

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud MAMMERRI de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie animale et végétale



Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en BIOLOGIE
Option : Génétique et Amélioration des Plantes

Thème

Etude des polyphénols du jujubier (*Zizyphus lotus*) provenant de Mekla (Tizi-Ouzou) et de la daya de Bousdraïa (Djelfa). Evaluation de leur pouvoir antioxydant et leur activité anti bactérienne vis-à-vis de deux bactéries pathogènes et estimation de l'effet bio insecticide de la poudre des fruits à l'encontre d'un insecte ravageur des denrées stockées *Tribolium castanum*.

Présenté par :

M^{elle} AZIBI THANINA

Devant le jury :

Présidente : M^{elle} Mohamed Ouali D.

M.A.A UMMTO

Promotrice : M^{me} Taleb-Toudert K.

M.C.B UMMTO

Co-promotrice: M^{me} Yakoub-Bougdal S.

Professeur UMMTO

Examineur: M^r Medjebeur Dj.

M.A.A UMMTO

Examinatrice : M^{me} Sahmoune-Sidi mansour F.

M.A.A UMMTO

Invité: M^r Baik N.

Doctorant en GAP à l'USTHB

Promotion 2014 /2015

Remerciements

Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'ALLAH qui m'a donné la force afin de l'accomplir.

Je tiens à exprimer mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à ma promotrice, le docteur Taleb-Toudert Karima, qui a su, me conseiller et m'orienter tout au long de la réalisation de ce travail.

Merci infiniment à ma Co-promotrice le professeur Yakoub-Bougdal Saliha, qui m'a formée et guidée, tout le travail expérimentale été effectué dans son laboratoire (laboratoire de CIV, département de biologie, UMMTO).

Je remercie vivement les membres du jury:

Mademoiselle Mohamed Ouali D. Maître Assistante chargée de cours à l'UMMTO d'avoir accepté de présider le jury.

Madame Sahmoune – Sidi mansour F. Maître Assistante chargée de cours à l'UMMTO et Monsieur Medjebeur Dj. Maître Assistant chargé de cours à l'UMMTO pour l'intérêt qu'ils ont accordé à mon travail en acceptant de l'examiner.

Mes vifs remerciements s'adressent à Monsieur Baik Nordine pour sa précieuse aide, et sa contribution à la réalisation de ce travail. A Monsieur Féraguig avec sa bonne humeur, à madame Lakabi pour soon soutien matériel et moral, à Monsieur Houali de m'avoir ouvert son laboratoire, à Monsieur Moualek qui m'a beaucoup aidée, à Monsieur Benghanem qui est une source de connaissance inestimable, à monsieur Amirouche et Monsieur Adkhis. Mes remerciements s'adressent à Monsieur Bezazi et Monsieur Akouche qui m'ont très bien accueillie à Boumerdès lors de mon déplacement, à monsieur Deguiche qui a toujours répondu oui aux demandes de produits. Le staff de la bibliothèque particulièrement Da Youcef. Aux ingénieurs de laboratoire commun I et II pour leurs précieuses aide lors de la pratique, à Da Moh

Allileche qui m'a aidée lors de l'échantillonnage. A tous mes professeurs qui ont contribué à ma formation depuis la 1^{er} année jusqu'à aujourd'hui.

A mes amis, Hakima qui a été toujours là pour moi et m'a beaucoup aidée dans la réalisation de ce travail, à ma très chère SARA, à Moussa le rigolo, et Hocine, Juba, Aldjia le choux du laboratoire, et bien sûr sans oublier Mokho qui m'a toujours soutenue. Merci infiniment à vous tous mes amis.

Je remercie toutes les personnes qui ont contribué de loin ou de pré à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail à

Mes chers parents

Je ne trouverai jamais les mots pour vous exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour et la tendresse dont vous avez fait preuve

à mon égard mais surtout pour votre présence à mes côtés dans les moments les plus difficiles. Je ne vous remercierai jamais assez pour l'encouragement que vous me portez chaque jours et le soutien que vous me portez à tout

moment dans ma vie et durant tout le long de mes études.

Ma très chère madame Taleb, ma deuxième mère, pour votre présence, disponibilité et votre soutien.

Mes sœurs pour leur disponibilité, leur soutien moral et leur encouragement incessant.

Mes Amis et à tout ceux qui ont donné sans attendre rien en retour.

Figure 1 : Morphologie générale de *Zizyphus lotus* (Mekla, 2015)

Figure 2 : Feuilles de *Zizyphus lotus* (Mekla, 2015)

Figure 3 : Fleur de *Zizyphus lotus* observées à la loupe binoculaire (G : 2× 10) (laboratoire de CIV, UMMTO, 2015)

Figure 4 : Fruits de *Zizyphus lotus* (laboratoire de CIV, UMMTO, 2015)

Figure 5 : Aire de répartition de *Zizyphus lotus* L. en Algérie (Quezel et Santa, 1962).

Figure 6 : Voies de Biosynthèse des composés phénoliques (Macheix, 2005)

Figure 7 : Structure générale des flavonoïdes (Bruneton, 1999)

Figure 8 : Différentes classes de polyphénols (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

Figure 9 : Schéma récapitulatif des composés phénoliques dans la plante et leur importance pour l'homme (Macheix, 2005).

Figure 10 : Cycle cellulaire standard des cellules eucaryotiques (Callen ,2005)

Figure 11 : Schéma montrant les différents phases de la mitose (ALBERTet al., 2011)

Figure 12 : Chromosome métaphasique (Callen, 2005)

Figure 13: Fruits, pulpes, noyaux et graines de *Zizyphus lotus*

Figure14 : Feuilles des deux populations de *Zizyphus lotus*

Figure 15: Station de Mekla (2015)

Figure 16 : Station de Bousdraia (2015)

Figure 17: Répartition géographique des régions d'études (Mekla et la Daya de Bousdraïa)

Figure 18 : Mesure des largeurs

Figure 19 : Mesure du diamètre du fruit et longueur des feuilles

Figure 20 : Procédé de la mise en germination des graines de *Z. lotus*

Figure 21 : Etapes de l'extraction par hydrolyse acide selon (Lebreton 1967)

Figure 22 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

Figure 23 : Femelle et mâle de *T. castaneum* observés à la loupe binoculaire G : 2×10 (laboratoire de CIV, UMMTO, 2015)

Figure 24 : Dispositif expérimentale du bio test (*T. castaneum*- poudre de *Z. lotus*)

Figure 25 : Moyennes des longueurs des feuilles des deux populations

Figure 26 : Moyennes des largeurs des feuilles des deux populations

Figure 27 : Moyennes des diamètres des fruits des deux populations

Figure 28: Projection des individus (a) et l'ensemble des caractères (b) de *Zizyphus lotus* sur le plan 1-2 de l'ACP

Figure 29 : Taux de germination des graines de *zizyphus lotus* (population 1)

Figure 30 : Taux de germination des graines de *zizyphus lotus* (population 2)

Figure 31 : Germination des graines de *Zizyphus lotus*

Figure32 : Chromosomes de *Zizyphus lotus* observés au microscope photonique G:40×10(Laboratoire de CIV, 2015).

Figure 33: Moyenne des teneurs absolues des trois classes étudiées des feuilles et des fruits de la population 1

Figure34: Moyenne des teneurs absolues des trois classes étudiées des feuilles et des fruits de la population 2

Figure 35 : Moyenne ± écarts types des teneurs absolues en anthocyanes des fruits des deux populations.

Figure 36 : Moyenne ±écarts types des teneurs absolues en C-glycosylflavones des fruits des deux populations.

Figure 37: Moyennes ± écarts type des teneurs absolues en aglycones des fruits des deux populations.

Figure 38: Moyenne \pm écarts types des teneurs absolues en anthocyanes des feuilles des deux populations.

Figure 39: Moyennes \pm écarts type des teneurs absolues en C-glycosylflavones des feuilles des deux populations.

Figure 40 : Moyenne \pm écarts types des teneurs absolues en aglycones des feuilles des deux populations

Figure 41: Les C-glycosides extraits des fruits des deux populations de *Zizyphus lotus* n'ont pas eu d'effet important sur la croissance des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* qui s'est traduit par l'apparition de zone d'inhibition de faible diamètre (flèche)

Figure 42 : les anthocyanes extraits des fruits et feuilles des deux populations de *Z.lotus* ont inhibé la croissance des colonies de *S.aureus*. Les zones d'inhibitions sont nettes (flèches)

Figure 43: Les C-glycosides extraits des fruits et feuilles des deux populations de *Z.lotus* ont inhibé la croissance des colonies de *S.aureus*. Les zones d'inhibition sont visibles et importantes (flèches).

Figure 44: Les Aglycones extraits des fruits et feuilles des deux populations de *Z.lotus* ont inhibé la croissance des colonies de *S.aureus*. Les zones d'inhibitions sont importantes (flèches).

Figure 45 : Diamètres moyens des zones d'inhibition de la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* par les C-glycosides

Figure 46 : Diamètres moyens des zones d'inhibitions de la croissance de *staphylococcus aureus* par les C-glycosides des deux populations.

Figure 47 : Diamètres moyens des zones d'inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* par les anthocyanes des deux populations.

Figure 48 : Diamètre moyens des zones d'inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* par les aglycones des deux populations.

Figure 49 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH des anthocyanes provenant des fruits des deux populations.

Figure 50 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH des anthocyanes des feuilles des deux populations.

Figure 51 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH des C-glycosides des fruits des deux populations.

Figure 52 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH des C-glycosides des feuilles des deux populations.

Figure 53 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH des aglycones des fruits des deux populations.

Figure 54: Pourcentages de réduction du radical libre DPPH des aglycones des feuilles des deux populations.

Figure 55: La classification des polyphénols chez les Spermaphytes peuvent être résumées selon Salunkhe (1990) *in* Bessas *et al* (2008).

Tableau 1 : Teneurs de la pulpe du jujubier frais en métabolites primaires (Bellakhdar, 1997).

Tableau 2 : Composition chimique des différentes parties de *Zizyphus lotus*

Tableau 3 : quelques exemples de composés des classes de composés phénoliques et leur origines (Macheix et al, 2005)

Tableau 4 : Caractéristiques Bioclimatiques et Floristiques des stations de récoltes

Tableau 5: Moyenne \pm écarts types des longueurs des feuilles de *Z. lotus* des 2 populations étudiées

Tableau 6 : Moyenne \pm écarts types des largeurs des feuilles de *Z. lotus* des 2 populations étudiées

Tableau 7: Moyenne \pm écarts types des diamètres des fruits de *Z. lotus* des 2 populations étudiées

Tableau 8: Taux de germinations (%) des graines de *Zizyphus lotus* de la population 1 Tizi-Ouzou (Mekla)

Tableau 9 : Taux de germinations (%) des graines de *Zizyphus lotus* de la population 2 Djelfa (Daya)

Tableau 10: Indice de germination des 2 populations

Tableau 11 : Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues en anthocyanes des fruits des deux populations

Tableau 12 : Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues des C-glycosyl flavones des fruits des deux populations

Tableau 13 : Moyennes \pm écarts types des Teneurs absolues en aglycones des fruits des deux populations

Tableau 16 : Moyennes \pm écarts types des aglycones des feuilles des deux populations.

Tableau 14 : Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues en anthocyanes des feuilles des deux populations

Tableau 15 : Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues en C-glycosylflavones des feuilles des deux populations

Tableau 17 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne obtenus par différents extraits du *Zizyphus lotus* de la population 1.

Tableau 18: Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne obtenus pour les différents extraits du *Zizyphus lotus* de la population 2

Tableau 19 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition de la croissance *Pseudomonas aeruginosa* par les C-glycosides du *Zizyphus lotus* des deux populations \pm écarts types

Tableau 20: Moyennes \pm écarts types des diamètres des zones d'inhibition de la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* en présence des anthocyanes et des aglycones de *Zizyphus lotus* des deux populations

Tableau 21: Moyennes \pm écarts types des diamètres des zones d'inhibition de la croissance *Staphylococcus aureus* par les c-glycosides du *Zizyphus lotus* des deux populations.

Tableau 22: Moyenne \pm écarts types des diamètres des zones d'inhibition de la croissance *Staphylococcus aureus* par les anthocyanes du *Zizyphus lotus* des deux populations

Tableau 23: Moyenne \pm écarts types des diamètres des zones d'inhibition de la croissance *staphylococcus aureus* par les aglycones du *Zizyphus lotus* des deux populations.

Tableau 24: Valeurs des concentrations EC50 des différentes classes phénoliques étudiées

Tableau 25 : Population 1 Tizi-Ouzou (Mekla)

Tableau 26 : Population 2 Djelfa (Daya de Bousdraïa)

Tableau 27: Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues en anthocyanes des fruits des deux populations

Tableau 28: Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues des C-glycosylflavones des fruits des deux populations

Tableau 29: Moyennes \pm écarts types des Teneurs absolues en aglycones des fruits des deux populations

Tableau 30: Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues en anthocyanes des feuilles des deux populations

Tableau 31: Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues en C-glycosylflavones des feuilles des deux populations.

Tableau 32: Moyennes \pm écarts types des aglycones des feuilles des deux populations

Tableau 33 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) des composés phénoliques étudiés sur *Pseudomonas aeruginosa*

Tableau 34 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) des composés phénoliques étudiés sur *Staphylococcus aureus*

Tableau 35: pourcentage du DPPH réduit par les différents extraits de *Z. lotus*

Tableau 36 : Analyse de la variance au seuil 5% pour le paramètre longévité des adultes de *T. castaneum* avec la poudre des fruits de *Z. lotus*

Tableau 37 : Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur dose de poudre de *Z. lotus* par contact sur la longévité des adultes de *T. castaneum*

Sommaire

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
I. Etude bibliographique	
1. Généralités sur <i>Zizyphus lotus</i>	3
1.1 Description botanique de <i>Zizyphus lotus</i>	3
1.2 Classification botanique	5
1.3 Répartition géographique	
1.4 Généralités sur les composées phénoliques	7
1.5 Composition biochimique de <i>Zizyphus lotus</i>	8
1.5.1 Métabolites primaires	8
1.5.2 Métabolites secondaires	9
1.5.3 Propriétés de <i>Zizyphus lotus</i>	10
1.5.3.1 Propriétés anti-inflammatoires et analgésiques	10
1.5.3.2 Propriétés anti-fongiques et anti-mollusques	10
1.5.3.3 Propriétés anti-ulcérogéniques	10
1.5.3.4 Autres propriétés	10
1.6 Structure et classification des polyphénols	11
1.6.1 Les non-flavonoïdes	11
1.6.2 Les flavonoïdes (C6-C3-C6)	11
1.7 Intérêts et rôles des composées phénoliques	13
1.7.1 Rôle pour la plante	13
1.7.2 Rôle pour l'homme	14
2. Notion de cytogénétique	15
2.1 cycle cellulaire	16
2.1.1 La Mitose	16
2.2 Variation du nombre de chromosomes chez les plantes	17
2.3 Structure et morphologie du chromosome métaphasique	18
II. Matériels et méthodes	
1. Matériel végétal	19
1.1. Stations d'échantillonnage des populations	19
1.2. Les fruits	20

1.3. Les feuilles.....	21
2. Méthodes.....	22
2.1. Mesures morpho métriques des feuilles et fruits de <i>Zizyphus lotus</i>	22
2.2. Essais de germination	23
2.3. Etude cytogénétique de <i>Zizyphus lotus</i>	25
2.4. Extraction par hydrolyse acide	27
2.5. Analyses quantitatives	29
3. Activités biologiques	30
3.1. Activité antimicrobienne des polyphénols du jujubier	30
3.1.1. Préparation des pré-cultures	30
3.1.2. Préparation de la suspension bactérienne	30
3.1.3. Mesure de l'activité antimicrobienne.....	31
3.1.4. Concentration minimale inhibitrice (CMI)	31
3.2. Activité antioxydante au DPPH	31
3.3. Tests de toxicité de la poudre des fruits de <i>Z. lotus</i>	32
4. Analyse statistique	35
III. Résultats et discussion	
1. Résultats de la variabilité morphologiques des populations naturelles de <i>Zizyphus lotus</i>	37
1.1.Comparaison des moyennes de différents caractères étudiés	37
1.2.Etude des caractères par l'analyse en composante principales l'ACP.....	40
2. Essais de germination.....	41
3. Etude cytogénétique	45
4. Dosage quantitative des polyphénols de <i>Zizyphus lotus</i>	46
4.1. Résultats de comparaison intra-population	47
4.1.1. Population 1.....	47
4.1.2. Population 2.....	48
4.2.Résultats de comparaison inter-populations	48
4.2.1. Fruits	48
4.2.2. Feuilles	51
5. Résultats des activités biologiques des polyphénols de <i>Zizyphus lotus</i>	54
5.1. Activités microbiennes	54
5.2. Activités antiradicalaire du DPPH	66

5.2.1. Anthocyanes	67
5.2.2. C-glycosides	68
5.2.3. Aglycones	70
5.3. Résultats du Tests de toxicité de la poudre des fruits de <i>Z. lotus</i>	72
Conclusion et perspectives	74
Références bibliographique	
Annexes	

Introduction

Le cortège floristique mondial apparaît comme une alternative pour l'élaboration de nouvelles formules pharmaceutiques facilement accessibles à la population. En effet, la médecine traditionnelle a regagné un engouement ces dernières années ce qui a suscité l'intérêt d'une partie non négligeable de la communauté scientifique qui a permis l'isolement de plusieurs principes actifs d'origine naturelle. Cependant, le potentiel des plantes comme source de médicaments est largement inexploité (Hamburger et Hostettinan, 1991).

La plupart des aliments de l'homme proviennent du règne végétal. Ces produits naturels lui apportent des macronutriments tels que les matières grasses, les sucres et les protéines dont il a besoin. Outre, ces macronutriments énergétiques, il existe d'autres substances dites secondaires qui sont de plus en plus populaires pour leurs effets bénéfiques sur la santé des consommateurs (Mbaogaou et *al.*, 2013).

Ce sont les polyphénols généralement antioxydants qui interviennent dans la prévention de maladies cardiovasculaires et d'autres maladies dégénératives liées au stress (Navindra, 2008).

En fait, des maladies liées au stress antioxydant apparaissent de plus en plus avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes (sonal et *al.*, 2002). Mates et Sanchez-Limenez (2002) affirment que le stress oxydant est la principale cause de plusieurs maladies et serait le facteur potentialisant favorisant l'apparition de maladies comme le diabète, Alzheimer, rhumatismes et insuffisances cardio-vasculaires. C'est ainsi que nous sommes intéressées à l'étude des extraits des feuilles et des fruits d'une Rhamnaceae utilisée dans la pharmacopée Nord Africaine *Zizyphus lotus* et ce par extraction des polyphénols et leur confrontations à deux bactéries pathogènes de l'homme *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* qui est un agent nosocomial redoutable.

Zizyphus lotus est méditerranéen avec une faible pénétration dans le Sahara septentrional (Maroc, Algérie, Tunis, Libye). Elle réapparaît ensuite au Yemen, dans l'île de Socotra, au Moyen orient, en Palestine, Syrie, Turquie et à Chypre et enfin en Grèce, Sicile et Espagne méridionale (Ghedira, 2013).

Les fruits de *Z. lotus* seraient encore consommés par quelques tribus berbères du Maghreb. En Tunisie, le fruit est apprécié autant comme friandise que comme aliment. Les feuilles et les fruits réduits en poudre et mélangés avec de l'eau ou du lait sont utilisés comme emplâtre sur les furoncles et les abcès (Le Floc'H, 1983).

De nombreux auteurs comme Paris et Dillemann (1960) soulignent les propriétés émoullientes du fruit. Bellakhdar (1997) justifie l'utilisation des fruits pour leurs propriétés fébrifuges tonifiantes et revigorantes. Hormis, leurs effets bénéfiques sur la santé, les substances d'origine naturelle suscitent un intérêt bien particulier dans la lutte contre de nombreux ravageurs des denrées stockées qui causent près de 35% de la production agricole mondiale. Parmi ces ravageurs *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae). C'est une espèce cosmopolite qui recherche surtout les denrées amylacées pulvérulentes telle la farine, le son ..., leur occasionnant des dommages importants dus d'avantage à la souillure de la denrée par les excréments et les dépouilles larvaires qu'à la consommation propre de matière. La farine en particulier perd rapidement toute valeur commerciale (Lepesme, 1942).

Jarraya (2003) décrit *T. castaneum* comme étant de loin le plus important ravageur des grains stockés en Afrique du nord. Ainsi pour contrôler, la pullulation des insectes des denrées stockées, différentes méthodes ont été utilisées.

Les insecticides ou les fumigants sont appliquées depuis plusieurs décennies pour lutter contre ces ravageurs. Malheureusement, des résidus toxiques et l'apparition d'insectes résistants diminue leur efficacité polluent l'environnement et sont la cause de nombreuses maladies.

Dans cet ordre d'idée nous nous proposons de tester dans les conditions de laboratoire, l'effet bio insecticide de la poudre des fruits de *Z. lotus* sur les adultes de *T. castaneum*.

Et pour tester l'efficacité du principe actif de cette espèce, nous l'avons testé sur deux bactéries pathogènes à savoir *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

Notre travail est devisé en 3 parties :

La première partie est consacrée à la bibliographie relative à *Z. lotus*, les polyphénols et *T. castaneum*.

La deuxième partie abordera le matériel et les méthodes utilisées.

La troisième partie est consacrée aux résultats et discussion et enfin le travail sera clos par une conclusion

Etude bibliographique

1. Généralités sur *Zizyphus lotus*

1.1 Description botanique de *Zizyphus lotus*

Le jujubier (*Zizyphus lotus*) est un arbuste fruitier, épineux appartenant à la famille des Rhamnacées (Rsaissi et Bouchache, 2002). Il est Communément appelé en Afrique du Nord "Sedra" (Borgi et al. (2007 a)). Il forme des touffes de quelques mètres de diamètre pouvant atteindre 2m de haut (Fig1).



Figure 1 : Morphologie générale de *Zizyphus lotus* (Mekla, 2015)

Les feuilles sont petites, alternes, obtuses, crénelées, à trois nervures, glabres, faiblement rigides, de 7 à 9 mm de large et de 9 à 13 mm de long, à pétiole court. (fig2), Les fleurs sont de couleur jaune, solitaires ou groupées avec un seul pédicelle court. Le calice est en forme d'entonnoir et pentamère. La corolle est petite à cinq pétales, à cinq étamines épipétales avec deux styles courts (Ghedira, 2013) (Fig3).



Figure 2 : Feuilles de *Zizyphus lotus* (laboratoire de CIV, UMMTO, 2015)

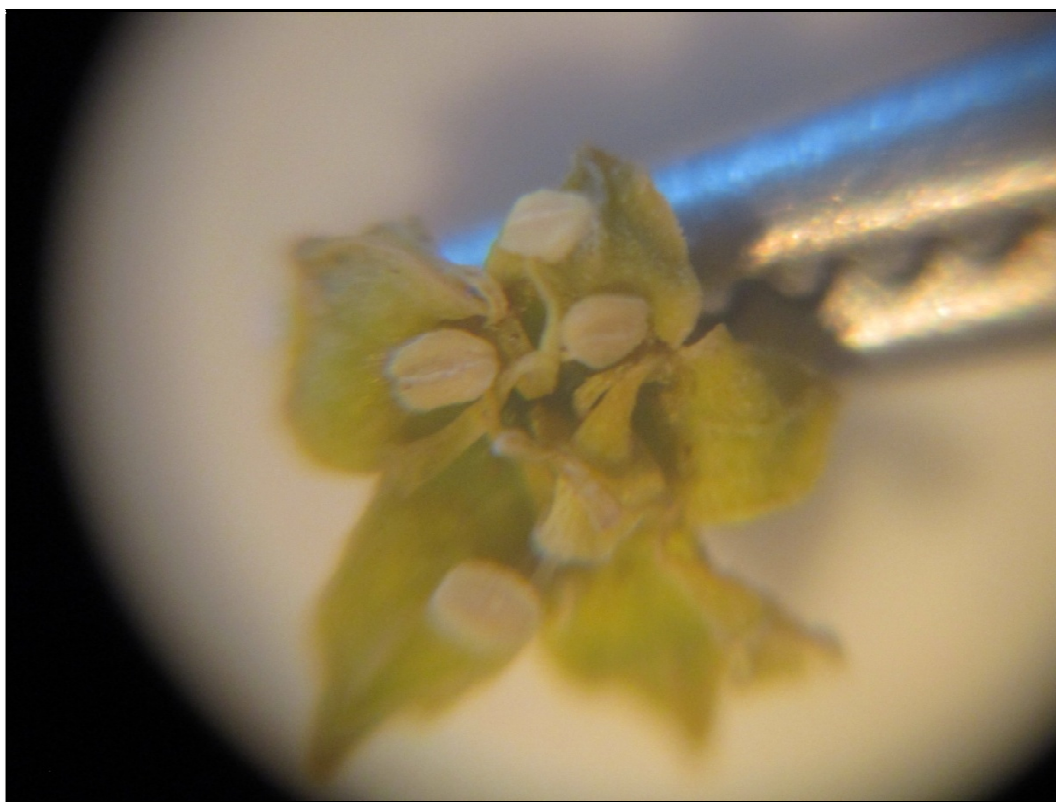


Figure 3 : Fleur de *Zizyphus lotus* observées à la loupe binoculaire (G : 2× 10) (laboratoire de CIV, UMMTO, 2015)

Les fruits sont des drupes à noyaux soudés de la grosseur d'un pois, de couleur brun clair, à pulpe farineuse douceâtre et aromatique (Baba Aissa, 1999 ; Ozenda, 2004). (fig4).



Figure 4 : Fruits de *Zizyphus lotus* (laboratoire de CIV, UMMTO, 2015)

1.2 Classification botanique

Zizyphus lotus appartient à la famille des Rhamnacées, sa position systématique selon Cronquist (1981) est la suivante:

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae
Sous-famille	Paliureae
Genre	<i>Zizyphus</i>
Espèce	<i>Zizyphus lotus</i>

- D'autres espèces de *Zizyphus* existent à travers le monde, les plus connues sont :
Zizyphus mucronata Willd (Malgras, 1992 ; Boullard, 2001).
Zizyphus spina christi (L.) Willd (Baba Aissa, 1999; Boullard, 2001).
Zizyphus saharae Batt (Baba Aissa, 1999).
Zizyphus spinosa (Iserin, 2001).
Zizyphus jujube Mill (Dobignard et al., 2013).
Zizyphus mauritiana Lam (Dobignard et al., 2013).

1.3 Répartition géographique :

Dans le monde, le genre *Zizyphus* renferme environ 50 espèces des régions tropicales et subtropicales des deux hémisphères. L'une d'entre elles, *Zizyphus lotus*, est spontanée dans le sud de l'Espagne et du Portugal, en Sicile et en Grèce (Bross, 2000). Elle se rencontre aussi dans les steppes désertiques d'Afrique du Nord et Asie Mineure (Paris et Dillemann, 1960).

Zizyphus lotus est répandu dans toute l'Algérie sauf dans le Tell Algéro-constantinois (Quezel et Santa, 1962). (fig5).

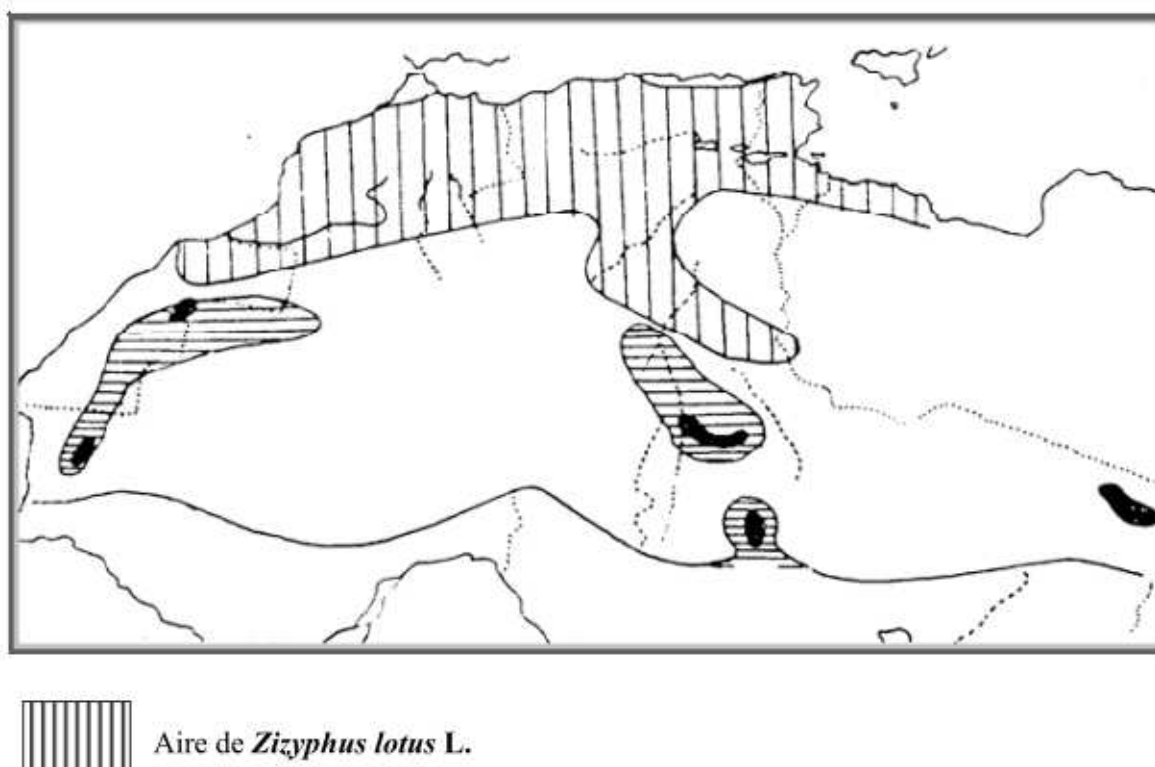


Figure 5 : Aire de répartition de *Zizyphus lotus* L. en Algérie (Quezel et Santa, 1962).

1.4 Généralités sur les composés phénoliques

Les polyphénols sont issus du métabolisme secondaire des plantes, connus pour leur grande diversité chimique. Ces molécules présentent toutes un point commun, la présence d'au moins un cycle aromatique qui est un phénol à 6 carbones (C6) lui-même porteur d'une ou de plusieurs fonctions hydroxyles (OH) (Bahorun, 1997), libres ou engagés dans une autre fonction chimique : éther, ester, hétéroside (Bruneton, 1993).

Chez les végétaux, les composés phénoliques dérivent à partir du métabolisme primaire ou central (Bioley et *al.*, 1987). Ce métabolisme intervient directement dans la synthèse du squelette carboné du substrat précurseur (l'acide shikimique) par la voie du métabolisme des glucides.

Par les voies de la β -oxydation des acides gras et de celle des acides aminés se forme le deuxième précurseur, le malonyl CoA. Ces voies fournissent aussi les acides aminés aromatiques (tyrosine, tryptophane et phénylalanine).

Dans la dernière étape, il y a soit :

- désamination de la phénylalanine par l'intervention de la phényl-alanine-amonia-lyase (PAL) permettant de synthétiser l'acide cinnamique principal précurseur.

- désamination de la tyrosine par l'intervention de la tyrosine-amonia-lyase (TAL) permettant de synthétiser l'acide p-coumarique. Ces derniers se convertissent en autres acides phénols (cinnamiques, benzoïques et coumarines) et en divers autres dérivés phénoliques (flavonoïdes, isoflavonoïdes, tanins, lignine, quinones et stilbènes) (Bruneton, 1993).

Les différentes voies de biosynthèse des composés phénoliques sont schématisées dans la figure 6.

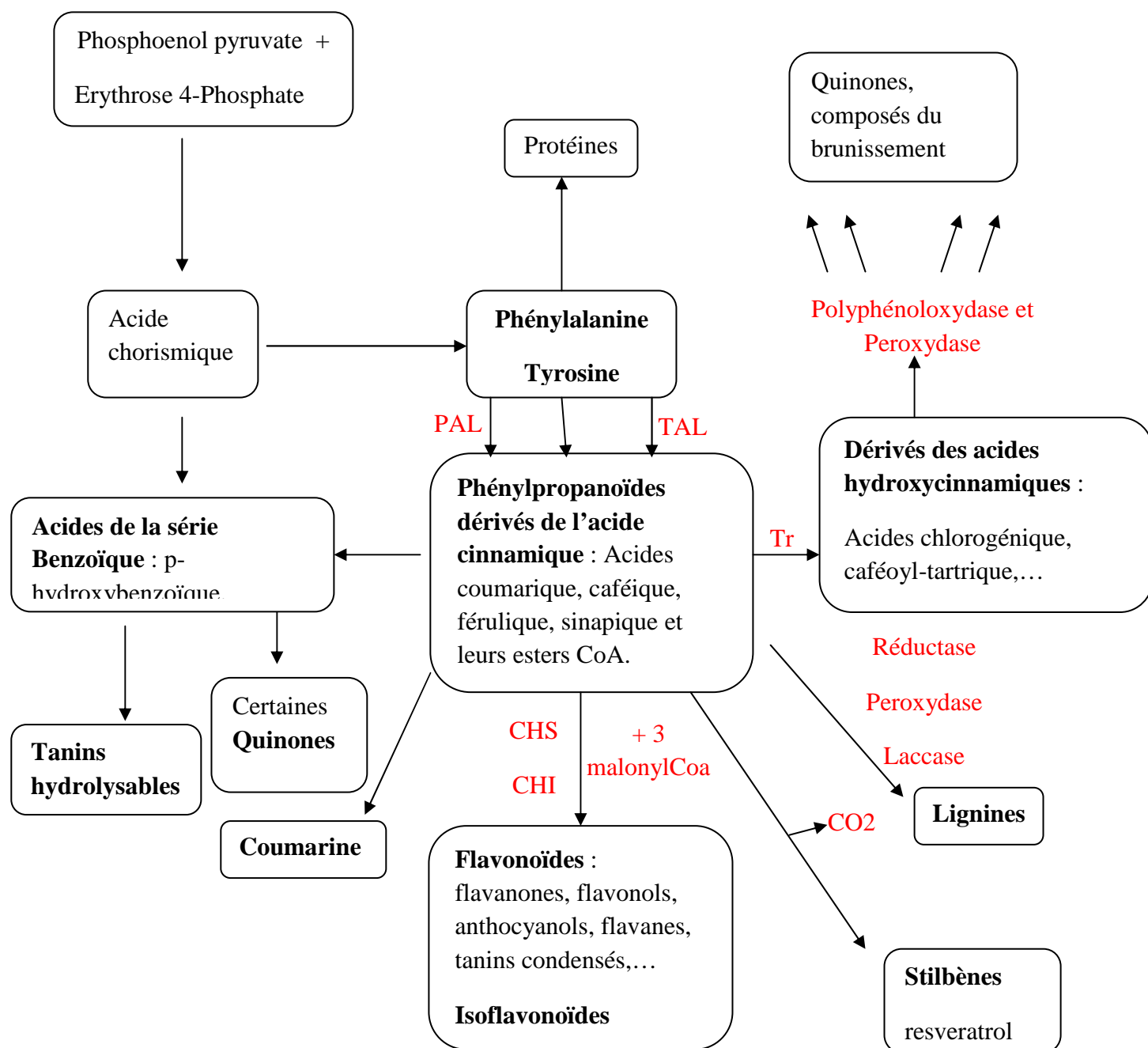


Figure 6 : Voies de Biosynthèse des composés phénoliques (Macheix, 2005)

1.5 Composition biochimique de *Zizyphus lotus*

Les études biochimiques menées sur *Zizyphus lotus* montrent la présence de métabolites primaires et secondaires ainsi que des éléments minéraux, de la vitamine C et de l'eau (64% à 85%)

1.5.1 Métabolites primaires

Les principaux métabolites primaires isolés de la pulpe fraîche du fruit du jujubier sont groupés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Teneurs de la pulpe du jujubier frais en métabolites primaires (Bellakhdar, 1997).

Fraction de la pulpe du fruit	Pourcentage
Sucres	20% à 32%
Lipides	0,1% à 0,3%
Protides	0,8% à 2,1%

La pulpe du fruit de *Zizyphus lotus* est très riche en sucres mais très pauvre en composés lipidiques et protidiques

1.5.2. Métabolites secondaires

Zizyphus lotus est connu par son contenu en molécules biologiquement actives tels que les polyphénols (flavonoïdes, tanins), les triterpènes, les anthraquinones, les alcaloïdes (cyclopeptides et isoquinolides), et les saponosides (Catoire et *al.*, 1999 ; Borgi et Chouchane, 2006).

Les principaux métabolites secondaires identifiés dans les différents organes de *Z. lotus* sont synthétisés dans le tableau 2.

Tableau2 : Composition chimique des différentes parties de *Zizyphus lotus*

Organe végétale	Composition chimique	Références
Fruits	- flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, saponines.	(Borgi et <i>al.</i> , 2007(b))
Feuilles	- flavonoïdes, tanins, alcaloïdes - saponines de type dammarane : .Jujuboside B . Jujubogenin glycoside . dérivé sulfaté de jujubosaponine	(Borgi et <i>al.</i> , 2007(b)) (Macuik et <i>al.</i> , 2004)
Ecorce des racines	- flavonoïdes, saponines de	(Ghedira, 2013)

	type damarane	(Borgi et al., 2007(a))
	- tanins	(Borgi et al., 2007(b))
	-alcaloïdes	
	cyclopeptidiques lotusines	
	A-G	

1.5.3. Propriétés de *Zizyphus lotus*

Les recherches actuelles sur les différentes activités pharmacologiques de *Zizyphus lotus* ont ressorti plusieurs effets de grande importance pour la médecine moderne. Elles sont développées ci-dessous.

1.5.3.1. Propriétés anti-inflammatoires et analgésiques

Les flavonoïdes et les saponines de l'écorce des racines du *Zizyphus lotus* ont montré une activité anti-inflammatoire significative (Borgi et Chouchane, 2006).

Zizyphus lotus inhibe la production de monoxyde d'azote (NO). Cette activité apparaît potentiellement avec l'extrait méthanolique de l'écorce des racines qui est la source possible de l'agent anti-inflammatoire dans la réaction de l'hypersensibilité retardée induite par l'oxazolone (Borgi et al., 2008).

Les feuilles de *Zizyphus lotus* possèdent des effets analgésiques attribués à leur contenu en principes actifs ; les flavonoïdes et les saponines (Borgi et al., 2007 (a) ; Borgi et al., 2008).

Toutes ces activités confirment l'usage traditionnel de cette plante dans Certaines maladies inflammatoires et douloureuses (Borgi et al., 2007(a)).

1.5.3.2. Propriétés anti-fongiques et anti-mollusques

Les différents extraits (éthéré, chloroformique, extrait d'acétate d'éthyle et méthanolique) de *Zizyphus lotus* se sont avérés très actifs « in vitro » vis-à-vis de neuf souches de champignons pathogènes et du mollusque *Balinus truncatus* (hôtes intermédiaires et vecteurs de la transmission de la bilharziose) (Lahlou et al., 2002).

1.5.3.3. Propriétés anti-ulcérogéniques

Les feuilles et l'écorce des racines de *Z. lotus* possèdent une importante activité Anti-ulcérogénique attribuée à la présence de tanins et de flavonoïdes connus pour leurs effets gastroprotecteurs (Borgi et al., 2007(b)).

1.5.3.4. Autres propriétés

Baba Aissa (1999) a rapporté que *Zizyphus lotus* est un diurétique et émollient puissant et présente des propriétés sédatives et toniques.

1.6. Structure et classification des polyphénols

Cheyrier (2005) a classé les polyphénols en deux classes majeurs : les flavonoïdes et les non- flavonoïdes.

1.6.1. Les non-flavonoïdes

Cette classe renferme des molécules simples tels que les acides phénoliques (dérivés hydroxybenzoïques, hydroxycinnamiques et coumarines), les stilbènes, et des molécules complexes comprenant les oligomères de stilbènes, tanins et lignines.

1.6.2. Les flavonoïdes (C6-C3-C6)

Les flavonoïdes constituant le groupe le plus étudié, avec 5000 composés déjà décrits. Ils partagent la même structure générique « noyau flavan » (Fig..) qui se compose de deux noyaux benzéniques (A et B) reliés par un hétérocycle en C3, qui diffèrent selon la nature des flavonoïdes (Ribereau-Gayan, 1968).

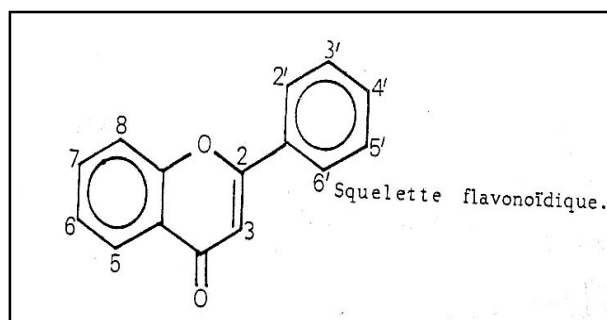


Figure 7 : Structure générale des flavonoïdes (Bruneton, 1999)

Cette structure offre généralement deux types de substitution :

- **O-substitution** : - hydroxylation (-OH)
 - O-méthylation (-O-CH₃)
 - O-glycosylation (-O-Ose)

- **C- substitution** : - C-méthylation (-C-CH₃-)
 - C-glycosylation (-C-Ose)

D'après le degré d'oxydation du noyau pyranique central, ils sont regroupés en une dizaine de classes pouvant être partagées en Cinq familles groupées dans le tableau 3 et illustré par la figure 8.

Tableau 3 : quelques exemples de composés des classes de composés phénoliques et leur origines (Macheix et *al*, 2005)

Squelette carboné	Classe	Composés	Origine
C_6	Phénols simples	Catéchol	
C_6-C_1	Acides hydroxybenzoïques	p-Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C_6-C_3	Acides hydroxycinnamiques Coumarine	Acides caféique, férulique Scopolétine, esculétine	Pomme de terre, pomme Citrus
C_6-C_4	Naphtoquinones	Juglone	Noix
$C_6-C_2-C_6$	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoïdes - Flavonols - Anthocyanes - Flavanols - Flavanones Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Daidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pomme, raisin Soja, pois
$(C_6-C_3)_2$	Lignanes	Pinorésinol	Pin
$(C_6-C_3)_n$	Lignine		Bois, noyau des fruits
$(C_{15})_n$	Tanins		Raisin rouge, kaki

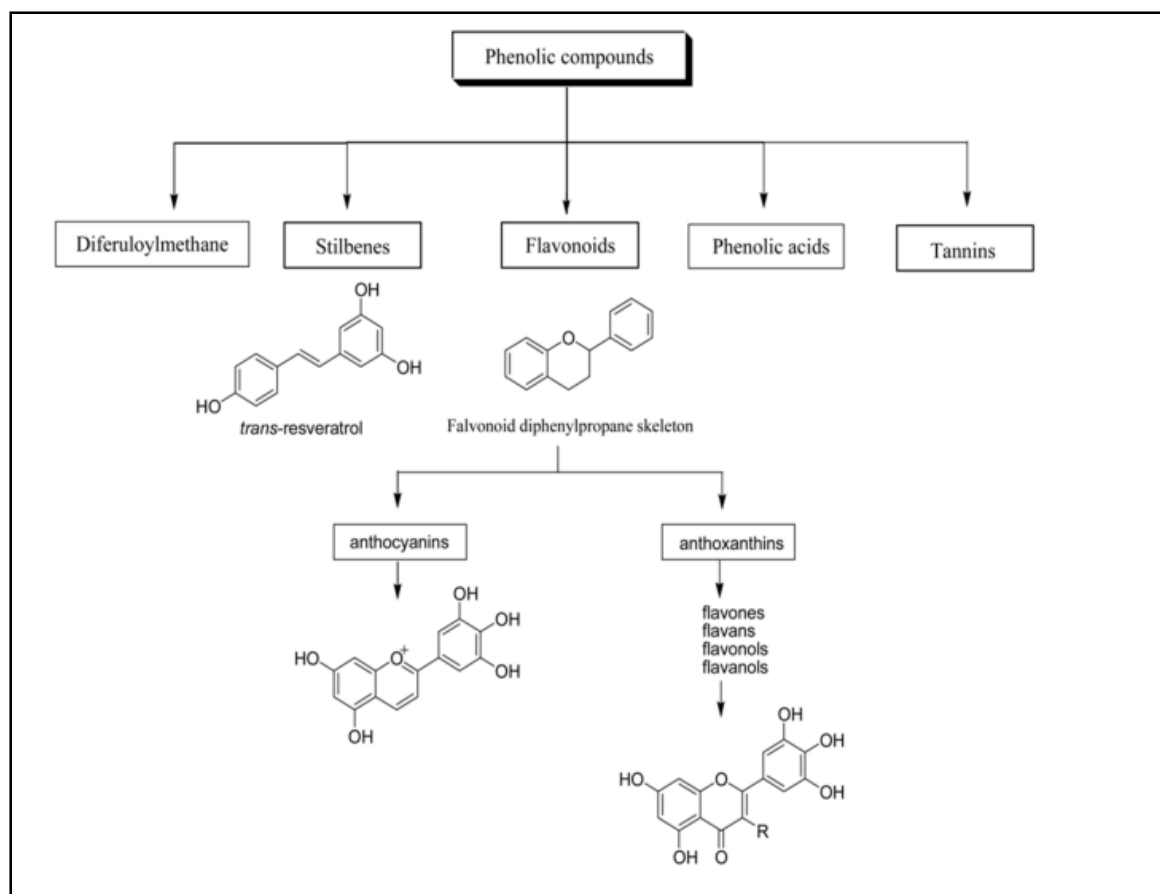


Figure 8 : Différentes classes de polyphénols (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

1.7. Intérêts et rôles des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont reconnus pour leurs intérêts multiples. Ils sont souvent utilisés en pharmacologie, en agroalimentaire et autres.

1.7.1. Rôle pour la plante

Les composés phénoliques auraient des rôles très importants pour la plante à savoir (Guignard, 1996) :

- La croissance cellulaire, l'organogénèse, la dormance des bourgeons, la floraison et la tubérisation,
- ils participent aux mécanismes d'inhibition tégumentaire,
- les flavonoïdes jouent un rôle dans le contrôle de la croissance et le développement en interagissant avec les diverses hormones végétales.
- dans la défense contre les attaques des insectes et des micro-organismes

1.7.2. Rôle pour l'homme

La plupart de ces substances flavoniques ont des fonctions biochimiques intéressantes pour notre santé. Ils jouent un rôle important dans la fonction immunitaire, l'expression génique, la circulation sanguine dans les capillaires et le cerveau, la fonction hépatique, l'activité enzymatique, l'agrégation des plaquettes et le métabolisme du collagène, des phospholipides, du cholestérol et de l'histamine (Hertog M, 1993), (Bohm H, 1998).

Toutes ces importances sont récapitulées dans la figure 9.

Les insectes constituent un problème majeur pour les grains stockés car ils affectent aussi que la qualité que la quantité produite. Parmi ces insectes *Tribolium castaneum* (Coleoptera ; tene).

Le recours à la lutte chimique a été longtemps considéré comme le moyen de défense le plus efficace contre les bioagresseurs des plantes. Cette domination sans partage de ce type de lutte a permis de limiter les pertes, mais peut avoir, les retombées négatives sur l'environnement et la santé des agriculteurs et des consommateurs. Le concept de protection intégrée qui met en avant la gestion des populations de bioagresseurs en associant diverses approches (techniques culturales, résistance végétal, antagonistes, biologiques, etc...) peut permettre de maintenir leurs niveaux en dessous des seuils de nuisibilité. Le développement des recherches sur les biopesticides et la lutte biologique représente des voies prometteuses (Regnault-Roger et *al.*, 2011)

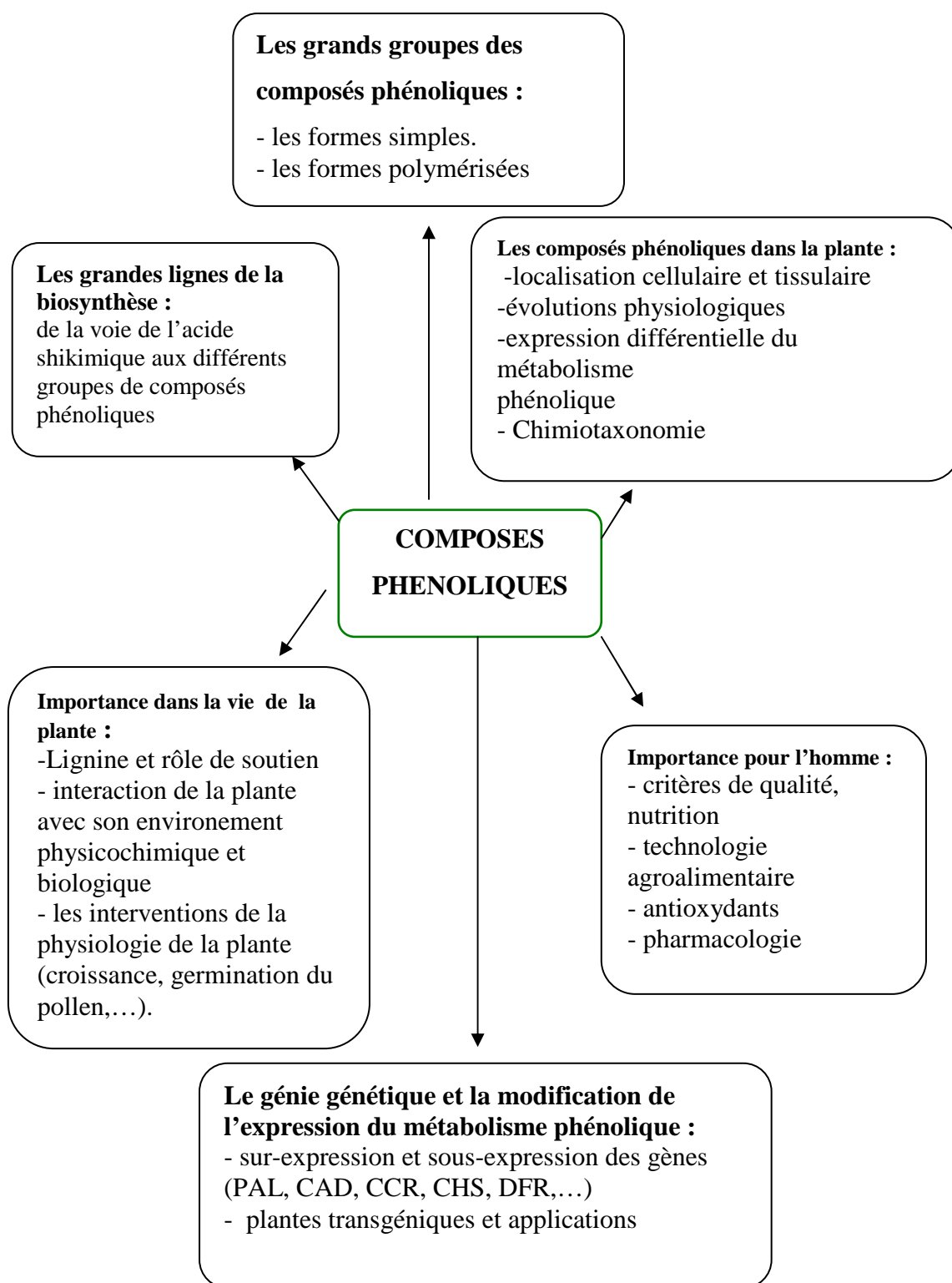


Figure 9 : Schéma récapitulatif des composés phénoliques dans la plante et leur importance pour l'homme (Macheix, 2005).

2. Notion de cytogénétique

La connaissance du nombre de chromosomes d'une espèce peut rapporter des informations de natures diverses. En effet, depuis plusieurs années la caryologie, se basant sur

des critères tels que : le nombre, la taille et la forme des chromosomes a permis de mieux comprendre, les relations taxonomiques existant entre les espèces ainsi que, l'histoire évolutive, la répartition géographique et les aptitudes agronomiques dans le cas des plantes cultivées (Ben Malek., 1988).

2.1. Cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est l'ensemble des modifications qu'une cellule subit entre sa formation par division de la cellule mère et le moment où cette cellule a fini de se diviser en deux cellules filles (Callen, 2005). Ce processus comporte plusieurs phases successives (fig.10a). L'évolution de la quantité d'ADN au cours d'un cycle cellulaire varie d'une phase à une autre (fig.10b).

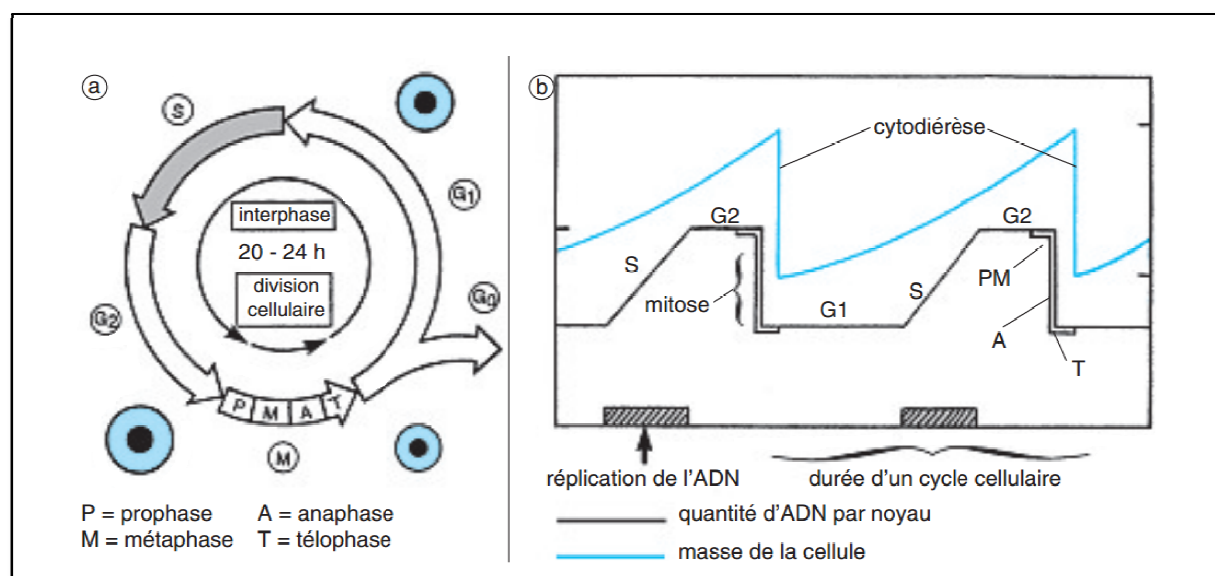


Figure 10 : Cycle cellulaire standard des cellules eucaryotiques (Callen ,2005)

2.1.1. La Mitose

C'est la division la plus courante pour les cellules eucaryotes, aussi bien chez les organismes unicellulaires que chez les organismes pluricellulaires. Le noyau se divise pour produire deux cellules avec le même nombre de chromosomes que la cellule mère. Les étapes la constituant sont développées ci-dessous et résumées dans la figure 11.

➤ La prophase

Elle se caractérise par la condensation des chromosomes. Dans le cytoplasme, il y a un début de formation du fuseau achromatique à partir d'un centrosphère et la tubuline, les deux centrioles vont se disposer en deux points opposés par rapport au centre du noyau et

l'apparition de microtubules astériens et microtubules kinétochorines, Les chromosomes ont deux chromatides liés par leur centromère.

➤ **La métaphase:**

Le fuseau est complet. Les chromosomes s'alignent sur la plaque équatoriale par leur centromère.

➤ **L'anaphase:**

Les chromatides sœurs se séparent. Chacune migre à un pôle. Elles deviennent alors chacune "un chromosome".

➤ **La télophase**

Les cellules terminent leur division, les chromosomes se décondensent. L'enveloppe nucléaire se reforme et le cytoplasme est partitionné en deux.

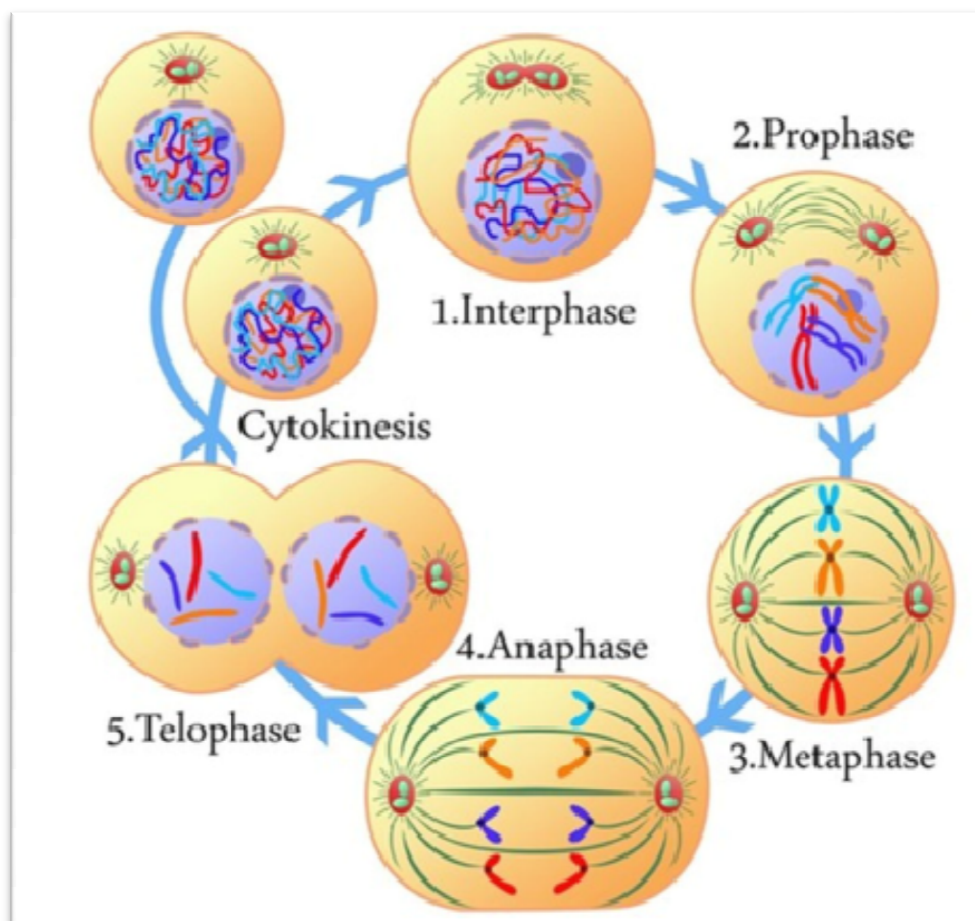


Figure 11 : Schéma montrant les différents phases de la mitose (ALBERT *et al.*, 2011)

2.2. Variation du nombre de chromosomes chez les plantes

Le nombre de chromosomes des plantes est très variable. Ce fait est courant chez les spermaphytes. Ainsi l'espèce *Haplopappus gracilis* présente $2n=4$, tandis que le *Graptopetalum pachyllum* à $2n=540$. Une variation de la teneur en ADN est notée. Le cas par

exemple de *Lilium henry* qui possède 25 fois plus d'ADN qu'*Arabidopsis thaliana*. La variation de la quantité d'ADN va de paire avec la variation de la taille des chromosomes. Par exemple, les espèces du genre *Trillium* (Liliacées) ont de très grands chromosomes d'une longueur d'environ 30 μ m, et les espèces du genre *Allium* de la même famille présentent des chromosomes entre 10 à 20 μ m (Gorenflot et Raicu, 1980).

Les espèces présentent des différences dans le niveau de ploïdie: diploïdies ($2n=2x$), triploïdies ($2n=3x$), tétraploïdies ($2n=4x$), pentaploïdies ($2n=5x$), hexaploïdies ($2n=6x$), etc. Dans une même population il peut y avoir un mélange d'individus de ploïdies différentes, soit avec des caractères morphologiques semblables ou dissemblables (Siljak, 1986 in Cartier et Gorenflot, 1974).

2.3. Structure et morphologie du chromosome métaphasique

Le caryotype ainsi que l'idiogramme s'établissent à partir de chromosomes métaphasiques, qui comportent une zone de constriction primaire dénommée centromère qui est un point de liaison des deux chromatides sœurs, qui contient le kinetochore, centre d'organisation des microtubules responsable de la fixation des chromosomes au fuseau mitotique lors de la mitose. La position du centromère permet de distinguer un bras court (bc) ou proximal (bras p) et un bras long (bl) ou distal (bras q) (Anthony et al., 2002).(fig12).

Il existe quatre types de chromosomes :

- Chromosomes métacentriques : le centromère est en position centrale (position médiane) ce qui lui donne des bras de longueurs à peu près égales.
- Chromosomes sub-métacentriques: le centromère est presque en position centrale ; les chromatides de ce chromosome présentent des bras de longueur inégale (un petit bras « p » et un long bras « q »).
- Chromosomes acrocentriques: le centromère est plus proche de l'une des deux extrémités (les télomères) le bras court est très bref.
- Chromosome télocentrique : présente un centromère très proche de ses télomères.

En cas de perte du centromère (anomalie), le chromosome est dit acentrique. D'autres anomalies peuvent provoquer l'apparition d'un chromosome possédant deux centromères nommé : chromosome dicentrique. Celui-ci est instable et peut se casser (lors de la méiose). (Lemondé et Clément, 1983).

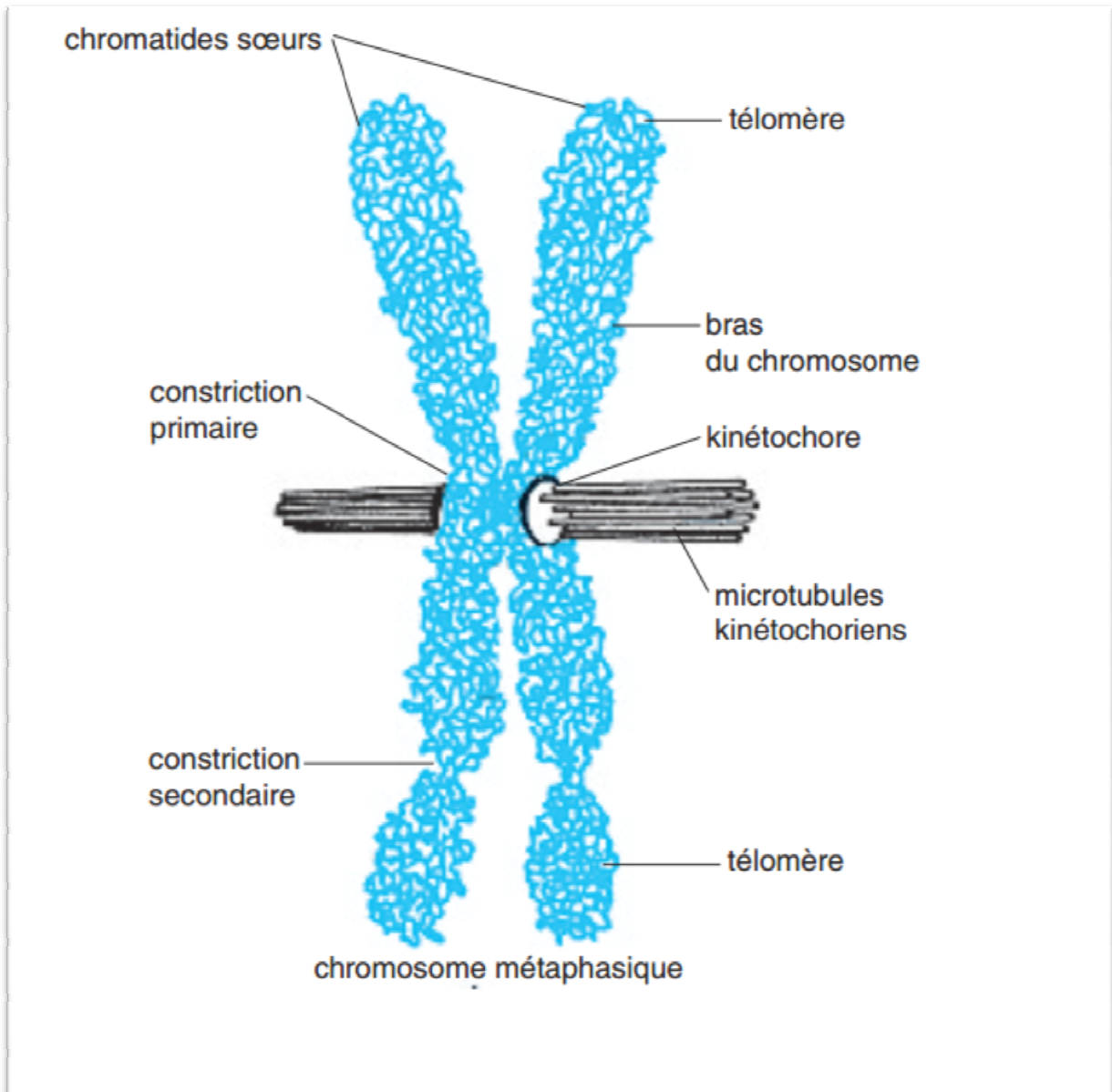


Figure 12 : Chromosome métaphasique (Callen, 2005)

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal :

1.1. Stations d'échantillonnage des populations

Les échantillons provenant des deux populations de *Zizyphus lotus* on été prélevés selon un gradient d'aridité Nord- Sud en Algérie dans la région de Kabylie (Mekla Wilaya de Tizi-Ouzou) (**fig 13**), et dans la Daya de Bousdraïa (Wilaya de Djelfa) (**fig 14**)



Figure 13: Station de Mekla (2015)

Figure 14 : Station de Bousdraïa (2015)

Les principales espèces dominantes ont été notées et les caractéristiques écologiques des stations sont groupées dans le tableau 4 et illustrées par la figure 17.

Tableau 4 : Caractéristiques Bioclimatiques et Floristiques des stations de récoltes

Station	Caractéristique floristiques	Alt (m)	M (C°)	m (C°)	P (mm)	Q ₂	Bioclimat
Mekla (willaya de Tizi – Ouzou)	Pelouses d'herbacées limitrophe d'un champ d'olivier (<i>Olea europea</i>)	300	30	4.7	1210	163.9	Humide Tempéré
La daya de Bousdraïa (wilaya de Djelfa)	Dans la step à alfa (<i>Stipa tenacissima</i>)	inconnu	inconnu	inconnu	inconnu	inconnu	Semi-arid

Alt altitude, **P** précipitations annuelles, **M** et **m** la température maximale du mois le plus chaud et la température minimale du mois le plus froid respectivement, **Q2** coefficient d'Emberger.

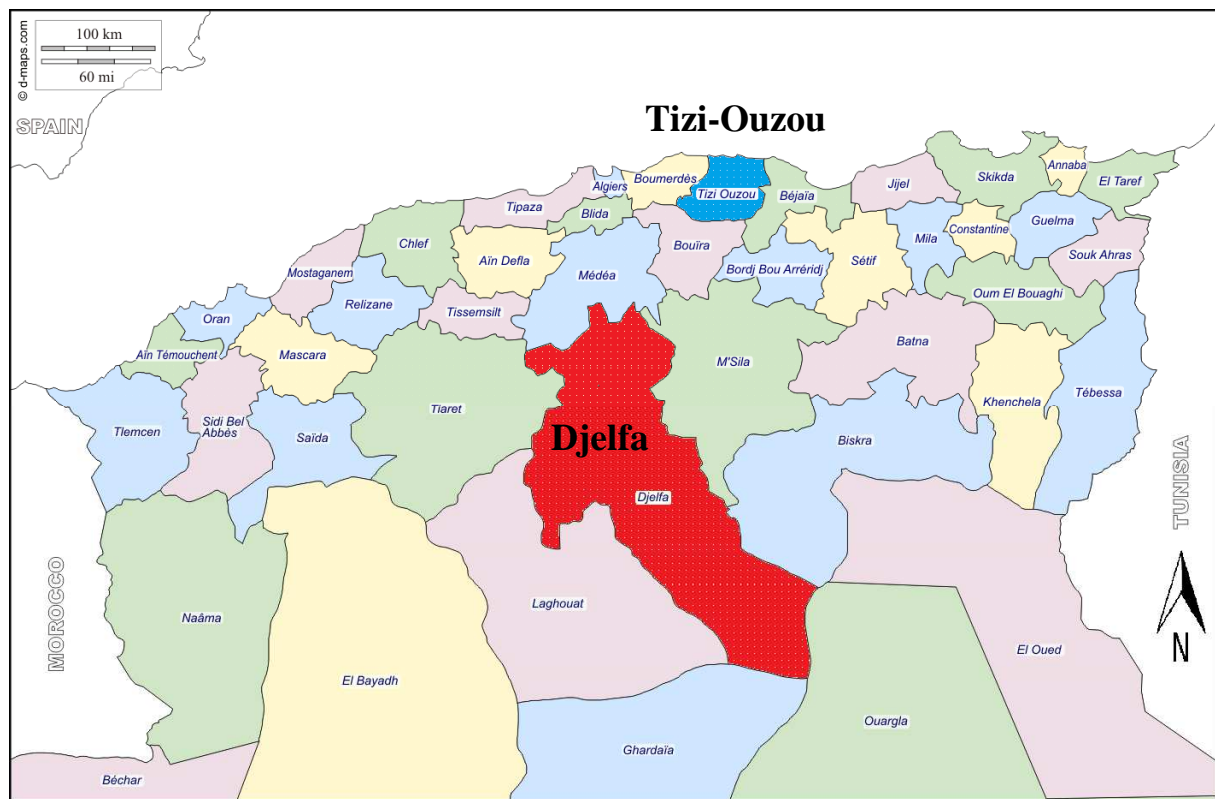


Figure 15: Localisation géographique des régions d'étude (Mekla et la Daya de Bousdraïa)

Le matériel végétal est constitué de fruits et feuilles prélevés à partir de deux populations de *Zizyphus lotus* récoltés dans les régions de Tizi-Ouzou (Mekla) et de Djelfa (daya de Bousdraïa) durant la période s'étalant du mois de Septembre-Octobre 2014. L'échantillonnage a été fait sur 3 individus pour chaque population.

1.2. Les fruits :

Les fruits récoltés ont été d'abord dénoyautés. La partie comestible a été ensuite séchée à l'ombre à l'abri de la lumière, à température ambiante. Après séchage, nous avons broyé les fruits pour obtenir une poudre fine, qui servira à la préparation des différents extraits.

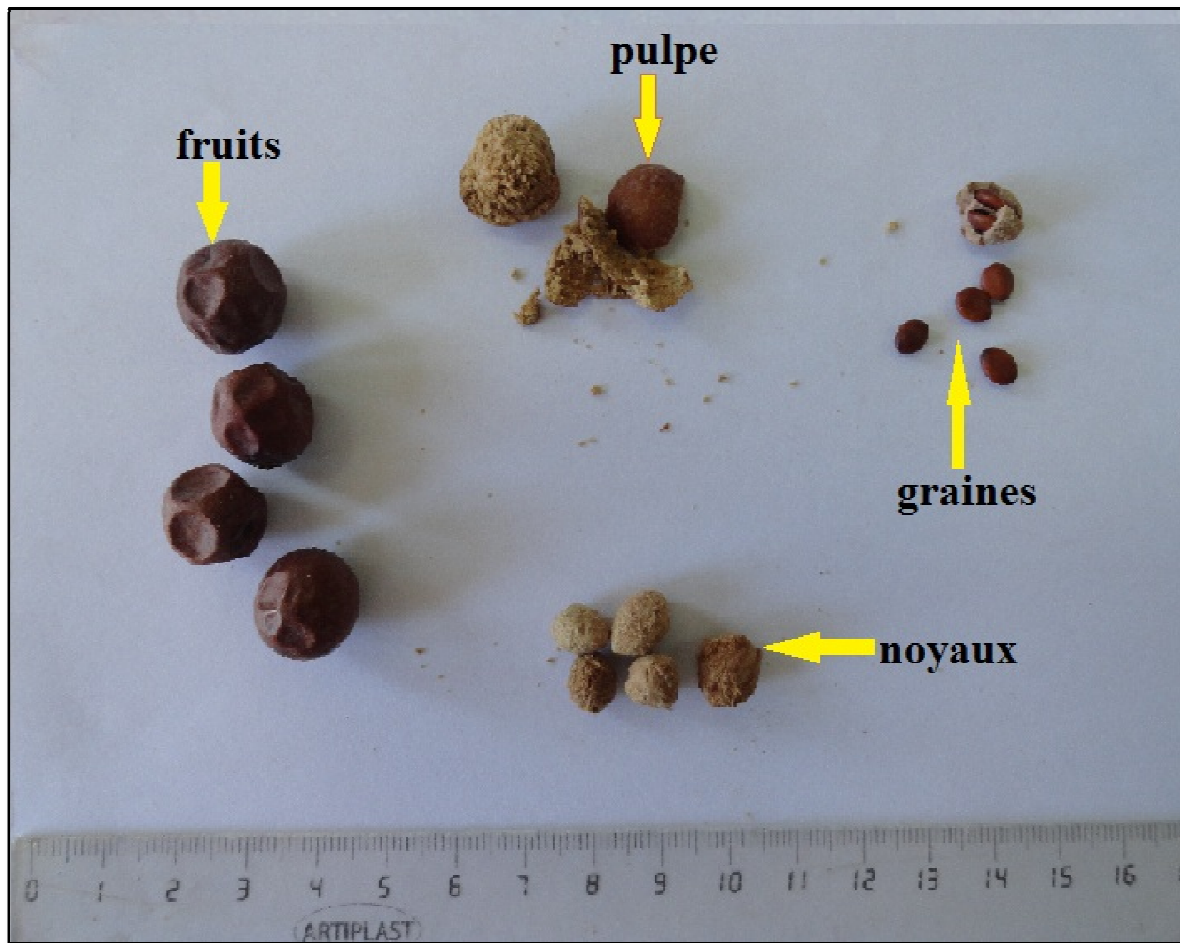


Figure 16: Fruits, pulpes, noyaux et graines de *Zizyphus lotus* (Laboratoire de CIV, 2015)

1.3. Les feuilles :

Nous avons suivi la même procédure que celle décrite pour les fruits. Après échantillonnage les feuilles ont été séchées à l'ombre à température ambiante, pendant une semaine. Elles sont ensuite broyées pour l'obtention de la poudre qui servira pour la préparation des différents extraits.



Figure 17 : Feuilles des deux populations de *Zizyphus lotus* (Laboratoire de CIV, 2015)

2. Méthodes

2.1. Mesures morpho métriques des feuilles et fruits de *Zizyphus lotus*

Des mesures morphométriques des feuilles et fruits sont réalisées. Pour cela, nous avons utilisé le pied à coulisse pour la mesure des diamètres des fruits (**fig 18**) et le papier millimétré pour la mesure des longueurs et largeur des feuilles (**fig 19**).

Cette étude a été motivée par les différences morphologiques observées chez les fruits et feuilles de *Zizyphus lotus*.

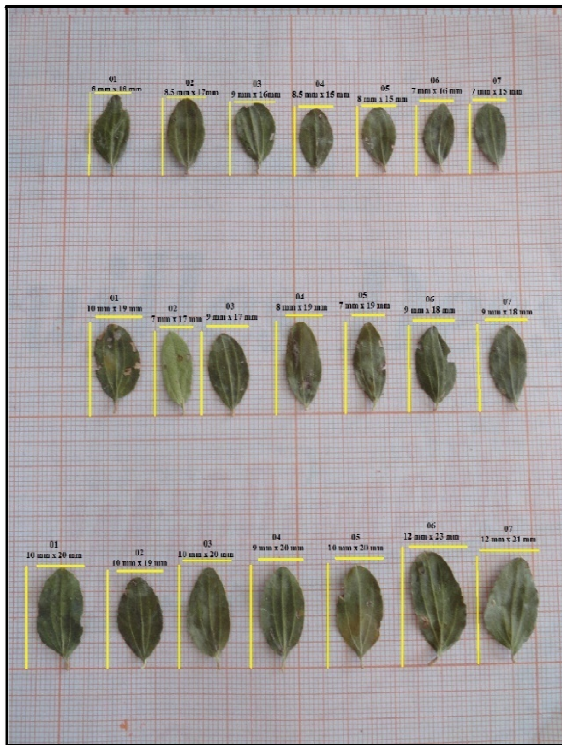


Figure 18 : Mesure des largeurs et longueurs des feuilles



Figure 19 : Mesure du diamètre du fruit

2.2. Essais de germination

Les graines extraites des noyaux ont été réparties en 3 lots (de 15 graines chacun). Chaque lot a alors été soumis à un prétraitement spécifique à savoir :

- Une scarification du tégument avec du papier de verre
- Traitement au froid
- Un lot témoin sans aucun prétraitement.

Les essais de germination ont été réalisés au laboratoire dans des conditions semis contrôlées, car les résultats dépendent beaucoup des conditions de germination.

Ces essais ont été effectués dans des boîtes de Pétri, sur du coton imbibé d'eau. Les semences germées sont dénombrées régulièrement, en prenant comme critère de germination la percée des enveloppes par la radicule (Mazliak, 1982).

La mise en culture et le suivi de la germination sont résumés par le schéma de la figure 20.

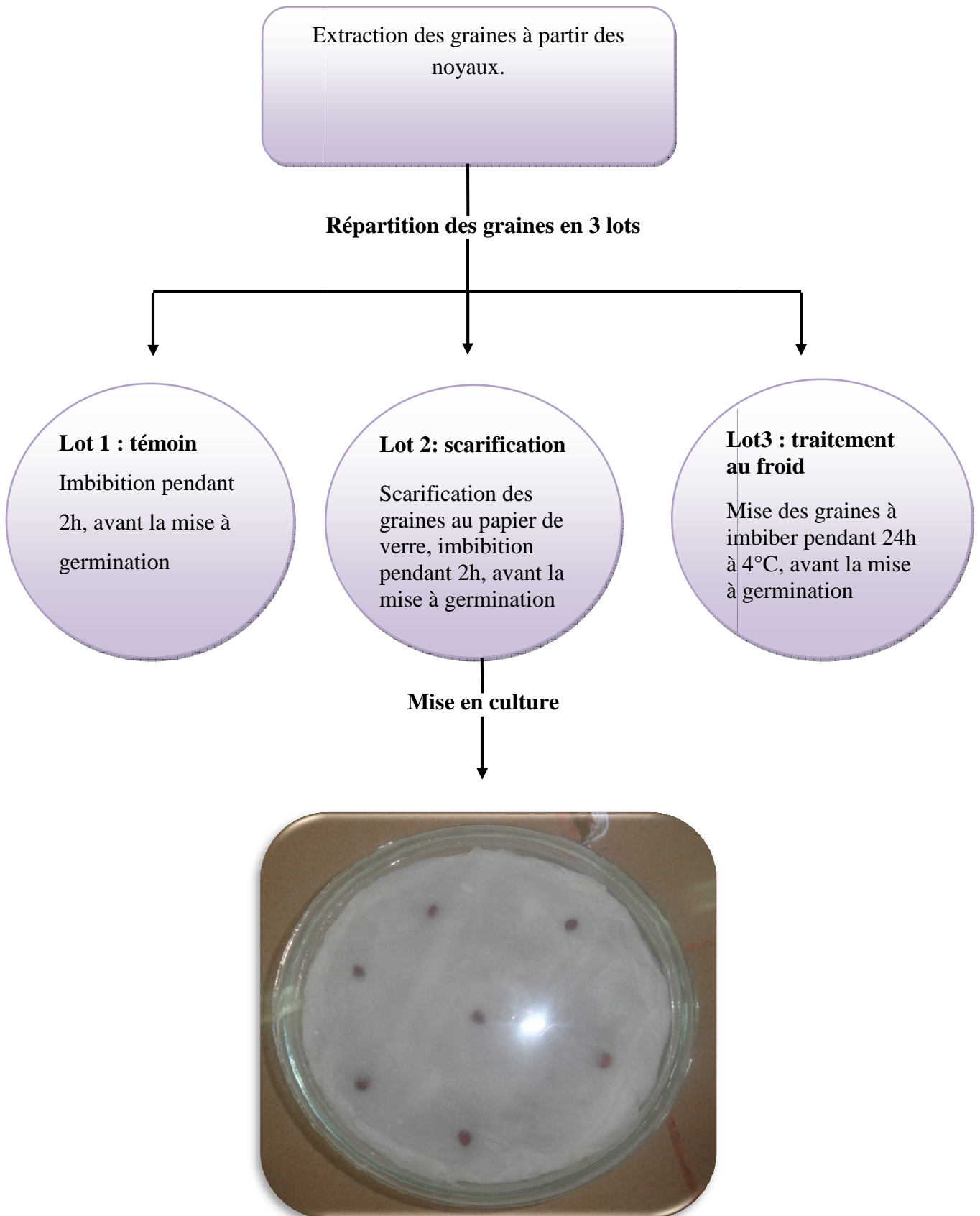


Figure 20 : Procédé de la mise en germination des graines de *Z. lotus*

Toutes les 24 h, le nombre de graines germées est noté selon le type de traitement. Le taux et la vitesse de germination, ainsi que l'indice de germination de chaque lot ont été déterminés par les formules respectives ci-dessous:

- Taux de germination (%G) :

$$\%G = \frac{\text{nombre de graines germées}}{\text{nombre total de graines}} \times 100$$

- Vitesse de germination :

$$\text{Vitesse de germination} = \frac{(N_1 \times T_1) + \dots + (N_n \times T_n)}{N_1 + \dots + N_n}$$

N_1 est le nombre de graine germé au temps T_1

N_2 est le nombre de graines germé au temps T_1 et T_2

- Indice de germination :

$$\begin{aligned} & \text{Indice de germination} \\ & = N_1 \times 1 + \frac{(N_2 - N_1)}{2} + \frac{(N_3 - N_2)1}{3} + \dots + \frac{(N_n - N_{n-1})1}{n} \end{aligned}$$

$N_1, N_2, N_3, \dots, N_{n-1}$ et N_n sont les pourcentage de germination obtenu en fonction des jours .

La fin du suivi cesse lorsque le taux de germination reste constant.

2.3. Etude cytogénétique de *Zizyphus lotus* :

Le niveau de ploïdie est établi par comptage chromosomique à la métaphase des méristèmes racinaires.

Le protocole expérimental est celui préconisé par Jahierr et *al.*, (1992). Ce protocole, comporte les étapes

suivantes:

- **Préfixation**

Après la germination des fragments de racicules de 0.5 à 1 cm sont prélevés et prétraités par Immersion dans une solution de 8-hydroxyquinoline ou α -bromonaphtalène (agent

mitoclasique qui empêche la formation du fuseau achromatique) pendant 5 heures à température ambiante.

➤ **Rinçage**

Les racines préfixées sont rincées à l'eau distillée pour éliminer l'excès de l'agent mitoclasique.

➤ **Fixation**

Elle est réalisée dans un mélange alcool-acide acétique (3:1 V/V) pendant 24Heures à 4 C° ou bien à température ambiante. Cette étape à pour but de bloquer toute évolution des divisions cellulaires et de conserver l'intégrité structurale des chromosomes.

➤ **Stockage**

Les radicules ont été stockées dans de l'alcool 70° à froid, afin de les conserver pendant une longue période.

➤ **Hydrolyse**

Elle a été réalisée après rinçage dans de l'eau distillée, dans une solution d'HCL 1 N au bain marie à 60 C°, pendant 10 minutes afin d'obtenir un bon étalement des cellules et des chromosomes entre lames et lamelle.

➤ **Rinçage**

Le rinçage s'effectue à l'eau distillée pour éliminer L'excès d'Hcl.

➤ **Coloration**

Cette technique est appelée « Feulgen »elle a été mise au point par Feulgen et Rossen Beck en 1914. Elle se fait dans le réactif de Schiff pendant 30 à 60 minutes, à température ambiante et à l'obscurité. Ce dernier se fixe sur les groupements aldéhyde libérés par l'HCL, et colore les chromosomes en rose.

➤ **Montage et observation**

Après rinçage à l'eau (pour éliminer l'excès du colorant), les extrémités racinaires colorées en rouge vif, sont montées entre lames et lamelles, dans une goutte de carmin acétique ou bien dans l'acide acétique à 45% pour augmenter le contraste entre les

chromosomes et le cytoplasme. Ensuite nous réalisons des squashes qui consistent à écraser les préparations à l'aide d'une allumette.

Les observations sont faites au microscope photonique au grossissement 40×10. (les meilleures préparations sont celles qui présentent des chromosomes bien individualisés).

➤ **Le dénombrement chromosomique**

Des observations au microscope photonique au grossissement 40×10 des plaques métaphasiques permettront de faire le dénombrement chromosomique pour le jujubier (*Zizyphus lotus*).

Le dénombrement chromosomique a été fait après observation au microscope optique des plaques métaphasiques des fragments racinaires prélevés des graines de *Zizyphus lotus* en germination.

2.4. Extraction par hydrolyse acide

Nous nous sommes intéressés aux analyses biochimiques de 3 classes de flavonoïdes : (les C-glycosides, les Anthocyanes et les aglycones flavonique), extraites à partir du matériel végétal sec.

La technique utilisée a été mise au point par Bate-Smith (1954), reprise par Lebreton (1967) puis par Jay *et al* En 1975 et enfin améliorée par Laracine (1984). Elle consiste en l'extraction et la séparation des flavonoïdes par hydrolyse acide et à chaud de la poudre végétale (la liaison C-O-C des O-glycosyl-flavonoïdes est très fragile et se rompt à l'hydrolyse acide en libérant les aglycones ; par contre la liaison C-C des C-glycosyl-flavonoïdes est très résistante à ce type d'hydrolyse) et permet d'obtenir deux types de composés :

- Une fraction d'**aglycones** et d'acides phénols par l'extraction préliminaire à l'éther diéthylique.
- Une fraction de **C-glycosides** et d'**anthocyanes** récupérée par l'extraction au n-butanol.
- Le schéma général de l'extraction par hydrolyse acide est résumé dans la figure 21 et les figures illustrant les étapes de l'expérimentation sont représentées dans l'annexe 4.

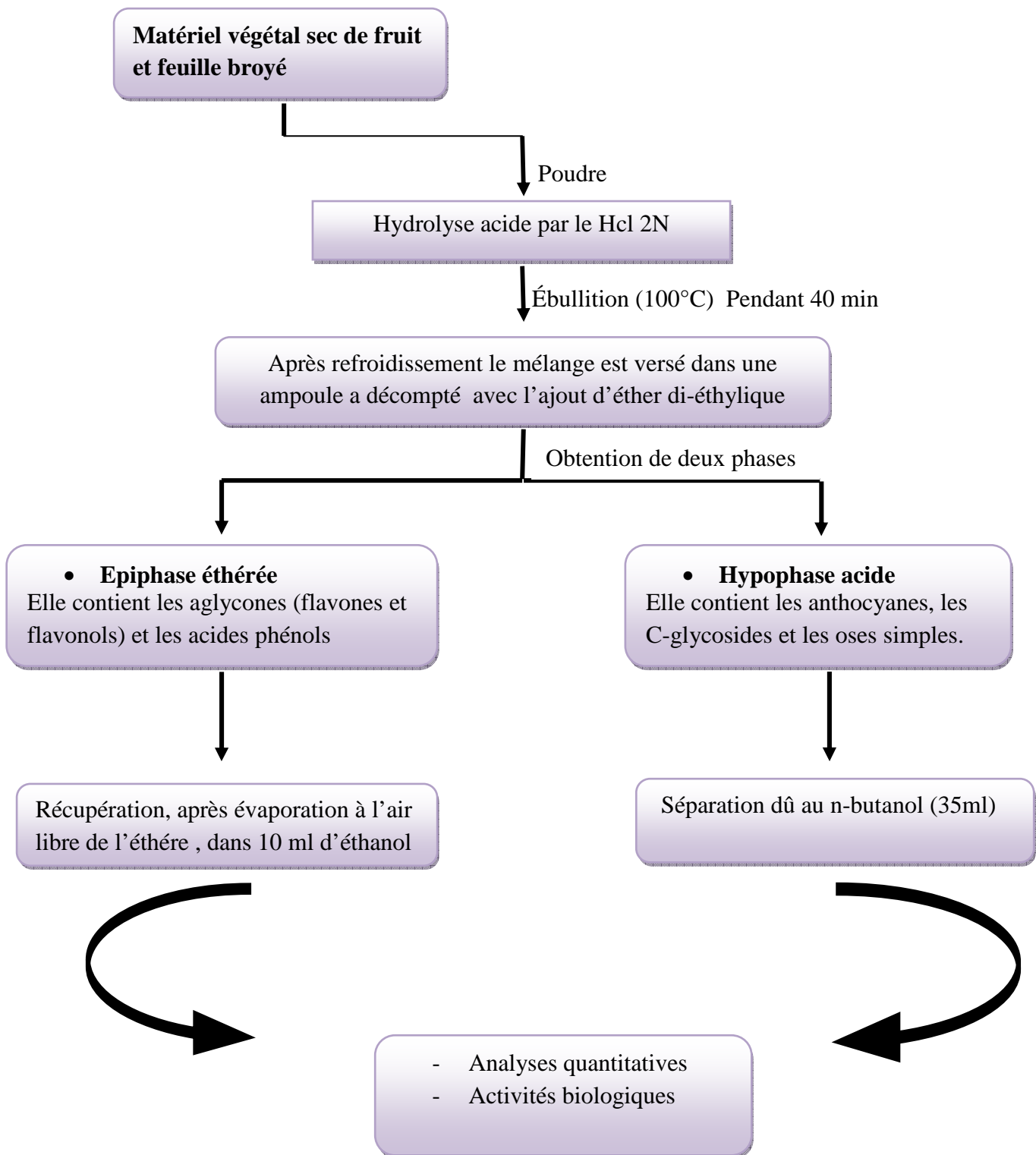


Figure 21 : Etapes de l'extraction par hydrolyse acide selon (Lebreton 1967).

2.5. Analyses quantitatives

Pour l'étude quantitative, nous avons utilisé la méthode de colorimétrie basée sur la propriété de certains composés qui absorbent d'avantage la lumière à des longueurs d'ondes spécifiques dans le spectrophotomètre UV-visible (Plummer, 1989) ; elle permet de réaliser des dosages grâce à la loi de Beer Lambert dont le principe est le suivant:

Lorsqu'une lumière d'intensité I_0 passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le (s) soluté (s). L'intensité I de la lumière transmise est donc inférieure à I_0 . l'absorbance de la solution est définie comme suit :

$$A = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

Pour ce faire nous nous sommes intéressés à différentes classes de polyphénols à savoir les proanthocyanes, les C-glycosides et les aglycones flavoniques

a) Dosage des proanthocyanes

La lecture des densités optiques des extraits s'établit par spectrophotométrie à 520nm juste après extraction car elle se dégrade rapidement à la lumière. La teneur absolue en anthocyanes est calculée par la formule suivante dont le coefficient correctif, est égale à 6 (Lebreton *et al.*, 1967).

$$T \text{ (mg/g)} = 5,2 \cdot 10^{-2} \cdot DO \cdot V \cdot d / p$$

DO : densité optique

V : volume de la phase méthanoïque

d : facteur de dilution

p : poids sec du matériel végétal hydrolysé

b) Dosage des C-glycosylflavones

La lecture des densités optiques des extraits s'établit également par spectrophotométrie à 340nm et la teneur absolue est exprimée en Orientine et calculée par la formule suivante :

$$T \text{ (mg/g)} = 2,37 \cdot 10^{-2} \cdot DO \cdot V \cdot d / p$$

DO : densité optique

V : volume de la phase méthanoïque

d : facteur de dilution

p : poids sec du matériel végétal hydrolysé

c) Dosage des aglycones flavonique

A partir du résidu sec étheré repris dans de l'éthanol à 95°, après réaction pendant 15min, la lecture des aglycones se fera entre 400 et 435nm au spectrophotomètre. Concernant le dosage des Aglycones flavoniques (420nm) et des flavonols (435nm), la formule utilisée est la suivante :

$$T \text{ (mg/g)} = 1.3 \times 10^{-2} \times DO \times V \times d/p$$

- DO : densité optique
- ϵ : coefficient d'absorption de la Quercétine
- V : volume de la solution éthanolique
- d : facteur de dilution
- p : poids sec du matériel végétal hydrolysé en g

3. Activités biologiques

3.1. Activité antimicrobienne des polyphénols du jujubier

L'activité antimicrobienne des polyphénols extraits de la poudre de *Zizyphus lotus* a été déterminée par la même technique que l'antibiogramme (EL Hassouni et al.,2013). Les souches bactériennes testées sont: *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Ces souches proviennent d'une collection entretenue au niveau du laboratoire de microbiologie de l'UMMTO.

3.1.1. Préparation des pré-cultures :

Les tests antimicrobiens ont été réalisés à partir de souches de 24h soit à la phase exponentielle de croissance, pour cela une réactivation des souches est obligatoire sur (Brain heart Infusion Broth) BHIB puis laisser à incuber pendant 24h à 37°C

A partir des souchesensemencées dans du bouillon BHIB, un repiquage est effectué dans des boites de Pétri contenant du Muller-Hinton puis incubées à 37°C pendant 24h.

3.1.2. Préparation de la suspension bactérienne :

Les suspensions bactériennes ont été préparées à partir des pré-cultures, à l'aide d'une anse de platine. Quelques colonies bien isolées sont prélevées puis introduites dans des tubes contenant 5ml d'eau physiologique stérile. Après homogénéisation des tubes au vortex, la lecture de la densité optique à été effectuée à une longueur d'onde de 620 nm. La DO de la suspension doit être comprise entre 0.08 et 0.1. Selon Mac Farland, on admet que une DO

comprise entre 0.08 et 0.1 correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 UFC/ml. La suspension est ensuite diluée jusqu'à 10^6 UFC/ml soit au $1/10^{\text{ème}}$ ce qui correspond à la concentration finale de la suspension.

Nous avons réparti de la gélose nutritive dans des boîtes de Pétri dans lesquelles nous avonsensemencé les souches de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*,).

Après solidification des milieux de culture nous avonsensemencé les souches considérées dans les boîtes de Pétri puis nous avons déposé 5 disques stériles dont trois sont inoculés avec 5µl de notre extrait le 4^{ème} disque qui reste est inoculé avec la solution témoin de notre extrait et celui qui reste est le disque d'antibiotique pour le témoin positif . Nous avons incubé les boîtes à 37° C pendant 24h.

Après incubation nous avons fait une lecture en mesurant les diamètres des zones d'inhibition apparues avec une règle.

3.1.3. Mesure de l'activité antimicrobienne

La macrométhode de dilution en milieu liquide est utilisée pour déterminer les paramètres de l'inhibition de la croissance bactérienne, des extraits actifs.

3.1.4. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Nous avons procédé par la préparation d'une gamme de dilutions par progression géométrique de raison 2 d'extrait *Zizyphus lotus* de façon à obtenir successivement les dilutions 1/2, 1/4 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, (Oussou et *al.*, 2004) . Chaque tube de la série estensemencé par un inoculum standardisé bactérien et le bouillon nutritif pour nourrir les bactéries (15µl de l'extrait, 5µl d'inoculum bactérien, dans 1 ml de bouillon nutritif). Après une incubation de 18 heures à 37°C, la CMI de l'extrait testé est déterminée. Elle représente la concentration du 1er tube de la série dans lequel il y a absence du trouble dû à la croissance, comparativement au témoin.

3.2. Activité antioxydante au DPPH

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH (diphényl picryl hydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par Marinova et *al.*(2011). Dans ce test les antioxydants réduisent le diphényl picryl hydrazyl dont la couleur violette originelle vire au jaune.

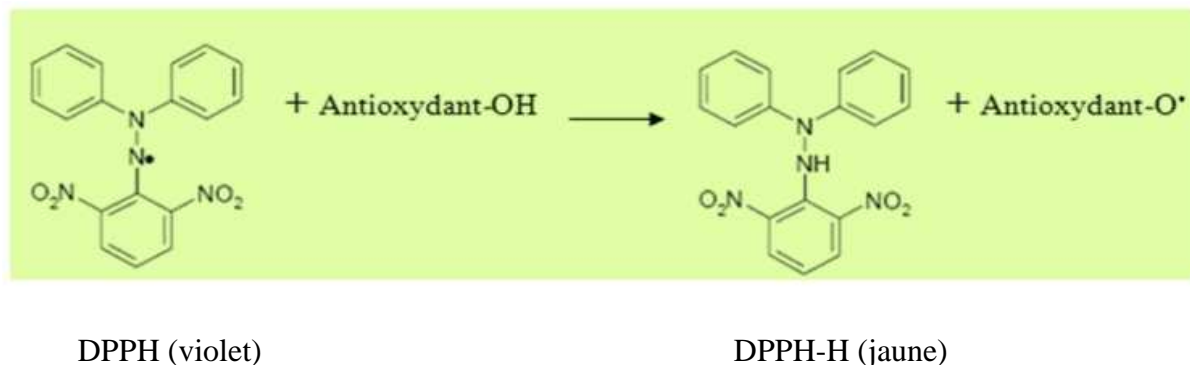


Figure 22 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

Pour l'évaluation de cette activité, nous avons préparé la gamme de dilutions allant de 0 à 200µg/ml à partir de nos extraits nous ont permis d'évaluer leur activité antioxydante et de tracer des courbes d'allure en exponentielle pour chacun des extraits utilisé. Les différentes densités optiques ont permis de tracer pour chaque extrait, une courbe qui a une allure exponentielle.

La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 0.0024g de DPPH dans 100ml d'éthanol. 1,5 ml de DPPH est ajouté à 1,5 ml d'extrait, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30min, et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517nm.

L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = \frac{[\text{Abs}_{517\text{contrôle}} - \text{Abs}_{517 \text{échantillon}}]}{\text{Abs}_{517\text{contrôle}}} \times 100$$

La variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations d'extrait nous a permis de calculer la concentration efficace (efficient concentration value : EC50). Cette dernière est définie comme la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration initiale du DPPH à 50 %.

3.3. Tests de toxicité de la poudre des fruits de *Z. lotus*

L'objectif principal de cette partie de notre étude est d'évaluer dans des conditions de laboratoire, l'effet insecticide de la poudre des fruits de *Z. lotus* sur un ravageur des céréales stockées *Tribolium castaneum* Herlist.

➤ **Les insectes :**

Des adultes de *T. castaneum* (fig 22) ont été introduits dans des bocaux contenant du blé tendre concassé. Les bocaux sont incubés à l'étuve à une température de 25 ± 1 °C et une humidité relative de $65 \% \pm 5\%$. Les insectes adultes âgés de 7-14 jours ont été prélevés indifféremment et utilisés dans le biotest.



Figure 23 : Femelle et mâle de *T. castaneum* observés à la loupe binoculaire G : 2×10
(laboratoire de CIV, UMMTO, 2015)

➤ **Le test par contact :**

20 insectes adultes ont été introduits dans des boîtes de Pétri contenant 100g de blé tendre concassé mélangé avec différentes doses de poudre obtenue à partir des fruits de *Z. lotus* provenant de la région de Mekla en Kabylie, soient 10g, 15g, 30g. (fig 23).

Trois répétitions ont été effectuées pour chaque dose, les boîtes de Pétri sont scellées et mises pour incubation à l'étuve à une température de 25 ± 1 °C et à $65\% \pm 5\%$ d'humidité relative. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque dose parallèlement un témoin ne contenant que 100g de farine a été également préparé.

Les insectes morts sont comptés chaque jour après 24 heures et éliminés de la boîte d'essai.

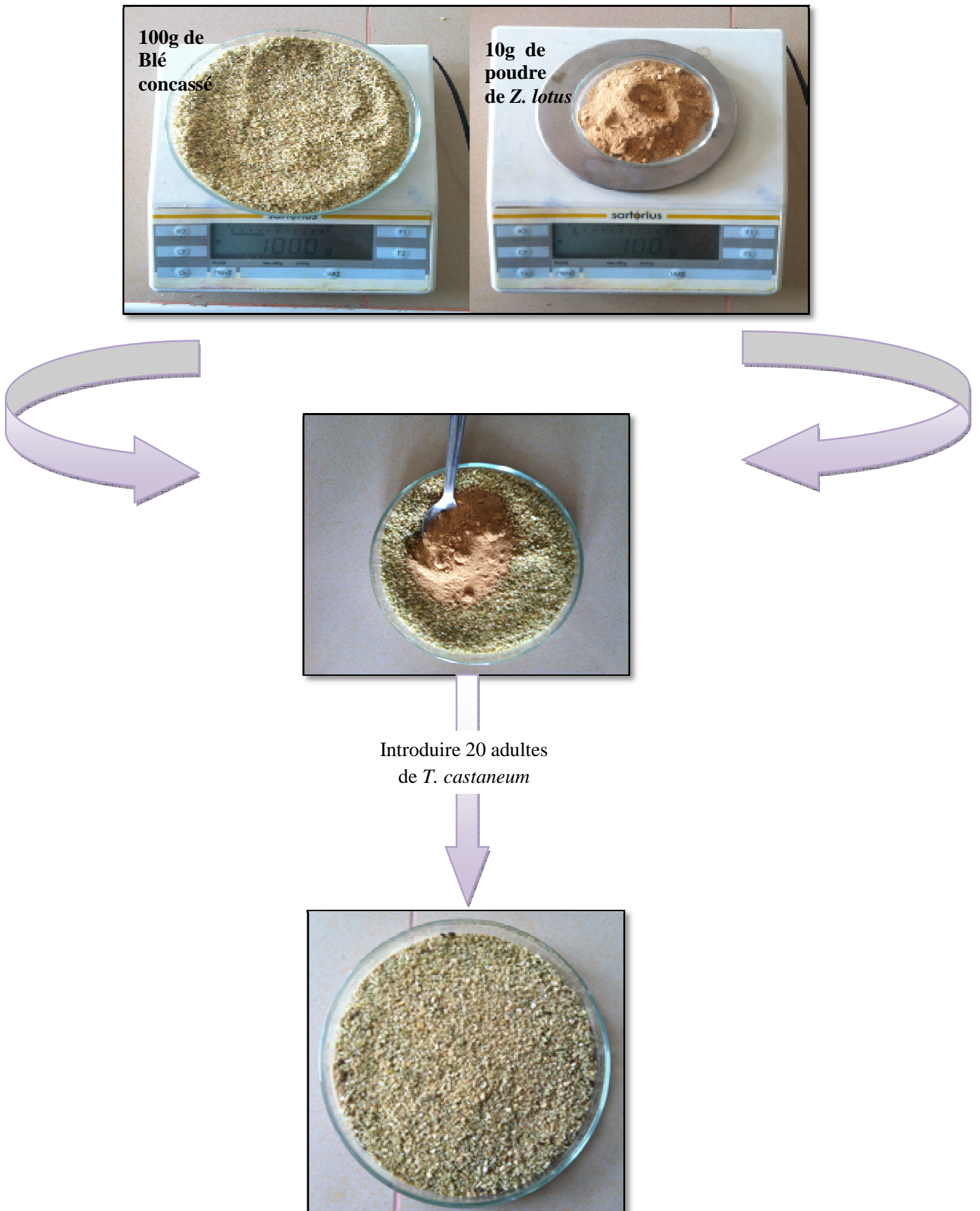


Figure 24 : Dispositif expérimentale du bio test (*T. castaneum*- poudre de *Z. lotus*)

4. Analyse statistique

L'analyse des données de chaque caractère et pour chaque population est effectuée par les paramètres de statistiques univariées (moyenne, écart-type et le test t) et multivariées (Analyse en composante principale, ACP) par **Statistica software package version 8.0**.

A. Moyenne : $X = \sum X / N$

B. Ecart-type : $\delta = \sqrt{\delta^2}$

C. Analyses en composantes principales (ACP) :

Le but de l'ACP est de décrire le maximum d'information contenue dans un tableau de données, constitué en lignes par des individus et en colonnes par des variables quantitatives. Cette description se fait par des graphiques appelés plans principaux. La présentation des caractères et des individus se fait sur le plan 1x2. Pour comparer deux objets, l'ACP utilise la distance Euclidienne sur les données permettant de caractériser la ressemblance ou la dissemblance entre eux (Philippeau 1986). Avant de présenter la répartition des caractères sur les différents plans, nous donnerons la qualité de la représentation sur les plans et les axes principaux.

En général, une variable est d'autant mieux représentée sur le plan qu'elle est proche du cercle. Cependant, le calcul de la somme des corrélations au carré ($\sum r^2$) sur les axes principaux nous donne une meilleure estimation. Ainsi que lorsque :

$\sum r^2 > 0.80$, la variable est très bien représentée.

$0.65 < \sum r^2 < 0.80$, la variable est bien représentée.

$0.40 < \sum r^2 < 0.65$, la variable est moyennement représentée.

$\sum r^2 < 0.40$, la variable est médiocrement représentée.

❖ Dans le cas du **biotest**, les résultats obtenus sont soumis à une analyse de la variance à 1 ou 2 critères de classification à l'aide du logiciel stat. Box, version 6.8 pour déterminer l'action de la poudre de Z. lotus sur les adultes de T. castaneum.

Si la probabilité (P) est :

- $P > 0.05$, il n'y a pas de différence significative
- $0.01 < P \leq 0.05$, il y a une différence significative
- $0.001 \leq P \leq 0.01$, il y a une différence hautement significative.

- $P \leq 0.001$, il y'a une différence très hautement significative.

Lorsque cette analyse montre des différences significatives, elle est complétée par un test de Newman et Keuls afin de déterminer les groupes homogènes.

Résultats et discussion

1. Résultats de la variabilité morphologiques des populations naturelles de *Zizyphus lotus*

Pour comprendre la diversité et l'origine de la variabilité phénotypique des populations naturelles de *Zizyphus lotus*, nous avons appliqué deux types d'analyses des données :

Les mesures faites concernant les longueurs et largeurs des feuilles et le diamètre des fruits sont groupés dans les tableaux 25 et 26 (annexe 1).

1.1. Comparaison des moyennes de différents caractères étudiés

Pour appréhender la variabilité morphologique entre les deux populations de *Zizyphus lotus*, trois caractères quantitatifs dont la longueur et largeurs de la feuille, ainsi que le diamètre du fruit sont mesurés sur 3 individus de chacune des deux populations. Nous avons ensuite comparé les moyennes de chaque caractère par le test d'égalité des espérances (**Test Student** ou **Test t**).

Les différences entre les moyennes des caractères morphologiques étudiés, au sein de chacune de deux populations sont données dans les **tableaux 5, 6, 7** et sont représentés par les graphes dans les **figure 25, 26, 27** et la matrice globale des donnée de mesures de chaque caractère est donnée en annexe 4.

Tableau 5: Moyenne \pm écarts types des longueurs des feuilles de *Z. lotus* des 2 populations étudiées

Individu \ Population	Pop1	Pop2
Individu 1	9,29	8,00
individu 2	14,71	8,43
Individu 3	12,29	10,43
Moyenne \pm écarts types	12,10 \pm 2,22	8,95 \pm 1,06

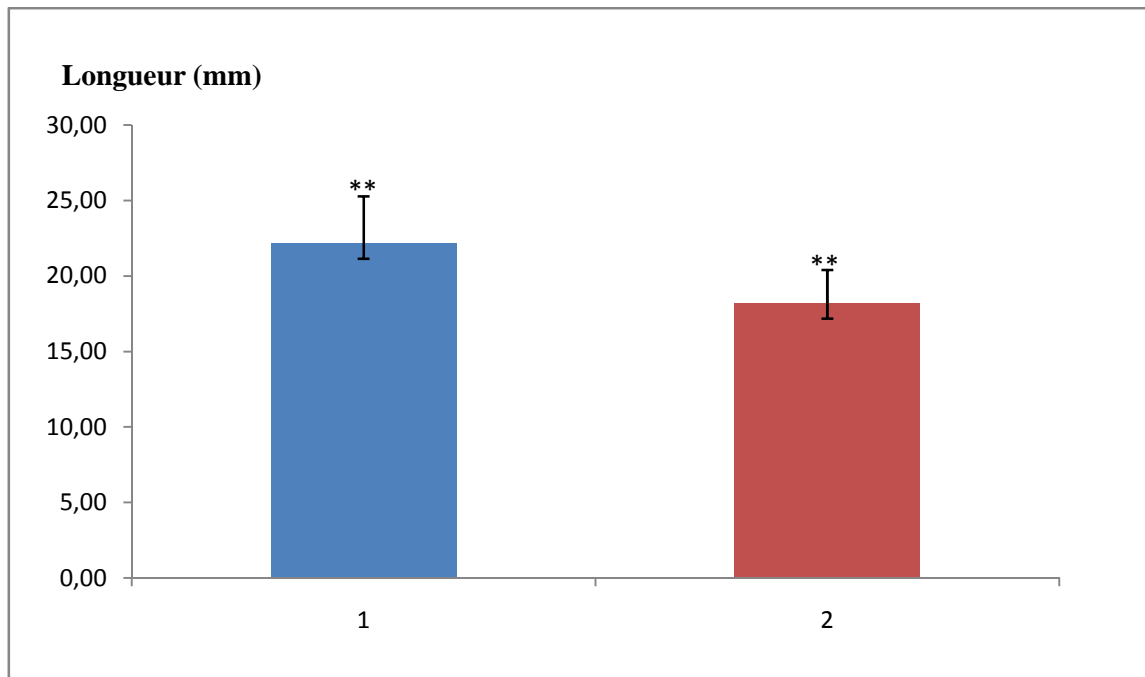


Figure 25 : Moyennes des longueurs des feuilles des deux populations

Tableau 6 : Moyenne \pm écarts types des largeurs des feuilles de *Z.lotus* des 2 populations étudiées

Individus	Populations	
	Pop1	Pop2
Individu 1	19,00	16,00
Individu 2	22,14	18,14
Individu 3	25,29	20,43
Moyenne \pm écarts types	22,14 \pm 2,57	18,19 \pm 1,81

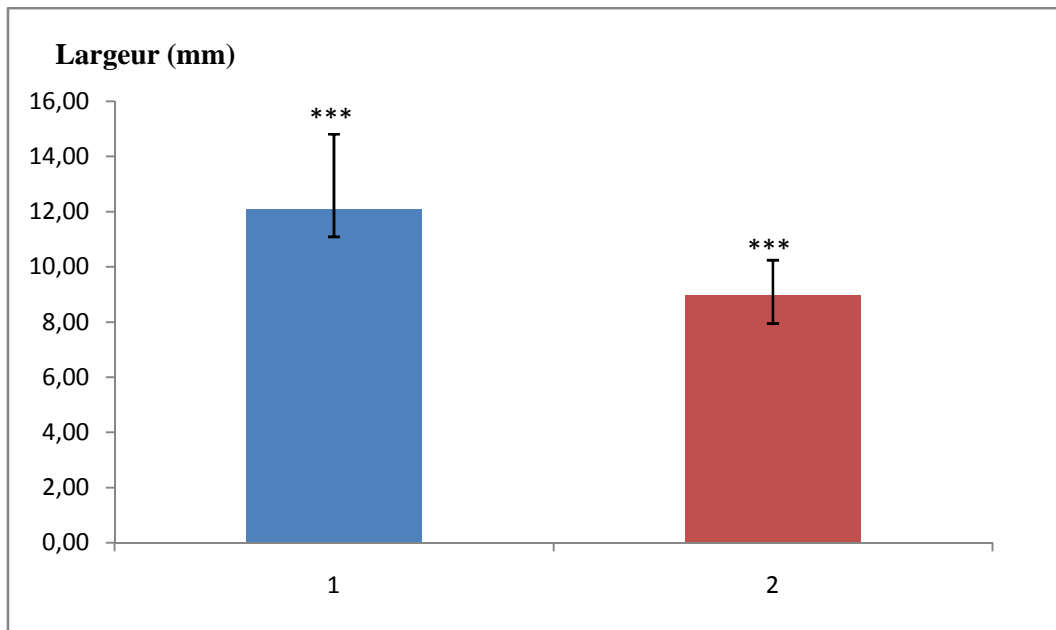


Figure 26 : Moyennes des largeurs des feuilles des deux populations

Tableau 7: Moyenne \pm écarts types des diamètres des fruits de *Z. lotus* des 2 populations étudiées

Individus	Populations	
	Pop1	Pop2
Individu 1	13,43	4,91
Individu 2	14,00	7,54
individu 3	14,00	4,93
Moyenne \pm écarts types	13,81\pm0,27	5,79\pm1,24

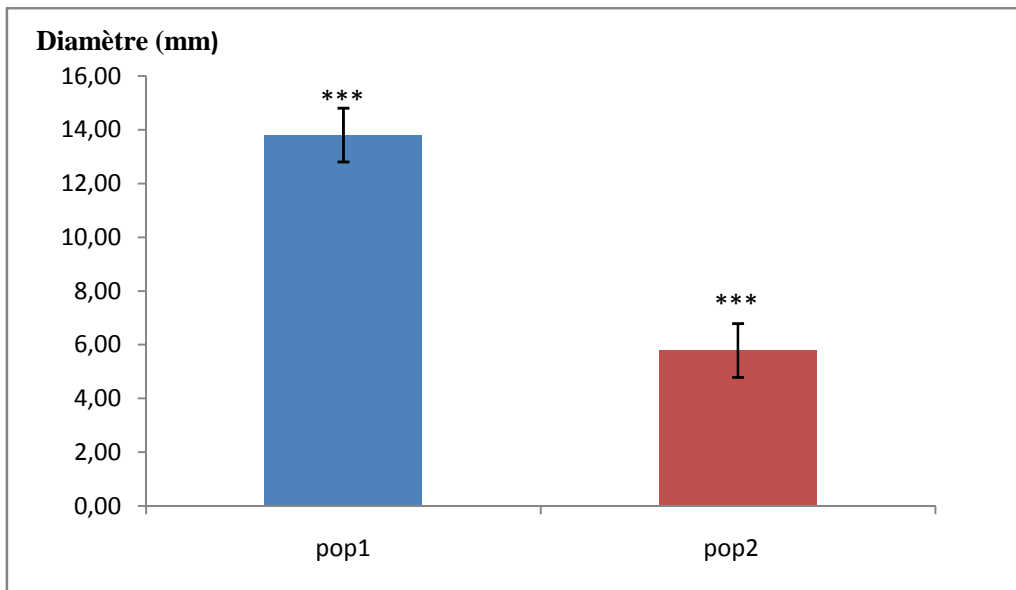


Figure 27 : Moyennes des diamètres des fruits des deux populations

La comparaison des deux populations de *Zizyphus lotus* sur la base des caractères de la longueur et de la largeur de la feuille par le test t, a montré des différences non significatives ($p > 0,05$) tandis que le diamètre du fruit a montré des différences significatives ($p < 0,05$).

1.2. Etude des caractères par l'analyse en composante principale l'ACP

La projection des caractères de longueur de la feuille (A), la largeur de la feuille (B) et le diamètre du fruit (C) dans le plan 1-2 de l'ACP (Fig.28) montre que les axes 1 et 2 représentent respectivement 83.01 et 13.66 de l'inertie totale.

L'ensemble des caractères (Fig.28b) est groupé dans la partie négative de l'axe 1. L'axe 2 sépare les caractères en deux parties selon la morphologie de la plante, dans la partie positive de cet axe, ce sont les caractères de la feuille (A et B) qui s'isolent du caractère du diamètre du fruit (C) localisé dans la partie négative de ce même axe.

Les individus s'agence en 2 groupes morphologiques, le premier groupe formé par les individus de la population de Mekla (Pop1) localisé dans la partie négative de l'axe 1, qui sont caractérisées par de longues et larges feuilles et un grand diamètre du fruit. Le deuxième groupe constitué des individus de la population de Djelfa (Pop2) situés dans la partie positive de ce même axe, ils sont caractérisés par des petites feuilles et le fruit de diamètre réduit.

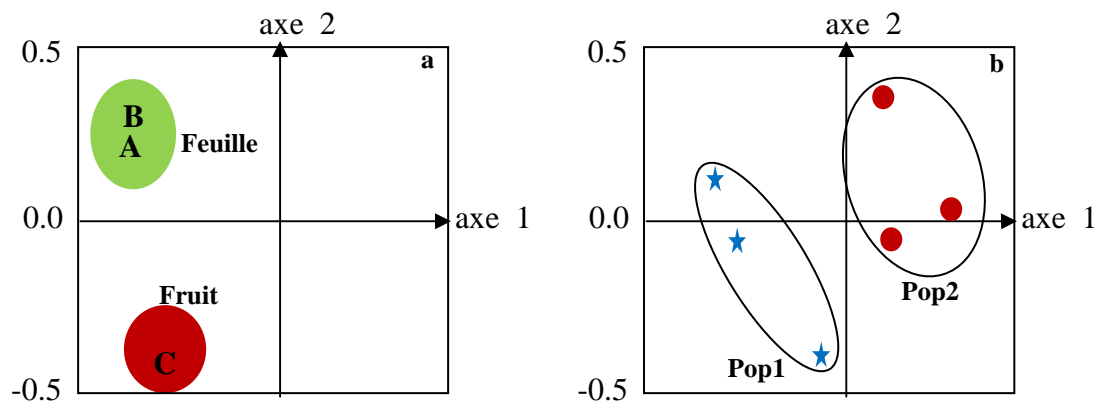


Figure 28 : Projection des individus (b) et l'ensemble des caractères (a) de *Zizyphus lotus* sur le plan 1-2 de l'ACP

2. Essais de germination

Les taux de germination calculés pour les différents lots de graines sont groupés dans les tableaux 8 et 9 et illustrés par les figures 29 et 30

Tableau 8: Taux de germinations (%) des graines de *Zizyphus lotus* de la population 1 Tizi-Ouzou (Mekla)

Temps (jours) \ Essais	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
E ₁	0	0	0	0	0	0	1	3	6	9	9	9	10	10
Taux de germination (%)	0	0	0	0	0	0	6,66	20	40	60	60	60	66,66	66,66
E ₂	0	0	0	0	1	2	3	4	9	9	12	12	12	12
Taux de germination (%)	0	0	0	0	6,66	13,33	20	26,66	60	60	80	80	80	80
E ₃	0	0	0	0	0	0	1	3	7	8	9	10	11	11
Taux de germination (%)	0	0	0	0	0	0	6,66	20	46,66	53,33	60	66,66	73,33	73,33

E₁ : lot témoin, E₂ : lot de graines scarifiées, E₃ : lot de graines traitées au froid

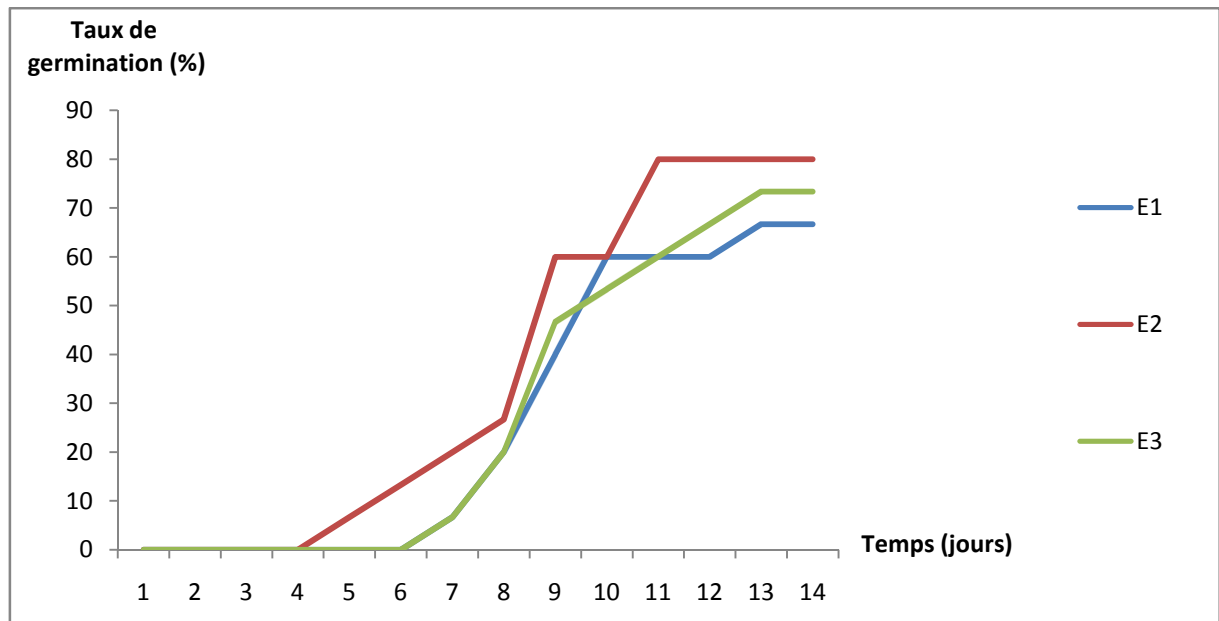


Figure 29 : Taux de germination des graines de *Zizyphus lotus* (population 1)

Les résultats montrent que les deux types de traitement améliorent les performances germinatives (en augmentant la vitesse et le taux de germination) comparativement au témoin. Ceci permet de déduire que les traitements ont permis la levée de la dormance des graines. D'autre part, les résultats indiquent que la scarification des graines (E2) entraîne une perméabilité du tégument à l'eau et à l'oxygène et plus efficace sur l'amélioration de la germination comparativement au traitement au froid (E3) ce qui nous permet de déduire que l'inhibition de la germination chez les graines de *Zizyphus lotus* est tégumentaire plus qu'embryonnaire. En effet dans la nature, les enveloppes séminales sont dégradées par des microorganismes du sol (champignons, bactéries) et les pluies éliminent les substances inhibitrices de la germination. Nous distinguerons deux groupes (ou causes) classiquement admis, à savoir l'inhibition tégumentaire et la dormance embryonnaire Lang *et al.* (1987). Dans le premier cas, les embryons isolés (séparés des téguments) germent très bien dans des conditions de germination où les semences ne germent pas ; il s'agit alors d'une action inhibitrice des enveloppes séminales, qui empêchent le passage de l'eau ou de l'oxygène. Une simple altération (physique ou chimique) des téguments peut lever cette inaptitude (Mazliak, 1982). Dans le second cas, même isolés, les embryons ne germent pas ; il s'agit alors d'une incapacité des embryons à germer, qualifiée de dormance embryonnaire (Valée *et al.*, 1999). Dans ce cas, la dormance peut être levée par le froid ou, au contraire par des températures élevées ou par l'acide gibbérellique, par exemple (Mazliak, 1982).

Pour ce qui est de la vitesse de germination, elle n'été calculée que pour le lot de graines sans aucun traitement, les graines dans leurs état naturelle, elle montre une valeur de 10.43 graines/jours.

Tableau 9 : Taux de germinations (%) des graines de *Zizyphus lotus* de la population 2 Djelfa (Daya)

Temps (jours) / Essais	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
E₁	0	0	0	1	2	4	7	8	9	9	11	11	11	11
Taux de germination (%)	0	0	0	6,66	13,33	26,66	46,66	53,33	60	60	73,33	73,33	73,33	73,33
E₂	0	0	0	3	4	9	10	10	11	12	12	12	12	12
Taux de germination (%)	0	0	0	20	26,66	60	66,66	66,66	73,33	80	80	80	80	80
E₃	0	0	1	3	7	9	10	10	11	11	11	11	11	11
Taux de germination (%)	0	0	6,66	20	26,66	60	66,66	66,66	73,33	73,33	73,33	73,33	73,33	73,33

E₁: lot témoin, **E₂** : lot de graines scarifiées et **E₃** : lot de graines traitées au froid

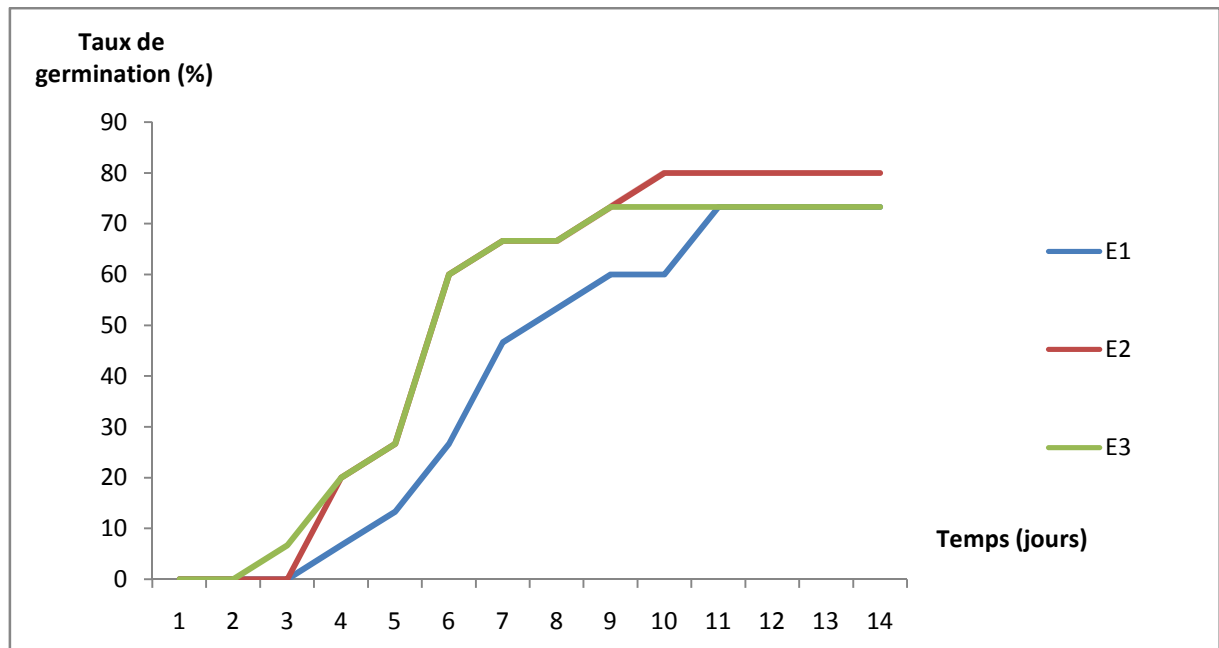


Figure 30 : Taux de germination des graines de *Zizyphus lotus* (population 2)

Contrairement à la population 1 nous remarquons que la vernalisation n'a pas d'effet sur l'amélioration du taux de germination des graines de *Zizyphus lotus*, donc il n'y a pas de différence entre le lot E1 et E3. La scarification a permis l'accélération de la germination ainsi que l'augmentation de la capacité germinative. Ceci permet de conclure que l'inhibition de la germination dans la pop 2 est majoritairement tégumentaire et non embryonnaire. Il est admis, d'ailleurs que les semences provenant du sud répondent mieux à la germination après les avoir soumises à une scarification (Heller, 1982).

Pour ce qui est de la vitesse de germination, elle n'a été calculés que pour le lot de graines témoin (sans aucun traitement), les graines dans leurs état naturelle, elle montre une valeur de 9.30 graines/jours.



Figure 31 : Germination des graines de *Zizyphus lotus* en boîte de Pétri

Pour ce qui est de l'indice de germination, il a été calculé pour les graines du lot témoin. Les résultats sont groupés dans le tableau 10.

Tableau 10: Indice de germination des 2 populations

Essais / population	E1
Pop1	8.30
Pop2	13

Ces résultats montrent que la pop 2 se caractérise par une meilleure germination comparativement à la pop 1 est ceci pourrait être dû à plusieurs facteurs probablement génétiques.

3. Etude cytogénétique

Le dénombrement chromosomique effectué sur plusieurs plaques des deux populations du jujubier (*Zizyphus lotus*) s'est révélé ardu. En effet, de nombreux essais ont été tentés dans l'espoir d'obtenir des plaques métaphasiques nettes pour le dénombrement des

chromosomes de *Zizyphus lotus*. C'est ainsi que nous sommes arrivés à déterminer approximativement leur nombre qui est de $2n=30$ (figure32).

C'est la première fois que le nombre de chromosomes de *Zizyphus lotus* a été mis en évidence.

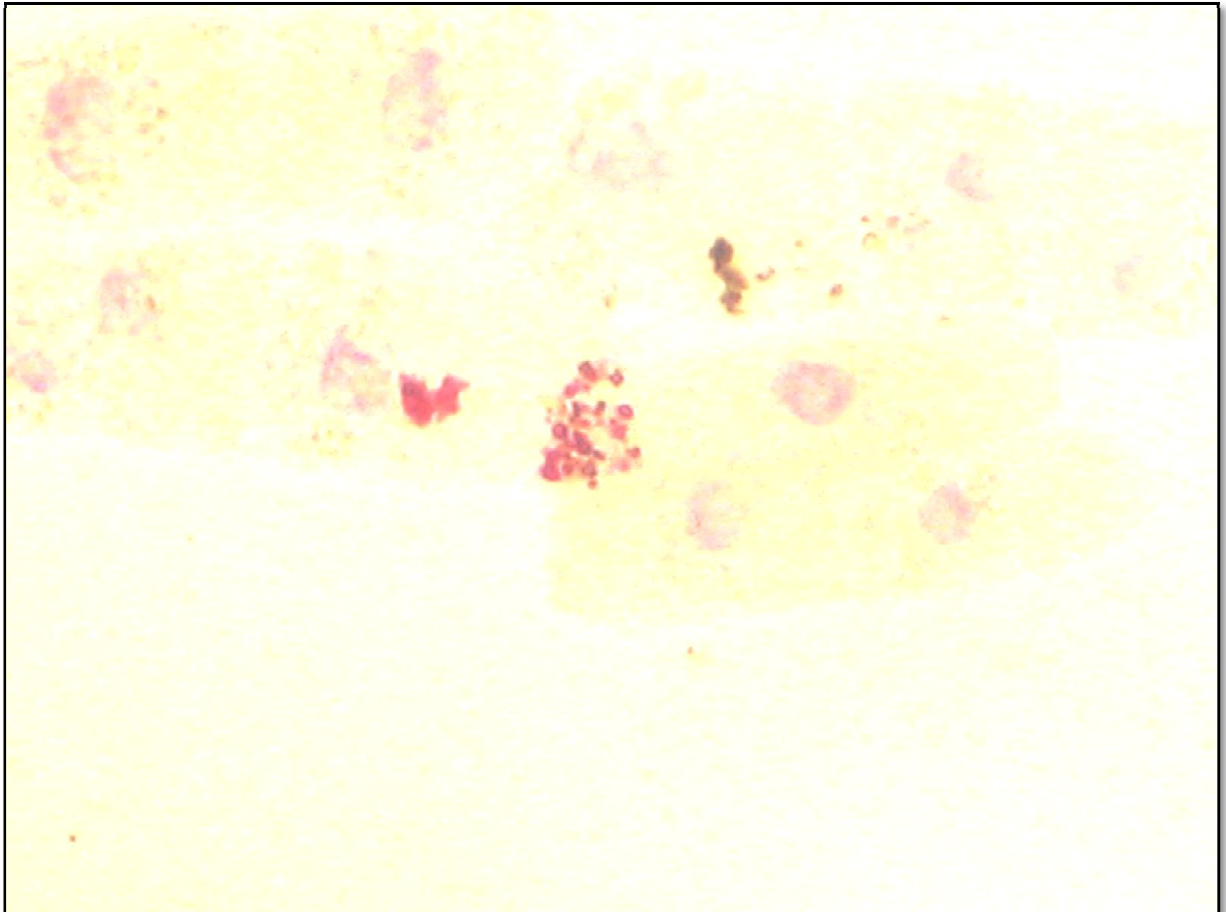


Figure 32 : Chromosomes de *Zizyphus lotus* observés au microscope photonique G:40×10(Laboratoire de CIV, 2015).

4. Dosage quantitatif des polyphénols de *Zizyphus lotus*

Les résultats des dosages des teneurs absolues des substances phénoliques (anthocyanes, c-glycosides et les aglycones flavones) extraites des feuilles et des fruits des trois individus de chacune des deux populations étudiées (Mekla et les Dayas), sont groupés dans les tableaux 27,28, 29, 30, 31 et 32 (annexe 5).

4.1. Résultats de comparaison intra-population

4.1.1. Population 1

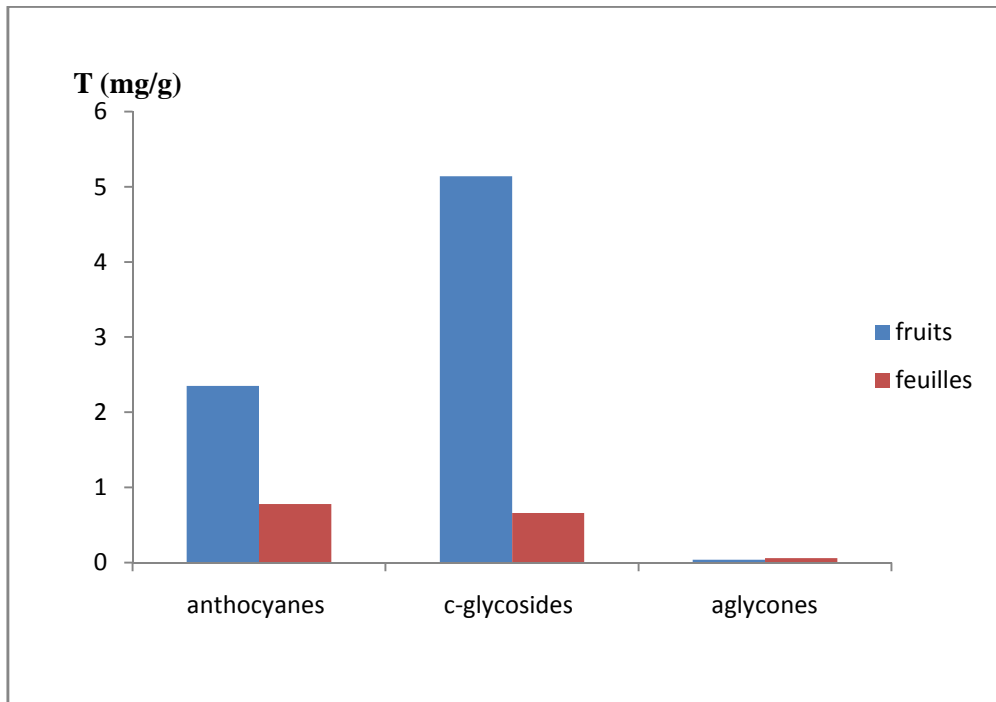


Figure 33: Moyennes des teneurs absolues des trois classes de polyphénols étudiées des feuilles et des fruits de la population 1

La figure ci-dessus montre les résultats de comparaison des teneurs absolues des substances phénoliques des différents organes étudiés. Les fruits sont les plus riches en c-glycoside et les anthocyanes par rapport aux teneurs des feuilles, tandis que leurs teneurs en aglycones sont très faibles.

La comparaison des teneurs absolues des aglycones des feuilles et des fruits présentent des différences non significatives ($p=0.111>0,05$). L'analyse statistique a montré que les teneurs en anthocyanes et c-glycosides des fruits et des feuilles ont une différence significative ($p=0.05=0,05$), ($p=0.013<0,05$).

4.1.2. Population 2

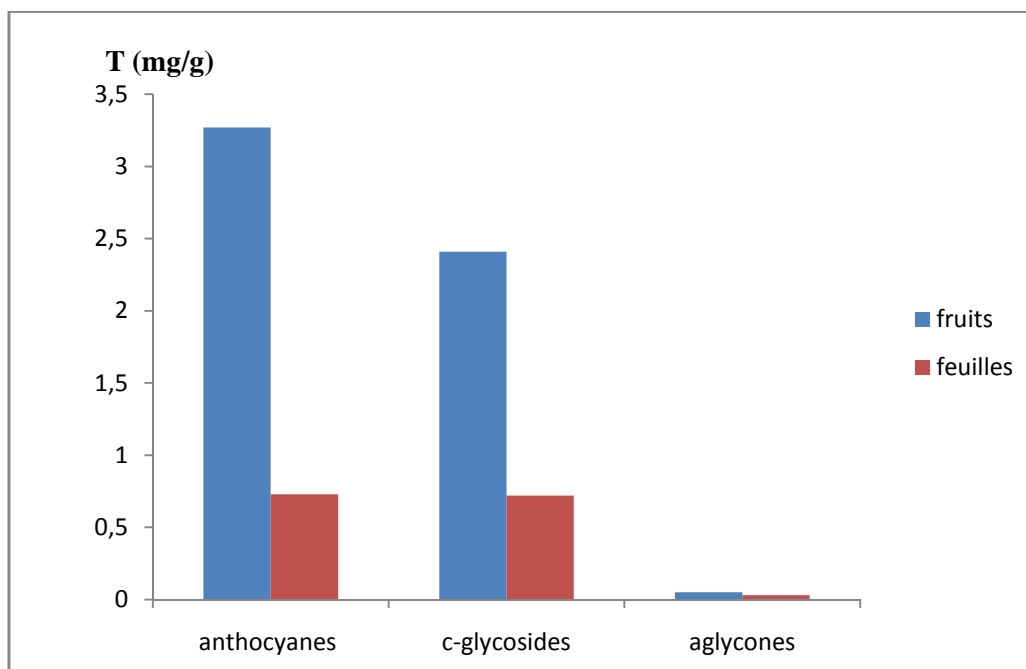


Figure 34 : Moyenne des teneurs absolues des trois classes de polyphénols étudiés des feuilles et des fruits de la population 2

D'après les résultats de la figure 34 nous remarquons que les teneurs en anthocyanes et en c-glycosides des fruits sont plus importantes que celles des feuilles. Le test t a révélé une différence significative ($p=0,014 < 0,05$) et ($p=0,00013 < 0,05$). Les teneurs en aglycones sont très faibles dans les feuilles et les fruits (différence non significative $p=0,257 > 0,05$).

4.2. Résultats de comparaison inter-population

4.2.1. Fruits

Les teneurs absolues moyennes en anthocyanes, C-glycosides et aglycones flavones, sont exprimées en milligrammes par gramme de matière végétale sèche dans les fruits des trois individus des deux populations étudiées.

Les résultats obtenus montrent que les fruits de la population de la Daya sont plus riches en anthocyanes avec des valeurs de ($3,27 \pm 1,05$ et $2,35 \pm 1,02 \text{ mg.g}^{-1}$) (tab11 et fig 35) et en aglycones flavones ($0,05 \pm 0,01$ et $0,04 \pm 0,01 \text{ mg.g}^{-1}$) (tab13 et fig36) que la population de Mekla, ces chiffres se rapportent respectivement aux échantillons des deux populations respectivement. Tandis que les teneurs moyennes en c-glycosides (tab12 et fig.37) augmentent d'une manière significative dans les fruits de la population de Mekla par rapport

aux fruits de la population de la Daya avec des valeurs respectives de $(5,14 \pm 1,82$ et $2,41 \pm 0,18 \text{mg.g}^{-1}$).

Tableau 11 : Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues en anthocyanes des fruits des deux populations

Individus Populations	1	2	3	Moyenne \pm écarts types
Pop1	3,15	1,20	2,70	$2,35 \pm 1,02$
Pop2	2,63	2,71	4,48	$3,27 \pm 1,05$

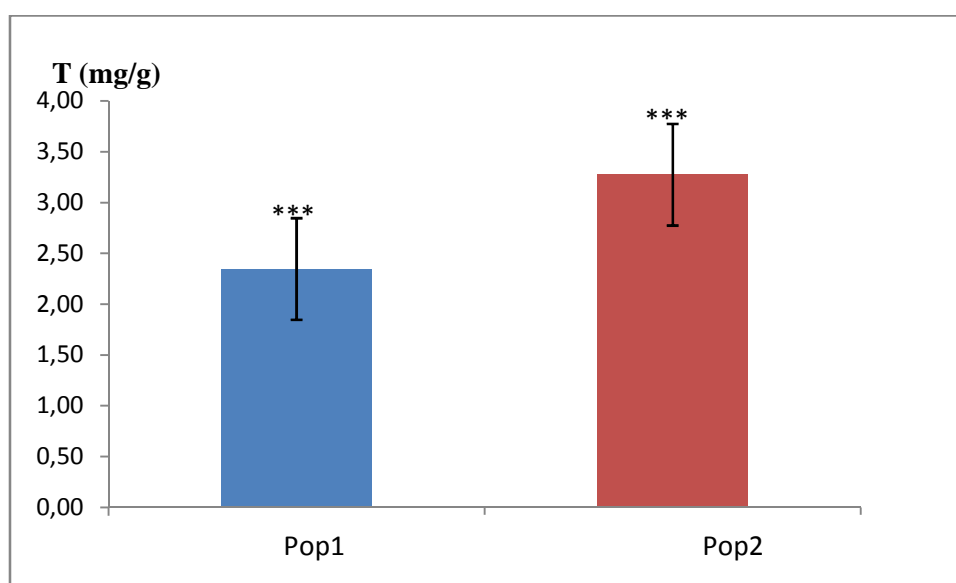


Figure 35 : Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues en anthocyanes des fruits des deux populations.

Tableau 12 : Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues des C-glycosyl flavones des fruits des deux populations

Individus Populations	1	2	3	Moyenne \pm écarts types
Pop1	6,64	3,11	5,67	$5,14 \pm 1,82$
Pop2	2,20	2,59	2,45	$2,41 \pm 0,18$

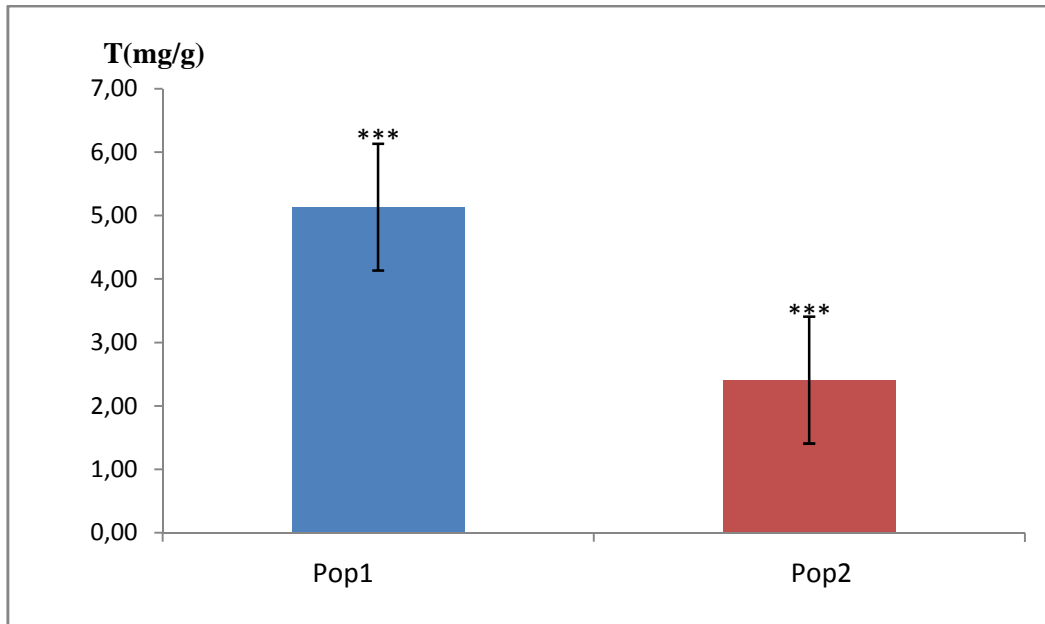


Figure 36 : Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues en C-glycosylflavones des fruits des deux populations.

Tableau 13 : Moyennes \pm écarts types des Teneurs absolues en aglycones des fruits des deux populations

Individus Populations	1	2	3	Moyenne \pm écarts types
Pop1	0,06	0,04	0,03	0,04 \pm 0,01
Pop2	0,07	0,05	0,04	0,05 \pm 0.01

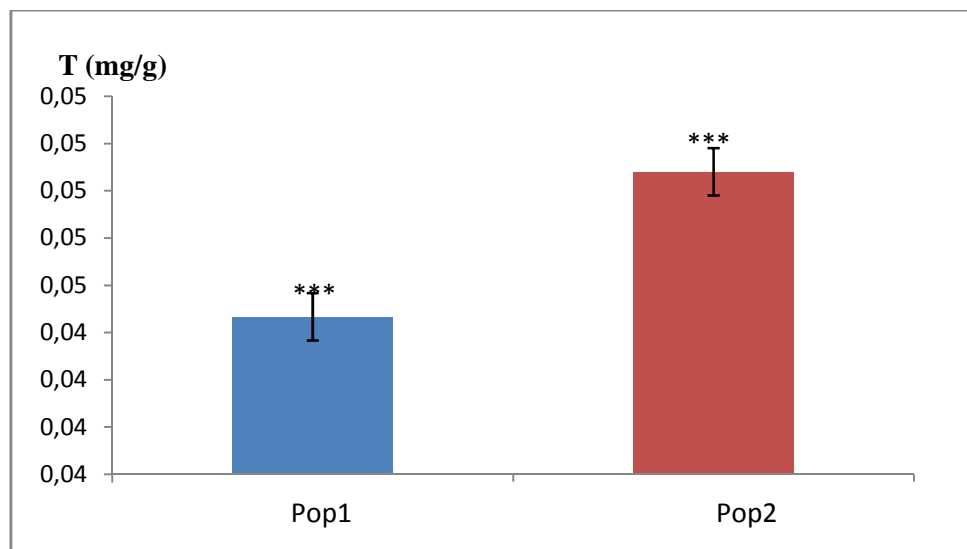


Figure 37: Moyennes \pm écarts type des teneurs absolues en aglycones des fruits des deux populations.

Les résultats de cette étude ont montré que les teneurs moyennes des aglycones dans les fruits provenant de deux stations sont les plus faibles ($\text{pop1}=0,04\pm 0,01$; $\text{pop2}=0,05\pm 0,01$) tandis que celles des c-glycosides sont élevées ($\text{pop1}=5,14\pm 1,82$; $\text{pop2}=2,41\pm 0,18$) suivies des anthocyanes ($\text{pop1}=2,35\pm 1,02$; $\text{pop2}=3,27\pm 1,05$).

L'analyse des résultats par le test t n'a montré aucune différence significative dans la composition de la pulpe des fruits des populations des 2 provenances ($p=0,335>0,05$).

Leland et al.(2006) estiment que la diversité de couleurs observées au niveau des feuilles, racines, tiges, écorces, fruits et fleurs des plantes ne serait que le résultat de la co-pigmentation intra ou inter moléculaire. Ceci n'est pas justifié dans notre cas. En effet aucune différence notable n'a été notée de visu, quant à la teinte de la pulpe des fruits du nord et du sud algérien, contre les couleurs des extraits des feuilles sont plus foncées que ceux des fruits.

Djemai- Zoughlache (2009) en analysant les fruits de *Zizyphus lotus* de la wilaya de Batna (Algérie) a trouvé $0,64 \pm 0,4$ ce résultat est bien plus important que le notre, cette différence pourrait s'expliquer par l'origine géographique et le degré de maturité du fruit (Guignard, 2001).

Cette différence dans les teneurs peut être inhérente expliquée par les conditions environnementales, climatiques et période de collecte ainsi qu'aux par les facteurs génétiques et aux conditions expérimentales.

Daas et al.(2014) ont trouvé que les péricarpes de trois variétés de dattes échantillonnées au Maroc étaient faibles en flavonoïdes. Elles sont de l'ordre de $1,73 \times 10^{-3} \pm 0,01$ (variété Ghars) ; $2,60 \times 10^{-3}$ (Mech-Degla). Ces résultats sont proches de ceux que nous avons obtenus et peuvent être qualifiés de traces bien que notre plante soit taxonomiquement éloignée du genre *Phoenix*.

4.2.2. Feuille

Les teneurs absolues moyennes en anthocyanes, c-glycosides et aglycones flavones, sont exprimées en milligrammes par gramme de matière végétale sèche dans les feuilles des trois individus des deux populations étudiées.

Nous déduisons de ces résultats que les feuilles de la population de Mekla contiennent des teneurs élevées en anthocyanes (Tab14 Et Fig.38) et en aglycones flavones (Tab16 Et Fig40) que la population de la Daya, à savoir $0,78\pm 0,09$ - $0,73\pm 0,15\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ et $0,0614\pm 0,0020$ - $0,0344\pm 0,0045\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$.

Dans le cas des c-glycosides nous pouvons noter une diminution de ces teneurs dans les feuilles de la population de Mekla par rapport à celles de la population de la Daya. Avec respectivement $0,66 \pm 0,22$ - $0,72 \pm 0,04 \text{mg.g}^{-1}$ (Tab 15 et fig 39).

Tableau 14 : Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues en anthocyanes des feuilles des deux populations.

Individu Population	1	2	3	Moyenne \pm écarts types
Pop1	0,85	0,81	0,67	$0,78 \pm 0,09$
Pop2	0,69	0,90	0,60	$0,73 \pm 0,15$

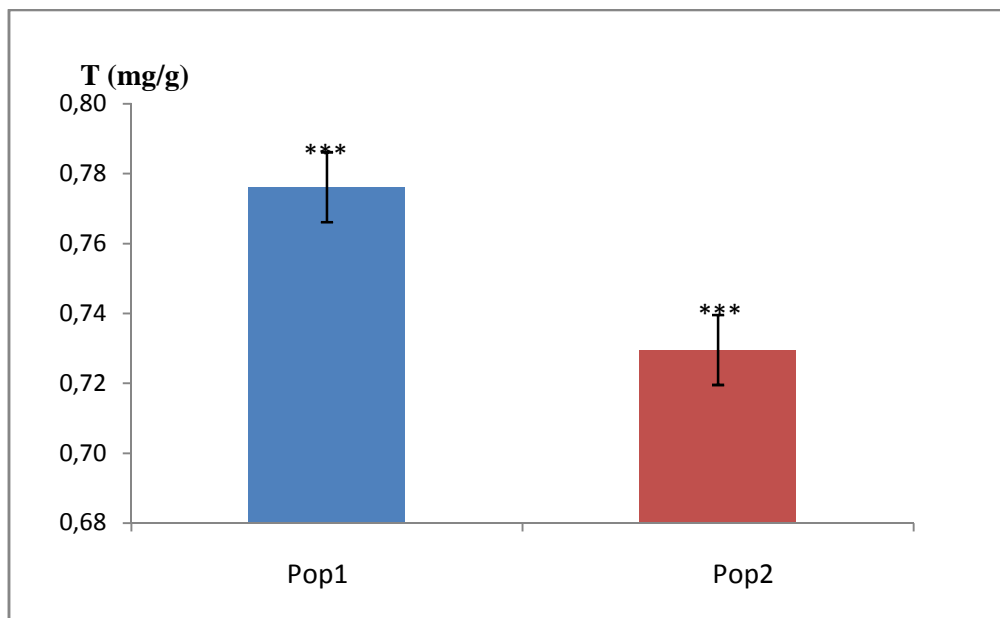


Figure 38: Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues en anthocyanes des feuilles des deux populations.

Tableau 15 : Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues en C-glycosylflavones des feuilles des deux populations.

Individus Populations	1	2	3	Moyenne \pm écart types
Pop1	0,41	0,72	0,84	0,66 \pm 0,22
Pop2	0,77	0,70	0,70	0,72 \pm 0.04

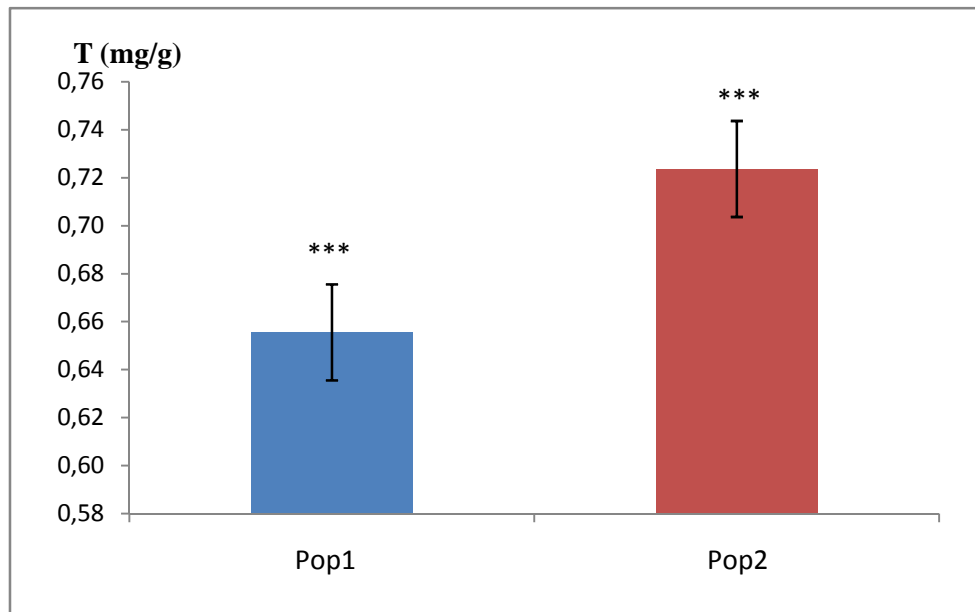


Figure 39: Moyennes \pm écarts type des teneurs absolues en C-glycosylflavones des feuilles des deux populations.

Tableau 16 : Moyennes \pm écarts types des aglycones des feuilles des deux populations.

Individus Populations	1	2	3	Moyenne \pm écarts types
Pop1	0,0633	0,0615	0,0594	0,0614 \pm 0,0020
Pop2	0,0367	0,0292	0,0373	0,0344 \pm 0,0045

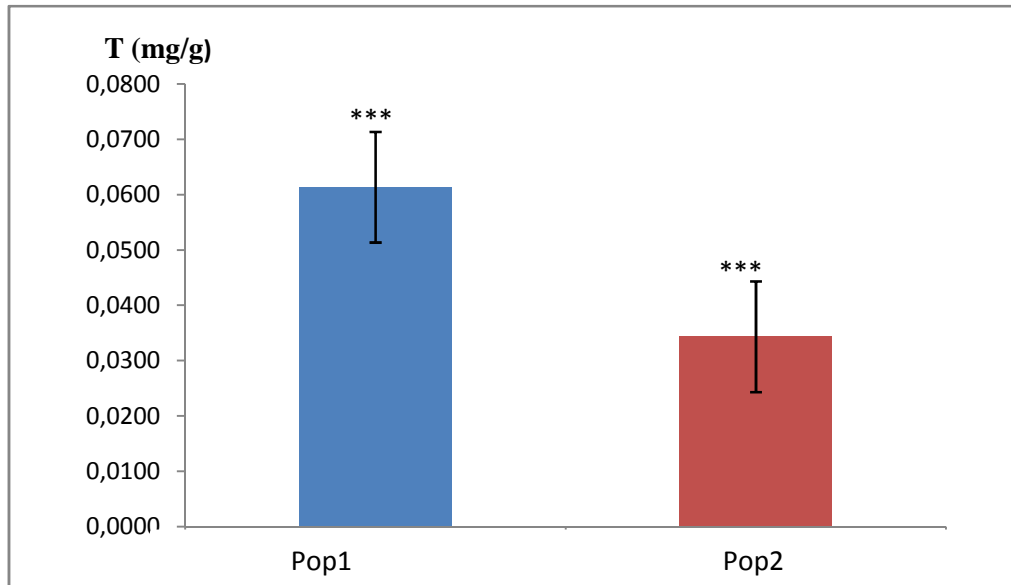


Figure 40 : Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues en aglycones des feuilles des deux populations.

La composition des feuilles échantillonnées des deux populations de *Zizyphus lotus* ont montré des valeurs proches en anthocyanes (pop1=0,78 \pm 0,09 ; pop2=0,73 \pm 0,15), et en C-glycosides (pop1=0,66 \pm 0,22 ; pop2=0,72 \pm 0,04). L'analyse statistique a montré une différence non significative pour les deux classes phénoliques citées ($p=0.635>0,05$ et $p=0.677>0,05$) respectivement.

Cependant, les teneurs moyennes en aglycones sont de 0.0614 \pm 0.02 pour la population du nord et 0.0344 \pm 0.004 pour la population du sud, l'analyse par le test t a révélé une différence significative ($p=0.00068<0,05$).

Ghedira (2013) en analysant les feuilles de *Zizyphus lotus* du sud tunisien a rapporté quelles étaient constituées essentiellement de quercétine.

5. Résultats des activités biologiques des polyphénols de *Zizyphus lotus*

5.1. Activités antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des différents extraits des fruits du *Zizyphus lotus* a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne (Tab 17,18) et (Fig 41, 42, 43, 44)

Tableau 17 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne obtenus par différents extraits du *Zizyphus lotus* de la population1.

Classe phénolique et organes Souche bactériennes	Anthocyanes		C-glycosides		Aglycones	
	fruit	feuille	Fruit	feuille	Fruit	Feuille
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram-)	-	-	10,33±3.06	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram+)	25.33±3.79	23.67±3.21	22,67±2,52	21.67±1.53	20±0.00	24±2.65

Les valeurs sont une moyenne de 3 essais± écarts types (les zones sont mesurées en mm)

Les extraits de *Zizyphus lotus* de la population 1se sont révélés actifs vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. En effet, des zones d'inhibition dont le diamètre est compris entre 20 et 25mm ont été relevés.

Les aglycones se sont avérés les plus actifs avec une zone d'inhibition de 20 mm et les anthocyanes des fruits sont les plus actifs biologiquement avec une zone d'inhibition 25.33±3.9mm.

L'entérobactérie à Gram négatif *Pseudomonas aeruginosa* n'a pas été sensible au différents composés sauf pour les c-glycosides des fruits qui ont agit sur la croissance de cette bactérie en montrant une zone d'inhibition ayant un diamètre de 10mm.

Tableau 18: Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne obtenus pour les différents extraits du *Zizyphus lotus* de la population 2

Classe phénolique et organes Souche bactériennes	Anthocyanes		c-glycosides		Aglycones	
	fruit	feuille	Fruit	feuille	Fruit	Feuille
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram-)	-	-	11,00±1,00	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram+)	23.33±3,51	14±1.00	20,33±0,58	22,67±5,20	23±1,00	20.67±6,03

Les valeurs sont une moyenne de 3 essais± écarts types (les zones sont mesurées en mm)

Nos extraits se sont avérés inactifs vis à vie de *Pseudomonas aeruginosa* sauf pour les C- glycosidesflavone des fruits qui ont montré un diamètre supérieur à 10 mm.

Les extraits de *Zizyphus lotus* de la population 2 se sont montrés actifs vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. Les diamètres mesurés sont compris entre 20,33±0,58 mm et 23,33±3,51 mm pour les fruits, 14±1,00 mm et 22,67±5,20 mm pour les feuilles.

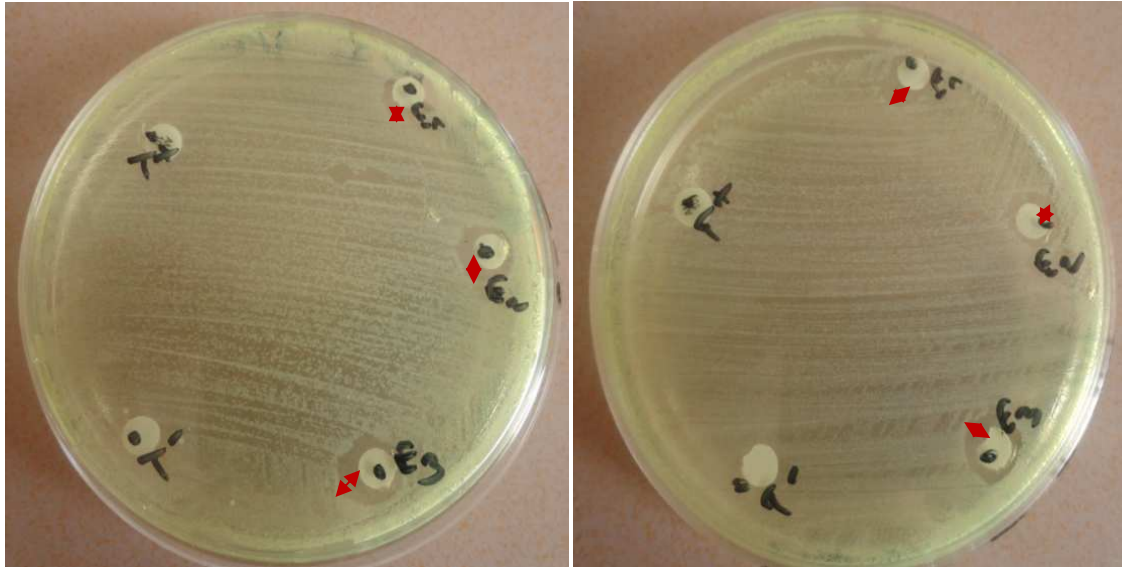


Figure 41: Les C-glycosides extraits des fruits des deux populations de *Zizyphus lotus* n'ont pas eu d'effet important sur la croissance des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* qui s'est traduit par l'apparition de zone d'inhibition de faible diamètre (flèche)

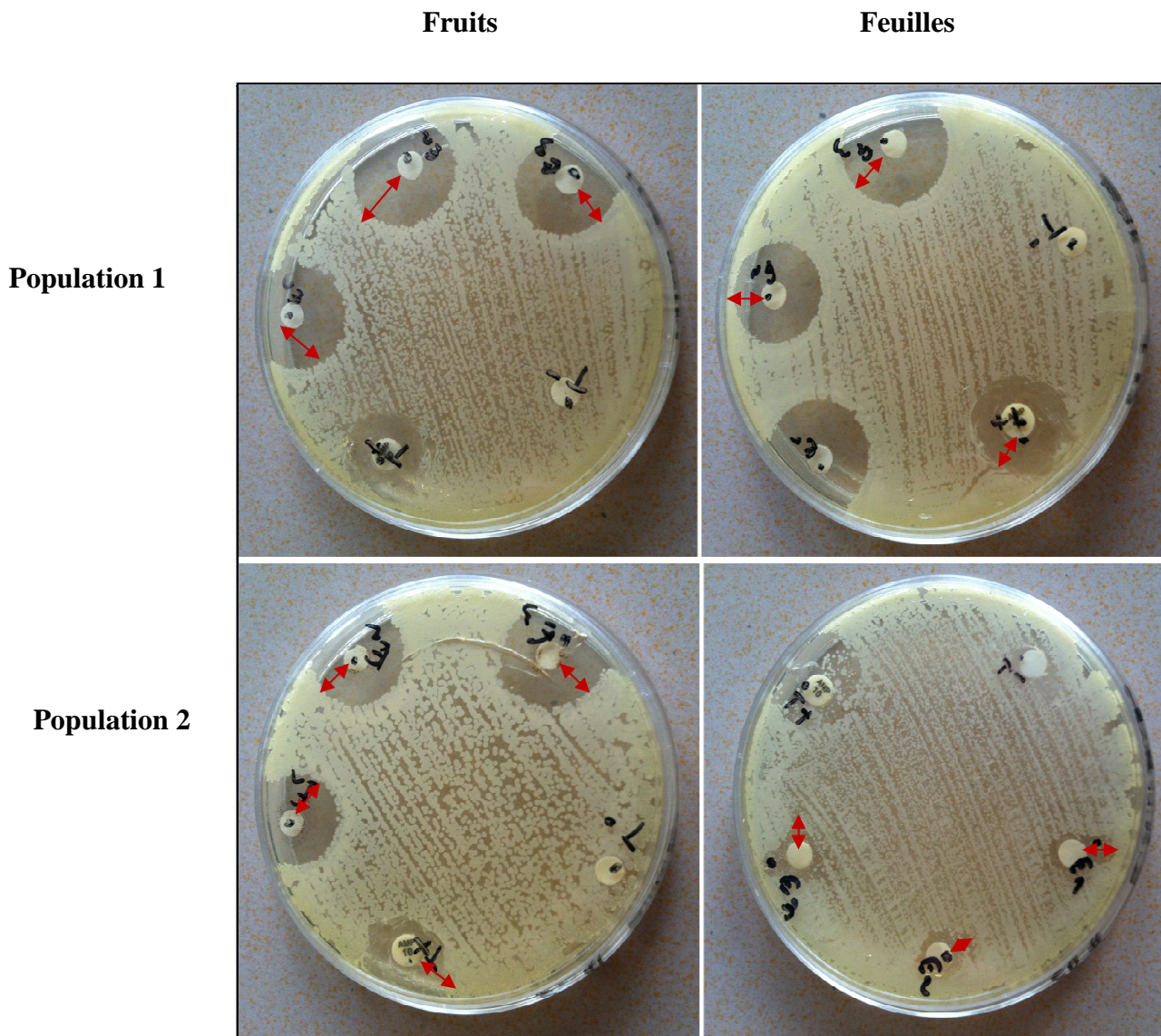


Figure 42 : Les anthocyanes extraits des fruits et feuilles des deux populations de *Z. lotus* ont inhibé la croissance des colonies de *S. aureus*. Les zones d'inhibitions sont nettes (flèches)

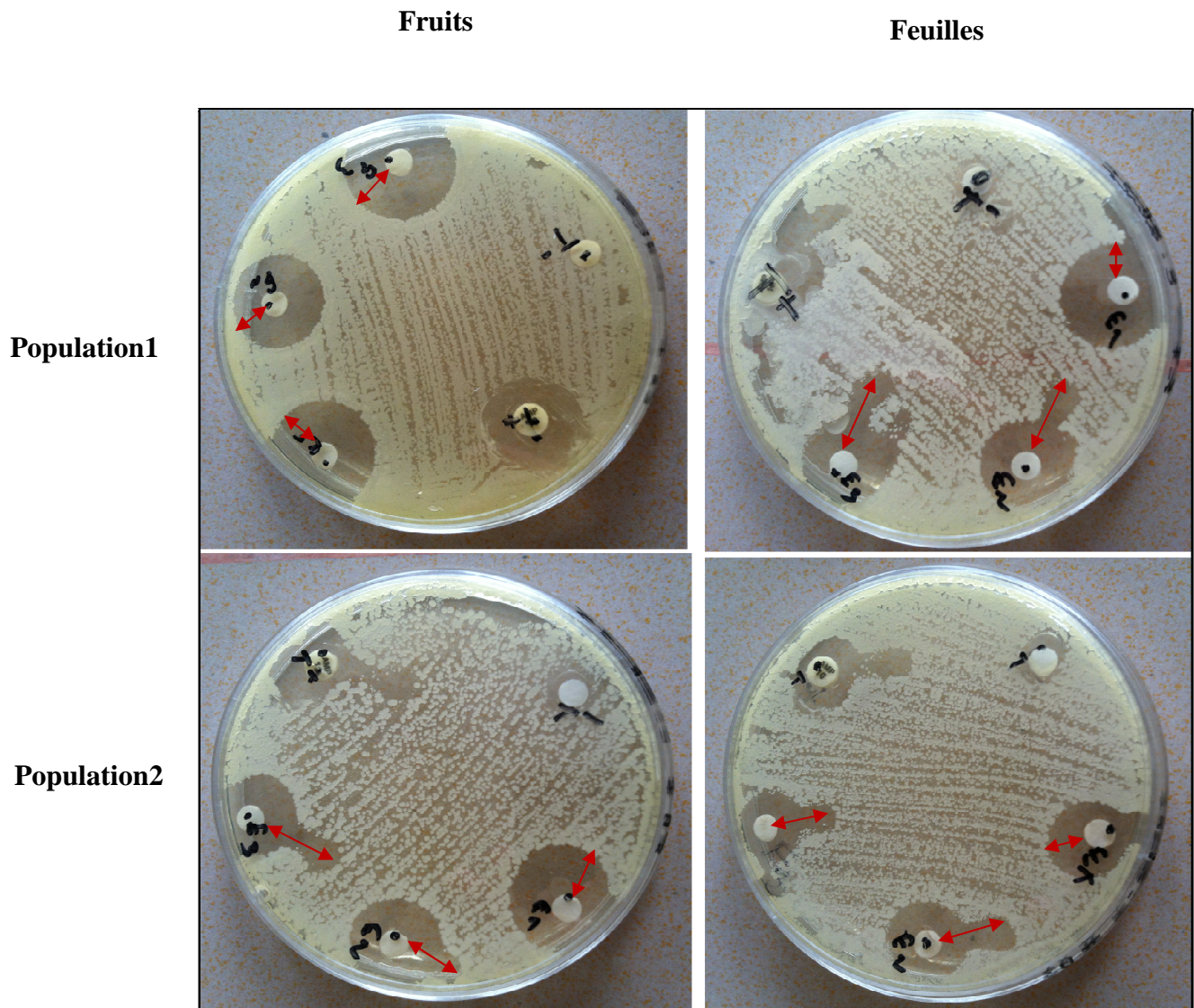


Figure 43: Les C-glycosides extraits des fruits et feuilles des deux populations de *Z. lotus* ont inhibé la croissance des colonies de *S. aureus*. Les zones d'inhibition sont visibles et importantes (flèches).

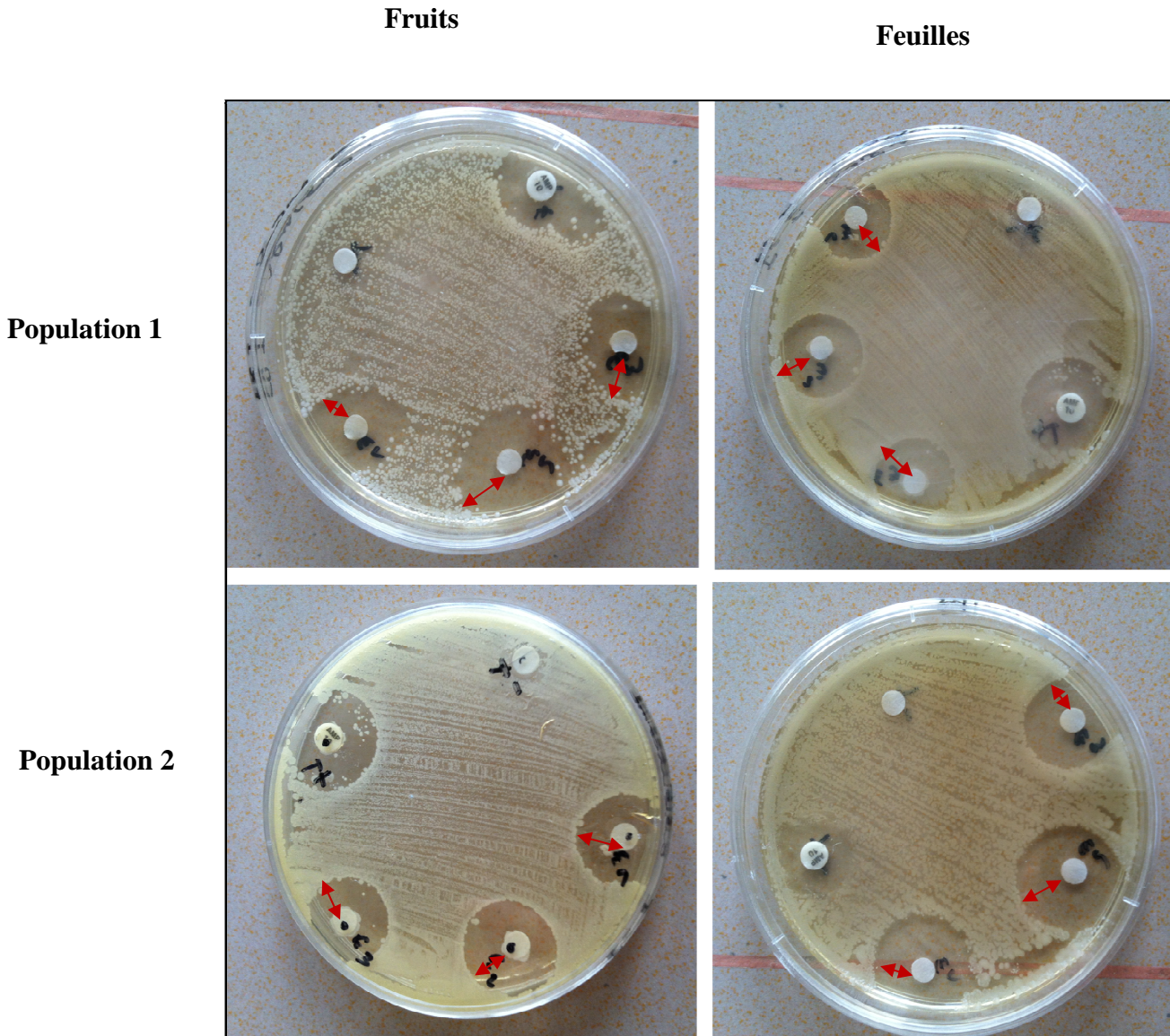


Figure 44: Les Aglycones extraits des fruits et feuilles des deux populations de *Z. lotus* ont inhibé la croissance des colonies de *S. aureus*. Les zones d'inhibitions sont importantes (flèches).

T⁺ : témoin positif (Gentamicine), **T⁻** : témoin négatif, **E₁**, **E₂**, **E₃** : nombres des répétitions.

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition de la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* obtenus par les différents extraits de *Zizyphus lotus* sont groupés dans les tableaux 19 et 20 et illustrés par la figure 45.

Tableau 19 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition de la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* par les c-glycosides des deux populations de *Zizyphus lotus* ± écarts types.

C- glycoside	E1	E2	E3	Moyenne ± écarts types
fruit pop1	11,00	7,00	13,00	10,33 ± 2,52
feuille pop1	0,00	0,00	0,00	0,00±0,00
fruit pop2	10,00	12,00	11,00	11,00±0,58
feuille pop2	0,00	0,00	0,00	0,00±0,00

L'analyse des résultats a révélé que les C-glycosides des fruits des 2 populations ont une activité vis-à-vis de la souche sou-citée avec une moyenne des diamètres mesurés des zones d'inhibitions comprises entre 10 et 11 mm et avec des CMI respectives de $1,8 \times 10^{-3}$ et $9,3 \times 10^{-4}$. Les c-glycosides provenant des feuilles n'ont aucune activité (avérée nulle).

Tableau 20: Moyennes ± écarts types des diamètres des zones d'inhibition de la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* en présence des anthocyanes et des aglycones extraits des deux populations des *Z. lotus*.

Classes phénoliques	Moyennes ± écart types			
	Population1		Population2	
	Fruits	Feuilles	Fruits	Feuilles
Anthocyanes	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Aglycones	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00

L'analyse des résultats du tableau 20 nous montre que les anthocyanes et les aglycones extraites des deux populations n'ont aucune activité sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*.

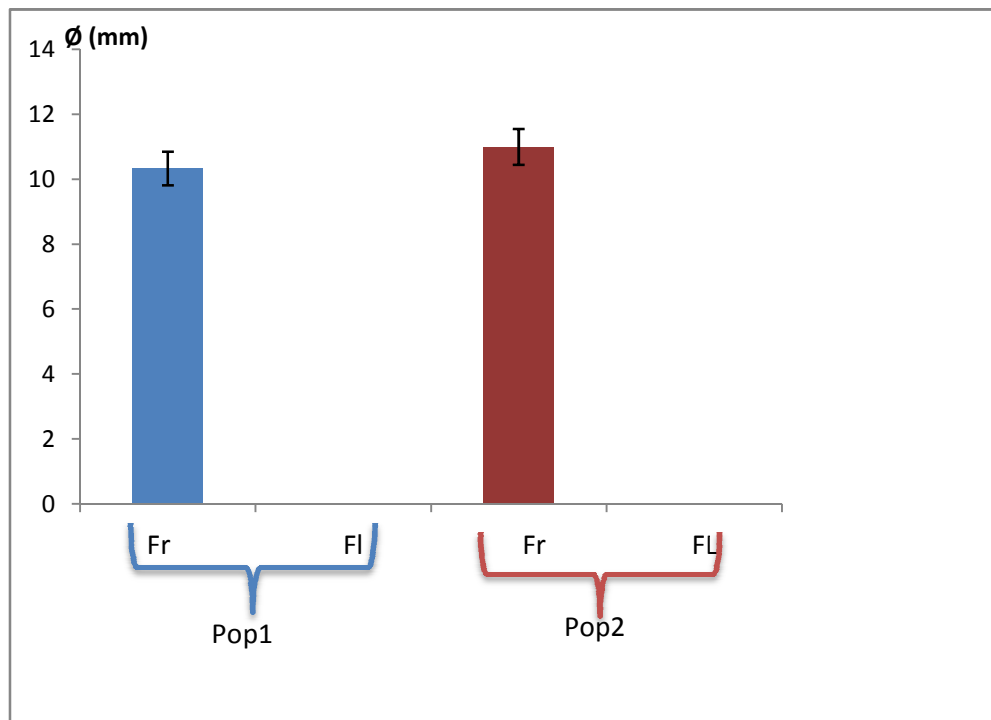


Figure 45 : Diamètres moyens des zones d’inhibition de la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* par les C-glycosides

La lecture de cet histogramme nous révèle que les activités des deux extraits actifs sont semblables.

➤ *Staphylococcus aureus*

Les zones d’inhibitions de la croissance de *Staphylococcus aureus* obtenus par les différents extraits de *Zizyphus lotus* sont groupés dans les tableaux 21, 22, et 23 et illustrés par les figures 46, 47 et 48 et leur CMI sont regroupées dans le tableau 33 et 34 annexe 6.

Tableau 21: Moyennes ± écarts types des diamètres des zones d’inhibition de la croissance *Staphylococcus aureus* par les c-glycosides du *Zizyphus lotus* des deux populations.

Essais C-glycoside	E1	E2	E3	Moyenne ± écarts types
Fruit pop1	25,00	23,00	20,00	22,67±2.52
Feuille pop1	22,00	20,00	23,00	21,67±1.53
Fruit pop2	20,00	21,00	20,00	20,33±0.58
Feuille pop2	20,00	20,00	11,00	17,00±5.20

L'analyse des résultats de ce tableau montre que les classes phénoliques étudiées (C-glycosides) des deux populations sont actives contre *Staphylococcus aureus* avec des valeurs comprises entre 17 et 22 mm. *Staphylococcus aureus* est donc très sensible aux c-glycosides

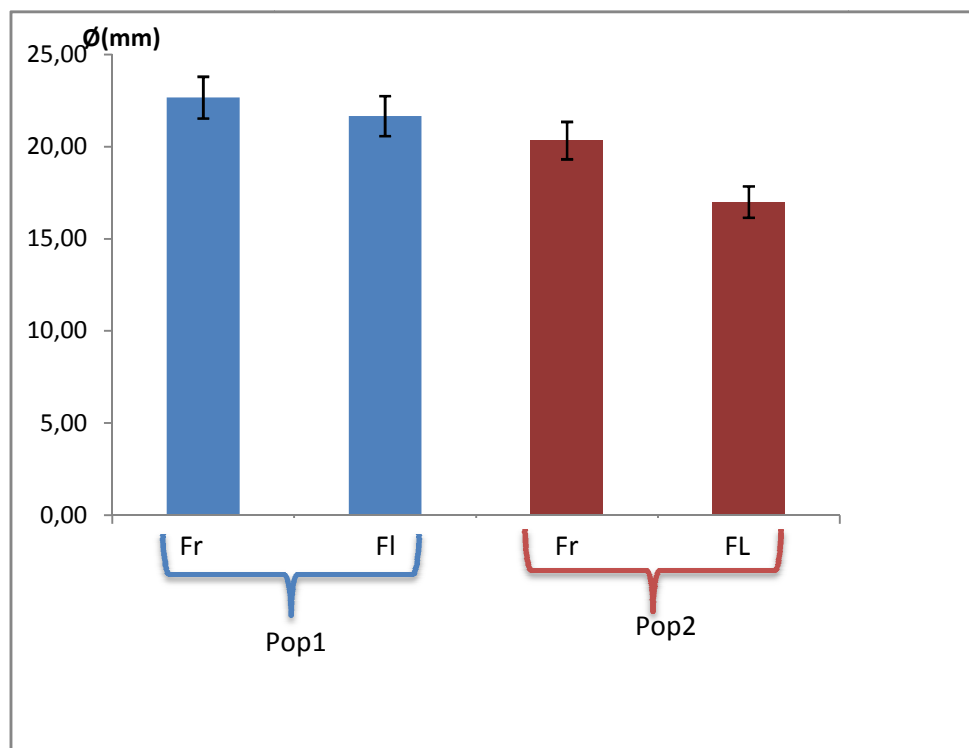


Figure 46 : Diamètres moyens des zones d'inhibitions de la croissance de *Staphylococcus aureus* par les C-glycosides des deux populations.

L'histogramme nous montre que les c-glycosides des fruits et feuilles des deux populations sont actifs de la même manière sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

Tableau 22: Moyenne \pm écarts types des diamètres des zones d'inhibition de la croissance *Staphylococcus aureus* par les anthocyanes du *Zizyphus lotus* des deux populations.

anthocyane	E1	E2	E3	Moyenne \pm écarts types
fruit pop1	21,00	27,00	28,00	25,33 \pm 3,79
feuille pop1	20,00	26,00	25,00	23,67 \pm 3.21
fruit pop2	20,00	27,00	23,00	23,33 \pm 3.51
feuille pop 2	14,00	13,00	15,00	14,00 \pm 1,00

L'analyse des résultats de ce tableau montre que tous les c-glycosides des deux populations sont actifs contre *Staphylococcus aureus* avec un minimum de 14 mm et un maximum de 25 mm. *Staphylococcus aureus* est donc extrêmement sensible aux anthocyanes.

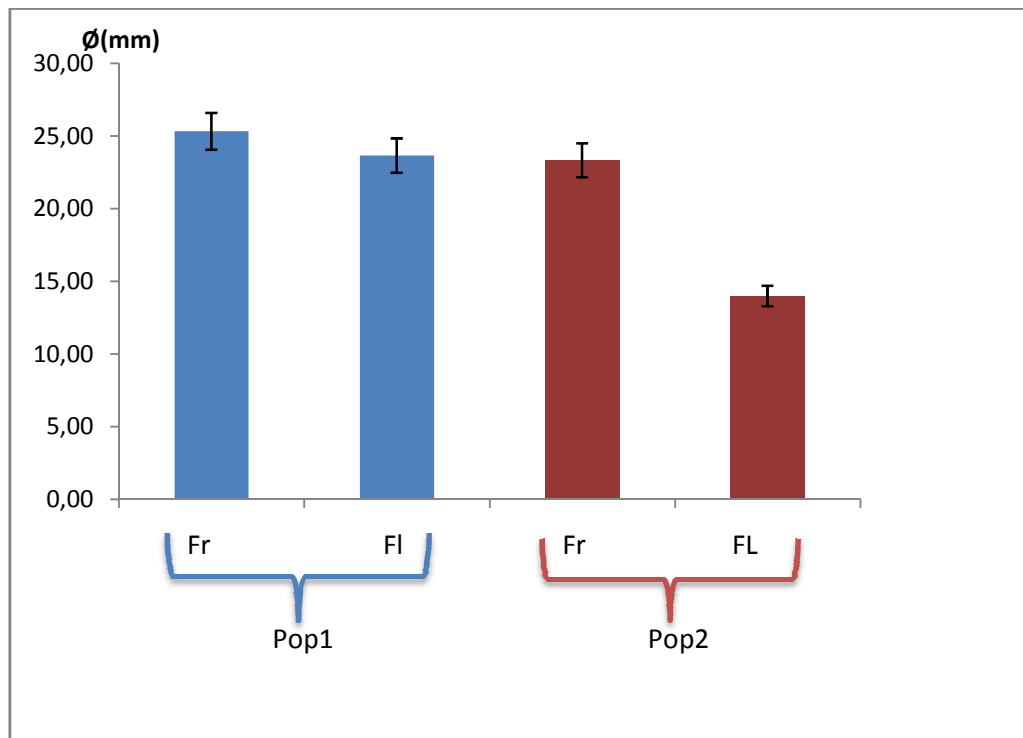


Figure 47 : Diamètres moyens des zones d'inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* par les anthocyanes des deux populations.

La lecture de cet histogramme nous montre que les anthocyanes des fruits et feuilles des deux populations sont actifs vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. Avec une activité de moindre importance pour les feuilles de la population du sud.

Tableau 23: Moyenne \pm écarts types des diamètres des zones d'inhibition de la croissance *Staphylococcus aureus* par les aglycones du *Zizyphus lotus* des deux populations.

Aglycone \ Essais	Essais			Moyenne \pm écarts types
	E1	E2	E3	
fruit pop1	20,00	20,00	20,00	20,00 \pm 0,00
feuille pop1	22,00	23,00	27,00	24,00 \pm 2.65
fruit pop2	22,00	24,00	23,00	23,00 \pm 1,00
feuille pop2	20,00	27,00	15,00	20,67 \pm 6.03

Les résultats du tableau 46 indiquent que les aglycones sont actifs vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* avec un maximum de 24 mm et un minimum de 20 mm. Les aglycones provenant des deux populations ont un effet important sur le développement de *Staphylococcus aureus*. En montrant des zones d'inhibition importantes.

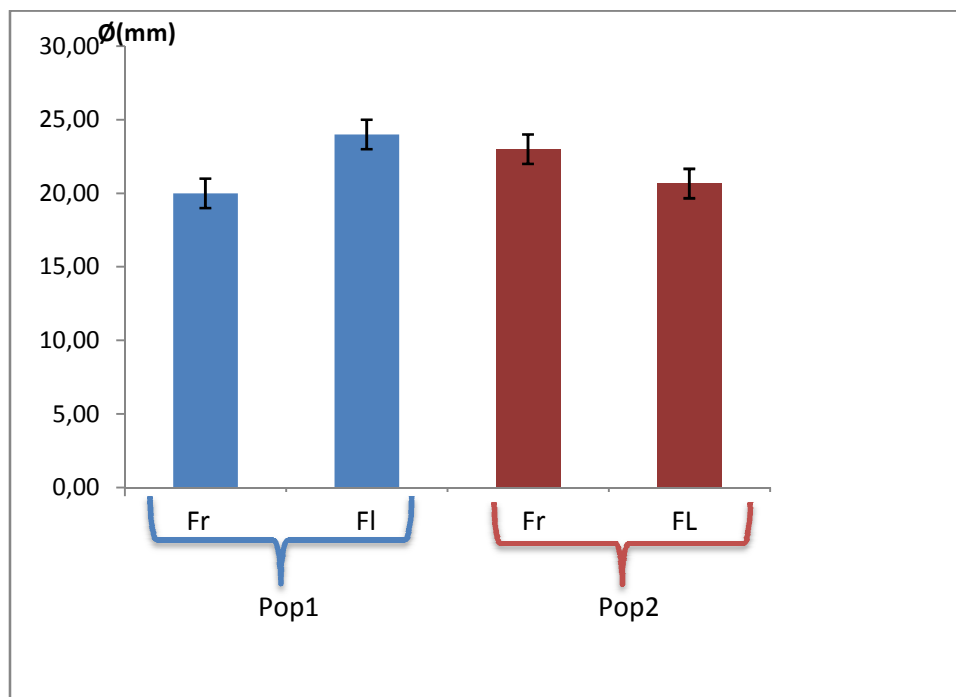


Figure 48 : Diamètre moyens des zones d'inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* par les aglycones des deux populations.

L'histogramme ci-dessus nous montre que les aglycones des fruits et feuilles des deux populations sont actifs vis-à-vis *Staphylococcus aureus* de la même manière.

Globalement, les extraits du *Zizyphus lotus* se sont révélés actifs de manière différente. ce fait serait lié au contenu des extraits en substances à activité antimicrobienne. Ghédira (1995) a montré, qu'un alcaloïde de cette espèce présente une activité antibactérienne significative, sans négliger l'effet synergique des autres molécules à effet antimicrobien.

L'activité antimicrobienne de l'extrait de la pulpe du fruit de *Zizyphus lotus* des deux populations est plus importante que celle des feuilles. Cela peut être expliqué par le fait que les teneurs en polyphénols des fruits sont élevées par rapport à celle des feuilles. L'analyse statistique l'a confirmé, en effet le test t a révélé des différences significatives $p < 0,05$.

Il est appa  t que *Staphylococcus aureus* (Gram positif) est la bactérie la plus sensible en comparaison avec *Pseudomonas aeruginosa* (Gram négatif) ; ceci peut être attribué à la différence de la structure de la paroi entre les bactéries gram positif et les bactéries gram négatif.

La paroi cellulaire des bactéries à Gram positif est constituée par une seule couche alors que la paroi cellulaire des gram négatif a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe (Ali-Shtayeh et al., 1998)

Il est important de souligner que la méthode utilisée (le choix des solvants), ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée (   chaud ou à froid), affectent tous le contenu total en phénols et flavono  ides, et par conséquent affecte les activités biologiques médiées par ces métabolites (Lee et al., 2003).

Djemai-Zoughlache (2009), vient confirmer nos résultats vis-à-vis des souches testées, en effet, les résultats obtenus sont de 22 mm pour *Staphylococcus aureus* et de 10mm pour *Pseudomonas aeruginosa*. Cela est en parfaite accord avec nos résultats.

Rsaissi et al (2013), ont testé l'activité des différents extraits à différentes concentrations de *Zizyphus lotus* sur plusieurs souches qui ont révélé une activité modérée dont *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* avec des zones d'inhibition qui varient de 10 à 13mm et de 7   11mm respectivement, cela concorde avec les résultats obtenu lors de notre étude.

5.2. Activité antiradicalaire du DPPH

L'activité antiradicalaire des différents extraits a été évaluée par le test au DPPH, celui-ci est souvent utilisé pour la rapidité des résultats comme il est employé pour le criblage des molécules douées d'activités antioxydante présentes dans les extraits des végétaux (Yi et al., 2008).

L'activité antioxydante des différents extraits des 2 populations de *Zizyphus lotus* vis-à-vis du radical DPPH été évaluée au spectrophotomètre, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm.

Les résultats sont résumés dans le tableau 35 annexe 7 et illustrés par les figures 49, 50, 51, 52, 53 et 54. Et les EC_{50} sont présenté dans le tableau 24.

L'ensemble des composés appartenant à la même classe sont représentés sur le même graphe

5.2.1. Les anthocyanes

- cas des fruits

Les courbes de l'activité antiradicalaire des anthocyanes des fruits des deux populations sont illustrées par la figure 48.

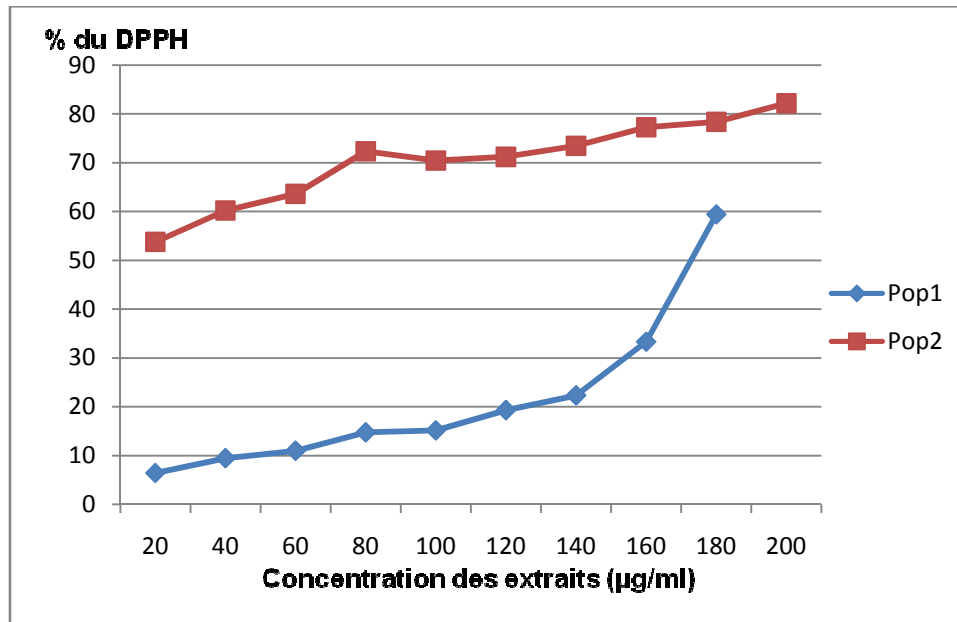


Figure 49 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH des anthocyanes provenant des fruits des deux populations.

Les anthocyanes des fruits de la pop2 montrent une très grande activité antiradicalaire. En effet, la plus petite concentration dépasse les 50% de piégeage du radical libre DPPH, alors que les anthocyanes des fruits de la pop1 montrent une faible activité, avec une concentration 200µg/ml d'éthanol qui atteint les 50% de piégeage.

- Cas des feuilles

Les courbes d'activité antiradicalaire des anthocyanes des feuilles des deux populations sont illustrées par la figure 48

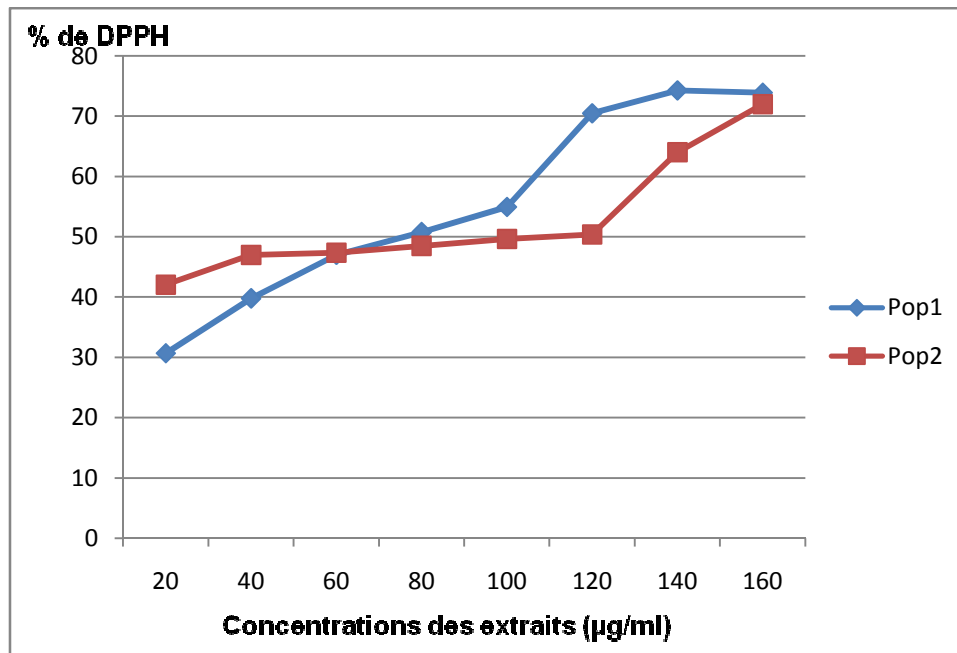


Figure 50 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH des anthocyanes des feuilles des deux populations.

Les anthocyanes des feuilles des deux populations montrent un chevauchement de l'activité antiradicalaire. Avant le piégeage de 50% du radical libre DPPH. L'activité des anthocyanes de la pop2 a été plus élevée. Seuil au-delà duquel l'activité des anthocyanes de la pop1 augmente brutalement pour atteindre 73% point à partir duquel l'activité reste stable.

5.2.2. Les C-glycosides

- **Cas des fruits**

Les courbes illustrant l'activité antiradicalaire des C-glycosides des fruits des deux populations sont montrées dans la figure 51.

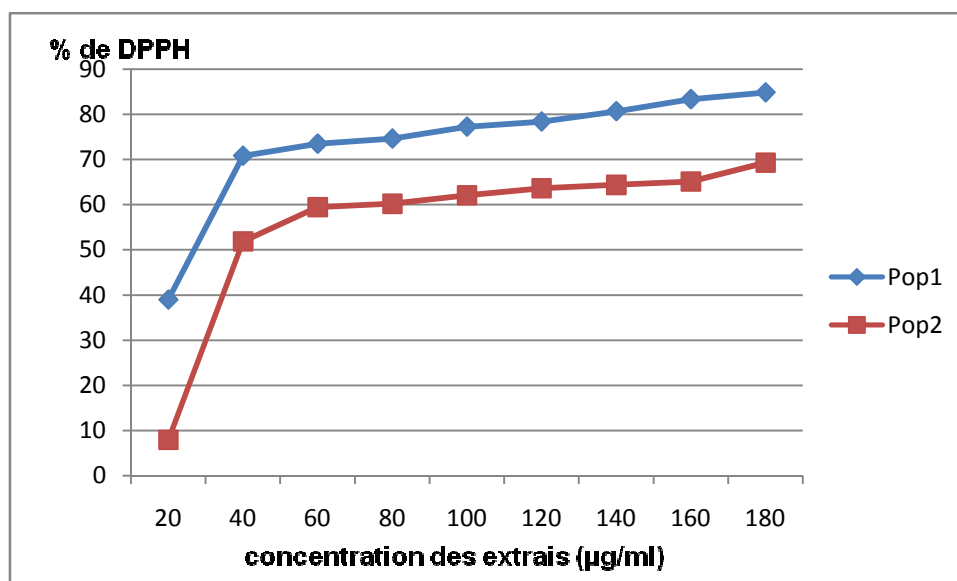


Figure 51 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH des C-glycosides des fruits des deux populations.

Les deux courbes obtenues (fig 51) montrent une allure en exponentielle proche de l'allure de la courbe théorique de l'activité antiradicalaire de l'acide ascorbique. Les C-glycosides de la pop2 montrent une très forte activité avec un très grand % de piégeage qui dépasse les 80% et un minimum de 40%, parallèlement à la courbe de la pop1 qui montre une activité dépassant les 50% et un maximum de 70% de piégeage du radicale libre DPPH.

- **Cas des feuilles**

Les courbes illustrant l'activité antiradicalaire des C-glycosides des feuilles des deux populations sont représentées dans la figure 52.

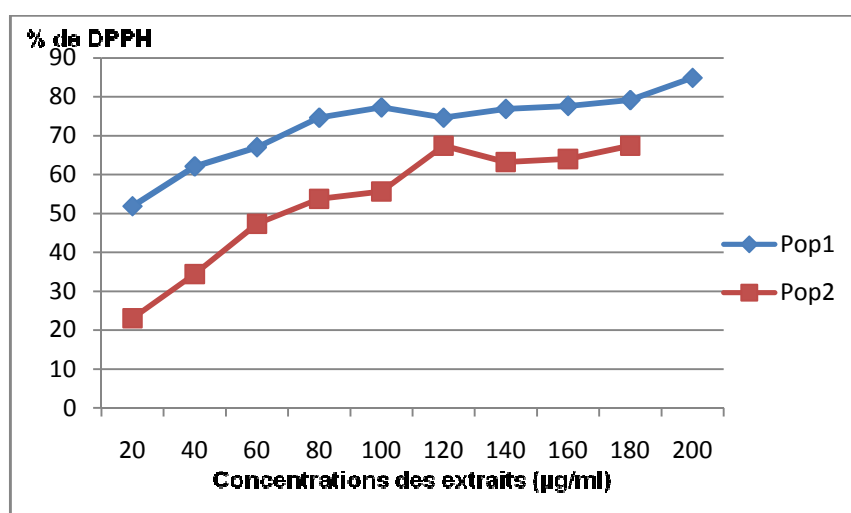


Figure 52 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH des C-glycosides des feuilles des deux populations.

Les C-glycosides des feuilles de la pop1 montrent une forte activité antiradicalaire, Pour la plus petite concentration le pourcentage de piégeage a atteint 50%, et pour la solution la plus concentrée soit 200µg/ml d'éthanol a une activité dépassant les 85%.

5.2.3. Les aglycones

- Cas des fruits

Les courbes illustrant l'activité antiradicalaire des aglycones des fruits des deux populations sont montrées dans la figure 53.

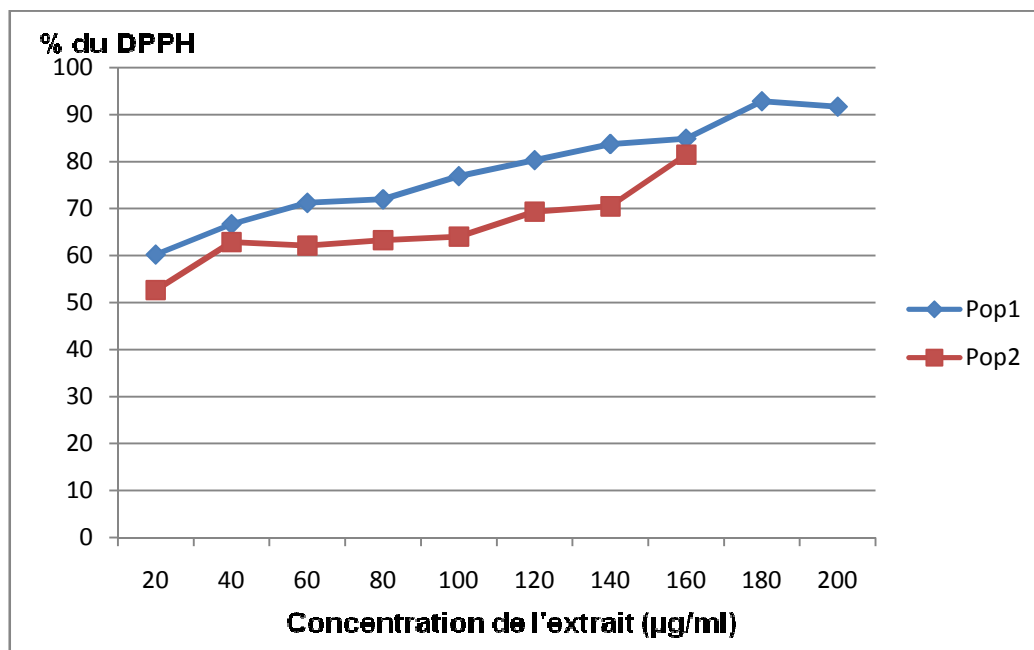


Figure 53 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH des aglycones des fruits des deux populations.

Les aglycones des fruits de la pop1 montrent une très grande activité antiradicalaire avec un minimum de 60% et un maximum dépassant les 90% de piégeage du DPPH. Le même effet a été enregistré pour les aglycones de la pop2 mais à un degré moindre avec 50% de piégeage pour la plus petite concentration et un maximum de 80% de piégeage du radical libre DPPH pour la concentration la plus élevée.

- Cas des feuilles

Les courbes traduisant l'activité antiradicalaire des aglycones des feuilles des deux populations sont illustrées par la figure 54.

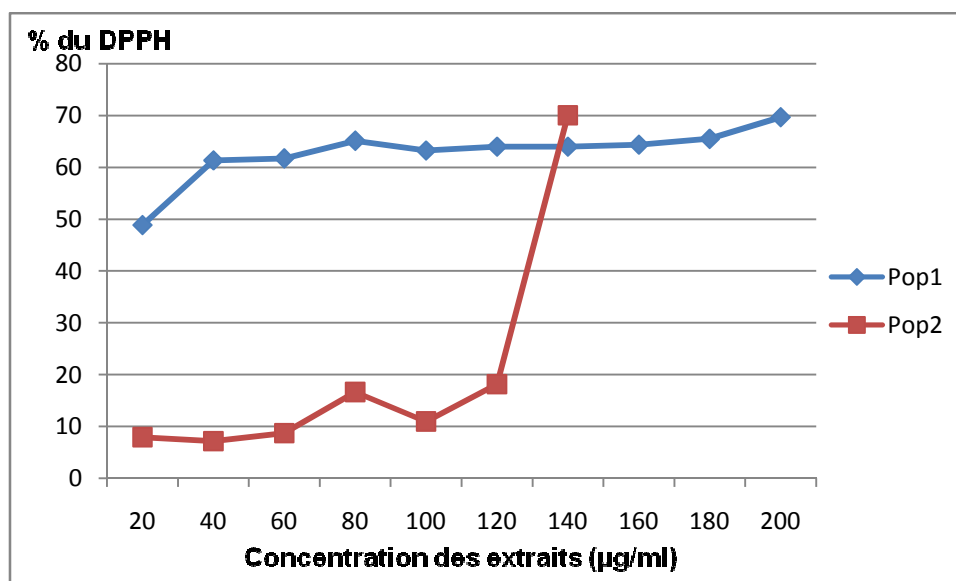


Figure 54: Pourcentages de réduction du radical libre DPPH des aglycones des feuilles des deux populations.

Tableau 24: Valeurs des concentrations EC50 des différentes classes phénoliques étudiées

Classes phénoliques	CI ₅₀ (µg/ml)			
	Population1		Population 2	
	Fruits	Feuilles	Fruits	Feuilles
Anthocyanes	180	80	20	120
C-glycosides	40	20	40	80
Aglycones	20	80	20	140

Les aglycones des feuilles de la pop1se sont illustrés avec une importante activité antiradicalaire avec un minimum de 50% et un maximum de 70%, par contre les aglycones de la pop2 montrent une très faible activité (inférieure à 50% du piégeage du DPPH).

Cette étude a permis de révéler que tous les composés identifiés aussi bien dans les fruits que dans les feuilles de *Zizyphus lotus* du nord et de sud algérien ont un effet antioxydant.

Parmi les trois classes phénoliques étudiées, les aglycones se sont révélés les plus actifs avec CI₅₀ de l'ordre de 20µg/ml et avec 91% de réduction, suivie des c-glycosides avec une CI₅₀ 40µg/ml et les anthocyanes viennent en dernier avec une CI₅₀ de 180µg/ml (Tab 24).

A des fins comparatives, un antioxydant de référence a été utilisé : il s'agit de l'acide ascorbique qui a montré une puissante activité antiradicalaire de l'ordre de 98%.

Ce résultat est confirmé par Li *et al.*(2005), qui a montré que le fruit du *Zizyphus lotus* à un effet antiradicalaire important 83,56% . En outre, une étude menée par Kone (2009) a montré que les extraits des feuilles de *Zizyphus mucromata* ont une activité antioxydante importante égale à 72%.

La plus forte activité antioxydante est révélée par les aglycones avec une concentration de (0.02mg/ml contre 0.008mg/ml pour l'acide ascorbique (vitamine C) extraits de la pulpe des fruits de *Zizyphus lotus* du nord. Les aglycones en général peuvent céder facilement un ou plusieurs protons pour neutraliser les radicaux libres.

Nos résultats sont en accord avec ceux de Ghedira *et al.* (2013) qui expliquent cette forte activité antioxydante par la présence de rétinol (vit A) et d'acide ascorbique (vit C) dans la pulpe des fruits de *Zizyphus lotus*.

L'acide ascorbique est l'un des plus puissant anti oxydant connu jusqu'à nos jours. Les fruits du nord Algérien ayant montré une plus forte activité au DPPH seraient plus riche en acide ascorbique.

Selon Hsu *et al.* (2007) les composés phénoliques sont largement distribués dans les tissus des plantes parmi lesquelles se retrouvent de nombreuses molécules antiradicalaire et antioxydante.

5.3. Résultats du Test de toxicité de la poudre des fruits de *Z. lotus*

La longévité moyenne des insectes dans les lots témoins est de 12.5 ± 0.57 jours. Elle diminue de manière significative pour s'annuler à la dose 30%. L'analyse de la variance à 2 critères de classifications (facteurs dose et temps) révèle une différence hautement significative à la fois pour le facteur dose ($P=0$), pour le facteur temps ($P=0$) et pour l'interaction facteur dose \times facteur temps.

Le test de Newman et Keuls au seuil de signification 5% classe l'interaction facteur dose \times facteur temps (durée de traitement) en 4 groupes homogènes.

La poudre des fruits de *Z. lotus* provenant de Mekla (Kabylie), a montré une activité bioinsecticide importante vis-à-vis des adultes de *T. castaneum*. Nous assistons à une évolution progressive de la mortalité des adultes de *T. castaneum*. La mortalité totale du ravageur étudié a été obtenue au bout de 10 jours de traitement avec la dose 30%.

L'analyse statistique a montrée que la mortalité est significative avec les différentes concentrations utilisées par rapport au témoin. Le pouvoir insecticide de cette plante serai le résultat de l'activité biologique des polyphénols contenu dans la poudre des fruits.

La durée de vie réduite de ce dernier sera due à l'intoxication respiratoire liée aux composés volatils contenus dans les poudres (Glitho et *al.*, 1997). Ces substances chémochimiques contenues dans les substances naturelles, notamment les terpènes sont responsables de l'activité insecticide. Ces composés joueraient un rôle létal à forte concentration. Ils agissent aussi bien sur le système nerveux que sur la synthèse des protéines chez les insectes (Picinbon, 2002).

La poudre des fruits de *Z. lotus* agirait mécaniquement en provoquant une déshydratation par absorption de l'eau de l'épicuticule suivi de la dessiccation et la mort de l'insecte (Vayias et *al.*, 2008).

Les produits volatiles et les polyphénols contenus dans la poudre des fruits de *Z. lotus* agissent comme un anti-appétant, un répulsif, un insecticide pour les insectes (Gauvin et *al.*, 2003).

Le taux de mortalité progressant avec l'augmentation de la dose du biopesticide de la quantité des principes actifs (Kim et Ahn, 2002). Notre résultat est en accord avec celui obtenu par Seck et *al.* (1991) qui ont enregistré un taux de mortalité de *Callosobruchus maculatus* de 85% pour une dose de 52% de poudre de graines de neem après trois jours d'exposition.

Conclusion

Au terme de ce travail, il a apparu clairement que l'étude morphométriques a montré une différence significative entre les fruits issus de la population du sud avec un diamètre de pour ces dernier ($5,79\pm 1,24$ mm) et celle du nord avec ($13,81\pm 0,27$ mm) de diamètre, alors que pour les longueurs et largeur des feuilles aucune différence n'a été notée.

Les essais de germination des graines de *Z. lotus* des deux populations (nord et sud du pays) ont montré que les graines du sud non traitées ont montré une meilleure germination avec un taux de 73.33% comparé aux graines du nord qui ont germé à 66.66%. L'indice de germination de la population du nord est de 8,30 soit deux fois moins important que celui des graines du sud qui est de 13.

L'étude cytogénétique par la méthode du squash a révélé que le nombre de chromosomes dénombré est approximativement égal à 30 ($2n=30$).

Z. lotus est une plante intéressante au plus d'un titre pour sa concentration en substances antioxydantes dans ses fruits et ses feuilles. Les teneurs en aglycones sont insignifiantes dans les feuilles et fruits des 2 populations étudiées (Mekla et la daya de Bousdraïa). Les fruits de la population du sud sont plus riches en anthocyanes avec 3.27 mg/g, alors que les fruits de la population de Mekla sont riches en c-glycosides avec 5,14 mg/g.

Les fruits sont plus riches en anthocyanes et en c-glycosides comparés aux teneurs moyennes des feuilles. La connaissance de leur teneur en polyphénols informe les consommateurs sur leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, ces données sur leurs teneurs en antioxydants constituent des informations nutritionnelles supplémentaires qui faciliteraient une meilleure intégration du jujube parmi les aliments locaux.

L'activité antimicrobienne des polyphénols estimée sur milieu Muller-Hinton a montré que les polyphénols sont actifs vis-à-vis de *S. aureus* avec des zones d'inhibition diamètres compris entre 20 et 25mm pour la population du nord et 14 et 23.33 mm.

Pseudomonas aeruginosa est particulièrement résistante aux extraits de *Z. lotus*. Seuls les C-glucosides des fruits des deux populations qui ont montré une activité modérée avec des diamètres compris entre 10.33 mm et 11 mm.

Les différentes classes phénoliques à savoir les anthocyanes, les C-glycosides et les aglycones ont atteint les 50% de réduction du radical libre du DPPH mais seuls les aglycones des fruits de la population du nord ont dépassé les 90% du piégeage.

La poudre des fruits de *Z. lotus* a montré des effets intéressants sur la longévité des adultes de *T. castaneum*. En effet, une mortalité totale a été enregistrée à la dose 30%. L'analyse de la variance à deux critères de classification révèle une différence hautement significative à la fois pour le facteur dose ($P=0$) et le facteur temps ($P=0$).

De ce qui précède, il a apparu que *Z. lotus* présente de nombreux intérêts qu'il est intéressant d'étudier plus profondément et pour cela, nous recommandons de soumettre les extraits à une analyse quantitative à savoir une HPLC, approfondir l'étude cytogénétique en vue d'élaborer un caryotype, utiliser la poudre du fruit comme bio-insecticide.

Références bibliographiques

- 📖 **Albert M., Johnson A., Lewis J., Raff M., Robert K., Walter P., 2011.** Biologie de la Cellule. Médecine Science publications, Lavoisier, vol 5 : 195p.
- 📖 **Ali Shtayeh M-S., Yaghmour R-M-R., Faidi Y-R., Salem K., Al Nuri M-a. (1998).**Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethno Pharmacology*,60:265-271.
- 📖 **Anthony Griffiths J-F., David Suzuki T et Chrystelle S. (2002).** Introduction à l'analyse génétique. De Boeck Université. Paris, p 87.
- 📖 **Baba Aissa F. (1999).** Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed : EDAS. Pp : 144-146.
- 📖 **Bahorun T. (1997).** Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research Council*. Pp: 83-94.
- 📖 **Bellakhdar J. (1997).** La Pharmacopée marocaine traditionnelle, Médecine arabe ancienne et savoir populaires - Saint –Etienne. Ed : TEC et DOC. Ibis press. Pp : 464-465.
- 📖 **BEN MALEK S., GODELLE B., CARTIER D., SILJAK-YAKOVLEV S. (1988).** Tentative de détermination du sexe chez le Palmier dattier par cytométrie en flux. *In Actes de la Reunion du Groupe de travail "Cytologie et Cytogénétique" de l'INRA*.Pp : 37-39.
- 📖 **BIOLEY J.P., JAY M. et FIASSON J. L.(1987).** Mécanismes biochimiques du métabolisme secondaire dans la réaction des végétaux cultivés aux pathogènes fongiques. *Inst. d'analyses des systèmes biologiques et socio-économiques, Univ. Claude Bernard Lyon I, n° 101, IV*, Pp7-18.
- 📖 **BIOLEY J.P., JAY M. et FIASSON J. L., 1987.** Mécanismes biochimiques du métabolisme secondaire dans la réaction des végétaux cultivés aux pathogènes fongiques. *Inst. d'analyses des systèmes biologiques et socio-économiques, Univ. Claude Bernard Lyon I, n° 101, IV*, Pp :7-18.
- 📖 **Borgi W et Chouchane N.(2006).** Activité anti-inflammatoire des saponosides des écorces de racines de *Zizyphus lotus*(L.).*Revue des Régions Arides*,283-286.
- 📖 **Borgi W., Bouraoui A., Chouchane N.(2007(b)).** Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts, *Journal of Ethnopharmacology*,12:228-231.
- 📖 **Borgi W., Ghedira K., Chouchane N.(2007(a)).** Antiinflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks . *Fitoterapia*.78:16-19.

- 📖 **Borgi W., Recio M-C., Rios J-L ., Chouchane N. (2008).** Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus*(L.) Lam. South African Journal of Botany,14:320-324.
- 📖 **Botineau M., (2010).** Botanique Systématiques et appliquée des plantes à fleurs. Tec& doc- Lavoisier, Pp : 641-642.
- 📖 **Boullard B. (2001).** Dictionnaire des plantes médicinales du monde .Ed : ESTM. Pp 574.
- 📖 **Bross J. (2000).** Larousse des arbres et des arbustes. Larousse (Ed) Canada. Pp :576.
- 📖 **BRUNETON J.(1993).** Pharmacogénosie phytochimie. Plantes médicinales 2^{ème} éd. Pp : 915.
- 📖 **BRUNETON J.(1999).** Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales. 3^{ème}. Ed : Tec & D.
- 📖 **Bruneton J., (2008).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Tec& doc- Lavoisier, vol 3 :Pp : 227-
- 📖 **Cartier D et Gorenflot. (1974).** Cytogenetic studies of *Medicago*. Rev; Caryologia: 45: Pp: 339-346.
- 📖 **Catoire C ., Zwang H ., Bouet C. (1999).** Les jujubiers ou le *Zizyphus* fruits oubliés .article du n01.
- 📖 **Cheyrier V.(2005).** Polyphenols in food are more complex than often thought. Amirican journal.Clinical Nutr.81 :Pp : 223S-229S.
- 📖 **Cronquist A. (1981).** An integrated system of classification of flowering plants. Colombiauniversity. Pp: 1256.
- 📖 **Djemai Zoughlache S. (2009).** Etude De L'activité Biologique Des Extraits Du Fruit de *Zizyphus lotus*. These de Magister. Université El-Hadj Lakhder Batna, Pp : 61.
- 📖 **Dobignard A et Chatelain C. (2013).** INDEX SYNONYMIQUE DE LA FLORE D'AFRIQUE DU NORD. Ed : éditions des conservatoires et jardin botaniques. Genève. Pp : 447.
- 📖 **Dobignard A. et Chatelain C. (2013).** Index Synonymique de la Flore D'Afrique Du Nord. éditions des conservatoires et jardin botaniques genève, Pp : 221.
- 📖 **Ghedira K. (2013).** *Zizyphus lotus* (L.) Desf. (Rhamnaceae) : jujubier sauvage. Ethnobotanique–monographie, 11: Pp:149-153.
- 📖 **Glitho I.A., Nuto Y., Attoh A., Sambena B. et Counnou K. (1988).** Ecologie et biologie de la reproduction des Bruchidae parasites des legumineuses alimentaires cultivées au Togo et au Benin. Rapport ABN (Biasciences). Lomè, Pp : 81.

- 📖 **Gorenflot R et Raicu P. (1980)** Cytogénétique et évolution. Paris : Masson.
- 📖 **Guignard J.L. (2001)**. Biochimie végétale 3^{ème} édition. Ed : Dunod, Paris. Pp: 274.
- 📖 **Hamburger M. et Hostettmann K. (1991)**. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. Phytochemistry and medicine. Phytochem. Vol 30: Pp: 3864-3874.
- 📖 **Iserin P. (2001)**. Larousse encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed: Larousse .VUEF, PARIS. Pp: 283.
- 📖 **Iserin P. (2001)**: Larousse encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed: Larousse .VUEF, PARIS. Pp: 283.
- 📖 **Jarraya A. (2003)**. Principaux nuisibles des plantes cultivées et des denrées stockées en Afrique du Nord, leur biologie, leurs ennemis naturels, leurs dégâts et leur contrôle. Maghreb Editions.
- 📖 **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P., (2002)**. Botanique systématique, Une perspective phylogénétique. Paris et Bruxelles, vol 1 : Pp : 299.
- 📖 **kang D-G., Yun C-K ., Lee H-S. (2003)**. Screening and comparison of antioxidant activity of extracts of herbal medicines used in Korea. Journal of Ethnopharmacology, Pp: 87:231-236.
- 📖 **Kim D. et Ahn Y. (2001)**. Contact and fumigant activities of constituents of *Foeniculum vulgare* fruit against three coleopteran stored product insects. Pest Management Sciences, Pp: 57: 301-306.
- 📖 **Kone D. (2009)**. Enquête ethnobotanique de 6 plantes médicinales Maliennes Extractions, identification d'alloïdes. Caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité anti oxydantes thèse de doctorat, université paul Verlaine de METZ-UPV-M France . Pp : 150.
- 📖 **Lahlou M., El Mahi M., Hamamouchi J. (2002)**. Evaluation des activités antifongiques et molluscicide de *Zizyphus lotus* (L.) Desf. du Maroc. Journal des annales pharmaceutiques française , Pp : 60:410-414.
- 📖 **Le Floch H E. (1983)**. Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Publications Scientifiques Tunisiennes, Imprimerie officielle de la République Tunisiennes, Tunis.
- 📖 **Lebreton, P., Jay, M., Voirin, B. (1967)**. Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoïdes. Chim. Anal. Fr., 49(7): 375-383.

- 📖 **Lee H-S., Kang D-G., Yun C-K., (2003).** Screening and comparison of antioxidant activity of extracts of herbal medicines used in Korea. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol 87: Pp: 231-236.
- 📖 **Lemondé A et Clément D. (1983).** *Biologie cellulaire et moléculaire*. Presses Université. Paris : Laval. Pp : 396-398.
- 📖 **Li JW., Ding SD., Ding XL. 2005.** Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochemistry*, Pp: 3607-3613
- 📖 **Macheix J.J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C.(2005).** Les composés phénoliques : un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques. Ed. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. Pp : 192.
- 📖 **Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C., (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importante économique. Lausanne, Suisse. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. 1p.
- 📖 **Macuik A.,Lavaud C.,Thépentier P., Jacquier M-J.,Ghédira K.,Zèche-Hanrot.(2004).**Four New Dammarane Saponins from *Zizyphus lotus*. *Journal of Natural Products*, Pp : 67:1639 -1643.
- 📖 **Malgras D. (1992).** Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes. Ed : ACCT Karthala .Pp :478.
- 📖 **Marinova, E., van der Valk, J.M.A., Valamoti, S.-M., Bretschneider, J. (2011)** Experimental approach for tracing olive processing residues in the archaeobotanical record with preliminary examples from Tell Tweini, Syria. *Vegetation History and Archaeobotany* 20: Pp : 471-478.
- 📖 **Oussou K.R., Kanko C., Guessend N., Yolou S., Koukoua G., Dosso M., guessan YTN., Figueredo G., Chalchat J.C., (2004).** Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes de Côte d'Ivoire. *C.R. Chimie* 7 : Pp :1081-1086.
- 📖 **Ozenda P. (2004).** *Flore et Végétation de Sahara*. 3^{ème} édition. Ed: CNRS, Paris. Pp
- 📖 **Paris R et Dillemann G. (1960).** Les plantes médicinales des régions arides .Unesco Ed : Paris. Pp : 99.
- 📖 **Paris R., Dilleman G. (1960).** Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue pharmacologique. In : *Plantes médicinales des régions arides*. Unesco, Paris.
- 📖 **Picimbon J.F. (2002).** Proteïnes limat lesodeurs (OBP) et proteïnes chimiosensorielles (CSP) : Cibles moléculaires de lutte intégrée. In : *Biopesticides d'origine végétale*. Ed. TEC&DOC, Pp : 265-283.

- 📖 **Quezel P et Santa S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales. Tome2. Centre national de la recherche, Paris. Pp : 565.
- 📖 **Regnault-Roger C. (2011).** The potential of botanical essential oils insect pest control. Integrated Pest Management Reviews Vol.2: Pp: 25-34.
- 📖 **Ribereau-Gayan P.(1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Ed : Dunod, Paris. Pp : 254.
- 📖 **Rsaissi N et Bouhache M. (2002).** La lutte chimique contre le jujubier. Programme National de transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA), DERD (Ed).94.Rabat ,4p.
- 📖 **Rsaissi N., Elkamili., Bencharki B., Hillali L., Bouhache M., (2013).** Antimicrobial Activity Of the Wild Jujube *Zizyphus lotus* L. Desf. International Journal Of Scientific and Engineering Research, vol 4 (9): Pp 1525.
- 📖 **Seck D., Sidibe B., Haubruge E. et Gaspar C. (1991).** La protection des stocks de niébé (*Vigna unguiculata*) en milieu rural : utilisation de différentes formulations à base de neem (*Azadirachta indica*) provenant du Sénégal. Meded Fac Landbouwwet. Rijkuniv Gent, Pp : 56(3b) : 1217-1224.
- 📖 **Sergeant C., Hamon C., Simonoff M., Constans J., Conri C., Peuchant C., Delmas-Beauvieux M.C., Clerc C., Pellegrim J.L., Leng B., Pellegrim I. et Fleury H. (1998).** Oxidative stress in cancer, AIDS and neuro degenerative diseases. Editions : L. Montagnier, R. Olevier, C. Pasquer, Marcel Dekker. Inc. New Yourk-Basel-Hong Kong, Pp : 409-427.
- 📖 **Trabut L. (1935).** Répertoire des indigènes des plantes spontanées, cultivées et utilisées dans le Nord de l'Afrique. Ibis Press, 355p.
- 📖 **Vayias D.J., Athanassiou C.G., Buchelos C.Th. (2008).** Evaluation of resistance development by *Tribolium confesum* du val (Coleoptera: Tenebrionidae) to diatomaceous earth under laboratory selection. Journal of Stored Products Research, Pp: 44: 162-168.
- 📖 **Yi, P., Johnson, A.N., Han, Z., Wu, J., Olson, E.N. (2008).** Heterotrimeric G proteins regulate a noncanonical function of septate junction proteins to maintain cardiac integrity in *Drosophila*. 15(5): Pp : 704--713.
- 📖 **Zaffran J., (1998).** Initiation à la biologie végétale. Ellipses, Pp : 22.

Annexes

Annexe 1 : Matrice des mesures morpho métriques des fruits et feuilles de *Zizyphus lotus*

Tableau 25 : Population 1 Tizi-Ouzou (Mekla)

organes		1	2	3	4	5	6	7
Individus								
1	A	19	18	21	18	17	20	20
	B	10	8	10	9	8	10	10
	C	14	15	13	12	14	13	13
2	A	24	19	21	22	22	24	23
	B	14	15	14	16	16	13	15
	C	15	14	15	11	15	15	13
3	A	25	25	27	23	26	25	26
	B	12	12	13	11	13	12	13
	C	15	14	16	13	12	15	13

Tableau 26 : Population 2 Djelfa (Daya de Bousdraïa)

Organes		1	2	3	4	5	6	7
Individus								
1	A	18	17	16	15	15	16	15
	B	8	8.5	9	8.5	8	7	7
	C	0.8	10	0.9	11	10	0.8	0.9
2	A	19	17	17	19	19	18	18
	B	10	7	9	8	7	9	9
	C	10	10	11	0.9	10	0.9	10
3	A	20	19	20	20	20	23	21
	B	10	10	10	9	10	12	12
	C	0.9	0.9	0.8	10	11	0.9	10

Annexe 2: solution utilisées pour l'étude cytogénétique de *Z. lotus*

Préparation de la solution d'acide acétique 90%

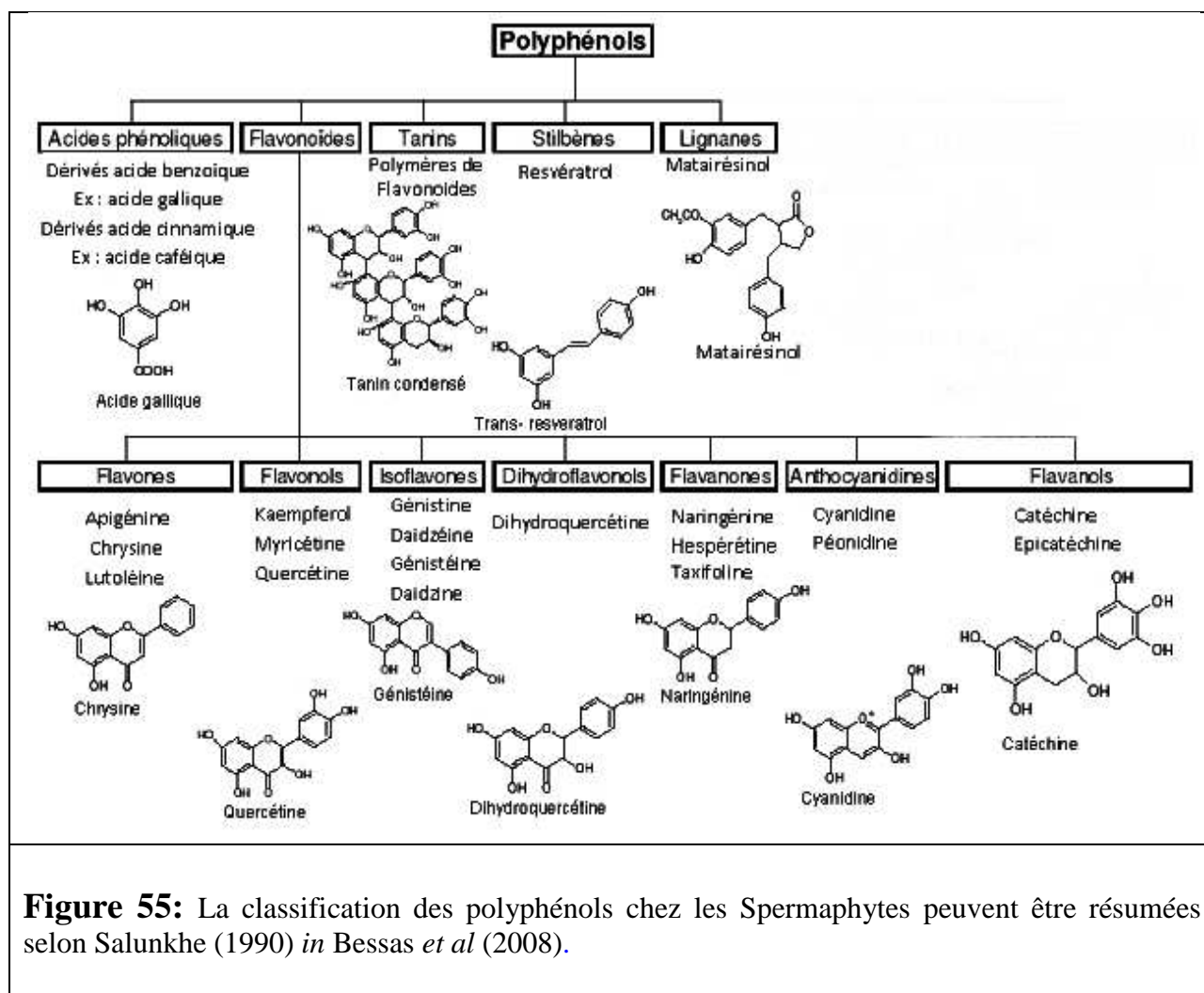
- 90 ml d'acide acétique + 10 ml d'eau distillé

Préparation de la solution d'éthanol 70%

- 70ml d'éthanol + 30 ml d'eau distillé

Préparation de la solution de α -Bromonaftalène

5 à 6 gouttes de α -bromonaftalène dans un pilulier d'eau de robinet, agité très bien jusqu'à se que la solution deviens opaque

Annexe 3 : différentes classes des polyphénols identifiées chez les spermaphytes

Annexe 4 : extraction des polyphénols par hydrolyse acide et les figures illustrant le protocole expérimentale .

Dilution de HCl 10N en HCl 2N

1) HCl 1N

HCl à 37 % (flacon initial)

$$\begin{array}{l} 37\text{g} \longrightarrow 100 \text{ ml} \\ X \text{ g} \longrightarrow 1000 \text{ ml} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} 37\text{g} \\ X \text{ g} \end{array}} \right\} X = 370 \text{ g}$$

$$\begin{array}{l} 1 \text{ mol d'HCl} = 36.5 \text{ g} \\ X \text{ mol} \longrightarrow 370 \text{ g} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} 1 \text{ mol d'HCl} \\ X \text{ mol} \end{array}} \right\} X = 10.13 \text{ mol}$$

(HCl 10 N = 370g HCl + 1000 ml d'eau distillée = la solution mère d'HCl 37 %)

$$\begin{array}{l} 10 \text{ N} : 10.13 \text{ mol} \longrightarrow 1000 \text{ ml} \\ 1 \text{ N} : 1 \text{ mol} \longrightarrow X \text{ ml} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} 10 \text{ N} \\ 1 \text{ N} \end{array}} \right\} X = 98.70 \text{ ml}$$

(98.70 ml d'HCl 10 N ajusté jusqu'à 1000 ml d'eau distillée (1 N)

2) HCl 2N

HCl à 37 % (flacon initial)

$$\begin{array}{l} 37\text{g} \longrightarrow 100 \text{ ml} \\ X \text{ g} \longrightarrow 1000 \text{ ml} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} 37\text{g} \\ X \text{ g} \end{array}} \right\} X = 370 \text{ g}$$

$$\begin{array}{l} 1 \text{ mol d'HCl} = 36.5 \text{ g} \\ X \text{ mol} \longrightarrow 370 \text{ g} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} 1 \text{ mol d'HCl} \\ X \text{ mol} \end{array}} \right\} X = 10.13 \text{ mol}$$

(HCl 10 N = 370g HCl + 1000 ml d'eau distillée = la solution mère d'HCl 37 %)

$$\begin{array}{l} 10 \text{ N} : 10.13 \text{ mol} \longrightarrow 1000 \text{ ml} \\ 2 \text{ N} : 2 \text{ mol} \longrightarrow X \text{ ml} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} 10 \text{ N} \\ 2 \text{ N} \end{array}} \right\} X = 197.4 \text{ ml}$$

(197.4 ml d'HCl 10 N ajusté jusqu'à 1000 ml d'eau distillée)



Broyage

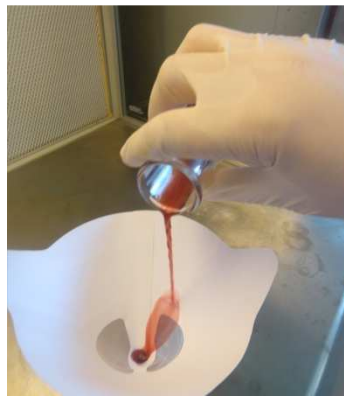
Broyage



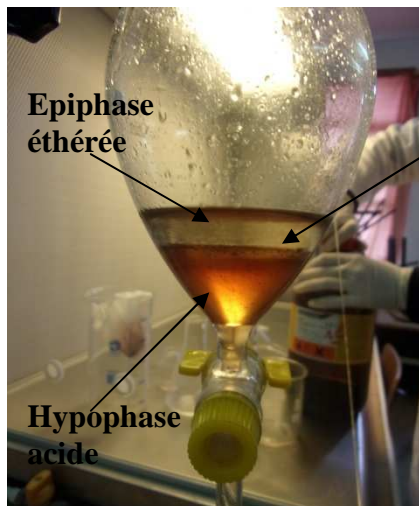
Hydrolyse acide par l'HCl 2N



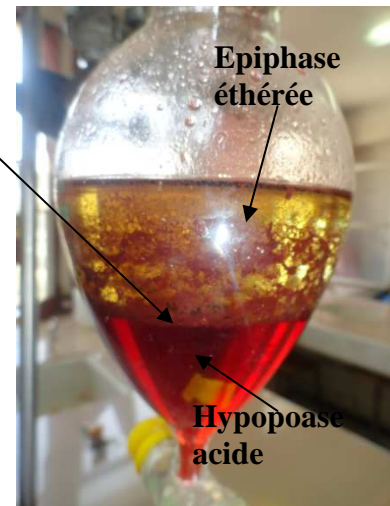
Filtration



Ajout de l'éther di-éthylique

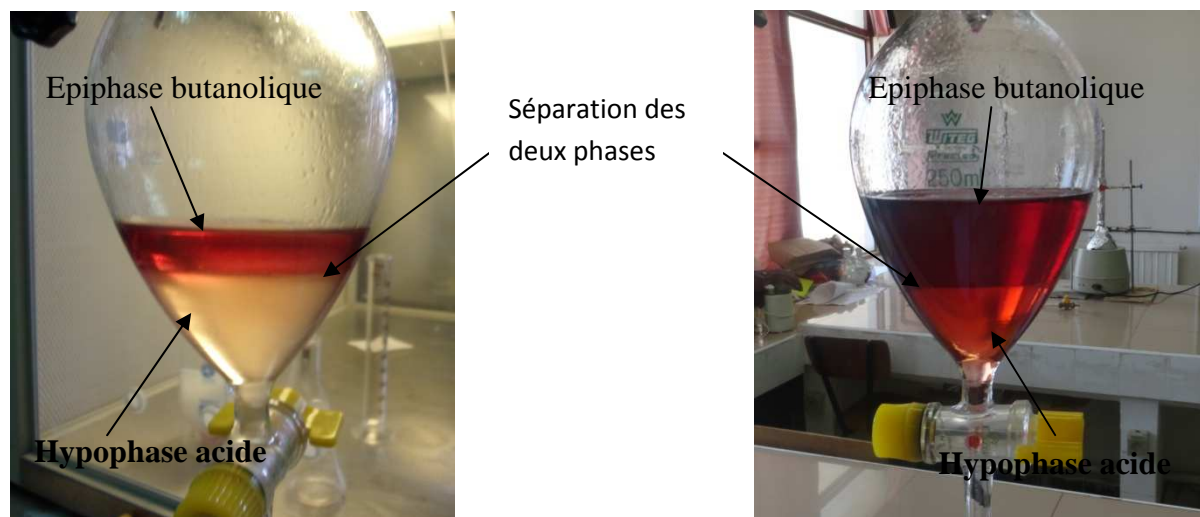


Séparation des deux phases



Ajout du n-butanol





Annexe 5 : teneurs absolues en différentes classes phénoliques des fruits et des feuilles de deux populations étudiées

Tableau 27: Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues en anthocyanes des fruits des deux populations

Individu Population	1	2	3	Moyenne \pm écarts types
pop1	3,15	1,20	2,70	2,35 \pm 1,02
pop2	2,63	2,71	4,48	3,27 \pm 1,05

Tableau 28: Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues des C-glycosylflavones des fruits des deux populations

Individu Population	1	2	3	Moyenne \pm écarts types
pop1	6,64	3,11	5,67	5,14 \pm 1,82
pop2	2,20	2,59	2,45	2,41 \pm 0,18

Tableau 29: Moyennes \pm écarts types des Teneurs absolues en aglycones des fruits des deux populations

Individu Population	1	2	3	Moyenne \pm écarts types
pop1	0,06	0,04	0,03	0,04 \pm 0,01
pop2	0,07	0,05	0,04	0,05 \pm 0,01

Tableau 30: Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues en anthocyanes des feuilles des deux populations

Individu Population	1	2	3	Moyenne \pm écarts types
pop1	0,85	0,81	0,67	0,78 \pm 0,09
pop2	0,69	0,90	0,60	0,73 \pm 0,15

Tableau 31: Moyennes \pm écarts types des teneurs absolues en C-glycosylflavones des feuilles des deux populations.

Individu Population	1	2	3	Moyenne \pm écart types
pop1	0,41	0,72	0,84	0,66 \pm 0,22
pop2	0,77	0,70	0,70	0,72 \pm 0,04

Tableau 32: Moyennes \pm écarts types des aglycones des feuilles des deux populations

Individu Population	1	2	3	Moyenne \pm écarts types
pop1	0,0633	0,0615	0,0594	0,0614 \pm 0,0020
pop2	0,0367	0,0292	0,0373	0,0344 \pm 0,0045

Annexe 6 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) des composés phénoliques étudiées sur les deux souches testées.

Tableau 33 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) des composés phénoliques étudiés *Pseudomonas aeruginosa*

Composés phénoliques	CMI ($\mu\text{g/ml}$)			
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
	Population1		Population2	
	Fruits	Feuilles	Fruits	Feuilles
Anthocyane	–	–	–	–
C-glycoside	$1,8 \times 10^{-3}$	–	$9,3 \times 10^{-4}$	–
Aglycone	–	–	–	–

Tableau 34 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) des composés phénoliques étudiés sur *Staphylococcus aureus*

Composés phénoliques	CMI ($\mu\text{g/ml}$)			
	<i>Staphylococcus aureus</i>			
	Population1		Population2	
	Fruits	Feuilles	Fruits	Feuilles
Anthocyane	$4,68 \times 10^{-4}$	$4,68 \times 10^{-4}$	$4,68 \times 10^{-4}$	$3,75 \times 10^{-3}$
C-glycoside	0,03	$7,5 \times 10^{-3}$	$3,75 \times 10^{-3}$	$4,68 \times 10^{-4}$
Aglycone	$9,3 \times 10^{-4}$	$4,68 \times 10^{-4}$	$4,6 \times 10^{-4}$	$4,68 \times 10^{-4}$

Annexe 7 :

Tableau 35: pourcentage du DPPH réduit par les différents extraits de *Z. lotus*

	200		180		160		140		120		100		80		60		40		20	
	D.O	% du DPPH	D.O	% du DPPH	D.O	% du DPPH	D.O	% du DPPH	D.O	% du DPPH	D.O	% du DPPH	D.O	% du DPPH	D.O	% du DPPH	D.O	% du DPPH	D.O	% du DPPH
A	0,049	81,439	0,078	70,454	0,081	69,318	0,095	64,015	0,097	63,257	0,1	62,121	0,098	62,878	0,042	84,091	0,074	71,970	0,125	52,652
B	0,04	84,848	0,044	83,333	0,051	80,681	0,057	78,409	0,06	77,272	0,067	74,621	0,07	73,484	0,077	70,833	0,013	95,076	0,161	39,015
C	0,04	84,848	0,055	79,166	0,059	77,651	0,061	76,893	0,067	74,621	0,06	77,272	0,067	74,621	0,087	67,045	0,1	62,121	0,127	51,894
D	0,069	73,863	0,068	74,242	0,078	70,454	0,119	54,924	0,13	50,757	0,14	46,969	0,152	42,424	0,148	43,939	0,159	39,773	0,183	30,682
E	0,086	67,424	0,095	64,015	0,097	63,257	0,086	67,424	0,117	55,681	0,122	53,787	0,139	47,348	0,173	34,470	0,203	23,106	0,112	57,576
F	0,079	70,075	0,216	18,181	0,235	10,984	0,245	7,196	0,22	16,666	0,386	-46,212	0,241	8,712	0,245	7,197	0,261	1,136	0,243	7,955
G	0,107	59,469	0,176	33,333	0,205	22,348	0,213	19,318	0,224	15,151	0,225	14,772	0,235	10,984	0,239	9,470	0,247	6,439	0,29	-9,848
H	0,08	69,696	0,091	65,53	0,094	64,393	0,095	64,015	0,095	64,015	0,097	63,257	0,092	65,151	0,101	61,742	0,102	61,364	0,135	48,864
I	0,081	69,318	0,092	65,151	0,094	64,393	0,096	63,636	0,1	62,121	0,105	60,227	0,107	59,469	0,127	51,894	0,42	-59,091	0,243	7,955
J	0,047	82,196	0,057	78,409	0,06	77,272	0,07	73,484	0,076	71,212	0,078	70,454	0,073	72,348	0,096	63,636	0,105	60,227	0,122	53,788
K	0,022	91,666	0,019	92,803	0,04	84,848	0,043	83,712	0,052	80,303	0,061	76,893	0,074	71,969	0,076	71,212	0,088	66,667	0,105	60,227
L	0,074	71,969	0,095	64,015	0,131	50,378	0,133	49,621	0,136	48,484	0,139	47,348	0,14	46,969	0,153	42,045	-	-	-	-

A : aglycones fruits pop2

D : anthocyanes feuilles pop1

G : anthocyanes fruits pop1

J : anthocyanes fruits pop2

B : c-glycosides fruits pop2

E : c-glycosides feuilles pop2

H : aglycones feuilles pop1

K : aglycones fruits pop1

C : c-glycosides feuilles pop1

F : aglycones feuilles pop2

I : c-glycosides fruits pop1

L : anthocyanes feuilles pop2

Annexe 8 :

Tableau 36 : Analyse de la variance au seuil 5% pour le paramètre longévité des adultes de *T. castaneum* avec la poudre des fruits de *Z. lotus*

	SCE	DDL	CM	Test F	Probabilité	E-T	C-V
Var. totale	831,313	47	17,688				
Var. facteur 1	806,438	3	161,288	595,523	0,00		
Var. facteur2	9,188	5	9,188	33,923	0,00		
Var entre F1 × F2	5,937	15	1,187	4,385	0,00329		
Var. résiduelle	9,75	32	0,271			0,52	5,91%

Tableau 37 : Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur dose de poudre de *Z. lotus* par contact sur la longévité des adultes de *T. castaneum*

Dose (g)	Longévité moyenne ± écart types	Groupes homogènes
0	12,5 ± 0,57	A
10	6,75 ± 0,5	B
15	4 ± 0	C
30	0 ± 0	D

Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer les différences morphométriques entre les fruits et feuilles des deux populations de *Zizyphus lotus*, l'une provenant du Nord Algérien (Mekla) et l'autre du Sud (daya de Bousdraïa).

Les essais de germination des graines issues des fruits de ces deux populations ont également été abordés. Celles du sud n'ayant subi aucun traitement ont bien germé.

Les composés phénoliques extraits ont montré une activité biologique intéressante aussi bien dans le cas du piégeage du radical libre du DPPH qu'antimicrobienne en présence de *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. La poudre issue des fruits de *Z. lotus* de Mekla ont révélé une bio-activité en induisant la mortalité totale des adultes de *Tribolium castaneum*.

Mots clés : *Zizyphus lotus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Tribolium castaneum*, DPPH.

Summary

The purpose of this study is to estimate the morphometrics differences between fruits and sheets of two populations of *Zizyphus lotus*, the one coming from the Algerian North (Mekla) and other one from the south (daya of Bousdraïa).

The essays of seeding of seeds stemming from fruits of these two populations were also approached. Those of the South not having undergone no treatment germinated well.

The extracted phenolic compounds showed one activate biological interesting as well in the case of the trapping of radical free of the DPPH as antimicrobial in the presence of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. The stemming powder fruits of *Z. lotus* of Mekla revealed a bio-activity by leading the total mortality of the adults of *Tribolium castaneum*.

Keywords: *Zizyphus lotus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Tribolium castaneum*, DPPH.