrylhydrozyl), des extraits aqueux des feuilles d'*Olea europea sylvestris*, récoltées dans les deux stations.

Ce travail a été réalisé en deux parties présentées comme suit :

1-Partie bibliographique comportant 3 chapitres :

- Chapitre I : généralités sur la pollution
- Chapitre II : *Olea europea sylvestris* et métabolisme primaire
- Chapitre III : métabolisme secondaire et activités biologiques

2-Partie expérimentale.

- Matériels et méthodes
- Résultats et discussion.

Conclusion et perspectives.

synthèse bibliographique

I. Généralités sur la pollution

1.1. Définition et composition de l'air

L'air demeure un élément fondamental et indispensable pour les êtres vivants. Chaque jour, nous inspirons environ 20 m³ d'air. Celui-ci se compose originellement d'un ensemble de gaz et de particules (tableau I) dont leurs concentrations et leurs présences ne dépassent pas les limites possible pour la vie, ce qui reste pour l'instant un cas unique dans l'ensemble des planètes connues. (MAGDELAINE, 2019).

Tableau I : Composition de l'air sec (MAGDELAINE,2019).

Gaz constituants	Concentration volumique (%)
Gaz principaux	
Azote (N ₂)	78.09
Oxygène(O ₂)	20.95
Argon (A)	0.93
Anhydride carbonique (CO ₂)	0.035
Gaz traces	
Néon(Ne)	1,8.10 ⁻³
Hélium (He)	5,24.10 ⁻⁴
Méthane (CH ₄)	1,7.10 ⁻⁴
Krypton (Kr)	1,0.10 ⁻⁴
Hydrogène (H ₂)	5,0.10 ⁻⁵
Xénon (Xe)	8,0.10 ⁻⁶
Ozone (O ₃)	1,0.10 ⁻⁶
Oxyde nitreux (N ₂ O)	3,1.10 ⁻⁸
Radon (Rn)	6,0.10 ⁻¹⁸

1.2. Définition de la pollution atmosphérique

Plusieurs définitions ont été attribuées au terme "Pollution Atmosphérique". En Algérie, la pollution atmosphérique est définie, dans l'article 3 de la loi 03-10 du 19 juillet 2003 relative à la protection de l'environnement dans le cadre du développement durable, comme suit : "Pollution de l'Atmosphère est l'introduction de toute substance dans l'air ou dans l'atmosphère provoquée par l'émanation de gaz, de vapeurs, de fumées ou de particules liquides ou solides susceptibles de porter préjudice ou de créer des risques au cadre de vie, à la santé ou à la sécurité publique, ou à nuire aux végétaux, à la production agricole et aux produits agroalimentaires, à la conservation des constructions et des monuments ou au caractère des sites" (J.O.R.A ,2003).

Par pollution de l'air, on entend donc la contamination de l'environnement intérieur ou extérieur par un agent chimique, physique ou biologique qui modifie les caractéristiques naturelles de l'atmosphère. Les appareils utilisés pour la combustion au sein des foyers, les véhicules automobiles, les établissements industriels et les feux de forêt sont des sources fréquentes de pollution atmosphérique. Les polluants les plus nocifs pour la santé publique sont notamment les matières particulaires, le monoxyde de carbone, l'ozone, le dioxyde d'azote et le dioxyde de soufre. La pollution de l'air à l'extérieur comme à l'intérieur entraîne entre autres des maladies respiratoires qui peuvent être mortelles (O.M.S, pollution de l'air, 2005).

II. Origines et sources des polluants

Les principaux polluants atmosphériques se classent dans deux grandes familles bien distinctes : les polluants primaires et les polluants secondaires.

Les polluants primaires sont directement issus des sources de pollution, qu'elles soient d'origine industrielle ou automobile, On y trouve des gaz tels que : (CO₂, SO₂, NO_x, COV et PM). Ces particules primaires peuvent se transformer dans la basse atmosphère, sous l'action des rayons solaires et de la chaleur, et les polluants dits secondaires tels que l'ozone O₃ et autres polluants photochimiques (PAN...) (MAGDELAINE, 2019).

Comme les polluants atmosphériques sont trop nombreux pour être surveillés en totalité, certains d'entre eux sont choisis parce qu'ils sont caractéristiques de type de pollution (industrielle ou automobile) et parce que leurs effets nuisibles pour l'environnement et/ou la santé sont déterminés (MAGDELAINE, 2019).

Les polluants que l'on retrouve dans l'air peuvent être aussi d'origine anthropique c'est-à-dire produits par les activités humaines (Activités industrielles, Transports, Activité domestique) ou d'origine naturelle (émission par les végétations, l'érosion du sol, les volcans, les océans, etc (MAGDELAINE, 2019).

2.1 Sources naturelles

➤ Emission par la végétation (pollen)

Les grains de pollen ou le gamétophyte mâles des fleurs des végétaux sont portés par les étamines, grâce à l'action du vent et des insectes. Ils peuvent être dispersés et ainsi féconder d'autres fleurs de leurs espèces, mais elles peuvent aussi pénétrer dans nos voies respiratoires et provoquer des réactions allergiques parfois violentes chez les sujets sensibles (ELICHEGARAY, 2008).

➤ Erosions

Introduisent de nombreuses particules dans l'atmosphère, la désertification se traduit par le ré envol de quantités considérables d'éléments terrigènes, les dépôts de poussières rougeâtres d'origine sahariennes après un fort vent du sud proviennent de ce phénomène (ELICHEGARAY, 2008).

➤ Eruptions volcaniques

Les éruptions volcaniques peuvent injecter dans l'atmosphère de très grandes quantités de gaz, de particules ; par exemple :

Le volcan Etna émet en moyenne 3000 tonnes de dioxyde de soufre(SO₂) par jour. L'éruption, d'El Chichon au Mexique, en 1982 a introduit plus de 3 millions de tonnes de dioxyde de soufre dans l'atmosphère (ELICHEGARAY, 2008).

Plus récemment l'éruption de Pinatubo (philippine en 1999) a libéré 12 millions de tonnes de dioxyde de soufre (ELICHEGARAY, 2008).

Les particules fines ont la propriété de diminuer les rayonnements solaires à la surface du sol, et donc entraîner une baisse de la température ambiante (ELICHEGARAY, 2008).

2.2. Sources anthropiques (polluants primaires)

➤ Les rejets industriels

Quelques exemples des procédés industriels réputés polluants sont indiqués ci-après avec les principaux aéro-contaminants émis (en plus du CO₂) :

- Industries de bois, des insecticides (dioxines et furanes) ;
- Industries des accumulateurs (plomb) ;
- Bâtiment et travaux public (particules) ;
- Cimenteries, plateries (poussières, métaux lourds) ;
- Electricité et électronique (hexafluorure de soufre SF₅6) ;
- Usine de pate papier (so₂, produits malodorants, mercure) (VIALA et BOTTA, 2005).

L'industrie rejette également certains polluants plus spécifiques : Les installations de traitement des minerais émettent des métaux lourds comme le cadmium, le zinc le plomb, et le mercure quant à lui provient de l'incinération des ordures ménagères (ELICHEGARAY, 2008).

➤ Pollution automobile

La voiture constitue une part importante de la pollution atmosphérique. Certains de ces polluants peuvent être dangereux pour notre santé mais également pour notre planète, en aggravant notamment l'effet de serre.

Le secteur automobile et le domaine du transport représente lui seul 34 % des émissions de CO₂, ce qui en fait le secteur le plus polluant devant l'industrie qui ne représente que 24 % des émissions de gaz à effet de serre (BERTHO et *al.*) et c'est celui qui contribue le plus aux émissions de particules fines PM₁₀, à hauteur de 28% selon des mesures d'Airparif. Cette pollution provient d'abord des véhicules diesel sans filtre à particules fines (BLANCHARD et DUCAMP, 2019).

Certains véhicules sont dotés d'un moteur diesel et d'autres d'un moteur essence, quel est donc le plus polluants et quelle est les différences entre ces derniers ?

Certains disent que le diesel est plus polluant que l'essence sauf que les deux sont polluants mais différemment (BLANCHARD et DUCAMP, 2019).

Trois grandes familles de polluants émis par les automobiles sont recensées actuellement :

- Les gaz carboniques (CO₂) ;
- Les oxydes d'azote (Nox) ;
- Les particules fines (BLANCHARD et DUCAMP, 2019).

Les véhicules diesel émettent 20 % de CO₂ en moins que les véhicules essence, ils dégagent une grande partie des particules fines dangereuses pour la santé. En chiffres, le diesel est responsable de 34 % des émissions d'oxyde d'azote, d'un quart des émissions de PM₁₀ (particules dont le diamètre fait moins de 10 micromètres) et de 30 % des émissions de PM_{2,5} (particules de moins de 2,5 micromètres) (FOURNIER., 2018).

C'est pour cela que pendant de nombreuses années, l'idée que le diesel « pollueait » moins que l'essence s'est répandue. Sauf que les choses ne sont pas si simples, parce que si l'on regarde les autres sources de pollution, comme les particules fines (PM10, PM2.5, NO₂, NOx...) on dira que le diesel n'est pas si meilleur que ça (FOURNIER., 2018).

2.3. Les métaux lourds dans l'air

2.3.1. Définition des éléments traces métalliques

Un métal est une matière, issue le plus souvent d'un minerai ou d'un autre métal, dotée d'un éclat particulier, bon conducteur de chaleur et d'électricité, ayant des caractéristiques de dureté et de malléabilité, se combinant ainsi aisément avec d'autres éléments pour former des alliages utilisables dans l'industrie (GERARD, 2001).

On appelle en général métaux lourds les éléments métalliques naturels, de densité supérieure à 5 g/ cm³ et tout métal ayant un numéro atomique élevé, en général supérieur à celui du sodium (Z=11) (FOUREST, 1993).

2.3.2. Importances physiologiques des métaux

Certains éléments chimiques, sont nécessaires aux organismes vivants en faible quantité : Zn, Cu, Mn, Ni, Fe, B, Co et se sont des oligo-éléments nécessaires à la nutrition des plantes. Ils interviennent également dans les réactions métaboliques, ou dans des réactions biochimiques telles que l'oxydoréduction ou l'hydrolyse. Les oligo-éléments sont généralement présents dans l'eau et aliments. Leur absence peut entraîner des carences), tandis que l'augmentation de leur concentration peut être nocive pour les organismes vivants. Le cadmium, le plomb, le mercure, etc... ne sont pas essentiels pour les organismes vivants et ne produisent que les effets toxiques (MIRGHAFARIN, 1998).

2.3.3 Origines Naturelles et humaines des métaux lourds dans l'environnement

Les éléments traces métalliques sont diffusés vers l'atmosphère lors de processus naturels comme l'érosion éolienne, les activités volcaniques, les embruns marins et les feux de forêts. Cependant, les activités anthropiques telles que la combustion de combustibles fossiles, l'incinération des ordures ménagères et industrielles, les industries du ciment et les fonderies, l'entretien des routes, le chauffage et le trafic automobile (combustion du carburant), la corrosion des véhicules, l'abrasion des freins et pneumatiques et la dégradation des pots catalytiques ont conduit à une augmentation de leurs concentrations dans les compartiments environnementaux (air, eau, sol). Parmi les différents éléments métalliques émis dans l'environnement lors des activités anthropiques, le zinc, le plomb, le chrome, le cadmium, le cuivre et le nickel sont les plus couramment mesurés dans les études environnementales en raison de la diversité des sources d'émission (CHIFFOLEAU ,2001).

III. Impacte de la pollution atmosphérique sur la végétation

Les végétaux sont en première ligne face aux pollutions atmosphériques car ils vivent fixés et constituent la base du fonctionnement des écosystèmes terrestres et aquatiques. La nature et l'importance de l'impact des polluants atmosphériques sur les végétaux va dépendre des caractéristiques physiologiques et biochimiques du végétal touché, et des propriétés du ou des polluants rencontrés. Les perturbations physiologiques des plantes sont variées et sont observables, selon la nature du polluant, sur des zones plus ou moins étendues qui vont de l'échelle locale jusqu'à l'ensemble de la planète (GARREC, 2019).

Les polluants gazeux pénètrent dans la plante comme les autres gaz atmosphériques (CO₂, Oxygène,...), principalement par l'intermédiaire des stomates présents sur les surfaces foliaires. Par contre, une large partie des polluants organiques va surtout être absorbée par la structure lipidique que constitue la cuticule (Figure 1). Seule une faible partie va pénétrer dans la feuille, puis diffuser et réagir entre et dans les différents compartiments internes que constituent l'apoplaste et le symplaste (Figures 1 et 2) (GARREC, 2019).

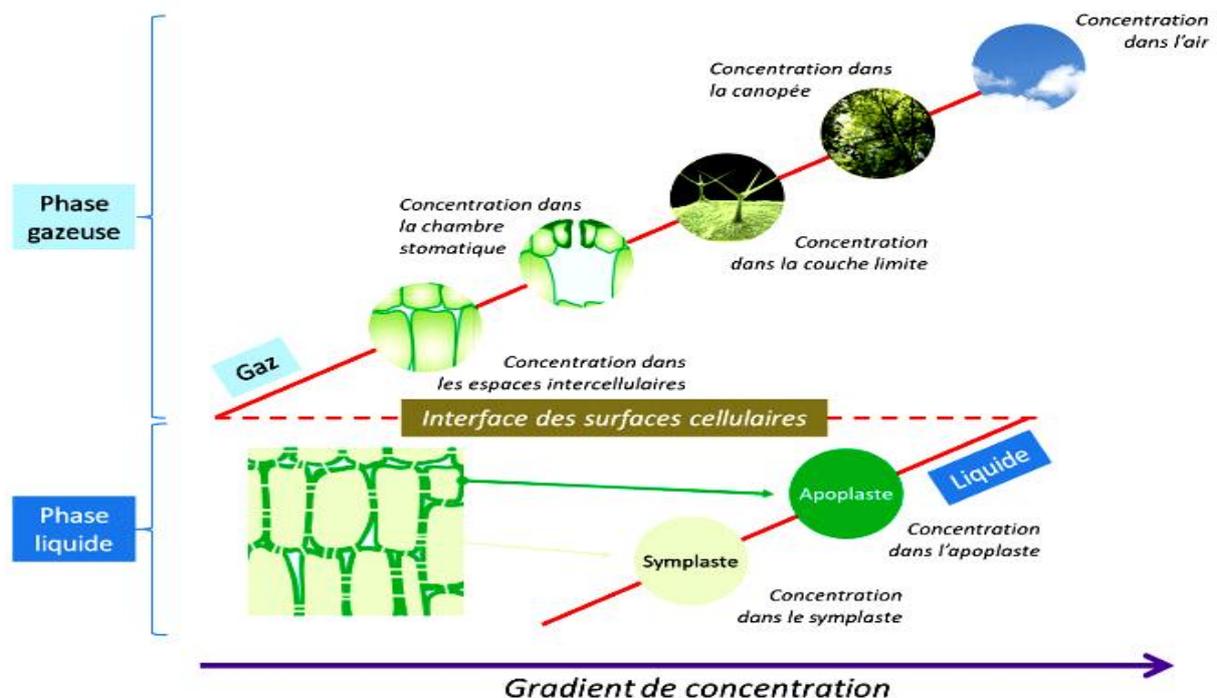


Figure 1 : Représentation schématique de l'évolution décroissante de la concentration d'un polluant depuis l'atmosphère jusqu'à l'intérieur de la feuille (GARREC.2019).

Les polluants particulaires (organiques ou inorganiques) sont d'abord captés par les surfaces foliaires. Par la suite, les conditions météorologiques comme le vent, le soleil et surtout la pluie (lessivage des feuilles, dissolution des particules inorganiques) influencent les caractéristiques de ce dépôt (Figure 2). Le dépôt foliaire organique ou inorganique n'est souvent à l'origine que d'une légère pénétration de polluants dans les feuilles et il a donc de faibles impacts physiologiques (GARREC ,2019).

Après pénétration, la réponse physiologique des plantes à la pollution atmosphérique va dépendre des deux acteurs en jeu : d'une part les caractéristiques de la plante et d'autre part la nature de la pollution (GARREC, 2019).

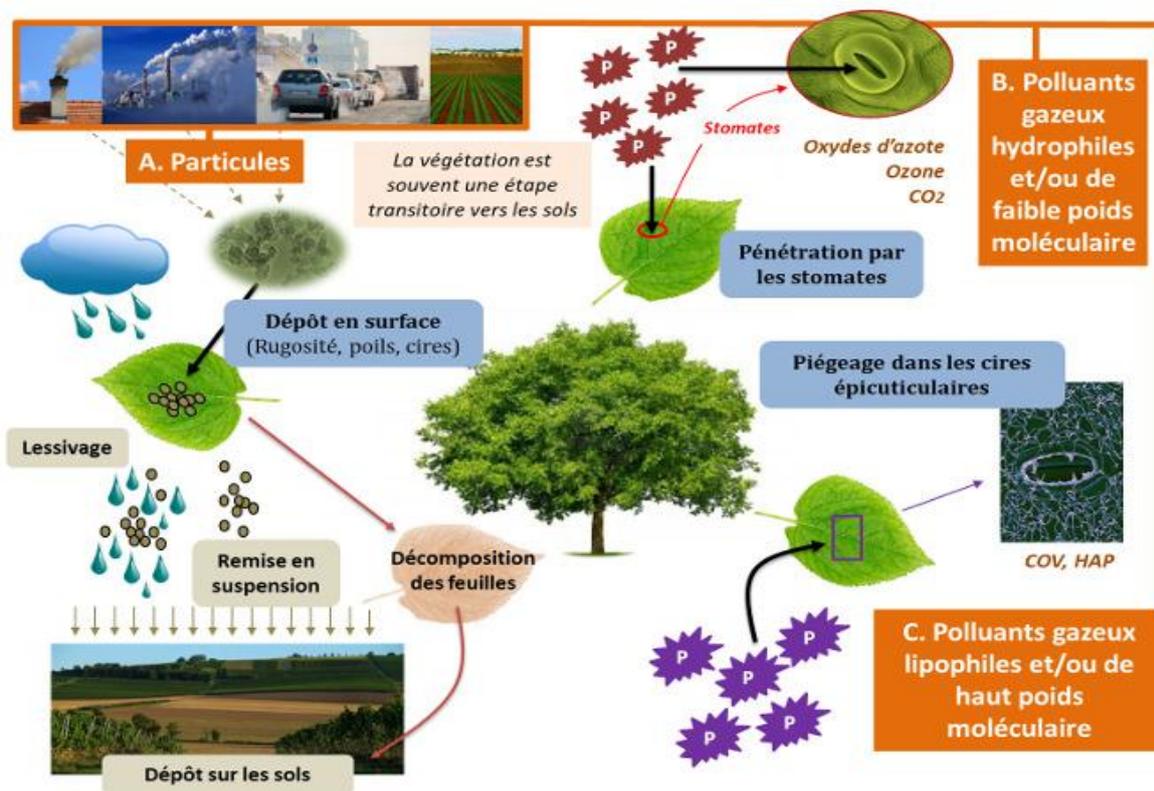


Figure2 : Représentation schématique du comportement des divers polluants (gazeux et particules) vis-à-vis des végétaux (GARREC ,2019).

3.1. La réponse de la plante

La plante réagit à la pollution atmosphérique en produisant des dérivés réactifs de l'oxygène.

Après pénétration dans les feuilles, et comme pour la majorité des stress biotiques et abiotiques les polluants vont tout d'abord entraîner chez la plante un stress oxydatif avec production de radicaux libres (radicaux hydroxyles) et de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) susceptibles de provoquer des dégâts à différents niveaux (Figure 3). En particulier ces DRO vont avoir trois cibles principales au niveau des cellules : les lipides (au niveau des membranes), les protéines (au niveau des acides aminés) et les acides nucléiques (formation d'adduits) (GARREC,2019).

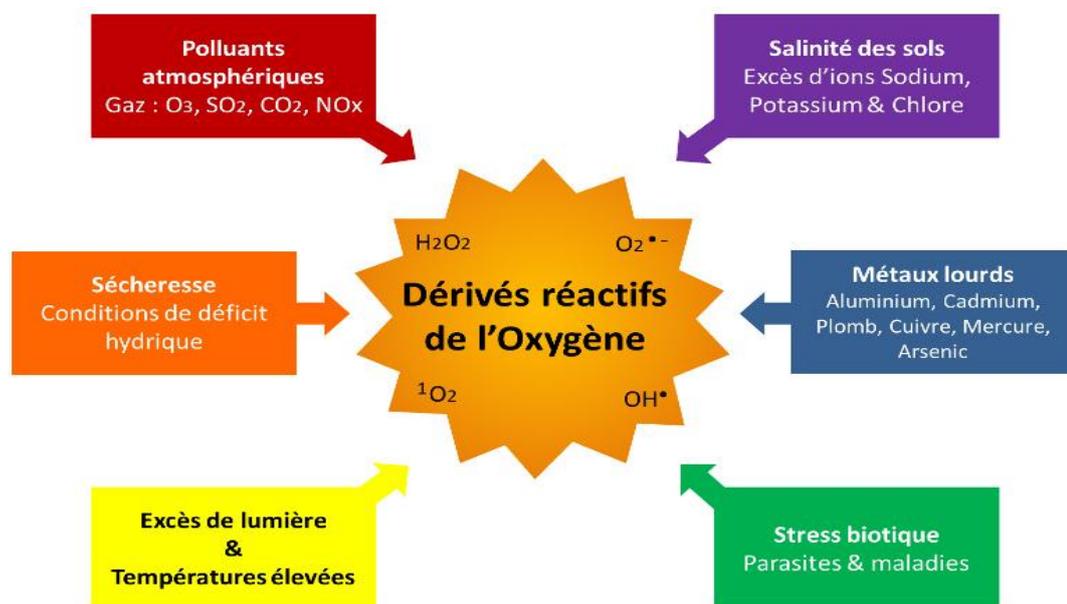


Figure 3: La production de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) (GARREC, 2019).

Parallèlement le polluant va entraîner un stress spécifique lié à ses caractéristiques physico-chimiques propres :

- Ainsi, dans le cas d'une pollution par l'acide fluorhydrique (HF), on observera une perturbation du métabolisme cellulaire du calcium (précipitation du calcium sous forme de CaF_2).
- Dans le cas d'une pollution aux oxydes de soufre ($\text{SO}_2\dots$), les propriétés réductrices de ce gaz vont perturber le fonctionnement de l'appareil photosynthétique (dégradation de la chlorophylle)
- De leur côté, les pluies acides sont à l'origine de carences minérales entraînant le jaunissement des feuilles suite au pluvio-lessivage des éléments minéraux Ca, K et Mg (GARREC, 2019).

Lors de l'installation d'un 'stress pollution', la plante va donc mettre en place (plus ou moins rapidement) des processus qui viendront s'ajouter au pool de processus de défense déjà présent dans la plante. Suite à l'agression, la résistance de la plante au polluant résultera de la combinaison de ces divers processus. C'est pour cette raison qu'il existe une échelle spécifique de sensibilité des plantes pour chaque polluant et pour chaque plante (GARREC ,2019).

3.2. Dégâts visibles et invisibles

Lors de faibles pollutions et/ou lorsque les systèmes de défense de la plante sont suffisants pour limiter l'impact physiologique d'un polluant, cette résistance a tout de même un coût physiologique, qui se caractérise par des diminutions de taille, des baisses de rendement... On parle alors de « dégâts invisibles ».

Lors de fortes pollutions et/ou lorsque les systèmes de défense de la plante ne sont pas suffisants, des dommages irréversibles apparaissent comme des morts cellulaires (les nécroses foliaires entre autres). On parle alors de « dégâts visibles » liés à la pollution atmosphérique (GARREC ,2019).

I. *Olea europaea sylvestris* (Olivier sauvage)

Depuis l'antiquité, l'olivier a façonné le paysage méditerranéen (DOVERI et BALDONI., 2007). Il est connu chez les phéniciens depuis la haute antiquité ; il est désigné par le mot *Azemmour*, ce mot est couramment employé dans le vocabulaire Amazigh (BOUDRIBILA, 2004). Cependant, l'olivier sauvage est désigné par le mot *zebbouj, berb*, (MEUNIER, 1982). Cette appellation est celle utilisée dans notre langage. L'olivier cultivé (*O. europaea* L. ssp. *Sativa*) a été dérivé de la domestication de l'olivier sauvage ou l'oléastre (*O. europaea* L. ssp. *sylvestris*), car ils sont semblables à la forme sauvage (ZOHARY., 1973).

L'olivier sauvage *Olea europaea* ssp *sylvestris* est un arbre précieux ,capable de se régénérer naturellement (AERTS *et al.*, 2006). Les formes sauvages de l'olivier (oléastres), sont toujours membres du maquis naturel (GREEN, 2002). L'utilisation de la population d'oliviers sauvages peut être également une autre alternative pour la reproduction d'olive (GUERIN *et al.*, 2003).

1.1. Systématique

La classification botanique de l'arbre de l'olivier selon (SPICHIGER, 2004) est la suivante :

Embranchement : Magnoliophyta

Sous embranchement : Magnoliophytina

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Oleaceae

Genre: *Olea* L.

Espèces: *Olea europea* L

Sous-espèces : *Olea europaea* L. ssp. *oleaster* Hoffm. et Link (= *O. europea* L. ssp. *sylvestris* Miller).



Figure 4 : *Olea europaea sylvestris*, photo prise dans la zone d'échantillonnage (KRIM BELKACEM) (CHIKDENE ,2019).

I.2. Description botanique

L'olivier est un arbre vivace. Le système racinaire s'adapte à la structure des sols, il reste à une profondeur de 500 à 700 cm et se localise principalement sous le tronc (MAILLARD, 1975 ; LOUSSERT et BROUSSE, 1978). Le tronc est gris-vert et lisse jusqu'à sa dixième année, il prend une couleur gris foncé (RUGINI et *al.*, 1998). Les feuilles sont persistantes dures, gris-vert et ayant une forme allongée (METZIDAKIS, 1997). Les fleurs sont déposées en grappes sur une longue tige (l'olivier produit deux sortes de fleurs, une parfaite qui contient les deux sexes male et femelle et une staminée) (BURNIE et *al.*, 2006).

L'oléastre diffère de l'olivier cultivé par la présence des pousses courtes et épineuses, des fruits de petite taille, une faible teneur en huile (TERRAL et SIMARD., 1996). Les feuilles de l'olivier sauvage sont de courte longueur, de largeur moyenne.

Les fruits de la plupart des oliviers sauvages en une forme elliptique, et avec un faible poids (HANNACHI *et al.*, 2008).

II. Métabolisme végétal

2.1. Définition générale

Les métabolites sont les produits intermédiaires des réactions métaboliques catalysées par les enzymes variées qui se produisent naturellement dans des cellules. Ce terme est habituellement employé pour décrire des petites molécules, bien qu'une application plus grande soit souvent pratiquée (MESTROVIC, 2018).

Il existe deux types de métabolites : primaire et secondaire.

2.2. Métabolites primaire

Les métabolites primaires sont synthétisés par la cellule parce qu'elles sont indispensables pour leur accroissement. Les plus synthétisés sont des acides aminés, des alcools, des vitamines (B2 et B12), des polyols, des acides organiques, ainsi que des nucléotides (par exemple inosine-5'-monophosphate et guanosine-5'-monophosphate) (MESTROVIC, 2018).

Les métabolites primaires sont connus par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule, de l'organisme :-les glucides comme source d'énergie et paroi cellulaire (cellulose), les lipides comme source d'énergie et membranes cellulaires-les acides aminés comme source primaire de construction des protéines (Meštrović, 2018).

2.2.1. Les glucides

Anciennement appelés hydrates de carbone, saccharides ou plus communément sucres, les glucides représentent l'un des principaux composants de la matière vivante. Ils sont composés de carbone, hydrogène et d'oxygène, issus plus ou moins directement du dioxyde de carbone et de l'eau par photosynthèse (MAROUF *et al.*, 2015).

L'oxydation des glucides fournit une part majeure de l'énergie (17 kJ/g) nécessaire à l'entretien de la vie animale. Dans le cas du végétal, durant la photosynthèse, les feuilles captent la lumière du soleil. Elles absorbent aussi de l'eau par leurs racines et le gaz carbonique de l'air. Elles se servent de l'énergie du soleil pour changer l'eau et le dioxyde de carbone en glucose tout en rejetant de l'oxygène (MAROUF *et al.*, 2015).

Ce dernier est un besoin impératif pour certaines cellules a fin de produire des intermédiaires énergétiques, tel que l'ATP. Cette production d'énergie se réalise en deux temps : la glycolyse, puis la respiration au sein des mitochondries (figure5) (FURELAUD ,2002).

De manière très schématique, la glycolyse permet la dégradation de glucose en pyruvate :

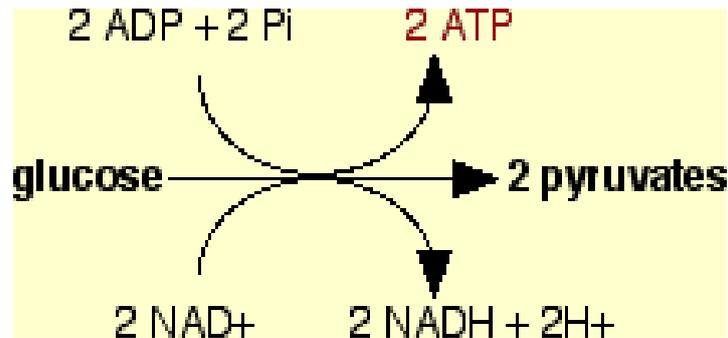


Figure 5: La voie de la glycolyse (FURELAUD ,2002).

Cette dégradation permet la production de deux ATP et de deux NADH,H⁺. Dans le cas le plus général, les pyruvates formés sont ensuite dégradés lors du cycle de Krebs, au sein des mitochondries. Ceci s'accompagne de la formation, transitoire, de molécules d'acétyl-coenzyme A (acétyl-CoA). Dans certains cas, les pyruvates permettent la réalisation d'une fermentation, qui régénère les NAD⁺ indispensables au fonctionnement de la glycolyse figure 6) (FURELAUD ,2002).

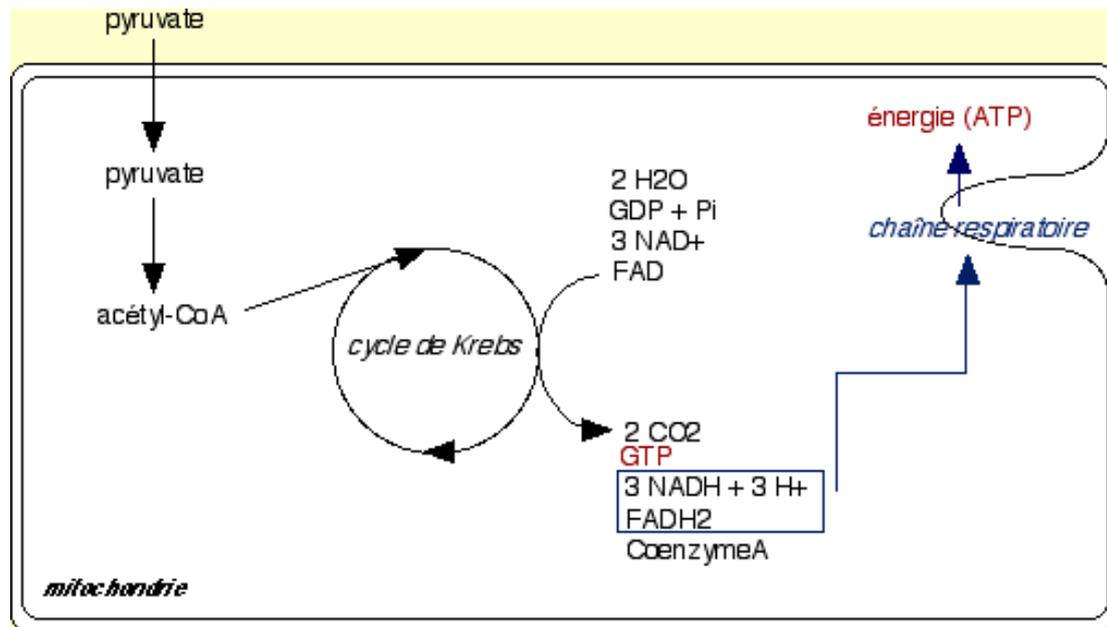


Figure 6 : Les réactions mitochondriales (FURELAUD ,2002).

La dégradation complète du pyruvate permet donc, grâce à la chaîne respiratoire, la formation d'ATP (FURELAUD ,2002).

En conclusion, le glucose, grâce à la glycolyse, au cycle de Krebs et à la chaîne respiratoire, permet la production d'énergie utilisable par la cellule (FURELAUD ,2002).

2.2.1.1. Rôle structural

Les glucides interviennent comme :

- Eléments de soutien (cellulose), de protection et de reconnaissance dans la cellule ;
- Eléments de réserve des végétaux et animaux (glycogène, amidon) ;
- Constituants de molécules fondamentales : acides nucléiques, coenzymes, vitamines ;
- Ils représentent un fort pourcentage de la biomasse car la plus grande partie de la matière organique dans la biosphère est glucidique (TOUITOU ,2005).

2.2.1.2. Classification des glucides

En fonction de leur volume et de leur solubilité, les glucides sont classés en monosaccharides ou oses (1 sucre), en disaccharides ou osides (2 sucres), et en polysaccharides ou polyosides (nombreux sucres) (BERRADA ,2009).

Les monosaccharides, ou sucres simples tel que le glucose, sont formés d'une seule chaîne (linéaire ou cyclique) contenant 3 à 6 atomes de carbones (figure 7). De formule brute $C_6H_{12}O_6$, le glucose est dosée grâce au réactif DNS (acide 3,5-dinitrosalicylique) de couleur jaune avec la présence du glucose devient orangé (BERRADA ,2009).

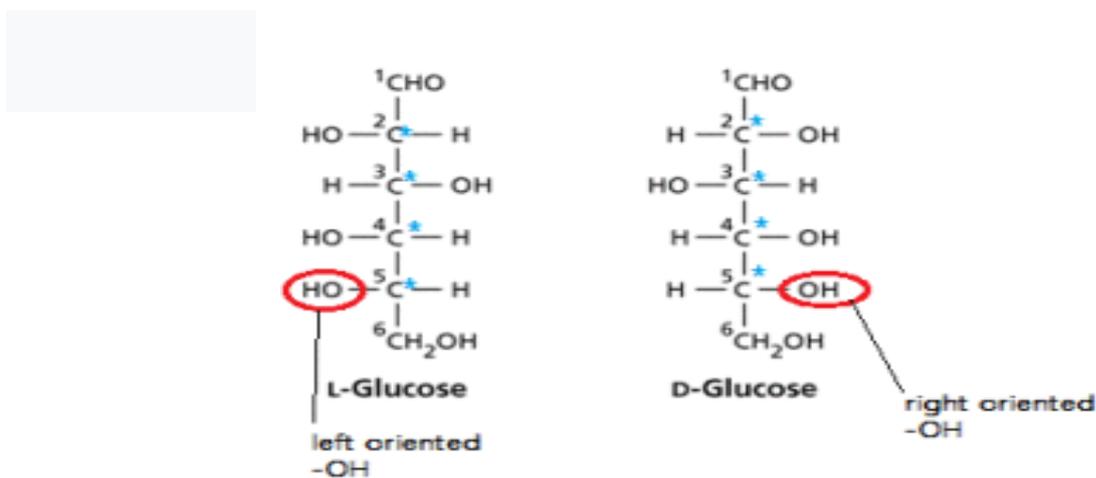


Figure 7 : Structure glucose (MATTHIEU ,2013).

Un disaccharide est formé par la combinaison de 2 monosaccharides au cours d'une réaction de synthèse. Les plus importants, de formule $C_{12}H_{22}O_{11}$, sont le saccharose, le maltose et le lactose (BERRADA ,2009).

Polysaccharides sont les produits de polymérisation du glucose qui sont représentés par l'amidon, le glycogène et la cellulose (BERRADA ,2009).

I. Les métabolites secondaires et activités biologiques

1.1. Définition et fonctions des métabolites secondaires

A côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acide nucléiques), les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits "secondaires" dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents en pharmacologie ou l'agroalimentaire (MACHEIX *et al.*, 2005).

Les métabolites secondaires se définissent comme des molécules produites par des organismes vivants (plantes, champignons, bactéries...) et qui ne jouant pas de rôle direct pour les fonctions vitales de l'organisme, c'est-à-dire la nutrition, la croissance, et la reproduction (HOUEL, 2011). Par contre ils jouent un rôle important grâce à la machinerie enzymatique complexe nécessaire à leur production. Ils ont des rôles écologiques (allomone, phéromone...), et représentent une grande source potentielle d'agents thérapeutiques (THOMAS, 2009).

1.1.1. Classification des métabolites secondaires:

Les métabolites secondaires dépassant actuellement 200000 substances identifiées appartiennent à trois grandes classes : les composés phénoliques, composés terpéniques et les composés azotés. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités biologiques (BRUNETON, 1993 ; GUIGNARD, 1996 ; *et al.*).

1.1.1.1. Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques se caractérisent par la présence d'un noyau benzénique, portant d'un ou des groupement(s) hydroxyle(s) libre(s) ou engagé(s) dans une fonction ester, éther ou hétéroside (figure8) (BRUNETON, 1999).

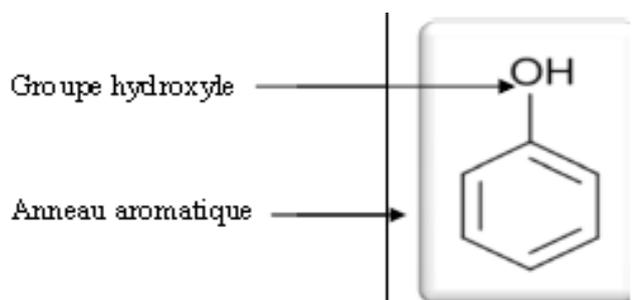


Figure 8 : Groupe phénol (MANALLAH, 2012).

Les noyaux aromatiques peuvent être synthétisés soit par la voie du shikimate, soit par celle de l'acétate, ce qui permet de différencier deux classes de composés phénoliques (BOULANGER et POLONVSKI, 1969).

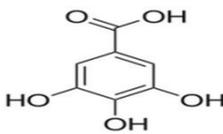
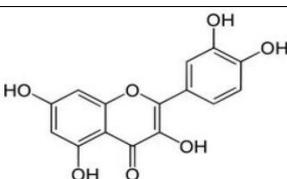
Les structures des composés phénoliques se distinguent par leur squelette carboné (nombre de carbone), puis leur degré de modification (oxydation, hydratation, méthylation...) et des liaisons pouvant exister avec d'autres molécules comme des sucres ou d'autres composés phénoliques. On distingue ainsi une dizaine de grandes classes de composés regroupant des formes simples et des phénols condensés issus de la polymérisation des lignanes (lignines) ou de certains tanins (Tableau II) (MACHEIX et *al.*, 2005).

Tableau II: Principales classes des composés polyphénoliques rencontrés chez les plantes (GOODWIN et MERCER, 1983).

Nombre d'atome de carbone	Structure	Classe	Exemple
6	C ₆	Phénols simples	Catéchol
7	C ₆ -C ₁	Acides phénoliques acétophénones	acide gallique, salicylique 3-acétyl-6-méthoxybenzaldéhyde
8	C ₆ C ₂		Tyrosol
9	C ₆ -C ₃	Acide hydroxycinnamique Phénylpropènes Coumarines Isocoumarines Chromones	Caféique, ferulique Eugénol, Myristicine ombellifère, Bergénone Eleuthérinol Eugénine
10	C ₆ C ₄	Naphtoquinones	Juglone, plumbagine
13	C ₆ C ₁ C ₆	Xanthones	Mangiférine
14	C ₆ C ₂ C ₆	Stilbènes Anthraquinone	Resveratrol Emodine
15	C ₆ C ₃ C ₆	Flavonoïdes Isoflavonoïdes	Quercétine, cyanidine Genistéine
18	(C ₆ C ₃)	Lignanes	Podophylotoxine, Pinoresinol
30	(C ₆ C ₃ C ₆) ₂	Biflavonoïdes	Amentoflavone
n	(C ₆ C ₃) _n	Lignines	
n	(C ₆ C ₃ C ₆) _n	Tanins condensés	

Les polyphénols ont une multitude d'activités biologiques dépendant de leur structure chimique (Tableau III). Ils constituent une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes puisqu'elles comprennent plus de 6000 molécule (LHUILIER, 2007).

Tableau III : exemples de composés phénolique et leurs activités biologiques (LHUILIER, 2007).

Noms	Structure	Effets thérapeutiques
ACIDE GALLIQUE		-Antiviral, Antifongique, Antioxydant - Utilisé comme astringent à distance en cas d'hémorragie interne
LA QUERCITINE		-Antioxydant, diminution des risques de troubles coronariens. propriétés anti-inflammatoires contribuant à soulager des troubles tels que la cystite

1.1.1.2. Composés terpéniques

Les terpènes sont issus de la condensation d'un nombre variable d'unités isopréniques (BRUNTON, 1999). Ils sont formés par la polymérisation des unités à 5 atomes de carbone (isoprène) (figure 9) (JUDD et *al.*, 2002).

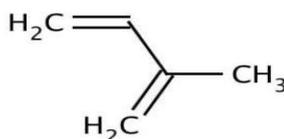


Figure 9 : Structure d'isoprène (JUDD et *al.*, 2002)

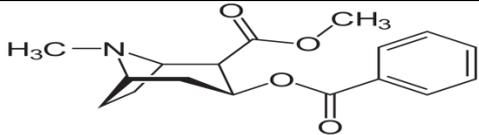
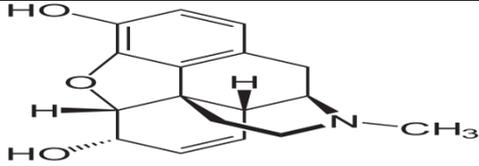
1.1.1.3. Les composés azotés (alcaloïdes)

Les alcaloïdes forment une grande famille de molécules chimiquement hétérogènes (HOPKINS et EVRARD, 2003).

La classification des alcaloïdes tient compte de deux paramètres distincts : la position de l'atome d'azote au sein de la structure et les différentes fonctions qui en découlent, et la famille de plantes dont ils sont extraits (90 % des alcaloïdes sont issus de plantes). On compte cinq grandes classes d'alcaloïdes, chacune divisée en plusieurs sous familles : les alcaloïdes hétérocycliques, les alcaloïdes portant un atome d'azote exocyclique, les alcaloïdes de type putrescine, spermidine et spermine, les alcaloïdes peptidiques et les alcaloïdes terpéniques et stéroïdiens. La grande majorité des alcaloïdes fait partie de la classe des alcaloïdes hétérocycliques. Celle-ci est divisée en plusieurs familles suivant le motif hétérocyclique qui la compose (pyrrole, indole, pipéridine, tropane, imidazole, isoquinoline,...) et est divisée de nouveau suivant leur origine végétale ou animale (DUNET, 2009).

Le tableau IV montre quelques exemples de ces alcaloïdes. Le motif hétérocyclique en gras est celui qui permet de rattacher un alcaloïde à une famille (DUNET, 2009).

Tableau IV : exemples d'alcaloïdes et leurs structures chimique selon (DUNET, 2009).

Nom de l'alcaloïde	Structure
Cocaïne (Alcaloïde tropanique)	
Morphine (Alcaloïde isoquinoléique)	

II. Pouvoir anti oxydant

2.1. Généralités

Pour se protéger des effets toxiques des ROS, l'organisme a développé des systèmes de défense antioxydants composés d'enzymes (la glutathion peroxydase), de vitamines (A, C, E), d'oligo-éléments (le sélénium), de protéines (la ferritine). En situation physiologique, ces systèmes antioxydants ont la capacité de réguler parfaitement la production des ERO (JOEL et *al.*, 2002).

2.2. Définition

La notion de "radicaux libres", de "stress oxydant" et d' "antioxydants" est de plus en plus utilisée pour expliquer différentes atteintes pathologiques et leurs approches thérapeutiques. On appelle radical libre toute molécule qui contient un ou plusieurs électrons libres (célibataires) la rendant très réactive. A l'état naturel, l'oxygène, qui comporte naturellement deux électrons célibataires sur la couche périphérique, est très instable avec une forte tendance à oxyder tout les composants qu'il rencontre en leur arrachant un électron pour l'apparier à l'un de ses électrons célibataires (figure 10) (SEKLI-BEALIDI .F, 2011).

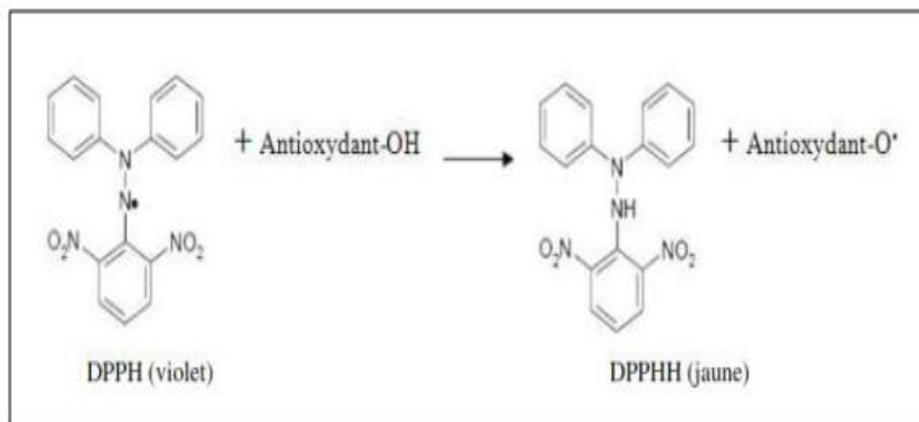


Figure 10 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH* (CONGO, 2012)

2.3. Types d'anti oxydants

On distingue selon leur cible, leur mécanisme d'action et selon leur origine ; les antioxydants naturels (synthétisés dans l'organisme ou amenés par l'alimentation) ou synthétique (VERGLY et ROCHETTE, 2003).

2.3.1. Les antioxydants naturels

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces qui se partage en deux types : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques (KANOUN, 2011).

Ces antioxydants sont d'autant plus importants que certains qui peuvent être utilisés en thérapeutique pour tenter de prévenir le stress oxydatif (KANOUN, 2011).

2.3.1.1. Les antioxydants non enzymatiques

La vitamine C (l'acide ascorbique) (figure11): Ses propriétés antioxydantes sont attribuées à sa capacité d'être réduit en radical ascorbyle après la perte d'un électron ou d'un proton. Ce radical peut facilement s'oxyder en captant l'anion superoxyde et certaines espèces radicalaires (perhydroxyles et peroxydes) (VALKO et *al.*, 2006).

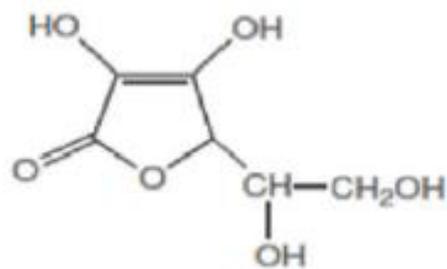
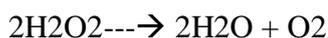


Figure 11 : Structure de l'acide ascorbique (DIALLO, 2005).

2.3.1.2. Les antioxydants enzymatiques

Les enzymes existe à l'état endogène (cytoplasme, cytosol ou mitochondrie) permettent de protéger les cellules contre les radicaux libres produits de manière physiologique au cours du métabolisme cellulaire normal (MENON et *al.*, 2007).

Par exemple, Les catalases (CAT): sont localisées exclusivement à l'intérieur des peroxysomes, ce qui limite leur action par rapport à d'autres enzymes (SOUCHARD et *al.*, 2002) et elles transforment deux molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui sont des composés stables (JACQUES et *al.*, 2004).



2.3.1.3. Les antioxydants synthétiques :

Ceux-ci sont obtenus grâce à l'industrie alimentaire, c'est le cas notamment de butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT) (figure 12), du gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), qui sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels (KANOUN, 2011).

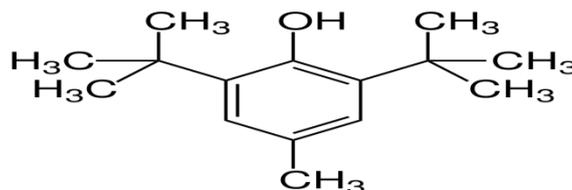


Figure 12 : L'hydroxytoluène butylé (BHT) (MARILOU,2016).

Cependant, leur sécurité est très discutée suscitant ainsi la nécessité de recherche plus approfondie. En effet, ces antioxydants de synthèse peuvent être toxiques ou peuvent provoquer la toxicité dans l'organisme (KANOUN, 2011).

Le dosage de l'activité antioxydante ce fait grâce au réactif DPPH, il cause une coloration violette de la solution (présence des radicaux libres) et sa réduction par un agent antioxydant présente une décoloration de la solution (KANOUN, 2011).

Partie expérimentale

Description de la zone d'étude

I. Description de la zone d'étude

A fin de compléter l'étude de Haouche en 2018 basée sur la quantification des métaux lourds des feuilles d'oliviers sauvages, notre étude s'est réalisée sur les feuilles de la même espèce dit oléastre du nom scientifique : *Oléa europaea sylvestris*. L'échantillonnage s'est fait au mois de Mai 2019 dans la région de Tizi-Ouzou au niveau de deux stations différentes : l'une est une zone urbaine (boulevard Krim BELKACEM) et l'autre, une zone rurale (ATTOUCHE) (figure 13 et 14). Nous avons collecté plusieurs feuilles de l'année 2018 au niveau de cinq oliviers dans chacune des deux stations.



Figure 13 : Boulevard Krim BELKACEM (CHIKDENE, 2019).



Figure 14 : Station d'ATTOUCHE (CHIKDENE, 2019).

1.1. Ville de Tizi-Ouzou

➤ Situation géographique

La wilaya de Tizi- Ouzou se situe à 100 kilomètres de la capitale, elle est délimitée :

- à l'ouest par la wilaya de Boumerdès ;
- au sud par la wilaya de Bouira ;
- à l'est par la wilaya de Bejaia ;
- au nord par la mer Méditerranée.

Elle s'étend sur une superficie de 2 992,96 km². La population résidente telle qu'évaluée lors du recensement de 2008 est de 1 127 607 habitants. La densité atteint 381,21 habitants au km² (RGPH 2008 : Population résidente par âge, par sexe et par wilaya).

➤ Climat

Lors de la dernière décennie, la pluviométrie annuelle moyenne de la Wilaya de Tizi-Ouzou a varié entre 500 et 800 mm. Les étés sont très chauds, les hivers sont doux et pluvieux, l'ensoleillement est très élevé.

➤ Synthèse climatique de Tizi-Ouzou

Diagramme ombrothermique de Bagnols et Gaussen

Selon MUTIN(1977), le diagramme ombrothermique de Bagnols et Gaussen a permis de définir les périodes sèches. C'est un mode de représentation classique du climat d'une région déterminée (DAJOZ, 2000). Bagnols et Gaussen(1953), définissent un mois sec comme celui où les précipitations exprimées en millimètres, sont inférieures ou égales au double de la température moyenne en °C.

La construction du diagramme se fait en portant sur l'axe des abscisses les mois de l'année, et sur l'axe des ordonnées : à gauche sont présentées les précipitations, et sur la droite les températures moyennes de façon à ce que 1°C corresponde à 2mm (P=2T).

La figure 15 représente le diagramme ombrothermique obtenue pour la commune de Tizi-Ouzou.

Description de la zone d'étude

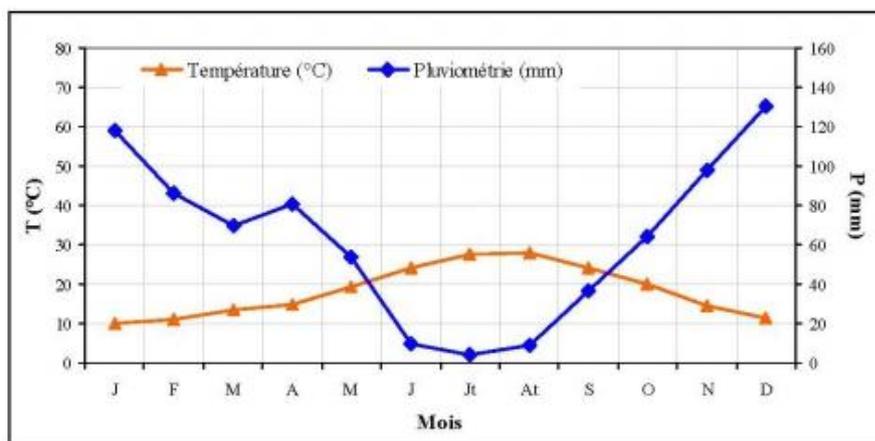


Figure 15 : Diagramme ombrothermique de la commune de Tizi-Ouzou (1985-2010)
(SI SMAIL *et al.*, 2013).

Selon le diagramme, la période sèche s'étale sur quatre mois pour la région de Tizi-Ouzou, de la fin du mois de Mai jusqu'à la fin Septembre, tandis que la période humide va du mois d'Octobre jusqu'à la fin Mai.

➤ Présentation géographique d'ATTOUCHE

Attouche est un village de la commune de Makouda, une commune située dans la wilaya de Tizi Ouzou, à mi-chemin entre Tizi-Ouzou et Tizirt (19 km au nord de Tizi-Ouzou et 21 km au sud de Tizirt). Le climat de Makouda est typiquement méditerranéen, chaud et sec en été et doux, humide et pluvieux en hiver. En fonction de l'altitude ; les précipitations annuelles varient de 800 mm à 1 100 mm selon les régions (HAOUCHE ,2018).



Figure 16 : Attouche, Makouda (ANONYME1).

Matériel et Méthodes

Matériels et méthodes

L'étude expérimentale a été réalisée au sein du " Laboratoire Ressources Naturelles" de la Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques, Université Mouloud MAMMERRI Tizi-Ouzou.

L'objectif de notre travail est l'étude phytochimique et biologique des extraits aqueux de la poudre de feuilles de l'olivier sauvage des deux stations Attouche et Krim Belkacem de la wilaya de Tizi-Ouzou.

- **Etude phytochimique**

Tests phytochimiques de dosages quantitatifs des polyphénols totaux et des glucides.

- **Evaluation *in vitro* de l'effet antioxydant**

Evaluation de l'activité antiradicalaire des extraits aqueux par la méthode de piégeage du radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrozyl (DPPH•).

I. Matériels utilisés

Tableau V : Différents matériaux et réactifs utilisés lors des manipulations.

Verreries et autres	Réactifs
Pissette	Acide gallique
Erlenmeyer	acide ascorbique
Entonnoir	folin ciocalteu
Becher	carbonate de sodium (7%)
Eprouvette graduée	DPPH (0.002%)
Tube à essai	méthanol
Papier filtre	DNS
Agitateur magnétique	
Balance électronique	
Etuve	
Spectrophotomètre	
Vortex	

Matériels et méthodes

1. 1. Préparations des échantillons

Après la récolte en mois de Mai, les feuilles sont ramenées au "Laboratoire Ressources Naturelles" dans des sac en papiers, rincées à l'eau courante, séchées à l'air libre à température ambiante pendant 4 jours, ensuite mises dans l'étuve durant deux jours sous une température de 75°C (figure17,18).



Figure 17: Etuve



Figure18 : Feuilles d'olivier séchées

(CHIKDENE, 2019)

Une fois séchée, la matière végétale a été réduite en poudre à l'aide d'un moulin à café. Un extrait à 10% a été préparé à l'aide de 5 g de poudre végétale mise dans 50ml d'eau distillée pendant 24 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière

Les extraits obtenus sont filtrés sur papier filtre type WATTMAN N°2 (figure 19), et conservés au réfrigérateur jusqu'à leurs utilisation ultérieure.



Figure 19 : Filtration des extraits aqueux (CHIKDENE, 2019).

II. Tests phytochimiques

Pour chacun des tests réalisés, un test témoin est fait.

2.1. Dosage des polyphénols

- **Préparation de la solution mère**

5µg de poudre d'acide gallique sont dissous dans 25ml d'eau distillée puis agiter au vortex. A une concentration de 200µg/ml, sept tubes sont traités selon la règle de trois ($C1V1=C2V2$) pour l'ajustement avec du méthanol jusqu'à l'obtention d'1ml de solution (Tableau VI). 3 répétitions sont réalisées pour chacun des tubes.

Tableau VI : Gamme étalon de l'acide gallique

Tubes	1	2	3	4	5	6	7
□ µg/ml	30	60	90	120	150	180	200
Volume de la solution mère (µl)	150	300	450	600	750	900	1000
Volume du méthanol ajouté (µl)	850	700	550	400	250	100	0

Matériels et méthodes

- **Dosage des polyphénols**

Le protocole suivi pour le dosage des polyphénols est celui de SINGLETON et ROSSI (1965) optimisé par nos soins, il se présente comme suit :

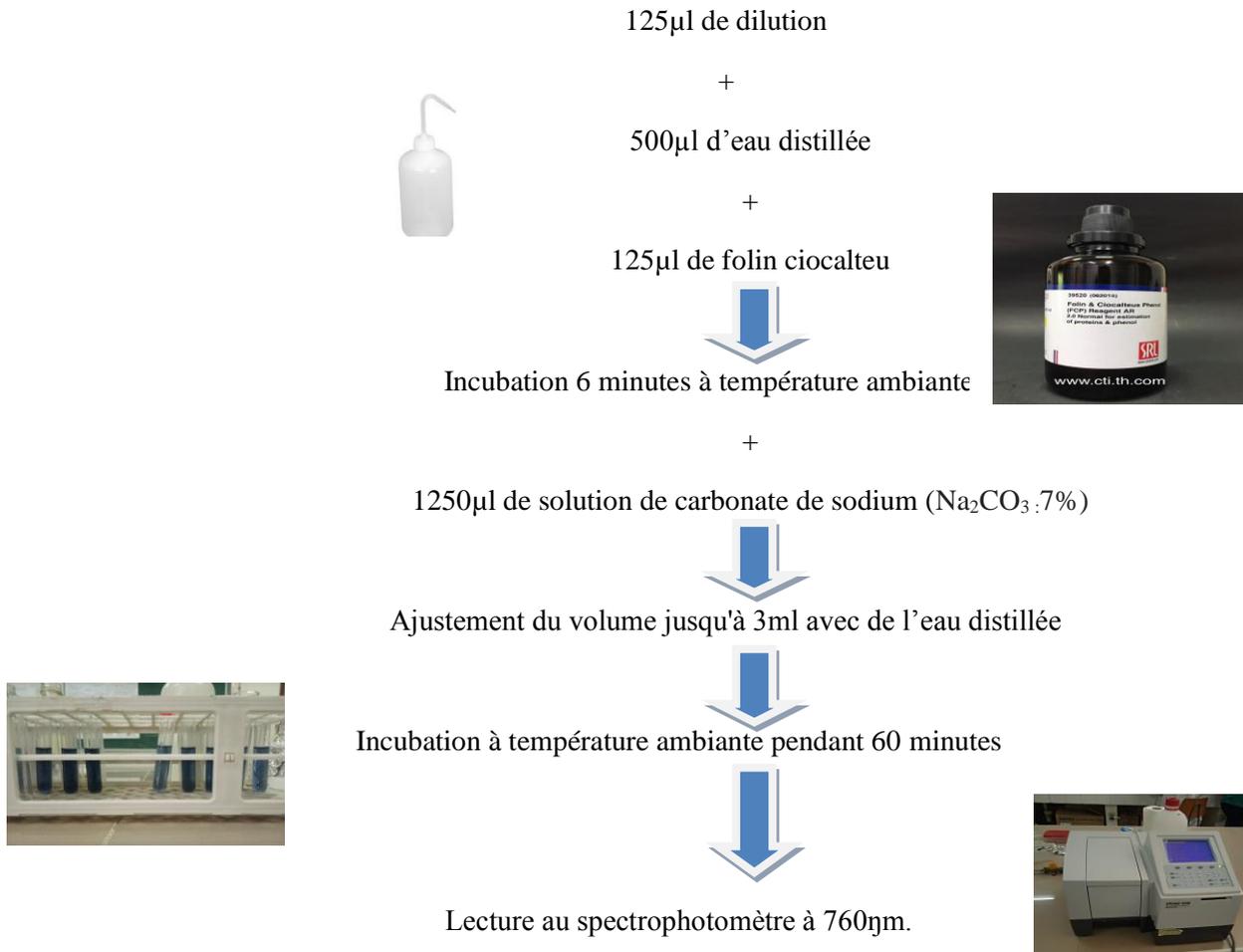


Figure 20 : Schéma récapitulatif du dosage des polyphénols totaux (SINGLETON et ROSSI, 1965).

2.2. Dosage des glucides

- **Préparation de la solution mère**

Pour le dosage des glucides dans les extraits aqueux des feuilles des oliviers des deux stations (KRIM BELKACEM et ATTOUCHE), une solution mère de glucose a été préparée à 1g/l (Tableau VII).

Tableau VII : Gamme étalon de glucose.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution glucose (ml)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
Eau distillée (ml)	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0
Réactif DNS	2	2	2	2	2	2

- **Dosage des glucides**

Pour le dosage des glucides, nous avons suivi la méthode du dosage au DNS selon le Protocole suivant :

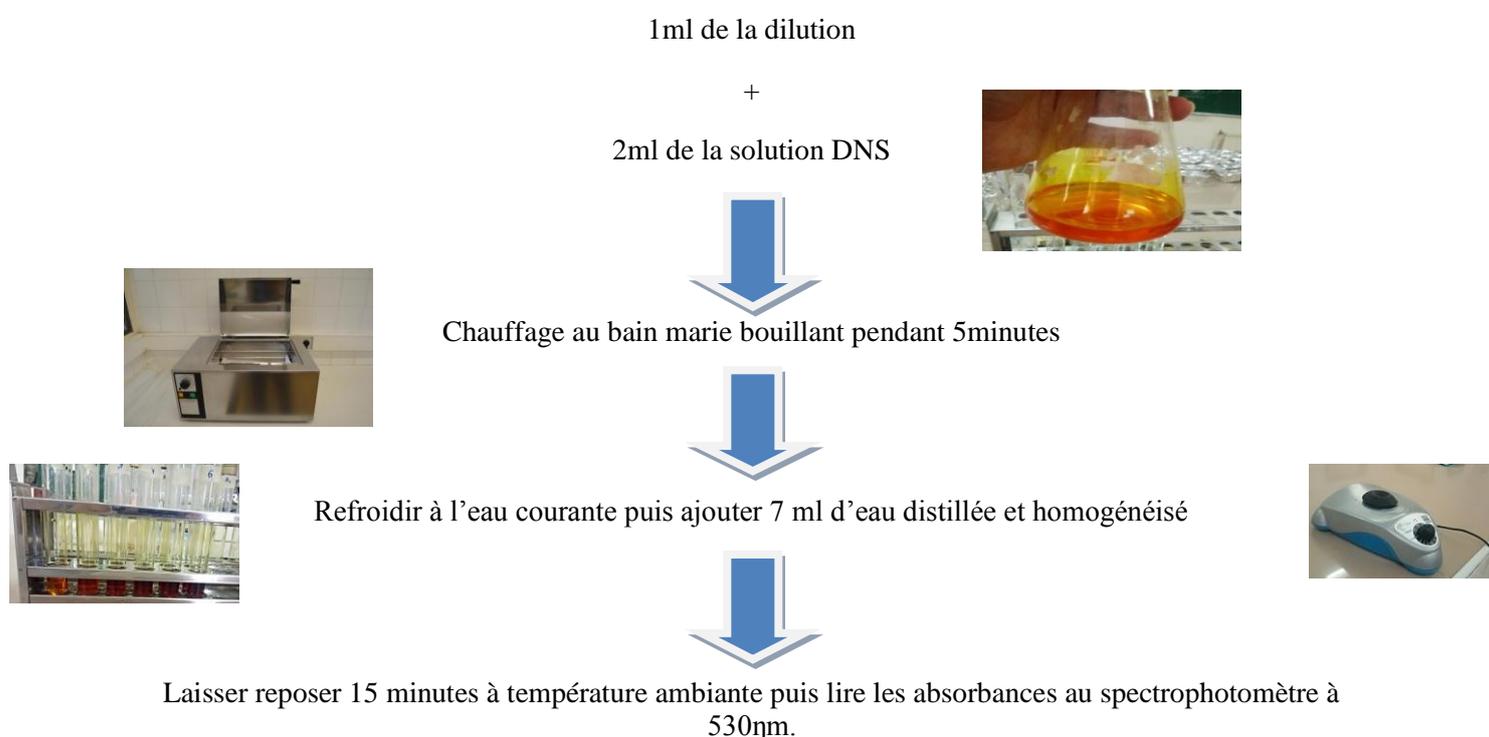


Figure 21 : Schéma récapitulatif du dosage des glucides

III. Evaluation *in vitro* de l'effet antioxydant.

- **Test du Piégeage du radical libre DPPH***

C'est une méthode largement utilisée dans l'étude de l'activité antioxydante. Le DPPH *(2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) se caractérise par sa capacité de former des radicaux libres stables. La présence de ces radicaux DPPH* donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, qui absorbe aux environs de 517 nm. La réduction des radicaux DPPH* par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution.

- **Préparation de la solution mère**

Comme pour les autres tests, une gamme étalon d'acide ascorbique a été réalisée selon le Tableau VIII.

Tableau VIII : Gamme étalon de l'acide ascorbique

Tubes	1	2	3	4	5	6	7
□ µg/ml	30	60	90	120	150	180	200
Volume de la solution mère (µl)	150	300	450	600	750	900	1000
Volume du méthanol ajouté (µl)	850	700	550	400	250	100	0

- **Piégeage du radical libre DPPH**

L'évaluation de la capacité antioxydante est réalisée suivant le Protocole expérimental de BUUGANDOURA, (2012) (Figure 22).

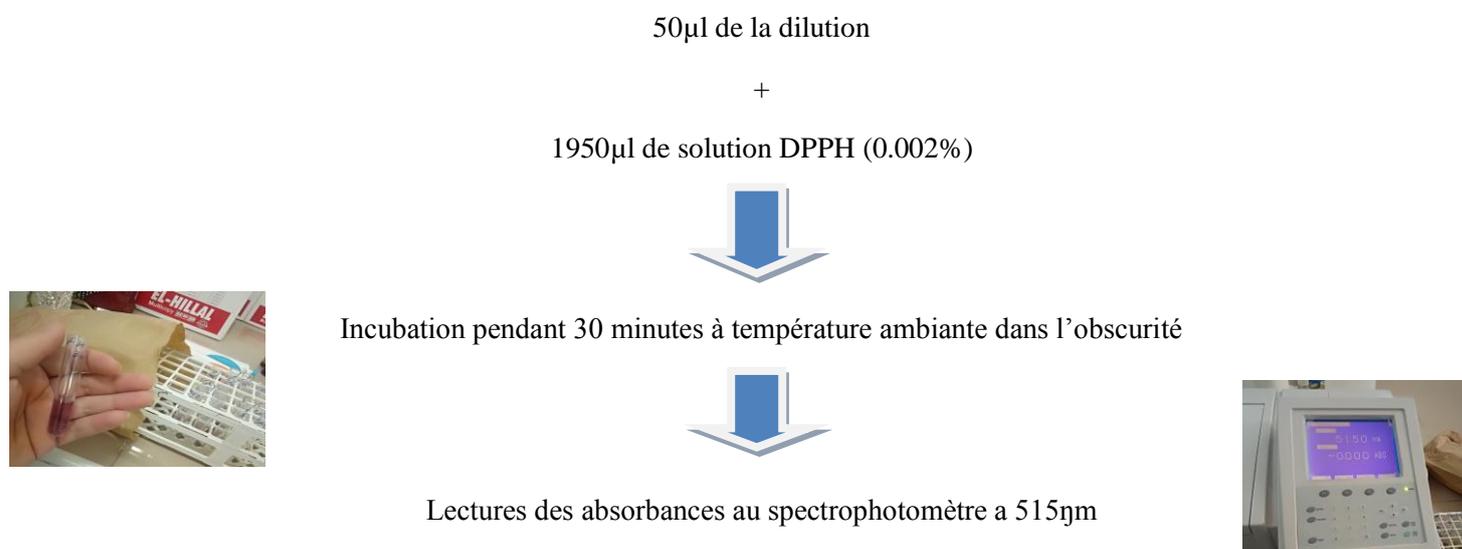


Figure 22 : Schéma récapitulatif de l'évaluation *in vitro* de l'effet antioxydant (BOUGANDOURA ,2012)

Matériels et méthodes

L'activité antiradicalaire DPPH* est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH et il est calculé comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

Résultats et discussion

Résultats et discussion

I. Résultats

Les analyses spectrophotométriques ainsi que les statistiques nous ont permis d'obtenir les résultats suivants :

1.1. Résultats de l'analyse spectrophotométrique.

1.1.1 Tests phytochimiques

1.1.2 Dosage des polyphénols

- **Gamme étalon d'acide gallique.**

La **figure 23** représente la courbe étalon d'acide gallique (30, 60, 90, 120, 150, 180, 200 μ g/ml) obtenue par la lecture spectrophotométriques. La formule de la régression linéaire obtenue est $Y=0.0056x+0.1116$ où $R^2=0.9901$.

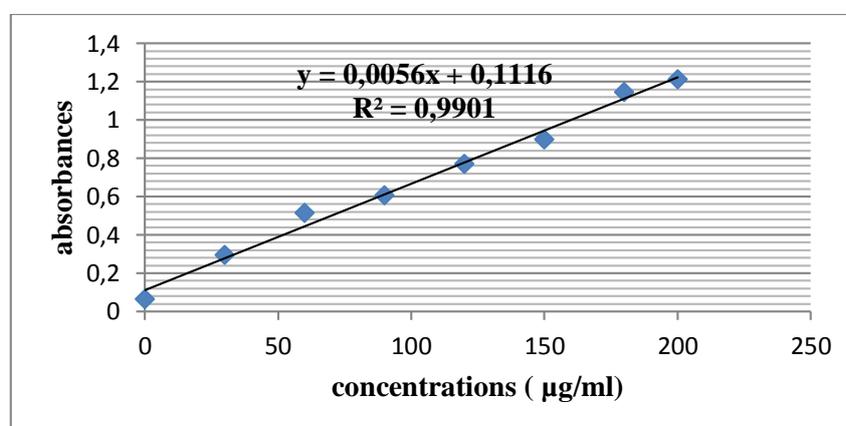


Figure 23 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

- **Concentration des polyphénols**

Les résultats de la concentration des polyphénols de la poudre de feuilles de nos oliviers sont obtenus à partir de l'équation de la courbe de régression de la gamme étalon d'acide gallique (annexe 5) . Les concentrations sont données en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (μ gEAG/mg d'extrait)

Les résultats des concentrations en polyphénols des différents extraits aqueux des feuilles d'oléastre des deux stations d'étude sont mentionnés au niveau de la figure 24. Les arbres de la région d'ATTOUCHE présentent une meilleure concentration en polyphénols où la plus élevée est de 2177,5 μ g EAG/mg d'extrait représentée par l'arbre N°1 .Par ailleurs, la

Résultats et discussion

concentration en polyphénols au niveau des échantillons de la station de KRIM BELKACEM la plus élevée est de 1743.57 μ gEAG/mg d'extrait représentée par l'arbre N°3.

Les concentrations en polyphénols les moins élevées au niveau de nos échantillons sont représentés par les arbres de KRIM BELKACEM avec des valeurs allant de 1120.35 μ gEAG/mg d'extrait.

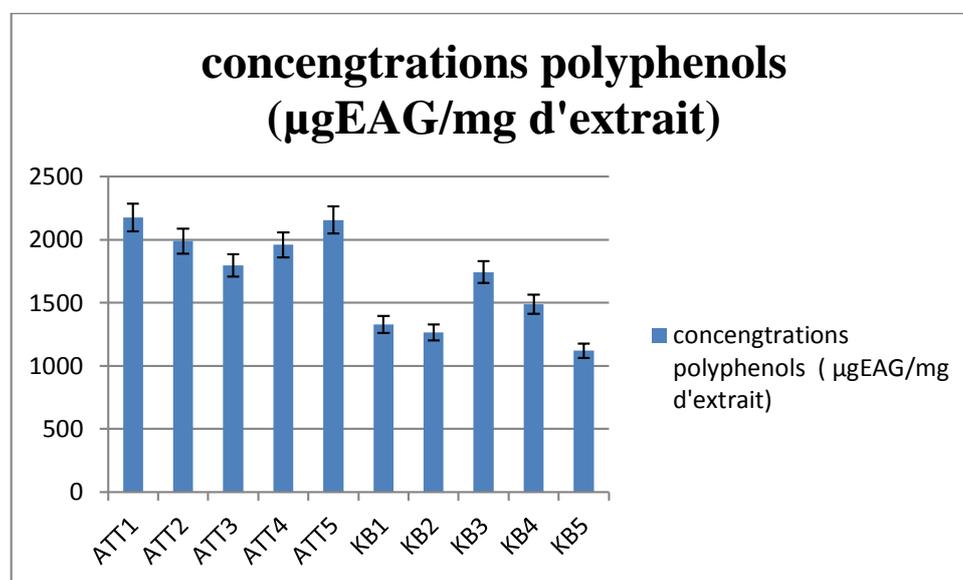


Figure 24 : Histogramme représentant les différentes concentrations en polyphénols pour chaque arbre des deux stations.

ATT : ATTOUCHE KB : KRIM BELKACEM

Les analyses de variance type ANOVA révèlent une différence hautement significative entre la teneur en polyphénols des différents extraits de la station d'ATTOUCHE et celle de KRIM BELKACEM ($p=0.00$)(annexe 17). Les comparaisons multiples des moyennes (Test Newman Kells) ont révélé la formation du groupe A représenté par les extraits de la station de KRIM BELKACEM avec une moyenne en teneur en polyphénols de 1388,57 μ g EQ d'acide gallique /mg d'extrait (Tableaux IX).

Tableau IX : comparaison multiple des moyennes

	Groupe	Moyenne
Niveau KB	A	1388,57
Niveau ATT		2016,23

Résultats et discussion

1.1.3. Dosage des glucides

- **Gamme étalon de glucose**

La courbe étalon de glucose (1, 2, 3, 4, 5,6µg/ml) obtenue par la lecture des absorbances au spectrophotomètre est représentée dans la figure 25 avec une équation de régression de : $Y=0.2361x-0.2504$ où $R^2=0.9842$.

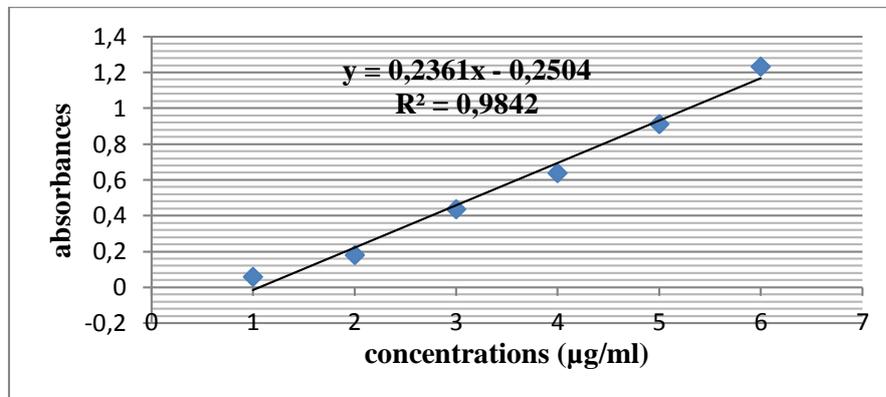


Figure 25 : Courbe d'étalonnage du glucose

- **Concentration des glucides**

Les concentrations des glucides de nos arbres dans les deux stations sont mesurées en microgramme équivalent de glucose par milligramme d'extrait (µg EG/mg d'extrait). Les résultats sont calculés à partir de l'équation de la courbe de glucose (Annexe 6). Ils sont représentés sur la figure 26.

Les résultats des concentrations en glucides des différents extraits aqueux des feuilles d'oléastre des deux stations d'étude sont mentionnés au niveau de la figure 24. Les arbres de la région d'ATTOUCHE présentent une meilleure concentration en glucides où la plus élevée est de 55.16 µg EG/mg d'extrait représentée par l'arbre N°4 (annexe6) .Par ailleurs, la concentration en glucides au niveau des échantillons de la station de KRIM BELKACEM la plus élevée est de 41,48µg EG/mg d'extrait représentée par l'arbre N°1.

Les concentrations en glucides les moins élevées au niveau de nos échantillons sont représentées par les arbres de KRIM BELKACEM avec des valeurs allant de 41.48 à 35.34 µg EG/mg d'extrait.

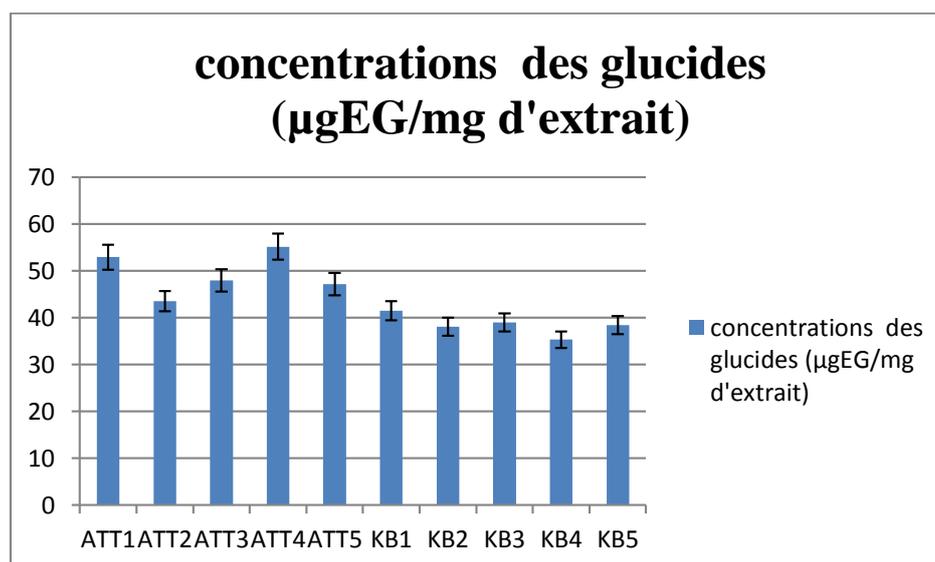


Figure 26 : Histogramme des concentrations en glucides se trouvant chez les différents arbres d'ATTOUCHE et KRIM BELKACEM

ATT : ATTOUCHE KB : KRIM BELKACEM

Les analyses de variance type ANOVA révèlent une différence hautement significative entre la teneur en glucides des différents extraits de la station d'ATTOUCHE et celle de KRIM BELKACEM ($p=0.00$) (annexe18). Les comparaisons multiples des moyennes (Test Newman Keuls) ont révélé la formation du groupe A représenté par les extraits de la station de KRIM BELKACEM avec une moyenne en teneur en glucides de $38.46 \mu\text{g EQ}$ de glucose /mg d'extrait (Tableaux X).

Tableau X : Comparaison multiple des moyennes

	Groupe	Moyenne
Niveau KB	A	38,46
Niveau ATT		49,35

1.1.4. Activité antioxydante

- **Gamme étalon d'acide ascorbique**

La courbe étalon d'acide ascorbique ($30, 60, 90, 120, 150, 180, 200 \mu\text{g/ml}$) obtenue par la lecture des absorbances au spectrophotomètre a une longueur d'onde de 530 nm est représentée dans la figure 27 avec une équation de régression de : $Y=0.6054x-8.828$ où $R^2=0.9611$.

Résultats et discussion

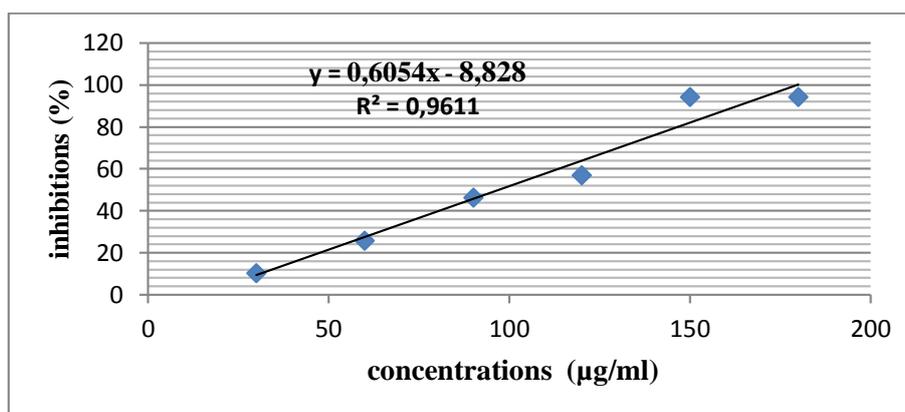


Figure 27 : Courbe étalon d'acide ascorbique

- **Piégeage du radical libre DPPH**

Afin d'évaluer l'activité antioxydante chez nos oliviers sauvages, nous avons mis en œuvre la concentration inhibitrice IC50 de l'antioxydant, qui correspond à une réduction de 50% de l'activité (de l'absorbance) du DPPH dans le milieu réactionnel. La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son IC50 est faible. L'indice IC50 montre les concentrations de l'antioxydant qui sont nécessaires pour faire décroître la concentration initiale du DPPH de 50% (SANCHEZ-MORENO C et *al...*, 1998).

Les résultats ci-dessous présenteront les IC50 obtenus par l'équation de la régression linéaire obtenue pour chacun des arbres des deux stations ATTOUCHE et KRIM BELKACEM (annexes 7.8.9.10.11.12.13.14.15.16).

Les résultats des concentrations inhibitrices des différents extraits aqueux des feuilles d'oléastre des deux stations d'étude montrent que les arbres de la région d'ATTOUCHE présentent plus au moins de faibles concentrations, d'où la plus faible est de 0.05366 mg/ml représentée par l'arbre N°3 (Tableau XI), cela signifie que les feuilles de cet arbre sont dotées d'un fort pouvoir antioxydant. Par ailleurs, les concentrations des échantillons de la station de KRIM BELKACEM sont légèrement plus élevées pour la majorité des arbres, d'où la plus faible est de 0.23674 mg/ml représentée par l'arbre N°1.

La concentration inhibitrice la plus élevée retrouvée au niveau de nos échantillons est représentée par l'arbre N°2 de KRIM BELKACEM avec une valeur de 2.37245 mg/ml, cela signifie que son pouvoir antioxydant est le plus faible de tous. Ce qui nous amène à dire que les feuilles des oliviers sauvages échantillonnés dans les deux stations sont dotées d'un pouvoir antioxydant (Tableau XI).

Résultats et discussion

Tableau XI : Concentrations inhibitrices 50% (IC50)

arbres	ATT 1	ATT2	ATT 3	ATT 4	ATT 5	KB 1	KB 2	KB 3	KB 4	KB 5
IC 50 (mg/ml)	0,10337	0,38044	0,05366	0,97501	0,3999	0,23674	2,37245	0,31983	0,5368	0,3748

ATT : ATTOUCHE KB : KRIM BELKACEM

Les analyses de variance type ANOVA ne révèlent pas une différence significative entre la concentration inhibitrice 50 des différents extraits de la station d'ATTOUCHE et celle de KRIM BELKACEM ($p=0,40$)(annexe19). Les comparaisons multiples des moyennes (Test Newman Keuls) ont révélé la formation d'un seul groupe A représenté par les extraits de la station de KRIM BELKACEM et celle d'ATTOUCHE avec une moyenne en concentration inhibitrice 50 de 0,77 pour KRIM BELKACEM et de 0,38 pour ATTOUCHE (Tableaux XII).

Tableau XII : Comparaison multiple des moyennes

	Groupe	Moyenne
Niveau ATT	A	0,38
Niveau KB	A	0,77

Tableau XIII : Tableau récapitulatif des résultats obtenus

	Polyphénols	Glucides	IC 50
KRIM BELKACEM	1388,568 ±95,363µgEAG/mg d'extrait	38,464±0.877µgEG/mg d'extrait	0.768±0.355mg/ml
ATTOUCHE	2016,226±45.691 µgEAG/mg d'extrait	49,346±0.812 µgEG/mg d'extrait	0.382±0.014mg/ml

Le nombre d'arbres échantillonnés au niveau de chaque station représente le nombre de répétitions (N =5)

Résultats et discussion

1.2. Matrice de Pearson

Des interactions importantes sont décrites entre la teneur en polyphénols et celle en sucres des différents extraits des deux stations (ATTOUCHE et KRIM BELKACEM). A cet effet, une matrice de corrélation est faite pour identifier et décrire la nature de ces interactions.

Les interactions significatives sont récapitulées dans le tableau XIV. A partir de la matrice de corrélation, nous relevons deux corrélations négatives entre les IC50 et la teneur en polyphénols (-0,37) et entre les IC 50 et la teneur en sucres (-0,23). Une corrélation fortement positive a été observée entre la teneur en polyphénols et celle en sucres des différents extraits des deux stations d'études.

Tableau XIV : Matrice de Pearson

	Sucres	Polyphénols	IC50
Sucres	1	0,75	-0,23
Polyphénols	0,75	1	-0,37
IC50	-0,23	-0,37	1

1.3. ACP

Nous avons réalisé une analyse en composantes principales (ACP). Elle nous fournit des indications sur la nature, la force et la pertinence des liens entre les différents extraits foliaires et les deux stations d'études (ATTOUCHE et KRIM BELKACEM). Son objectif est donc de faciliter l'interprétation des relations entre la teneur en polyphénols et celle en sucres avec l'effet antioxydant des différents extraits des deux stations (Figure28).

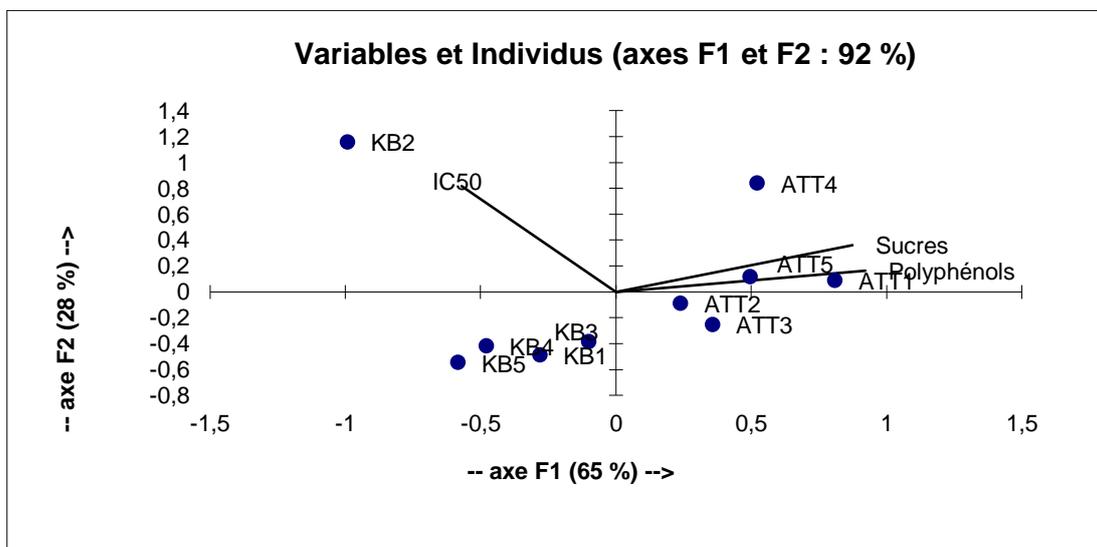


Figure28 : représentation des composantes principales ACP

Résultats et discussion

Afin d'interpréter les relations entre ces teneurs en polyphénols, en sucres et l'activité antioxydante des différents extraits des deux stations, nous avons réalisé une analyse en composante principale (ACP), qui révèle le plan 1-2 de l'analyse en composante principale (ACP) explique 92% du phénomène, avec pour l'axe 1 : 65% et pour l'axe 2 : 28% de l'inertie totale.

Nous avons deux grands groupes, le premier est représenté par les sujets de la station ATTOUCHE (ATT1, ATT2, ATT3, ATT4 et ATT5) où la teneur en polyphénols, en sucres est considérable. Le second comprend les sujets de la station KRIM BELKACEM (KB1, KB2, KB3, KB4 et KB5) où les IC 50 sont élevées indiquant ainsi un effet antioxydant moins important par rapport aux extraits de la station d'Attouche.

II. Discussion des résultats

L'olivier est une espèce largement cultivée dans le bassin méditerranéen depuis la plus haute antiquité. Les propriétés médicinales de l'olivier sont attribuées aux feuilles qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches scientifiques. En effet, l'utilisation des feuilles d'olivier en phytothérapie remonte à très loin dans l'histoire. L'olivier est considéré donc comme étant une plante aromatique et médicinale réservoir de composés naturels aux effets bénéfique.

Les résultats obtenus selon nos analyses montrent que les oliviers de la station d'ATTOUCHE présentent des concentrations plus élevées en glucides et en polyphénols comparativement aux oliviers de KRIM BELKACEM, cela peut-être justifié par le degré de pollution auquel le boulevard KRIM BELKACEM est confronté.

Selon plusieurs auteurs, la pollution atmosphérique affecte les végétaux. L'augmentation des gaz polluants perturbe les arbres. Les particules grasses de Diesel bouchent aussi les pores des feuilles. La plante respire mal et sa photosynthèse est perturbée (Anonyme 1, 2018).

Nos résultats de l'évaluation de l'effet antioxydant et du dosage des polyphénols au niveau des extraits aqueux des feuilles de l'oléastre sont comparables à ceux de BOUABDELLAH (2014) où l'extraits hydrométhanoliques a révélé un effet antioxydant considérablement plus élevé avec une concentration en polyphénols, comparé aux extraits hydroacétoniques et aussi à ceux des extraits aqueux. Selon ALTIOK (2010), la composition des feuilles d'oliviers en composés bioactifs change selon son origine, les conditions climatiques, le mode de séchage, le temps mais aussi selon les types de solvants d'extraction.

Le test du piégeage du radical libre DPPH*, a révélé un effet antioxydant des extraits aqueux des feuilles d'oliviers sauvages des deux stations (KRIM BELKACEM et ATTOUCHE). La concentration en IC50 nous renvoie directement à l'évaluation de cet effet. La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son IC50 est faible (SANCHEZ-MORENO et *al.*, 1998). Nos résultats révèlent que les feuilles de nos arbres des deux stations présentent une activité antioxydante plus ou moins importante, cela est dû à la richesse des feuilles de l'olivier en molécules bioactives à savoir les polyphénols. Selon GARCIA et *al.*(2001), le taux de polyphénols totaux présent chez *Olea europea var sylvestris* est de 25,3 mg/g.

Discussion

Les résultats de l'ACP ont révélé que les concentrations en polyphénols et en glucides sont inversement proportionnels aux concentrations en IC50 et qui sont à l'origine de l'effet antioxydant. Selon GUIGNARD (2000) la synthèse du noyau aromatique débute par la condensation du phosphoénolpyruvate (PEP) avec l'érythrose, réaction comparable à celle de la dihydroxyacétone phosphate (DHAP) avec l'érythrose lors du cycle de Calvin, il y a donc une liaison entre les glucides et les polyphénols,

Selon les résultats de la minéralisation obtenus par HAOUCHE (2018) sur la poudre de feuilles d'oléastre et de pistachier des arbres des deux stations (KRIM BELKACEM et ATTOUCHE), montrent que les concentrations en Pb, Cd, Cr, Fe des échantillons prélevés à la station KRIM BELKACEM sont significativement plus élevés que les concentrations enregistrées à la station d'ATTOUCHE. Par contre, les concentrations de Ni, du Cu et du Zn ne présentent pas de différences significatives entre les deux stations. Cependant, l'olivier paraît être l'espèce la plus accumulatrice d'éléments trace métallique puisque, le total des concentrations des éléments trace métallique retrouvé chez celui-ci est significativement différents chez le pistachier. Ces résultats reflètent l'importance de la pollution due à la circulation automobile au niveau du boulevard KRIM BELKACEM. Ce dernier présente la circulation la plus intense au niveau de la ville de Tizi-Ouzou. Ces résultats corroborent les conclusions d'autres études consacrées à ce sujet (ZAIDI et *al.*, 2005; DEMIRAYAK A, 2011).

On peut donc conclure que l'olivier sauvage peut être pris comme modèle pour évaluer la pollution atmosphérique puisqu'il présente une large répartition au niveau de la région et que son feuillage persistant peut permettre une évaluation annuelle (AGHABRATI et *al.*, 2008 ; DILEK TURAN et *al.*, 2011).

conclusion et perspectives

Conclusion

Conclusion

Au terme de cette étude et à la lumière des résultats obtenus, les conclusions suivantes peuvent-être énoncées :

- la pollution atmosphérique paraît être très importante au niveau du boulevard KRIM BELKACEM, caractérisée par une forte densité humaine donc probablement avec un fort impact sanitaire ;
- la pollution atmosphérique a un impacte sur la végétation que ça soit sur l'aspect physique ou chimique puisque les concentrations en glucides ainsi qu'en polyphénols sont significativement différentes entre les extraits aqueux des feuilles des oliviers sauvages des deux stations (KRIM BELKACEM, ATTOUCHE) ;
- l'activité antioxydante dépend directement du taux de polyphénols que produit le végétal ;
- la pollution atmosphérique influence sur le métabolisme primaire et secondaire des végétaux ;
- l'activité antioxydante ne dépend pas uniquement des polyphénols ;
- l'ensemble de ces résultats a permis d'évaluer la richesse des feuilles d'*Olea europea sylvestris* en substances chimiques et qui pourraient représenter une nouvelle source potentielle de molécules bioactives en thérapeutique ;
- selon des résultats antérieurs : *Olea europea sylvestris* est une espèce accumulatrice de métaux lourds, elle peut donc être utilisée comme espèce bio-indicatrice de pollution automobile pour d'éventuelles études écologiques sur la pollution atmosphérique.

Perspectives et recommandations

Pour compléter cette étude, nous suggérons de multiplier le nombre de stations pour une cartographie globale de la pollution au niveau de la région, en parallèle, d'autres espèces de la région doivent être étudiées et comparées.

Il est aussi souhaitable d'effectuer une évaluation des métaux lourds pour cette espèce, et enfin essayer de minimiser les impacts de la pollution automobile en ajoutant des pots catalytiques pour les véhicules à essence et des filtres à poussières pour les véhicules diesel ou GPL.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **AGHABRATI A., HOSSEINI S M., and MARALIAN H. (2008)** .Heavy metal contamination of Soil and Olive Trees (*Olea europeae L*) ;in suburban Areas of Tehran, Iran. *Research journal of Environmental Sciences*, **2(5)**, 323-329.
- **ALTIOK E. 2010.** Recovery of phytochemical from local plants.this in chemical ingeneering. Izmir Institut of Technologie.
- **AMRI B. (2007).** Pollutions et nuisances dans la ville de Constantine : effets et impacts sur l'environnement. *Sciences & Technologie*, **26**, 21-30.
- **BRUNETON J. (1993).** Plantes Médicinales : Phytochimie, Pharmacognosie, 2 éme Ed., Lavoisier, New York, pp 914.
- **BRUNETON J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition., Tec & Doc (Ed). Paris, pp 575.
- **BURNIE G., FORRESTER S., GREIG D. et GUEST S. (2006).** Botanica: Encyclopédie de botanique et d'horticulture. Menges, Paris.
- **CHIFFOLEAU J.C. (2001).** La contamination métallique. Technical report, IFREMER, Région Haute Normandie, (Programme scientifique Seine-Aval).pp 6-7.
- **DEMIRAYAK A., KUTBAY H G., KILIC D. and BILGIN A. (2011).**Heavy Metal Accumulation in Some Natural and Exotic Plants in Samsun City. *Ekoloji*, **20(79)**,1-11.
- **DIALLO A. (2005)** .Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (myrtaceae). Thèse de Doctorat de l'Université de Bamako, Bamako. Mali: Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odoto-Stomatologie).
- **DILEK T., CAFER T., CEMRE K ., PINAR K .,HANDAN G., LEVENT A., and SAIT C S.(2011).** The use of olive tree (*Olea europeae L.*) leaves as a bioindicator for environmental pollution in the Province of Aydın, Turkey. *Environ Sci Pollut Res*,**18**, 355–364.
- **DUFLOT H. (2000).** le frêne en liberté. 2eme Edition institut pour le développement forestier. 192p.

Références bibliographiques

- **DUNET J. (2009).** Réactions de Michael et de Mannich appliquées a des arylcyclohexa-2,5-dienes en vue de la synthese d'alcaloides de type aspidosperma et morphinanes. Doctorat en chimie organique .pp263.
- **ELICHEGARAY C. (2008).** la pollution de l'air : source, effets, prévention. Édition : DUOND.208p.
- **FONTAN J. (2004)** ; les pollutions de l'air : les connaitre pour les combattre. Édition : VUIBURT, 1ère Edition : 211p
- **GARCIA-GOMEZ A., ROIG A., BERNAL M.P.(2003).** Composting of the solid fraction of olive mill wastewater with olive leaves: organic matter degradation and biological activity. *Bioresource Technology*, **86(1)**,59-64.
- **GARREC J.P. (2007).** L'expertise technique et scientifique de référence. Laboratoire Pollution atmosphérique INRA – Centre de recherche de Nancy.
- **GHEDIRA K. (2008).** L'olivier. *Phytothérapie*, **6**, 83-89.
- **GUERIN J., MEKURIA G., BURR M., COLLINS G., SEDGLEY M.(2003).** Selection of olive cultivars. *Acta Horti*, **622**, 231–234.
- **GOODWIN T.W., MERCER E.I. (1983).** Int. Plant Biochem, 2nd ed., Pergamon Press, NY. 677.
- **GUIGNARD J.L. (1996)** .Abrégé de biochimie végétale, Ed. Masson, Paris, 160
- **HANNACHI H., BRETON C., MSALLEM M., BEN EL HADJ S., EL GAZZAH M. and BERVILLÉ A. (2008).** Are olive cultivars distinguishable from oleaster trees based on morphology of drupes and pits, oil composition and microsatellite polymorphisms? *Acta Botanica Gallica*. **155**, 531– 545.
- **HOPKINS G W., EVRARD C.M.(2003).** Physiologie végétale. De Boeck Université, ed, p. 53.
- **HOUËL E. (2011).** Étude De Substances Bioactives Issues De La Flore Amazonienne, Thèse de Doctorat, Spécialité : Chimie des Substances Naturelles Université de Guyane.
- **JACQUES B., and ANDRÉ R. (2004).** Biochimie métabolique Ed ellipses .Paris. pp: 217-219- 220-223-225.
- **J.O. R .A. (2003)** .Journal Officiel de la République Algérienne n° 43, Décret n° 03-10 de 19 juillet 2003 relative à la protection de l'environnement dans le cadre du développement durable.
- **JOËL B., ALAIN C., MICHEL. (2002).** Atlas des intoxications d'origine. Paris.

Références bibliographiques

- **JUDD W.S., CAMPBELL CH S., KELLOGG E.A ET STEVENS P. (2002).** *Botanique systématique une perspective phylogénétique*. 87. végétale. EMC - *Pathologie professionnelle et de l'environnement* , **7(1)**,1-29 [Article 16-065-A-10]
- **KANOUN K. (2011)** .Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de Magister en Biologie. universite aboubekr belkaid tlemcen. p 30-48
- **LHULLIER A. (2007)**. Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* hook.f ex oliver, *Agauria polyphylla* baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* baker (Myrsinaceae). Institut national polytechnique de Toulouse, France.
- **LOUSSERT R., BROUSSE G. (1978)** ; L olivier .Ed . Maisonneuve et Larose , Paris .447 .
- **MACHEIX J.J., FLEURIET A., JAY-ALLEMAND C. (2005)**. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques.
- **MAILLARD R. (1975)** .L'olivier .Maison des agriculteurs .Ed .Invuflec . Paris, 147.
- **MANALLAH A. (2012)** .Activité antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- sétif, 87.
- **MENON S G. and GOSWAMI P C. (2007)**. A redox cycle within the cell cycle: ring in the old with the new. *Oncogene* ,**26**, 1101-1109.
- **METZIDAKIS I T.(1997)**. Proceedings of the third international symposium on Olive growing: Acta Horticulture, Crete, Chania & Greece. 1(474).
- **RENNEBERG R. (2008)**. Biotechnology pour des débutants. Elsevier ; Pp. 92-138. Shastri V. Industrial Biotechnology. Maison d'édition de Gyan, 2006 ; Pp. 1-38.
- **RUGINI E.(1998)** .Somatic embryogenesis and plant regeneration in olive (*Olea europaea* L.). *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* **14(3)**207-214.
- **SANCHEZ-MORENO C., LARRAURI JA. and SAURA-CALIXTO F A . (1998)**.Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal Science Technology International*, **(8)**,121-137.
- **SEKLI-BELAIDI F.(2011)**. Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly (3,4- éthylènedioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur

Références bibliographiques

spécifique des acides ascorbique et urique : application à l'étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguin. Doctorat en Génie des Procédés et de l'Environnement. pp212.

- **SOUCHARD JP., ARNAL JF., ROCHETTE L. (2002).** Les radicaux libres et le stress oxydatif radicalaire. *Techniques en biologie*. **23**,245 – 257
- **TERRAL J F., ARNOLD-SIMARD G. (1996).** Beginnings of Olive Cultivation in Eastern Spain in Relation to Holocene Bioclimatic Changes. *Quaternary Research* **46**, 176–185.
- **THOMAS O.P. (2009).** Métabolisme secondaire et Biosynthèse. Master 2 VEM. Université Nice Sophia Antipolis.
- **VALKO M., RHODES C L., MONCOL I., IZAKOVIC M., MAZUR M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*,160, 1-40.
- **VERGELY C., ET ROCHETTE L. (2003).** Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire. *Médecine thérapeutique Cardiologie*. **1(3)**.131-139
- **VIALA et BOTTA .(2007) .** Toxicologie. 2eme édition : lavoisier. 1065p.
- **ZAIDI M I., ASRAR A. MANSOOR A. et FAROOQUI M A. (2005).** The heavy metal concentration along roadside trees of Quetta and its effects on public health. Ed: Asian Net work for scientific information.
- **ZOHARY D. (1973).**Domestication of plants in the Old World. The origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and the Nile Valley. Clarendon Press, Oxford. 154.
- **ZOHARY D. (1995) .**Olive. *Olea europaea (oleaceae)* In: Smartt J. and Simmonds N.W. (EDS), evolution of crop-plants, Longmans, London. Pp 279-382. 155
- **ZOHARY D., HOPF M. (2000).** Domestication of plants in the old world. 3ème Ed. Oxford University Press, New York.

Références bibliographiques

Liens

- **ANONYME 1** : pollution et santé
<http://www.doctissimo.fr/html/dossiers/pollution/niv2/pollution-automobile.htm>
- **BLANCHARD ET DUCAMP. (2019)** . pollution : la circulation automobile est-elle vraiment coupable ?
<https://auto.bfmtv.com/actualite/pollution-la-circulation-automobile-est-elle-vraiment-coupable-1640409.html>
- **BERRADA S.(2009)** .biochimie appliquée dans les filieres sbssa les glucides : structure, propriétés et applications
<http://biotec.ac-dijon.fr/img/pdf/glucides.pdf>
- **FOURNIER C. (2018)**.Diesel ou essence : qu'est ce qui pollue le plus ?
<https://e-rse.net/diesel-essence-pollution-CO2-particules-fines-271575/#gs.6igb6a>
- **FOURNEST. (1993)**. définition et caractéristiques des métaux lourds.<https://www.institut-numerique.org/i2-definITIONS-et-caracteristiques-des-metaux-lourds-5306014f2e326>
- **FURELAUD G. (2002)**. Glucides et lipides, des sources d'énergie pour l'organisme
(<https://planet-vie.ens.fr/article/1524/glucides-lipides-sources-energie-organisme>
- **GARREC J.P.(2019)** .quel est l'impact de la pollution de l'air sur la végétations ?
<https://www.encyclopedie-environnement.org/vivant/impacts-polluants-air-sur-vegetation/>
- **GÉRARD M.(2001)**. définition et caractéristiques des métaux lourds.<https://www.institut-numerique.org/i2-definITIONS-et-caracteristiques-des-metaux-lourds-5306014f2e326>
- **MAGDELAINE C. (2000)** . pollution de l'air ou pollution atmosphérique : définition.
https://www.notre-planete.info/environnement/pollution_air/pollution-atmospherique.php
- **MIRGHFAIN.(1998)** .définition et caractéristiques des métaux lourds
[.https://www.institut-numerique.org/i2-definITIONS-et-caracteristiques-des-metaux-lourds-5306014f2e326](https://www.institut-numerique.org/i2-definITIONS-et-caracteristiques-des-metaux-lourds-5306014f2e326)

annexes

Annexes

Annexe1 : Absorbance des polyphénols donnée par la station d'ATTOUCHE

arbres	ATT 1	ATT 2	ATT 3	ATT 4	ATT 5
absorbances	1,331	1,226	1,118	1,209	1,219

Annexe2 : Absorbance des polyphénols donnée par la station de KRIM BELKACEM

arbres	KB1	KB2	KB3	KB4	KB5
absorbances	0,855	0,819	1,088	0,945	0,739

Annexe 3 : Absorbances des glucides données par la station d'ATTOUCHE

arbres	ATT1	ATT2	ATT3	ATT4	ATT5
absorbances	0,999	0,777	0,883	1,052	0,863

Annexe 4 : Absorbance des glucides donnée par la station de KRIM BELKACEM

arbres	KB1	KB2	KB3	KB4	KB5
absorbances	0,729	0,649	0,67	0,584	0,657

Annexe 5 : concentrations en polyphénols dans les extraits aqueux des feuilles d'oléastres dans les deux stations.

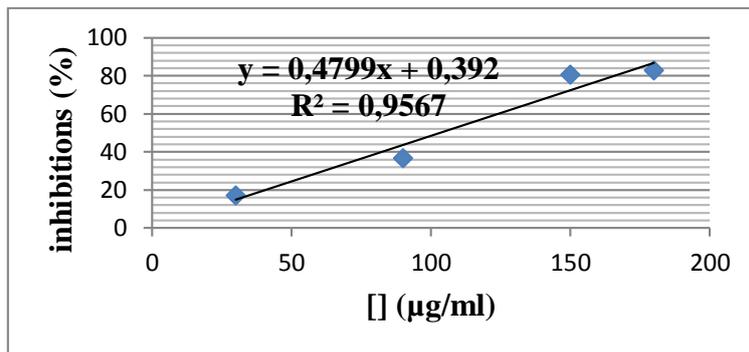
arbres	ATT1	ATT2	ATT3	ATT4	ATT5	KB1	KB2	KB3	KB4	KB5
concentrations polyphenols ($\mu\text{gEAG/mg}$ d'extrait)	2177,5	1990	1797,14	1959,64	2156,85	1327,5	1263,21	1743,57	1488,21	1120,35

Annexe 6 : Concentrations en glucide dans les extraits aqueux des feuilles d'oléastres dans les deux stations.

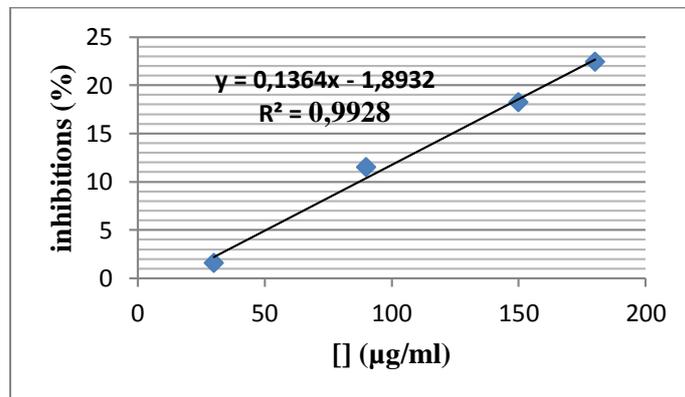
arbres	ATT1	ATT2	ATT3	ATT4	ATT5	KB1	KB2	KB3	KB4	KB5
concentrations en glucides ($\mu\text{gEG/mg}$ d'extrait)	52,91	43,51	48	55,16	47,15	41,48	38,09	38,98	35,34	38,43

Annexes

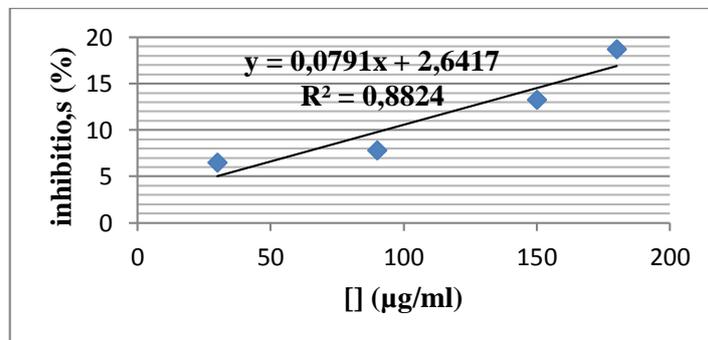
Annexe 7: Courbe des pourcentages d'inhibitions donnée par l'arbre N°1 de la station d'ATTOUCHE



Annexe 8: Courbe des pourcentages d'inhibitions donnée par l'arbre N°2 de la station d'ATTOUCHE

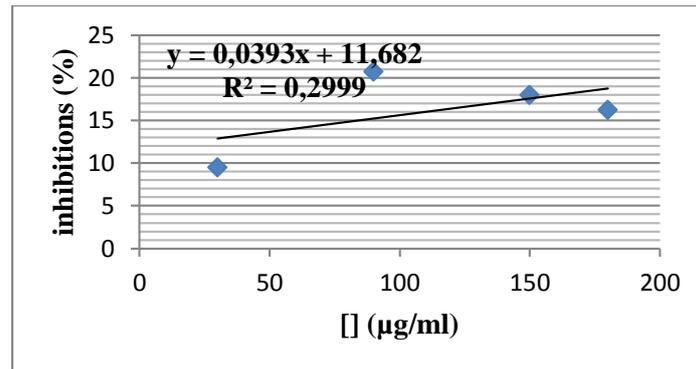


Annexe 9: Courbe des pourcentages d'inhibitions donnée par l'arbre N°3 de la station d'ATTOUCHE

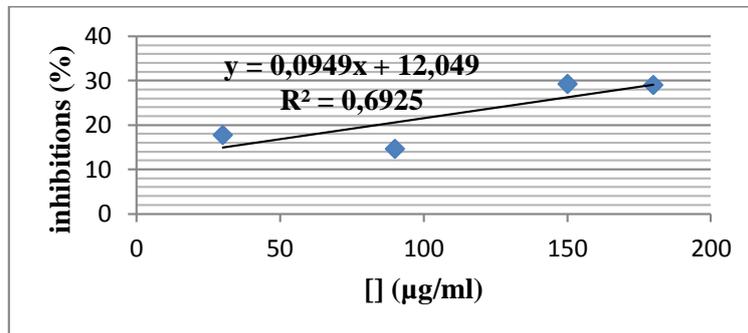


Annexes

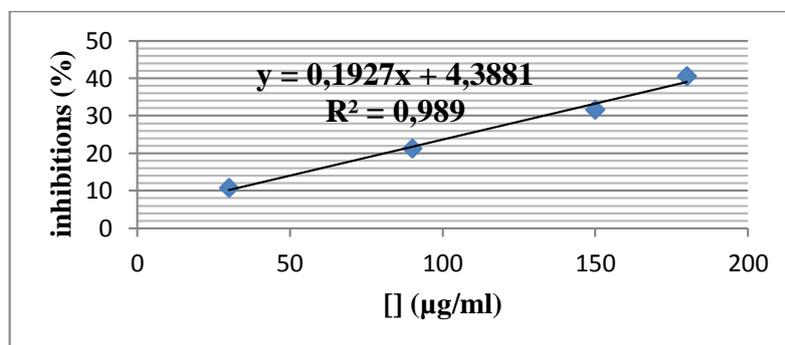
Annexe 10 : Courbe des pourcentages d'inhibitions donnée par l'arbre N°4 de la station d'ATTOUCHE



Annexe 11 : Courbe des pourcentages d'inhibitions donnée par l'arbre N°5 de la station d'ATTOUCHE

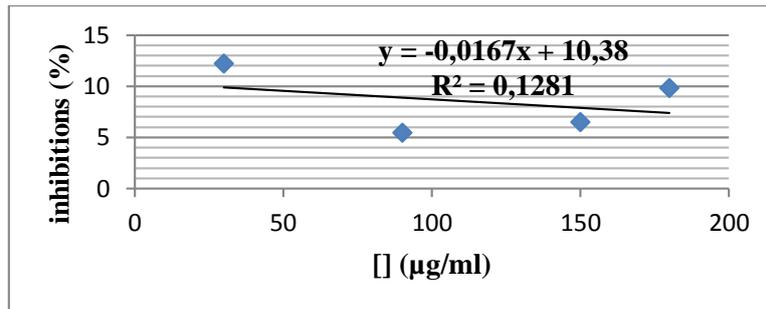


Annexe 12 : Courbe des pourcentages d'inhibitions donnée par l'arbre N°1 de la station de KRIM BELKACEM

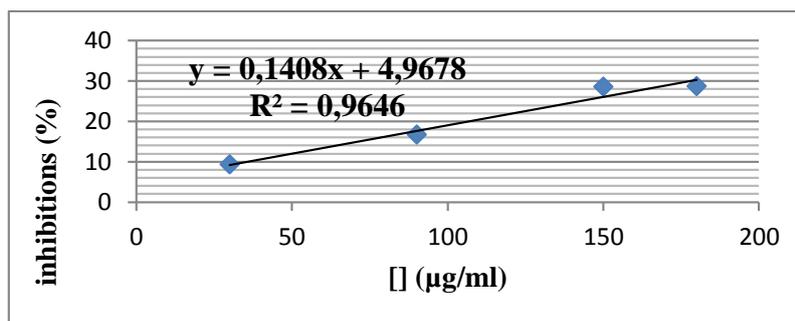


Annexes

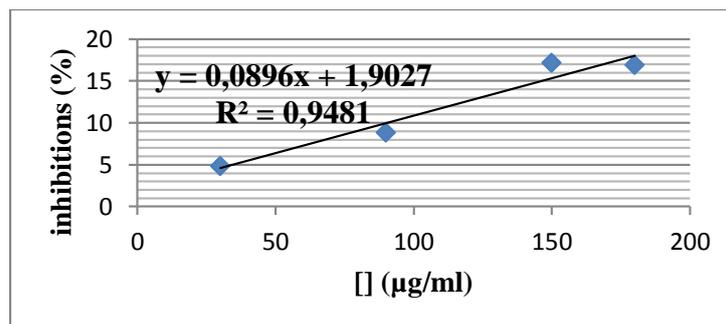
Annexe 13 : Courbe des pourcentages d'inhibitions donnée par l'arbre N°2 de la station de KRIM BELKACEM



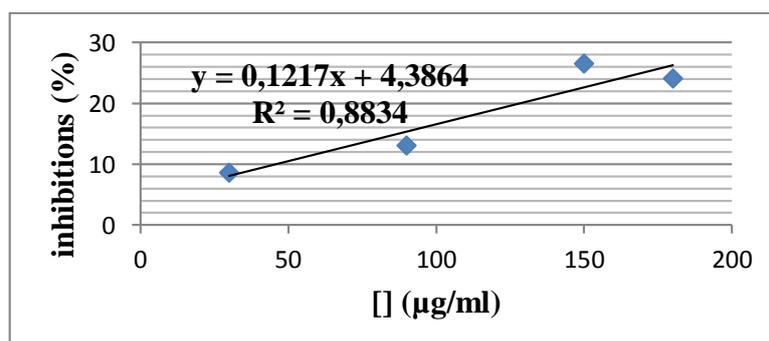
Annexe 14 : Courbe des pourcentages d'inhibitions donnée par l'arbre N°3 de la station de KRIM BELKACEM



Annexe 15 : Courbe des pourcentages d'inhibitions donnée par l'arbre N°4 de la station de KRIM BELKACEM



Annexe 16 : Courbe des pourcentages d'inhibitions donnée par l'arbre N°5 de la station de KRIM BELKACEM



Annexes

Annexe 17 : Tableau d'analyse de variance pour les polyphénols

	ddl	SC	CM	F	Proba
Arbre	1,00	984886,41	984886,41	24,24	0,00
Var. Résiduelle	8,00	325012,64	40626,58		
Total	9,00	1309899,05			

Annexe 18 : Tableau d'analyse de variance pour les glucides

	ddl	SC	CM	F	Proba
Arbre	1,00	296,04	296,04	22,25	0,00
Var. Résiduelle	8,00	106,46	13,31		
Total	9,00	402,51			

Annexe 19 : Tableau d'analyse de variance pour les IC 50

	ddl	SC	CM	F	Proba
Arbre	1,00	0,37	0,37	0,78	0,40
Var. Résiduelle	8,00	3,80	0,48		
Total	9,00	4,17			