



*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
*Université Des Frères Mentouri Constantine*  
*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*  
*Département de Biologie et Ecologie végétale*

N° d'ordre .....

N° de Série .....

**THESE**

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE  
**DOCTORAT EN SCIENCES**

*Spécialité*

*Ecologie et Environnement*

**THEME**

**Etude Ecophysiological et Phytochimique de deux espèces  
d'Acacia : *Acacia albida* et *Acacia raddiana***

Présenté par : **Samira KAROUNE**

**Jury :**

**Présidente : Liela BOUDOUR**      Professeur      Univ. Des Frères Mentouri Constantine 1

**Rapporteur : Chaabane RAHMOUNE**      Professeur      Univ. Des Frères Mentouri Constantine 1

**Examineurs :**

**Riadh KSOURI**      Professeur      Technopole de Borj Cédria CBBC. Tunis

**Louhichi BRINIS**      Professeur      Univ. Badji Mokhtar Annaba

**Youcef HALIS**      M.C. A      CRSTRA Biskra

**Soutenu le 13 avril 2016**  
**Année Universitaire 2015/2016**

# *REMERCIEMENTS*

Mes remerciements se doivent, en premier lieu, à Monsieur **RAHMOUNE Chaabane**, Professeur à l'Université des Frères Mentouri 1 de Constantine, qui a dirigé ce travail et a su m'apporter l'encadrement nécessaire. Je tiens à lui exprimer ma très grande gratitude et ma reconnaissance la plus sincère.

Mes remerciements vont également à Madame **BOUDOUR Leila**, Professeur à l'Université des Frères Mentouri 1 de Constantine, pour avoir acceptée de présider notre jury.

Je tiens également à remercier Monsieur **KSOURI Riadh**, Professeur au Centre de Biotechnologie de Borj Cédria, pour son soutien technique au sein de son laboratoire et d'avoir aussi accepté d'examiner ce travail.

Mes reconnaissances vont également à monsieur **HALIS Youcef**, Maître de Recherche au Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Arides pour avoir accepté de participer à notre jury de thèse.

Je tiens aussi à remercier Monsieur **BRINIS Louhichi**, Professeur à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba de m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier chaleureusement Mme **LAKHDARI Fattoum**, Directrice du CRSTRA qui a mis à notre disposition tous les moyens matériels, financiers et scientifiques pour la bonne exécution de ce travail.

Mes vifs remerciements vont à tous ceux qui ont collaboré à l'achèvement de ce travail.

# RESUME

A travers ce travail, nous avons étudié la variabilité intra- et interspécifique dans la composition phénolique de deux espèces, *Acacia raddiana* et *Acacia albida* ainsi que le comportement *ex-situ* de cette dernière vis-à-vis du stress salin à travers des paramètres morphologique, physiologique et biochimique.

Les résultats du screening phytochimique des deux espèces ont montré que l'*A.albida* est plus riche en polyphénols (100.94 mg EAG/g MS) et plus active pour le piégeage de radical libre DPPH (26  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ).

Cette espèce a aussi montré une bonne activité, surtout les feuilles et l'écorce, via d'autres tests où nous avons noté une activité totale égale à 68.67 mg EAG/g MS, une  $\text{CI}_{50}$  de 104.33  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  pour le test ABTS et une  $\text{CE}_{50}$  de 34.33  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  pour le pouvoir réducteur du fer.

Les résultats de l'étude de l'impact de la salinité ont montré que les semences peuvent germer à des concentrations allant jusqu'à 12 g/l et maintiennent une croissance même à 300 mM de NaCl avec une diminution du rapport de sélectivité  $\text{K}^+/\text{Na}^+$ . Les doses modérées de 50 et 100 mM de sel n'affecte pas la biomasse et l'hydratation des tissus et stimulent même l'accumulation des composés phénoliques en leurs conférant de fortes activités antioxydantes.

Ce travail a permis de développer des connaissances scientifiques dans le but l'utiliser comme moyen de restauration des sols dégradés des zones arides et une source valorisable de molécules bioactives.

**Mots clés :** *Acacia albida*, *Acacia raddiana*, salinité, phénol, activité antioxydante.

## ملخص

من خلال هذا العمل، تم دراسة التباين داخل نفس النوع وفيما بين نوعين في تكوين المركبات الفينولية من النوعين *Acacia raddiana* و *Acacia albida* بالإضافة إلى سلوك هاته الأخيرة خارج موطنها (*ex-situ*) مع الإجهاد الملحي من خلال المعايير المرفولوجية, الفيزيولوجية والبيوكيميائية.

أظهرت نتائج الفحص الكيميائي النباتي للنوعين, ثراء النوع *A.albida* بمتعددات البوليفينول ( 100.94 mg EAG/g MS) و الأكثر فاعلية في استدراج الجذور الحرة DPPH (26 ميكروغرام / مل) و أظهر نفس النوع نشاط جيد، وخصوصا علي مستوي الأوراق واللحاء، ، من خلال اختبارات أخرى حيث لاحظنا إجمالي النشاط يساوي 68.67 ملغ ، و  $IC_{50}$  بالنسبة ABTS تساوي 104.33 ميكروغرام /مل و  $EC_{50}$  بالنسبة FRAP يساوي 34.33 ميكروغرام/مل.

وقد أظهرت نتائج الدراسة تأثير الملوحة حيث تمكنت البذور من الإنتاش بتركيز وصل إلى 12 مغ / لتر والحفاظ على النمو حتى في 300 مل مول كلوريد الصوديوم مع انخفاض في النسبة الانتقائية للعنصرين  $Na^+ / K^+$  و بينت الجرعات المعدلة من 50 و 100 ملي من الملح أنها لا تؤثر فقط على الكتلة الحيوية و ترطيب الأنسجة بل تعرض علي تراكم المركبات الفينولية وإكسابها فعالية عالية كمضادات للأكسدة. لقد سمح لنا هذا العمل بتطوير المعلومات العلمية بهدف استعمالها كوسيلة لتأهيل الأتربة المتأكلة في المناطق الجافة كما انه مصدرا لتقييم الجزيئات الفعالة بيولوجيا.

**الكلمات المفتاحية :** الملوحة، الفينول، المضادة للأكسدة, *Acacia albida*, *Acacia raddiana*

## ABSTRACT

Through this work, we studied intra- and interspecific variability in the phenolic composition of two species, *Acacia albida* and *Acacia raddiana* and the ex-situ behavior of the latter vis-à-vis the salt stress through morphological, physiological and biochemical parameters.

The results of the phytochemical screening of the two species showed that *A.albida* is richer in polyphenols (100.94 mg EAG / g DM) and active for scavenging free radical DPPH (26 µg / ml). This species also showed good activity, especially the leaves and bark, through other tests where we noted a total activity equal to 68.67 mg EAG / g DM, an IC<sub>50</sub> = 104.33 µg / ml of ABTS assay and an EC<sub>50</sub> = 34.33 µg / ml for the reducing power of iron.

The results of the study of the impact of salinity have shown that the seed can germinate at concentrations up to 12 g / l and maintain growth even at 300 mM NaCl with a decrease in the ratio of K<sup>+</sup> / Na<sup>+</sup> selectivity. Moderate doses of 50 and 100 mM of salt does not affect the biomass and tissue hydration and stimulate even the accumulation of phenolic compounds in imparting their strong antioxidant activity.

This work led to the development of scientific knowledge in order to use as soil restoration means degraded drylands and recoverable source of bioactive molecules.

**Keywords:** *Acacia albida*, *Acacia raddiana*, salinity, phenol antioxidant activity.

# SOMMAIRE

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

Introduction générale..... 1

## CHAPITRE I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

<b>1. BIOGEOGRAPHIE ET AIRE DE REPARTITION DES ACACIAS.....</b>	<b>4</b>
1.1. La famille des Fabacées.....	4
1.2. La sous famille des Mimosacées .....	5
1.3. Origine du genre <i>Acacia</i> .....	5
1.4. L'espèce <i>Acacia raddiana</i> .....	6
1.4.1. Origine d' <i>Acacia raddiana</i> .....	6
1.4.2. Position systématique.....	8
1.4.3. Description botanique.....	8
1.4.4. Phénologie d' <i>Acacia raddiana</i> .....	10
1.4.5. <i>Acacia raddiana</i> en Algérie.....	12
1.4.6. Intérêts d' <i>Acacia raddiana</i> .....	12
1.5. L'espèce <i>Acacia albida</i> .....	14
1.5.1. Présentation.....	14
1.5.2. Répartition.....	14
1.5.3. Description.....	14
1.5.4. Germination de l' <i>Acacia albida</i> .....	17
1.5.5. Phénologie de l' <i>Acacia albida</i> .....	18
1.5.6. Intérêt de l' <i>Acacia albida</i> .....	18
1.6. Etat des lieux des acacias en Algérie.....	19
<b>2. STRESS SALIN.....</b>	<b>21</b>
2.1. Notion de stress.....	21
2.2. Effet de la salinité sur les halophytes et les glycophytes.....	22
2.3. Effet de la salinité sur la plante.....	23
2.3.1. Effet sur la germination.....	23
2.3.2. Effet du sel sur la croissance et le développement.....	24
2.3.3. Effet de la salinité sur les pigments photosynthétiques.....	25
2.3.4. Effet de la salinité sur les enzymes antioxydants .....	26
2.4. Mécanismes de résistance à la salinité.....	27
2.4.1. Inclusion et compartimentation des ions.....	27

2.4.2. Exclusion.....	28
2.4.3. Ajustement osmotique.....	28
2.5. La tolérance des plantes à la salinité .....	29
2.5.1. Biosynthèse de solutés compatibles.....	29
2.5.2. Induction des enzymes antioxydantes.....	30
2.5.3. Protection contre le stress salin par les composés phénoliques .....	30
<b>3. Composés phénolique = métabolite secondaire.....</b>	<b>32</b>
3.1 .Définition.....	32
3.2. Biosynthèse des composés phénolique.....	32
3.3. Classification et structure chimique.....	34
3.3.1. Les acides phénoliques.....	34
3.3.2. Flavonoïdes .....	36
3.3.3. Les formes condensées.....	40
3.3.3.1. Les tanins.....	40
3.3.3.2. Les lignines.....	44
3.4. Rôle des composés phénoliques dans la physiologie de la plante .....	45
3.4.1.La germination.....	44
3.4.2. Floraison.....	46
3.4.3. Maturation des fruits.....	46
3.4.4. Rhizogénèse.....	46
3.4.5. Nutrition minérale.....	47
3.4.6. Régulation hormonale.....	47
3.5. Principales potentialités biologiques des métabolites secondaires.....	48
3.5.1. Activités antiradicalaire et antioxydante.....	48
3.5.2. Activités antimicrobiennes.....	49
3.5.3. Activité anticancéreuse.....	50
3.6. Variabilité de la répartition des composés phénoliques dans la plante.....	51
3.6.1. Variabilité endogène ou interne.....	51
3.6.2. Variabilité exogène ou externe.....	52
3.7. Extraction et caractérisation des composés phénoliques.....	53
3.7.1. Extraction.....	53
3.7.2. Méthodes de quantification et d'identification.....	54
<b>CHAPITRE .2. MATERIELS ET METHODES</b>	
<b>1. Echantillonnage.....</b>	<b>56</b>
1. 1.Présentation de la zone d'étude.....	56
1.1.1 Localisation géographique.....	56
1.1.2. Relief ou contrastes physiques.....	57

1.1.3. Pédologie.....	57
1.1.4. Hydrographie.....	58
1.1.5. Paramètres climatiques .....	58
1.1.6. Synthèse climatique.....	60
<b>2. TRAVAIL EXPERIMENTAL .....</b>	<b>62</b>
2.1. Etude de la germination.....	62
2.1.1. Effet du prétraitement sur la germination.....	62
2.1.2. Effet de la salinité sur la germination.....	63
2.1.3. Paramètres mesurés lors de la germination.....	63
2.2. Etude de la croissance.....	64
2.2.1. Analyse du substrat de culture .....	64
2.2.1.1. Granulométrie.....	64
2.2.1.2. Détermination du pH. ....	65
2.2.1.3. La conductivité électrique CE.....	65
2.2.1.4. Détermination de la capacité d'échange cationique (CEC).....	65
2.2.1.5. Dosage du calcaire total.....	65
2.2.1.5. Dosage du calcaire actif.....	66
2.2.1.6. Détermination de la matière organique (MO).....	66
2.2.1.7. Dosage de la dureté totale.....	67
2.2.1.8. Dosage de Sodium et Potassium par photomètre d'émission à flamme .....	68
2.2.1.9. Détermination des sulfates ( $SO_4^{2-}$ ).....	68
2.2.1.10. Les Chlorures.....	68
2.2.2. Analyse de l'eau d'irrigation .....	68
2.2.3. Culture en pot et application du stress salin.....	69
2.2.4. Récoltes initiale et finale.....	70
2.2.5. Paramètres biométriques mesurés lors de la croissance.....	70
2.2.5.1. Hauteur de la tige.....	70
2.2.5.2. Longueur des racines.....	70
2.2.5.3. La croissance moyenne relative .....	70
2.2.5.4. Biomasse aérienne et racinaires.....	71
2.2.5.5. Rapport biomasse partie aérienne / partie racinaire.....	71
2.2.6. Paramètres biochimiques et physiologiques mesurés lors de la croissance....	71
2.2.6.1. La teneur en eau.....	71
2.2.6.2. L'indice de sensibilité (IS).....	72
2.2.6.3. Extraction et dosage des chlorophylles.....	72
2.2.6.4. Dosage des éléments minéraux.....	72
2.2.6.5. La sélectivité $K^+/Na^+$ .....	72



<b>3. Dosage des composés phénoliques et évaluation de leurs activités antioxydantes .....</b>	<b>73</b>
3.1. Techniques d'extraction.....	73
3.1.1. Extraction par macération.....	73
3.1.2. Extraction successive par le système soxhlet .....	74
3.2. Dosage des composés phénoliques .....	74
3.2.1. Polyphénols totaux.....	74
3.2.2. Flavonoïdes totaux.....	75
3.2.3. Tanins condensés.....	75
3.3. Évaluation des activités antioxydantes.....	76
3.3.1. Capacité antioxydante totale .....	76
3.3.2. Piégeage du radical DPPH.....	76
3.3.3. Mesure du pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	77
3.3.4. Pouvoir chélateur du fer .....	78
3.3.5. Piégeage de l'anion superoxyde .....	79
3.3.6. Piégeage du radical cationique ABTS <sup>·+</sup> .....	80
3.3.7. Inhibition du blanchiment du $\beta$ -carotène .....	82
3.4. Identification et caractérisation des composés phénoliques par La chromatographie à haute performance en phase liquide HPLC (ou CLHP).....	83
3.4.1. Le principe de la méthode de séparation.....	83
3.4.2. Identification et quantification.....	83

### **CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>1. VARIABILITE DES ACTIVITES ANTIOXYDANTES ET IDENTIFICATION DES COMPOSES PHENOLIQUES PAR CLHP-DAD DANS LES DIFFERENTS ORGANES DE L'ACACIA ALBIDA ET ACACIA RADDIANA.....</b>	<b>85</b>
1.1. Introduction.....	86
1.2. Méthodologie.....	88
1.2.1. Préparation des échantillons.....	88
1.2.2. Screening phytochimique.....	88
1.2.3. Identification des composés phénoliques par Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP).....	89
1.3. Résultats.....	91
1.3.1. Teneurs en polyphénols totaux dans les différents organes de <i>l'Acacia albida</i> et <i>Acacia raddiana</i> .....	91
1.3.2. Capacité de piégeage du radical DPPH dans les différents organes de <i>l'Acacia albida</i> et <i>Aacacia raddiana</i> .....	94
1.3.3. Identification des composés phénoliques par CLHP.....	95
1.4. Discussion.....	99

1.5. Conclusion.....	103
<b>2. QUANTIFICATION DES COMPOSES PHENOLIQUES PAR CLHP-DAD ET EVALUATION DE LEURS ACTIVITES ANTIOXYDANTES CHEZ ACACIA ALBIDA.....</b>	<b>104</b>
2.1. Introduction.....	105
2.2. Méthodologie.....	106
2.2.1. Préparation des échantillons et extraction.....	106
2.2.2. Quantification des composés phénoliques par la chromatographie liquide à haute performance (CLHP).....	107
2.2.3. Analyse statistique.....	107
2.3. Résultats et discussion.....	109
2.3.1. Quantification spectrophotométrique des composés phénoliques.....	109
2.3.2. Les activités antioxydantes.....	111
2.3.2.1. Activité antioxydante totale.....	111
2.3.2.2. Pouvoir réducteur du fer.....	112
2.3.2.3. Activité de piégeage du radical DPPH .....	112
2.3.2.4. Capacité à piéger le radical ABTS.....	113
2.3.2.5. Activité antiradicalaire sur l'anion superoxyde .....	114
2.3.3. Quantification par CLHP des composés phénoliques.....	114
2.4. Conclusion .....	117
<b>3. EFFET DU STRESS SALIN SUR LA GERMINATION DES GRAINES DE L'ACACIA ALBIDA.....</b>	<b>118</b>
3.1. Introduction.....	119
3.2. Méthodologie.....	120
3.3. Résultats.....	123
3.3.1. Effet de la température et du prétraitement sur la germination .....	123
3.3.1.1. Influence de la température et du prétraitement sur le TG et le TMG .....	123
3.3.1.2. Influence de la température et du prétraitement sur la cinétique de germination.....	125
3.3.2. Effet de la salinité sur la germination.....	129
3.3.2.1. Influence du NaCl sur le TG et le TMG.....	129
3.3.2.2. Influence du NaCl sur la cinétique de germination.....	129
3.4. Discussion.....	130
3.5. Conclusion .....	131
<b>4. EFFET DU STRESS SALIN SUR LA PHYSIOLOGIE, LA BIOCHIMIE ET LA CAPACITE ANTIOXYDANTE DE L'ACACIA ALBIDA.....</b>	<b>132</b>
4.1. Introduction.....	133
4.2. Méthodologie.....	135

4.2.1. Culture et application du stress salin.....	135
4.2.2. Paramètres mesurés pendant l'essai et à la fin.....	135
4.3. Résultats.....	137
4.3.1. Caractérisation du substrat de culture avant l'application du stress salin.....	137
4.3.1.1. Détermination du pH, CE et éléments minéraux.....	137
4.3.1.1.1. Classification du substrat de culture selon le diagramme de Richards.....	138
4.3.1.1.2. Classification du substrat de culture selon le diagramme de Wilcox.....	139
4.3.1.2. Granulométrie du substrat de culture .....	140
4.3.2. Caractérisation de l'eau de barrage.....	141
4.3.2.1. Détermination du pH, CE et éléments minéraux de l'eau de barrage.....	141
4.3.2.2. Qualité de l'eau de barrage.....	142
4.3.3. Caractérisation des substrats de culture des plants d' <i>Acacia albida</i> .....	144
4.3.3.1. Détermination du pH, CE et des éléments minéraux.....	144
4.3.3.2. Classification des différents substrats de culture selon le diagramme de Richards.....	147
4.3.3.3. Classification des différents substrats de culture selon le diagramme de Wilcox.....	147
4.3.4. Effet de la salinité sur la longueur des parties aérienne et racinaire .....	148
4.3.5. Effet de la salinité sur le poids sec des parties aérienne et racinaire .....	150
4.3.6. Effet de la salinité sur la teneur en eau des parties aérienne et racinaire.....	152
4.3.7. Effet de la salinité sur le rapport de biomasse partie aérienne/partie racinaire.....	153
4.3.8. Effet de la salinité sur la teneur en pigments chlorophylliens.....	154
4.3.9. Effet de la salinité sur la teneur en caroténoïdes.....	157
4.3.10. Effet de la salinité sur la teneur en Na et K des parties aérienne et racinaire.....	159
4.3.11. Effet de la salinité sur la teneur en composés phénoliques.....	160
4.3.11.1. Effet de la salinité sur la teneur en polyphénols totaux des parties aérienne et racinaire.....	160
4.3.11.2. Effet de la salinité sur la teneur en flavonoïdes des parties aérienne et racinaire.....	162
4.3.11.3. Effet de la salinité sur la teneur en tanins condensés des parties aérienne et racinaire.....	164
4.3.12. Effet de la salinité sur les activités antioxydantes.....	166
4.3.12.1. Effet de la salinité sur l'activité antioxydante totale des parties aérienne et racinaire.....	166
4.3.12.2. Effet de la salinité sur la capacité à piéger le radical DPPH des parties aérienne et racinaire.....	168
4.3.12.3. Effet de la salinité sur le pouvoir réducteur du fer des parties aérienne et racinaire.....	169

4.4. Discussion.....	169
4.5. Conclusion.....	183
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>184</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>187</b>

## Liste des tableaux

**Tableau.1.** Structure des principaux acides hydroxybenzoïques

**Tableau .2 .** Structure des principaux acides hydroxycinnamiques.

**Tableau.3.** Structures des principaux sous-groupes des flavonoïdes

**Tableau.4.** Hydroxylation et principales classes des tanins condensés.

**Tableau .5.** Précipitations moyennes mensuelles enregistrées dans la région de Tindouf durant la période 2003-2012

**Tableau.6.** Températures moyennes mensuelles (en °C) enregistrées dans la région de Tindouf durant la période 2003-2012

**Tableau.07.** Gradient d'élution utilisé pour la séparation des composés phénoliques

**Tableau.8.** Valeurs des  $CI_{50}$  (exprimées en  $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ) de l'extait chloroformique pour le test DPPH des trois organes de l'*Acacia raddiana* et *Acacia albida*.

**Tableau.9** Valeurs des  $CI_{50}$  (exprimées en  $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ) de l'extait éthanolique pour le test DPPH des trois organes de l'*Acacia raddiana* et *Acacia albida*.

**Tableau.10.** Valeurs des  $CI_{50}$  (exprimées en  $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ) de l'extait aqueux pour le test DPPH des trois organes de l'*Acacia raddiana* et *Acacia albida*.

**Tableau.11.** Polyphénols totaux ( $\text{mg EAG.g}^{-1}$  MS), flavonoïdes et tanins condensés ( $\text{mg EC.g}^{-1}$  MS) dans les feuilles et écorce de l'*Acacia albida*.

**Tableau.12.** Activité antioxydante totale ( $\text{mg EAG.g}^{-1}$  MS), pouvoir réducteur du fer ( $EC_{50}$   $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ) et activités contre les radicaux DPPH, ABTS et l'anion superoxyde ( $CI_{50}$   $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ) des feuilles et écorce de l'*Acacia albida*.

**Tableau.13** .Identification et quantification des composés phénoliques de l'extrait éthanolique des feuilles de l'*Acacia albida* par CLHP.

**Tableau .14.** Identification et quantification des composés phénoliques de l'extrait aqueux des feuilles de l'*Acacia albida* par CLHP.

**Tableau.15.** Comparaison des taux et temps moyens de germination d'*Acacia albida* pour chacun des prétraitements (témoin, acide sulfurique, scarification mécanique au papier abrasif et eau bouillante)

**Tableau.16.** Comparaison des taux et temps moyens de germination d'*Acacia albida* pour chacune des températures (20, 25 et 30 °C)

**Tableau.17.** Comparaison des taux et temps moyens de germination de l'*Acacia albida* pour chacun des traitements salins.

**Tableau.18** .pH, CE ( $\mu\text{s}/\text{cm}$ ) et éléments minéraux du substrat utilisé pour la culture d'*Acacia albida*.

**Tableaux .19.** pH, CE ( $\mu\text{s}/\text{cm}$ ) et éléments minéraux de l'eau barrage.

**Tableau.20.** pH, CE ( $\mu\text{s}/\text{cm}$ ) et éléments minéraux des différents substrats de culture.

**Tableau.21.** Effet des différentes doses de sel sur la capacité antiradical DPPH (exprimée en  $\text{CI}_{50}$   $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) des parties aérienne et racinaire des plants d'*Acacia albida*

**Tableau.22.** Effet des différentes doses de sel sur le pouvoir réducteur du fer (exprimée en  $\text{CE}_{50}$   $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) des parties aérienne et racinaire des plants d'*Acacia albida*

## Liste des photos

**Photos 1.** Feuilles et inflorescences d'*Acacia raddiana* Savi.

**Photos 2.** Appareil végétatif et fruit d'*Acacia raddiana* Savi.

**Photos.3.** Feuilles de l'*Acacia albida* Del.

**Photos.4.** Fleures d'*Acacia albida* Del.

**Photos. 5.** Fruit et épines d'*Acacia albida* Del.

**Photos.6.** Culture des plants des *Acacia albida* sous serre.

## LISTE DES FIGURES

**Figure .1.** Aire de répartition d'*Acacia tortilis* ssp. *raddiana*.

**Figure.2.** Principales étapes de la voie de biosynthèse des acides phénoliques.

**Figure .3.** La biosynthèse des flavonoïdes

**Figure.4.** Squelette de base des flavonoïdes

**Figure.5.** Schéma générale des tanins hydrolysables

**Figure.6.** Schéma général de la biosynthèse des proanthocyanidines

**Figure.7.** Les principaux types d'alcools de phénylpropanoïdes

**Figure.8.** Situation géographique de la wilaya de Tindouf et localisation de la zone d'étude

**Figure.9.** Diagramme Ombrothermique de la zone d'étude

**Figure.10.** Teneurs en polyphénols totaux de l'extrait chloroformique exprimées en mg EAG/g MS des trois organes chez *Acacia raddiana* et *Acacia albida*

**Figure.11.** Teneurs en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique exprimées en mg EAG/g MS des trois organes chez *Acacia raddiana* et *Acacia albida*

**Figure.12.** Teneurs en polyphénols totaux de l'extrait aqueux exprimées en mg EAG/g MS des trois organes chez *Acacia raddiana* et *Acacia albida*

**Figure.13.** Profils chromatographiques de l'extrait éthanolique des feuilles enregistrés en UV.

**Figure.14.** Profils chromatographiques de l'extrait aqueux des feuilles enregistrés en UV.

**Figure.15.** Taux de germination (%) de l'*Acacia albida* sous l'effet des différentes températures et des différents prétraitements

**Figure.16.** Temps moyen de germination (%) de l'*Acacia albida* sous l'effet des différentes températures et des différents prétraitements

**Figure.17.** Cinétique de la germination de l'*Acacia albida* sous l'effet de différents prétraitements et températures

**Figure.18.** Taux et temps moyens de germination de l'*Acacia albida* sous l'effet du traitement salin.

**Figure .19.** Cinétique de la germination de l'*Acacia albida* sous l'effet du traitement salin.



**Figure .20.** Diagramme de Piper du substrat utilisé pour la culture d'*Acacia albida*.

**Figure.21.** Diagramme de Stabler du substrat utilisé pour la culture d'*Acacia albida*.

**Figure.22.** Diagramme de Richards pour la classification des sols

**Figure.23.** Diagramme de Wilcox pour la classification des sols

**Figure.24.** Triangle textural des sols selon les classes USDA

**Figure .25.** Diagramme de Piper de l'eau de barrage.

**Figure.26.** Diagramme de Riverside pour l'eau de barrage.

**Figure.27.** Diagramme de Wilcox pour l'eau de barrage.

**Figure.28.** Diagramme de Piper des différents substrats de culture

**Figure. 29.** Diagramme de Stabler des différents substrats de culture.

**Figure.30.** Diagramme de Richards pour les différents substrats de culture.

**Figure.31.** Diagramme de Wilcox pour les différents substrats de culture

**Figure.32.** Effet des différentes doses de sel sur la longueur des tiges des plants d'*Acacia albida*

**Figure.33.** Effet des différentes doses de sel sur la longueur des racines des plants d'*Acacia albida*

**Figure.34.** Impact des différentes concentrations de sel sur le poids sec de la partie aérienne des plants d'*Acacia albida*

**Figure.35.** Impact des différentes concentrations de sel sur le poids sec des racines de plants d'*Acacia albida*

**Figure.36.** Impact des différentes concentrations de sel sur l'hydratation des parties aériennes de plants d'*Acacia albida*

**Figure.37.** Impact des différentes concentrations de sel sur l'hydratation des parties aériennes de plants d'*Acacia albida*.

**Figure.38.** Effet des différentes doses de sel sur le rapport partie aérienne/partie racinaire des plants d'*Acacia albida*.

**Figure.39.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en chlorophylle « a » des plants d'*Acacia albida*

**Figure.40.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en chlorophylle « b » des plants d'*Acacia albida*.

**Figure.41.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en chlorophylle totale des plants d'*Acacia albida*

**Figure.42.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en caroténoïdes des plants d'*Acacia albida*

**Figure.43.** Variabilité des teneurs en Na (mg/g MS) dans les parties aériennes des plants d'*Acacia albida* en fonction de la salinité.

**Figure .44.** Variabilité des teneurs en Na (mg/g MS) dans les parties racinaires des plants d'*Acacia albida* en fonction de la salinité.

**Figure.45.** Variabilité des teneurs en K (mg/g MS) dans les parties aériennes des plants d'*Acacia albida* en fonction de la salinité.

**Figure.46.** Variabilité des teneurs en K (mg/g MS) dans les parties racinaires des plants d'*Acacia albida* en fonction de la salinité.

**Figure.47.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en polyphénols totaux des parties aériennes de plants d'*Acacia albida*

**Figure.48.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en polyphénols totaux des parties racinaires de plants d'*Acacia albida*

**Figure.49.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en flavonoïdes des parties aériennes de plants d'*Acacia albida*

**Figure.50.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en flavonoïdes des parties racinaires de plants d'*Acacia albida*

**Figure.51.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en tanins condensés des parties aériennes de plants d'*Acacia albida*

**Figure.52.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en tanins condensés des parties racinaires de plants d'*Acacia albida*

**Figure .53.** Impact des différentes concentrations de sel sur l'activité antioxydante totale des parties aériennes de plants d'*Acacia albida*

**Figure.54.** Impact des différentes concentrations de sel sur l'activité antioxydante totale des parties racinaires de plants d'*Acacia albida*

**Figure.55.** Effet des différentes doses de sel sur la croissance moyenne relative (par jour) des plants d'*Acacia albida*

**Figure .56.** Effet des différentes doses de sel sur l'indice de sensibilité (%) des parties aériennes des plants d'*Acacia albida*

**Figure.57.** Effet des différentes doses de sel sur l'indice de sensibilité (%) des parties racinaires des plants d'*Acacia albida*

**Figures.58.** Variation du rapport  $K^+/Na^+$  dans les parties aériennes des plants d'*Acacia albida* en fonction des différentes doses de sel

**Figures.59.** Variation du rapport  $K^+/Na^+$  dans les parties racinaires des plants d'*Acacia albida* en fonction des différentes doses de sel

## Liste des abréviations

**A** : Argile

**ABTS.<sup>+</sup>**: Acide 2,2'- azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)

**ADEME** : Agence de l'environnement et la Maîtrise de l'Energie, France

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**ADN**: Acide désoxyribonucléique

**AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O**: Chlorure d'Aluminium Hexahydraté

**BHA**: 3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole

**BHT**: 2,6-di-t-butyl-4-methylphenol ou butylhydroxytoluène

**Ch**: Chlorophylle

**CMR**: Croissance moyenne relative

**CE50**: Concentration correspondante à 50 % d'efficacité de l'échantillon

**CI50**: Concentration correspondante à 50% d'inhibition

**CLHP**: Chromatographie liquide à haute performance

**DAD**: Diode Array Detector

**DPPH**: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

**DO extrait**: Absorbance de la solution d'extrait.

**DO témoin**: Absorbance du témoin.

**EOR**: Espèces oxygénées réactives

**FE**: La fuite d'électrolytes

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure ferrique

**H** : Longueur de la tige

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique concentré

**HO.**: Radical hydroxyle

**IP**: Indice de Polarité

**IS**: Indice de Sensibilité

**ISM**: Indice de sensibilité moyen

**L** : Limon

**Lf** : Limon fin

**Lg** : Limon grossier

**LR** : Longueur de la racine

**MF** : Matière fraîche

**mg EAG g<sup>-1</sup> MS**: Milligramme d'Equivalent Acide Gallique par gramme de Matière Sèche

**mg EC g<sup>-1</sup> MS**: Milligramme d'Equivalent Catéchine par gramme de Matière Sèche

**MO** : Matière organique

**MS**: Matière Sèche

**NBT**: Nitro-blue-tetrazolium

**NO.** : Monoxyde d'azote

**NI**: Composé non identifié

**O<sup>-2</sup>** : Anion super-oxyde

**PA** : Partie aérienne

**PR** : Partie racinaire

**PI**: Pourcentage d'Inhibition

**RMN**: Résonance magnétique nucléaire

**ROO.** : radicaux peroxydes

**S** : Sable

**Sf** : Sable fin

**Sg** : Sable grossier

**SPE**: Extraction solide/liquide

**TCA**: Acide trichloracétique

**TEAC**: Trolox equivalent antioxidant capacity

**TG** : Taux de germination

**Tmg** : Temps moyen de germination

**TIC**: Total ionic current

**TROLOX**: Acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthyl-chroman-2-carboxylique

## **INTRODUCTION GENERALE**

Les conditions bioclimatiques sont les principaux facteurs qui affectent la répartition de la végétation ainsi que la physiologie des plantes. En effet, les contraintes environnementales (salinité, sécheresse, température ainsi que les facteurs édaphiques) provoquent l'expansion de certaines espèces aux dépens d'autres.

Près de 400 millions d'hectares de terre sont affectés par la salinisation (**Bot et al., 2000**), dont 80% sont d'origine naturelle et 20% d'origine anthropique (**FAO et IPTRID, 2006**). A travers le monde, 3 hectares des terres arables sont perdus chaque minute à cause de la salinité du sol (**FAO et IPTRID, 2006**) et ceci plus particulièrement dans les régions arides et semi arides (**Rozema et Flowers, 2008 ; Abdel Latef, 2010**) du fait des déficits d'humidité consécutifs, d'une part à la forte évaporation de l'eau souterraine (**Ashraf et O'Leary, 1996**) et d'autre part à la mauvaise gestion de l'irrigation. En région méditerranéenne, où les zones salées couvrent 16 millions d'hectares (**Hamdy, 1999**), les plantes sont souvent soumises à un fort ensoleillement et à une faible pluviométrie. Sous ces conditions stressantes, l'irrigation devient obligatoire, mais se fait à l'aide d'eaux saumâtres. Par conséquent, la forte demande évaporatoire et la faible infiltration dues aux précipitations entraînent l'accumulation du sel à la surface des sols (**Gucci et al., 1997**) engendrant ainsi la dégradation de ces derniers.

De grands programmes de reboisement ont été mis en œuvre pour lutter contre la dégradation des terres. Ceux-ci ont bien souvent abouti à des échecs, en raison de l'inadaptation à l'aridité et au faible niveau de fertilité des zones d'introduction des espèces exotiques à croissance rapide utilisées.

Le recours à des espèces autochtones généralement plus adaptées au milieu et largement connues et utilisées par les populations locales devient à cet égard une nécessité. Parmi celles-ci, les légumineuses arborescentes et herbacées pérennes offrent un intérêt particulier, car leur double capacité à réduire le dioxyde de carbone et l'azote atmosphérique en fait des modèles de choix dans les programmes de restauration d'écosystèmes et de développement durable.

En ce moment le genre le plus favorisé en Afrique est l'acacia, en raison notamment de sa large répartition, de ses capacités de résistance à la sécheresse et de fixation de l'azote, et de ses multiples usages traditionnels.

On dénombre environ 1250 espèces d'acacias, dont 134 (représentées par 170 taxons) sont originaires d'Afrique; 20 (26 taxons) sont présentes jusqu'en Asie, et 6 (7 taxons) sont natives d'Asie orientale (**Jouadi et al., 2010**). Des espèces de ce genre existent aussi au niveau de la région de Tindouf, à l'extrême sud-ouest algérien, et parmi les espèces que nous avons dénombré dans cette région : *Acacia raddiana* et *Acacia albida*, qui font partie de la famille des Fabacées et leurs graines sont caractérisées par une dormance (inhibition) tégumentaire (**Danthu et al., 2003**). Ces espèces sont largement utilisées par les populations locales comme plantes médicinales (**Le Floc'h et Grouzis, 2003**), alimentaires (**Richard, 1989 ; Kiema et al., 2008**), bois d'énergie et charbon en raison du pouvoir calorifique élevé de leur bois.

Ces espèces évoluent dans des conditions rudes et sévères caractérisées par des précipitations rares et irrégulières, de grandes amplitudes thermiques, ainsi qu'une évaporation élevée amplifiée par des vents soufflant presque toute l'année (**Dubief, 1963**), (**Kasbadji, 1999**). Cependant, ces facteurs climatiques sévères combinés n'ont pas empêché le maintien en place d'une flore adaptée, voire endémique, à ces contraintes.

Généralement ces espèces, qui s'adaptent à ces contraintes abiotiques, sont connues par leur richesse en métabolites secondaires qui participent à lutter contre le stress oxydatif. Ces biomolécules, appelées aussi antioxydants, en particulier, les composés phénoliques, sont très recherchées vu leur intérêt indiscutable (**Ksouri et al., 2008 ; Maisuthisakul et al., 2007**).

Malgré que l'*Acacia raddiana* et *Acacia albida* sont deux espèces ayant un statut de vulnérabilité très particulier (liste rouge des espèces à protéger en Algérie pour *A. raddiana* et endémisme très marqué avec cycle phénologique inversé pour *A. albida*), peu d'études en Algérie ont été faites pour apporter des outils d'aide à la décision dans le but de développer la connaissance scientifique de ces essences et d'appuyer leur rôle écologique et socio-économique.

Dans ce sens, notre travail s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche FNR (Fond National de la Recherche) dans le but d'apporter des éléments de réponse et ce à travers quatre volets :

- Le premier volet vise essentiellement à étudier la variabilité interspécifique de la composition en polyphénols et de l'activité antioxydante (antiradicalaire) des deux espèces d'Acacia, dans le but de sélectionner l'espèce qui semble meilleure sur les plans quantitatif (teneur en polyphénols) et qualitatif (activité antioxydante) ;
  
- Le deuxième volet permet d'approfondir l'étude des molécules bioactives de l'espèce choisie ainsi que leurs activités antioxydantes tout en faisant une identification et une quantification des composés phénoliques par CLHP-DAD ;
  
- Le troisième volet consiste à une expérimentation portant à l'étude de l'impact de la salinité sur la germination des graines de l'espèce choisie afin de déterminer les seuils limites de sel qui peuvent entraver les essais de restauration des espèces forestières menacées ;
  
- Le quatrième volet consiste à étudier le comportement morphologique, physiologique et biochimique des plants de l'espèce choisie vis-à-vis des différentes doses de sel afin d'évaluer le devenir de l'espèce face à la salinité durant les premiers stades de croissance.



## **1. BIOGEOGRAPHIE ET AIRE DE REPARTITION DES ACACIAS**

### **1.1. La famille des Fabacées**

La famille des Fabacées regroupe des plantes dicotylédones à intérêt économique mondiale. Elle compte des espèces alimentaires, fourragères et ornementales. Le caractère commun entre les espèces appartenant à ce groupe est la présence de fruit ou gousse bivalve. Anciennement connu sous l'appellation de légumineuses, ce groupe est considéré, après les Astéracées, comme étant la seconde famille des Edictons. **Ollet (1992)**, affirme que les espèces de Fabacées sont cosmopolites et que la famille a des représentants dans tous les types biologiques. Dans d'autres citations, la notion de superfamille est remplacée par celle d'« ordre », par conséquent l'ordre de légumineuses se répartit en trois familles : les Mimosacées, les Césalpiniacées et les Fabacées, dont la plupart sont des espèces fixatrices d'azote et qui ont une importance sur le plan économique (**Hopkins, 2003**). D'autre part, **Guignard et Dupont (2004)** signalent que les fabacées forment une superfamille, divisée à son tour en trois familles ; les Faboidées, les Césalpiniacées et les Mimosacées.

Les Faboidées ou Papilionacées sont nommés ainsi à cause de la forme de leurs corolles, les fleurs sont zygomorphes et les espèces sont généralement herbacées. Par contre, les Césalpiniacées et les Mimosacées ont un port globalement arboré ou lignifié. On retrouve au niveau des racines des Fabacées, des microorganismes symbiotiques qui interviennent dans leurs nutrition, dont les bactéries appartenant au genre *Rhizobium*, formant des excroissances racinaires appelées communément nodosités ou nodules, ainsi que des champignons endomycorhiziens à vésicules et arbuscules développant des structures intra et extra racinaires (**Cornet et Diem, 1982**). Prés de 90% des espèces de Papilionacées et de Mimosacées et plus de 30% des Césalpiniacées sont pourvues de nodosités, ceci montre que la fixation de l'azote est un phénomène fréquent, mais non obligatoire, de la nutrition des plantes de cette superfamille (**Ba, 2008**).

En revanche, Il faut noter que dans la nature, d'une façon générale, il est difficile d'observer les nodules sur les racines des arbres (**De Lajudie et al., 1998**). Cette superfamille est caractérisée par un ovaire formé d'un seul carpelle qui se transforme en un fruit d'un type particulier, appelé gousse. C'est un fruit sec, déhiscent par deux fentes longitudinales dont l'une suit le bord ventral et l'autre la nervure dorsale (**Ozenda, 1977**). Cependant, Les caractères floraux représentent le principal élément distinctif entre les 3 groupes.

## **1.2. La sous famille des Mimosacées**

La famille des Mimosacées, appelée aussi famille des Acacias, regroupe toutes les espèces appartenant au genre *Acacia* Miller. Les Mimosacées sont le plus souvent sous forme d'arbrisseaux, arbustes ou arbre. Les feuilles sont composées, bi- paripennées ou réduites en phyllodes, alternes à stipules épineuses ou nulles. Les inflorescences sont en glomérules (globuleux ou plus ou moins allongés) rarement en épis portant des fleurs petites, jaunes ou blanchâtres, toujours actinomorphes chez *Acacia Miller*. Le calice présente 5 sépales libres et de même dimension. L'androcée polystémone est formé par plus de 20 étamines (**Benabid, 2000**).

## **1.3. Origine du genre *Acacia***

Le genre *Acacia* Miller compte un nombre d'espèces relativement élevé : quatre cents espèces réparties dans les régions tropicales et subtropicales selon **Perrot (1928)**, cinq cents selon **Boulhol (1939)**, six cents selon **Boudy (1950)** et mille deux cents espèces selon **Guinet et Vassal (1971)** ; l'Australie renferme à elle seule, environ 700 espèces d'*Acacia* (**Maslin et Pedley 1982**) et l'Asie renferme un nombre restreint et sont observées principalement en Inde et quelques îles de l'Océan indien. Dans le continent américain, la zone d'*Acacia* correspond au sud des Etats-Unis, le Mexique, l'Argentine, le Chili, la Colombie, le Pérou, la Bolivie, et les Antilles (**Aronson 1993**). L'Afrique est assez riche en *Acacia* (**Figure.1**), surtout dans les régions équatoriales, tropicales et subtropicales (**Vassal 1972 ; Gates et Brown 1988**).

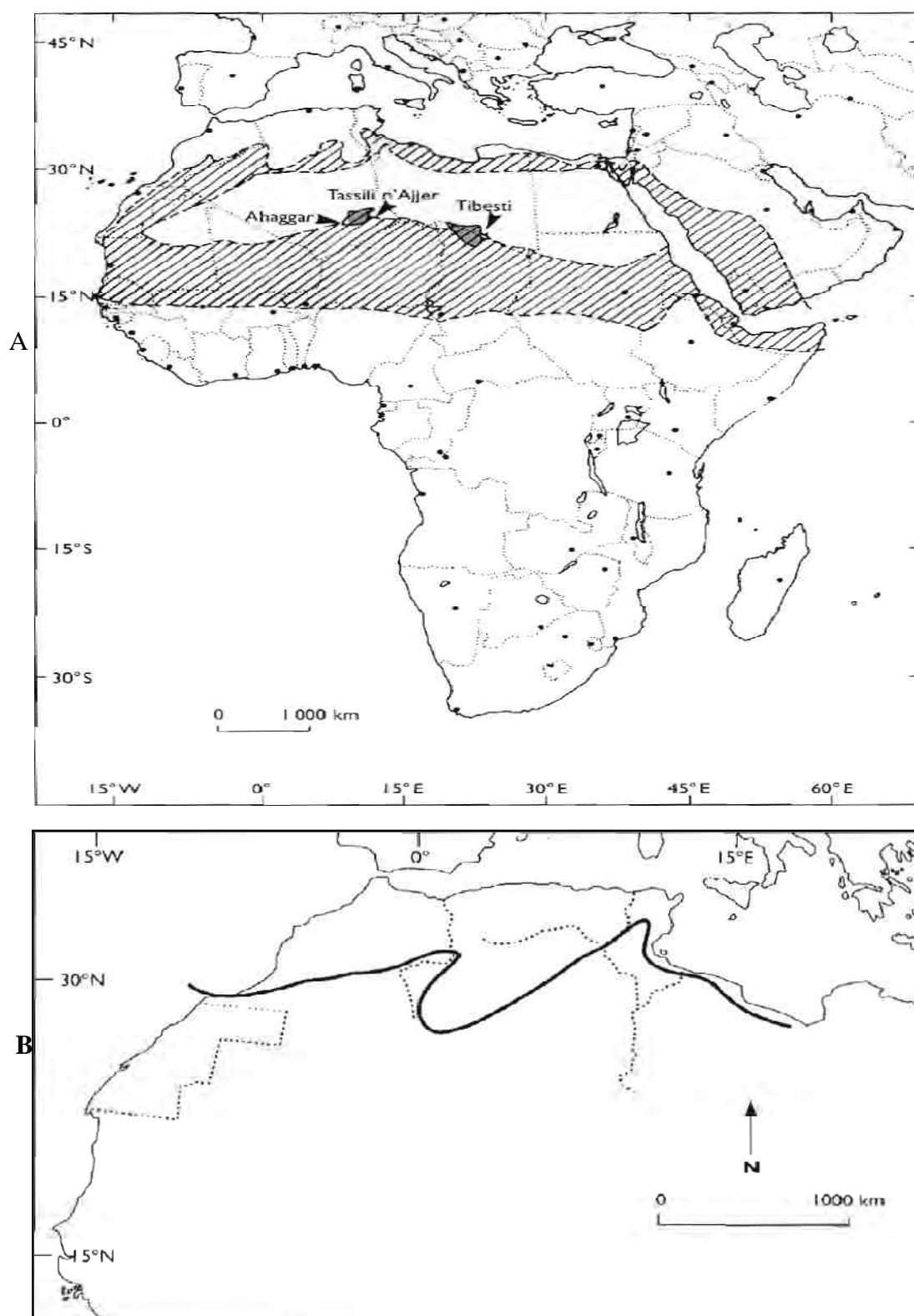
#### **1.4. L'espèce *Acacia raddiana***

##### **1.4.1. Origine d'*Acacia raddiana***

Il y a 2500 ans, le climat du Sahara auparavant froid, s'est réchauffé. La mousson tropicale est remontée vers le nord, et les Acacias et autres espèces tropicales l'ont envahi (**Quezel 1963**). Il se forma dans cette immense savane, une chaîne de grandes forêts pures d'*Acacia* reliant les hauts plateaux algériens et leurs steppes à formation de Pistachier et de Jujubier aux régions soudanaises. Il en subsiste de nombreux témoins au Maroc et en Tunisie, se reliant aux formations du Sénégal par un chapelet de stations distinctes et fragmentées les unes des autres (**Nongonierma 1977**). Certains auteurs comme **Boulhol (1940)** considèrent que l'association climacique primitive à base d'*Acacia* épineux a une aire qui va de l'Océan à la Méditerranée et à la Mer Rouge. En revanche, il signale que les *Acacias* de l'Afrique Occidentale rejoignent ceux du Sud-tunisien et de la Tripolitaine, occupant ainsi une immense bande, soit toute la largeur de l'Afrique. Et c'est le dessèchement du Sahara qui les a refoulés peu à peu, ne les laissant subsister que dans les zones côtières (Sud-tunisien, Sud-marocain, Tripolitaine, Egypte, Palestine...). Toutefois, il faut signaler qu'*Acacia tortilis* est un arbre autochtone des régions arides et semi-arides. Ceci justifie sa localisation en Australie, en Amérique du Sud, en Asie et Afrique (**Gates et Brown 1988**).

En Afrique, l'espèce se rencontre dans trois aires régionales distinctes :

- Nord du Sahara : Maroc, Algérie, Tunisie, Libye et Egypte.
  - Sud du Sahara : Toute la zone Sahelo-Soudanaise, notamment la Mauritanie, le Sénégal, le Mali, le Niger, le Burkina, le Tchad et le Soudan.
- En zone tropicale humide (Nigeria et Cameroun), elle s'étend jusqu'à la République Centrafricaine (**Le Floch 1983**).



**Figure .1.** Aire de répartition d'*Acacia tortilis* ssp. *raddiana* (A: en Afrique et Asie ; B: En Afrique septentrionale) (Grouzis & Le Floc'h 2003).

### 1.4.2. Position systématique

En Afrique et au Moyen orient, le genre *Acacia* comporte d'après **Brenan (1983)** environ 130 espèces. Il existe des divergences au niveau de la position systématique des espèces du genre *Acacia* entre les taxonomistes. Ces divergences laissent supposer qu'il n'est pas aisé de pouvoir y établir une classification unique et universelle pour ce genre. A juste titre, **Ducouso et Thoen (1991)** rapportent que « les données concernant la position systématique de chaque espèce d'*Acacia* sont très incomplètes, et à l'heure actuelle, aucun document exhaustif de synthèse n'est disponible sur ce sujet ». Le binôme scientifique de « talha » varie selon les auteurs dans la littérature botanique ; certains comme **Quezel et Santa (1963)**, **Zohary (1972)**, **Tackholm (1974)** le considèrent comme **Brenan (1957)**. En effet, jusqu'aux années cinquantes, il était généralement admis qu'il y avait dans le complexe *Acacia tortilis* deux espèces principales, l'une à gousses glabres nommée *A. tortilis* ou *A. raddiana*, l'autre à gousses pubescentes nommée *A. spirocarpa*. **Brenan (1957)** a révisé le complexe, et reconnaît une seule espèce variable et d'aire étendue, *A. tortilis*, avec quatre sous-espèces plus ou moins délimitées géographiquement, à savoir :

- *Acacia tortilis* (Forssk.) Hayne subsp. *Heteracantha* (Burch) Brenan
- *Acacia tortilis* (Forssk.) Hayne subsp. *tortilis* Brenan
- *Acacia tortilis* (Forssk.) Hayne subsp. *spirocarpa* (Hochst.) Brenan
- *Acacia tortilis* (Forssk.) Hayne subsp. *raddiana* (Savi.) Brenan

C'est à Vassal (1972) que l'on doit la plus récente révision nomenclaturale le dénommant comme une sous-espèce : *Acacia tortilis* ssp. *raddiana* (Savi) Brenan.

### 1.4.3. Description botanique

*Acacia tortilis* subsp. *raddiana* est une espèce ligneuse de 4 à 18 m de hauteur, et atteignant occasionnellement 21m.

Les jeunes rameaux et feuilles sont glabres ou pseudoglabres, de même que les gousses; l'écorce fissurée est de couleur grise à noir (**Brenan et al., 1959**).

Les feuilles composées bipennées et alternes, sont formées d'un rachis long de 4 à 6 cm, portant 3 à 5 paires de pinnules, longues de 2 à 3 cm. Les deux pinnules terminales sont très rapprochées et les autres sont distantes de 10 mm environ.

Le pétiole, long de 10 à 15 mm, porte parfois une glande, au-dessus, avant la première paire de pinnules. A la base du pétiole, se présentent deux épines jumelées, parfois courtes et légèrement courbées, parfois droites, acérées, blanchâtres, longues de 2 à 5 cm.

Les fleurs, d'un blanc crème, sont en forme de capitules larges de 7 à 10 mm. Elles sont disposées au sommet d'un pédoncule long de 15 à 30 mm (**Photos.1**). Ces pédoncules peuvent être groupés par 2 ou 3, à l'aisselle des feuilles (**Berhaut 1967**).



**Photos 1.** Feuilles et inflorescences d'*Acacia raddiana* Savi.

Le fruit d'*Acacia tortilis* se présente comme des légumes ou gousses spiralées (tortillées). Elles ont 10 à 15 cm de long et 5 mm de large (**Photos .2**), verts au stade juvénile et brun

clair à maturité. Elles contiennent jusqu'à 10 graines brunes, ovales avec deux côtés larges et une concavité ovale foncée (Von Maydell 1986).



**Photos 2.** Appareil végétatif et fruit d'*Acacia raddiana* Savi.

Le système racinaire d'*Acacia tortilis* est pivotant et bien développé, ce qui lui permet d'exploiter différentes couches du sol. Quant aux racines secondaires, elles apparaissent généralement à une faible profondeur (inférieure à 1 m). Le Houérou pense que les racines de cette espèce peuvent excéder 40 m de profondeur dans le ferlo du Sénégal, puisque la distribution de l'espèce se superpose parfaitement avec le niveau piézométrique de -40

#### **1.4.4. Phénologie d'*Acacia raddiana***

La feuillaison d'*Acacia tortilis* subsp. *raddiana* est continuellement visible, et s'étend sur presque toute l'année. Cependant, il faut signaler, l'existence d'une défeuillaison qui est partielle pour certains individus.

Ce type particulier de variabilité a d'ailleurs été décrit au niveau d'une population d'*Acacia tortilis* de la mare d'Oursi au Burkina-Faso (Piot et al., 1980). S'établissant dans le Negev au mois de juillet de chaque année, indépendamment de la température et de la disponibilité en eau, la défeuillaison d'*Acacia tortilis* est telle que certains individus sont partiellement défeuillés (réduction du feuillage de 40 à 50%), alors que d'autres sont totalement dénudés (Halevy et Orshan, 1973).

La chute des feuilles peut être considérée pour la manifestation ultime du développement foliaire. Les feuilles devront croître, vieillir et chuter à plus ou moins long terme, suivant leur durée de vie. *Acacia tortilis* est donc à considérer comme une espèce semi-sempervirente, avec des périodes de pleine et de basse feuillaison, et ce d'après la synthèse de **Brenan et Kessler (1995)**. La relative continuité de la feuillaison suppose une superposition entre les stades de défeuillaison et de début de feuillaison. Ce dernier stade est pleinement visible en saison pré pluvieuse. Le débourrement qui précède les pluies est un phénomène connu sous le nom de précession de feuillaison (**Le Houérou, 1989**).

Dans le même contexte, *Acacia tortilis* se caractérise par une floraison assez étalée dans le temps. D'après **Chaieb et al. (1991)**, au sein de la même population, ce stade semble être variable d'une région à une autre, et même d'un individu à un autre. Ces auteurs, constatent que l'apparition des bourgeons floraux a lieu à la fin du mois de juin et se poursuit jusqu'à la deuxième décennie du mois de juillet de chaque année. Toutefois, un décalage peut souvent avoir lieu, même au sein de la même population. Ceci résulte, d'une fluctuation des facteurs édapho-climatiques. De son côté, **Grouzis (1991)** a eu la même constatation pour *Acacia adonsonii*. Cet auteur considère, en plus des facteurs cités, les variations génétiques de l'espèce. Au sud du Sahara, les études de **Diouf (1996)**, ont montré que la floraison présente un certain décalage par rapport à la feuillaison. La coïncidence de la croissance phénologique d'*Acacia tortilis* subsp. *raddiana* avec la période des hautes températures et de grande Evapotranspiration Potentielle (saison de l'été), révèle une complémentarité fonctionnelle de cette espèce, normalement paléotropicale, avec celle des espèces d'origine méditerranéenne.

En guise de conclusion, si certaines caractéristiques sont connues, comme par exemple le fait qu'*Acacia tortilis* soit une espèce à feuillage partiellement ou complètement caduque au cours de l'année, il faut toutefois reconnaître que peu de travaux ont été consacrés à l'étude détaillée du cycle biologique annuel de ce taxon. Ainsi, les auteurs ont des avis opposés, surtout pour le déroulement temporel moyen du développement à savoir l'apparition, l'épanouissement et le déclin d'une telle phénophase.



Cependant, plusieurs auteurs s'accordent sur le fait que le facteur le plus déterminant d'une telle phase phénologique est la réserve hydrique du sol (**Grouzis et Sicot, 1980 ; Borchert, 1994 ; Reich et Borchert, 1984**).

#### **1.4.5. *Acacia raddiana* en Algérie**

En Algérie, l'*Acacia raddiana* se trouve sur les axes d'eau temporaire représentés par les oueds où l'humidité est suffisante pour favoriser l'installation d'un sol plus profond et plus riche en éléments fins (lemons et argiles). Il est localisé essentiellement dans la Saoura où il représente les reliques d'une savane désertique. Au Sahara nord occidental le parallèle de Béchar (31° 30' de latitude) constitue sa limite supérieure. Par contre, ces peuplements font défaut dans tout le Sahara septentrional. Il convient toutefois de signaler l'existence de cet arbre dans les oueds qui entaillent le versant méridional du Tademaït et sur le versant Nord occidental (**Quezel et Simonneau, 1963**). Sa répartition est limitée au nord par les températures minima et peut supporter jusqu'à -7°C à +10°C. La tranche pluviométrique est très faible et va de 0 à 120 mm.

#### **1.4.6. Intérêts d'*Acacia raddiana***

*Acacia raddiana* constitue une essence végétale aux propriétés multiples, toutes les parties du végétal étant utilisées. Il est partout reconnu d'un grand intérêt fourrager (riche en matières azotées digestibles) pour ses feuilles, gousses, jeunes rameaux et même épines, et plus particulièrement pour les chèvres et les dromadaires (**Astedu et al., 1994; Haro et Oba 1993**).

**Audru et al., (1994)** signalent qu'à Djibouti les éleveurs lancent leurs chèvres sur le houppier de ce taxon pour leur permettre d'en brouter les feuilles. Les fleurs et fruits sont éventuellement collectés par les bergers et distribués aux chèvres (**Schulz et Amadou 1992**). Elle assurait la survie des nomades en leur fournissant de l'ombre, et un excellent bois de feu et de charbon, avec un haut pouvoir calorifique. Le charbon de bois qu'elle procure est également apprécié jusqu'à aujourd'hui.

Il s'agit en outre d'un bois d'œuvre (grosses racines, troncs) assez recherché. En outre, ce taxon est capable d'enrichir le sol en azote (**Zahran 1999**). L'individu nodule et fixe l'azote atmosphérique grâce à une association symbiotique avec une bactérie du genre *Rhizobium*.

#### **1.4.6.1. Intérêt phyto-thérapeutique**

Du point de vue phytochimique, des recherches basées sur les résultats de l'étude taxonomique, ethno-pharmacologique et les tests biologiques de l'espèce ont mis en évidence des métabolites secondaires (polyphénols). (**Belhadjadi et al. 2008**). Les gousses et les feuilles sont utilisées, selon **Le Floc'h et Grouzis (2003)**, dans l'alimentation humaine de façon occasionnelle (en cas de disette), ainsi que l'alimentation du bétail (**Richard, 1989 ; Kiema et al., 2008**). Cependant, elles sont utilisées dans les soins traditionnels (**S.I.F.O.R, 2009**).

En effet, Les feuilles pilées avec du haricot, sont employées dans le traitement des dermatoses allergiques, des œdèmes et dans certaines affections de la peau. Elles sont également utilisées dans les soins des cheveux, le traitement de la teigne.

Les fruits sont utilisés contre les inflammations et les maux de dents.

L'écorce de l'*Acacia raddiana* a des propriétés vermifuges et guérissent les maladies de peau, la poudre de l'écorce séchée est saupoudrée sur les plaies pour les désinfecter et les faire cicatriser (**Bellakhdar, 1997**).

La gomme d'*Acacia raddiana* dissoute dans de l'eau intervient comme collyre dans le traitement des affections oculaires surtout au Sahara. Elle est aussi utilisée par voie orale, dans les maladies pulmonaires et les inflammations de l'appareil bucco-pharyngé (toux, asthme, laryngites...) et dans l'ictère.

Cette gomme mélangée avec les feuilles de *Maerua crassifolia* Forsk. est administrée par voie orale dans les affections hépatiques. Au Sahara également, la poudre de racine sèche est utilisée contre les troubles de l'estomac.

## 1.5. L'espèce *Acacia albida*

### 1.5.1. Présentation

*Faidherbia albida* (Del.) A. Chev. (syn. *Acacia albida*, Del) est un arbre Africain de la famille des Leguminosae, sous-famille des Mimosoideae. Il est très proche de la tribu des Acacieae, avec néanmoins quelques différences, qui en font un genre à part des acacias (Chevalier 1934 ; CTFT 1988 ; Joly 1991). Le vrai nom de cet arbre n'est pas clair que certains scientifiques se réfèrent à lui comme *Acacia albida* (Hutchinson et Dalziel, 1958) tandis que d'autres préfèrent l'appeler *Faidherbia albida* (Ross, 1966).

### 1.5.2. Répartition

*Acacia albida* est très largement distribué dans la plupart des pays d'Afrique tropicale, y compris Ouganda, le Kenya, la Somalie, l'Ethiopie, le Soudan, le Nigeria, le Sénégal et certains pays de l'Afrique australe. L'espèce est représentée le plus fréquemment dans des formations ouvertes, depuis des peuplements ripicoles (en Afrique australe et en Afrique sahéenne), jusqu'à des systèmes agricoles (parcs agro forestiers, principalement en Afrique de l'Ouest). Il semble que les faidherbias affectionnent les sols profonds, légers, et pourvus d'une nappe phréatique, même profonde (CTFT, 1988). En Algérie et au Maroc, *Acacia albida* Del. (*Acacia blanchâtre* ou *Faidherbia albida* A. Chev.) cette espèce (d'origine tropicale) existe à l'extrême limite du sud ouest de la rive gauche d'Oued Daraâ (Emberger, 1938). C'est une espèce indicatrice des dépressions désertiques au sud d'Ouarkiz et Seguia El Hamra (Benabid, 2000).

### 1.5.3. Description

L'arbre est vigoureux, atteignant couramment une hauteur de 15 à 20 m avec une circonférence du tronc de l'ordre de 1 à 2 mètre. Tronc court, de 3 à 5 m de long, cime hémisphérique ou en pyramide renversée.

L'espèce est caractérisée par une très importante amplitude écologique, en termes de pluviométrie de 50 à 1500 mm ( **Fagg et Bames, 1990**), de distribution des pluies (une ou deux saisons humides), d'hygrométrie, d'altitude et de sols.

□ **Feuille**

La majorité des espèces d'Acacia existantes sont épineuses avec des feuilles bipennées composées de petites folioles (*Acacia gummifera* Willd., *Acacia raddiana* Savi., *Acacia seyal* Del., *Acacia albida* Del., *Acacia farnesiana* Willd., *Acacia karoo* Hayne et *Acacia mollissima* Willd.) ce qui permet la réduction de la surface d'évapotranspiration. Les feuilles de l'*Acacia albida* sont alternes, bipennées et caduques (**Photos.3**). Pétiole dépourvu de glandes. Rachis porte 2 à 12 paires de pennes avec une glande unique. Chaque penne est composé d'un rachis de 2,5 à 5,5 cm de long et de 6 à 23 paires de foliolules glabres à pubescentes.



**Photos.3.** Feuilles de l'*Acacia albida* Del.

**□ Epines**

Les épines sont fortes à l'extrémité souvent orange ou brune, courtes (de 1-2 cm de longueur), linéaires et mucronulées. Insérées par paires à la base des feuilles (**Photos.3**).

**□ Fleurs**

Longs épis axillaires, solitaires ou géminés, plus longues que les feuilles, denses, portant des fleurs sessiles ou un court pédicelle de 2 mm, blanches, crèmes puis jaunes, très odorantes, hermaphrodites de types 5, glabres ou pubescentes. Calice à dents obtuses, pétales presque libres et dépassant beaucoup le calice.



**Photos.4.** Fleures d'*Acacia albida* Del.

**□ Fruit**

Les gousses sont plates, indéhiscentes de couleur orange vif à brun rouge, de 7-9 mm d'épaisseur, 6-35 cm de longueur et de 1-2 cm de largeur. Enroulées en spirale en se lignifiant et présentent un polymorphisme important. Contenant 10 à 30 graines brunes foncées ovoïdes, longues de 10 mm et larges de 6 mm.

Caractérisées par une aréole elliptique et protégées par une cuticule cireuse imperméable pour maintenir la viabilité à plusieurs années sur le terrain (Wood, 1992).



**Photos. 5.** Fruit et épines d'*Acacia albida* Del.

#### **1.5.4. Germination de l'*Acacia albida***

Les graines d'*Acacia albida* ne sont pas capables de germer normalement sous conditions naturelles de bonne pluie et d'humidité du sol, sauf si elles sont passées par le tube digestif de l'animal (Wickens, 1969). On estime qu'environ 60 à 70% des grains passent à travers le système digestif de l'animal ruminant et échappent à la digestion. Il est important de noter que les espèces d'arbres d'acacias demeurent l'une des plantes les plus précieuses qui constituent une source de nourriture pour ruminants pendant la saison sèche (Ahn et al., 1989) dans les zones pastorales et agro-pastorales quand l'herbe se fait rare et faible en valeur nutritive, en particulier de protéines brutes.



### **1.5.5. Phénologie de l'*Acacia albida***

Outre son amplitude écologique, la caractéristique la plus remarquable de *Faidherbia albida* est sa "phénologie inversée". Sa phase de végétation est centrée sur la saison sèche : les *faidherbias* débourrent en fin de saison des pluies, fleurissent et huctifient en cours de saison sèche, et la chute des feuilles suit généralement l'arrivée des nouvelles pluies.

L'espèce est donc caducifoliée, et sa croissance est indéfinie durant la phase feuillée. L'adoption d'une phénologie inversée est inattendue pour une essence de région sèche. Les *faidherbias* adultes transpirent probablement beaucoup, à en juger par leur vigueur. Il se peut donc qu'ils subissent des contraintes hydriques majeures au cours de la saison sèche, et/ou au cours de leur vie. S'agit-il d'une espèce très tolérante à la sécheresse, capable de continuer à croître en situation de contrainte hydrique sévère, ou au contraire d'une espèce évitant les contraintes, et mettant à profit sa profondeur d'enracinement.

### **1.5.6. Intérêt de l'*Acacia albida***

Les Acacias ont un rôle multifonctionnel tel que l'alimentation des ruminants, fournir du bois de cuisson et il est également utilisé comme une source de médicament pour traiter les maladies du bétail et autres maladies humaines par la plupart des communautés vivant dans les zones arides et semi arides de l'Afrique (New, 1984 ; Grade et al., 2009). C'est un arbre à usages multiples (feuilles et fruits fourragers, bois, propriétés médicinales), potentiellement fixateur d'azote. Cet arbre a été remarqué pour sa capacité à améliorer la fertilité des sols et augmenter le rendement des cultures plantées dans la zone de son ombre (Vandenbeldt, 1992).

Cette productivité de contre-saison présente des avantages évidents pour l'économie des populations des zones sèches.

Beaucoup de recherches ont été menées sur les effets des arbres sur les rendements des cultures en Afrique. Par exemple, dans les zones semi-arides de l'Afrique du Sud, *Faidherbia albida* a été montré pour aborder fréquemment les rendements de millet, le maïs et le sorgho et est largement cultivée par des agriculteurs dans certaines parties du Sahel et de l'Afrique australe. Ces rendements sont élevés en raison que cette espèce permet la disponibilité de l'azote et du phosphore, la conservation de l'humidité et la maintien de températures ambiantes du sol sous les canopées (**Payne et al., 1998**).

Une caractéristique clé du «système albida" (**Vandenbeldt, 1992**) est que les céréales ne sont pas sous-étage ombragé depuis la chute des feuilles qui a lieu avant la céréaliculture et la canopée remplit la fin ou après le recadrage (**Kho et al., 2001**).

Pour cette raison, *Faidherbia albida* a été intégré à l'économie rurale de longue date, et constitue la composante arborée principale de système agro-sylvo-pastoraux appelés "parcs à faidherbia" (**Pélissier, 1980 ; Ouedraogo 1994 ; Depommier, 1996 ; CIRAD-Forêt, 1996**).

### **1.6. Etat des lieux des acacias en Algérie**

Le constat de la dégradation avancée des écosystèmes sahariens est désormais confirmé, les facteurs responsables sont liés à l'anthropisation croissante et anarchique aggravée par les changements climatiques extrêmes. Dans ces milieux vulnérables, les populations animales et végétales sont constamment exposées à des risques de rétrécissement de leur espace et de leur nombre. L'*Acacia raddiana* n'échappe pas à cette règle. En Algérie, particulièrement dans les monts de l'Ougarta, l'étude des classes de densités effectuée sur quarante années a montré que les peuplements sont répartis en trois types de populations et de façon très hétérogènes. On distingue :

- Une population dont les arbres sont bien venants, étant pour la plupart âgés. Ce sont les plus rares et se retrouvent dispersés dans des zones peu ou pas fréquentées.
- Une population plus ou moins conservée, mais soumise à l'exploitation. C'est souvent un mélange de cépées et d'arbres fourchus (à tronc ramifier) qui végètent à la faveur de la disponibilité en eau.



Les cépées sont dues au broutage des semis très appréciés par les camelins. Les arbres à tronc ramifié peuvent être le résultat d'une réaction liée à la résistance de l'arbre aux conditions climatiques très rudes.

-Une population d'arbres chétifs et mal venants soumis à des coupes très fréquentes et à l'arrachage anarchique des branches, l'espèce se trouve alors confinée par des groupes très dispersés dans les fonds des lits d'oueds. La même étude sur les classes d'âge a montré qu'en dépit des diverses atteintes, *l'Acacia raddiana* a connu des périodes de régénération importantes ayant permis à l'espèce d'exister encore.

Toute fois, il y a lieu de signaler que la germination des graines d'*Acacia raddiana* est tributaire de plusieurs facteurs liés à la disponibilité en pluies, aux températures élevées, et aux conditions de levée de l'inhibition tégumentaire. Ainsi, *l'Acacia raddiana* ne se régénère qu'à la faveur de la combinaison de ces facteurs qui ne sont pas toujours évident à réunir d'où la menace de son extinction. Par ailleurs, l'anthropisation est caractérisée par la destruction des branches, ce fait est d'autant plus graves lorsque c'est l'arbre est abattu en entier afin de le transformer en charbon de bois. Pratique qui semble persister malheureusement, dans certaines régions des confins du Sahara, tel qu'au niveau de la hamada du Draa, avec de plus en plus de coupes destructrices pour le bois de feu. Aussi des blessures et entailles provoquées sur des sujets sains, à des fins d'extraction de résine ou de gomme pour les besoins domestiques (thé), provoquant de graves hécatombes à travers l'attaque des termites qui se greffent sur les sujets ainsi affaiblis. La régression provoquée de ce genre d'espèce au niveau du Dra, particulièrement dans la région des oueds, El Ma, Gahouane et Targant, semble provoquer une dénudation de l'espace et les savanes arborées à *Acacia*, risquent à terme de décliner, essentiellement à cause de cette pratique d'isolement sélectif. Cette activité longuement constatée est malencontreusement devenue lucrative pour les riverains, portant ainsi, et en silence, des coups fatals au patrimoine forestier que constituent les *Acacias* dans ces zones. Ainsi, si les pressions exercées par les activités anthropiques ne sont pas freinées ces espèces risquent de disparaître en emportant avec elles et à tout jamais, tout son patrimoine génétique, d'où une intervention urgente avant la disparition du dernier *Acacia* de notre grand Sahara.

## 2. STRESS SALIN

### 2.1. Notion de stress

Le stress est une contrainte qui peut se résumer à une (ou plusieurs) force(s) de déformation appliquée(s) à un corps. Cette contrainte modifie les dimensions et la forme du corps exposé traduisant sa tension intérieure (**Levitt, 1980**). Un stress biologique n'est pas une force à proprement parler mais une déformation plastique du corps exposé.

Par analogie à la physiologie des plantes, une contrainte environnementale va provoquer une tension interne dans l'organisme exposé.

Le stress perçu par une plante, autrement dit le niveau de tension interne, dépend de la résistance de l'organisme à un type de stress appliqué avec une certaine intensité.

En plus du type de stress et de son intensité, il faut également considérer la durée d'exposition. En effet, si l'intensité d'un stress est trop faible pour provoquer des dommages irréversibles à court terme, à long terme, ce stress peut provoquer des changements plastiques, voire la mort de l'organisme (**Levitt 1980**).

Un organisme vivant est capable de s'adapter. En effet, par ce processus les blessures peuvent se résorber et la résistance au stress se modifier. Selon **Levitt 1980**, on distingue deux types d'adaptation :

-**l'adaptation élastique** (ou capacité d'adaptation) concerne un organisme adapté qui peut vivre, croître et réaliser son cycle de vie en présence du stress.

-**l'adaptation plastique** (ou résistance à l'adaptation) inhibe la croissance et ainsi tous dommages irréversibles éventuels jusqu'à la disparition partielle ou complète de l'agent stressant. Si l'adaptation est élastique, elle engendre des stratégies de résistance particulières. Il existe deux stratégies de résistance (**Levitt, 1980**).

- **La résistance par exclusion** : souvent réduite au terme de résistance. L'organisme inhibe ou réduit la pénétration du stress (substance toxique) dans ses tissus. L'organisme augmente ainsi le niveau de stress nécessaire pour un même niveau de tension interne.

-**La résistance par tolérance (inclusion)** : souvent réduite au terme de tolérance.

L'organisme absorbe l'agent stressant pour rétablir l'équilibre thermodynamique avec son environnement sans subir de blessures irréversibles tout en poursuivant sa croissance.

L'organisme réduit ainsi la tension interne pour un même niveau de stress.

## 2.2. Effet de la salinité sur les halophytes et les glycophytes

L'eau est une source indispensable pour les végétaux. Sa présence est une condition incontournable pour que toute la plante puisse se développer et assurer ses fonctions physiologiques vitales (Calu, 2006). Cependant, cette ressource n'est pas toujours facile d'accès dans le sol, suivant le milieu naturel. Ainsi les plantes présentes sur des surfaces sèches ou salées vont se retrouver exposées à un stress hydrique important, contre lequel elles devront lutter pour survivre. Dans le cas d'un stress salin, une double problématique se pose à l'organisme végétal : d'un côté la présence du sel, en abaissant le potentiel hydrique du sol, menace l'approvisionnement en eau de la plante. De l'autre, l'absorption du sel dans les tissus menace le bon fonctionnement physiologique des cellules. Suivant la production de biomasse des végétaux en présence de sel, quatre grandes tendances ont été discernées :

- **Les halophytes vraies** : dont la production de biomasse est stimulée par la présence de sels. Ces plantes présentent des adaptations poussées et sont naturellement favorisées par ces conditions : *Salicornia europaea*, *Suaeda maritima*...
- **Les halophytes facultatives**, montrant une légère augmentation de la biomasse à des teneurs faibles en sels : *Plantago maritima*, *Aster tripolium*... (Calu, 2006)
- **Les non-halophytes résistantes**, supportant de faible concentration de sel : *Hordeum sp.*... (Calu, 2006).
- **Les glycophytes**, sensibles à la présence de sel: *Phaseolus vulgaris*, *glycine max.*...La réduction dans le taux de la chlorophylle observé avec l'intensité du stress salin pourrait être attribuée aux conditions dans lesquelles se trouvent les stomates car durant le stress salin, la concentration du CO<sub>2</sub> diminue dans le chloroplaste à cause de la réduction dans la conductance stomatique. (Gama et al., 2007).

### 2.3. Effet de la salinité sur la plante

La salinité est l'un des facteurs limitant pour la croissance des plantes. Les effets de la salinité sont surtout l'arrêt de la croissance, le dépérissement des tissus sous forme de nécroses marginales, suivi par une perte de turgescence, par une chute des feuilles et finalement par la mort de la plante (Zid, 1982).

La salinité provoque le plus souvent un retard dans le développement (Gill, 1979 ; Elmekkaoui, 1990 et Boukachabia, 1993), particulièrement la hauteur, le diamètre des tiges des différentes espèces, ainsi que la grosseur des fruits qui diminue d'une façon importante avec l'augmentation de la salinité.

#### 2.3.1. Effet sur la germination

La germination est régulée par des caractéristiques génotypiques mais aussi par les conditions environnementales et en particulier par la disponibilité de l'eau dans le sol et la présence de sel (Guterman, 1993). Ainsi, la germination des graines est le stade le plus sensible aux stress salin et hydrique (Boulghalagh et al, 2006). On peut considérer que la plupart des plantes sont plus sensibles à la salinité durant leurs phases de germination et de levée (Maillard, 2001). Parmi les causes de l'inhibition de la germination en présence du sel, la variation de l'équilibre hormonal a été évoquée (Debez et al, 2001). Plusieurs auteurs ont montré un retard de la germination causé par la salinité chez plusieurs espèces même chez des plantes halophytes (Debez et al., 2001; Bajji et al., 2002; Belkhoja et Bidai, 2004; et Rahmoune et al., 2008).

Des travaux effectués sur des halophytes ont montré que l'effet inhibiteur du *Na Cl* sur la germination serait essentiellement de nature osmotique, le sel empêchant l'imbibition de la graine (Katembe et al., 1998 in Debez et al., 2001).

La germination des plantes, qu'elles soient halophytes ou glycophytes, est affectée par la salinité. Selon l'espèce, l'effet dépressif peut être de nature osmotique ou toxique :

❖ *Les effets osmotiques* se traduisent par inaptitude des graines à absorber des quantités suffisantes en eau pour les ramener à leur seuil critique d'hydratation, nécessaire au déclenchement du processus de germination ;

❖ *Les effets toxiques* sont liés à une accumulation cellulaire de sels qui provoquent des perturbations des enzymes impliquées dans la physiologie des graines en germination, empêchent la levée de dormance des embryons et conduisent à une diminution de la capacité de germination (**Rejili et al., 2006**).

### 2.3.2. Effet du sel sur la croissance et le développement

Les effets de la salinité sur la croissance des plantes varient en fonction du type de salinité, de la concentration du sel, de l'espèce, de la variété, de l'organe de la plante, ainsi que de son stade végétatif (**Levigneron et al., 1995**).

Les effets de la salinité se manifestent principalement par une diminution de la croissance de l'appareil végétatif, caractérisé par la faible ramification, le faible diamètre des organes, le nombre réduit des nœuds et les réductions du nombre de feuilles et de la longueur de la tige et par conséquent l'augmentation du rapport racine/tige. Le stress salin résulte aussi dans la diminution de la biomasse sèche et fraîche des feuilles, tiges et racines (**Chartzoulakis et Klapaki, 2000**).

Il s'est avéré aussi que les feuilles sont les tissus les plus sensibles de la plante à une salinité excessive, par contre la croissance des racines s'en trouve faiblement affectée (**Benmahioul et al., 2009**). Ainsi, le chlorure de sodium inhibe la croissance des racines des glycophytes, qu'elles soient réputées très sensible à la salinité, moyennement sensible ou plutôt tolérantes (**Lemzeri, 2006**).

Une grande partie des pertes de croissance est aussi attribuée à l'accumulation ionique au niveau des feuilles. Cette accumulation est alors capable de gêner et de troubler l'activité enzymatique et les processus métaboliques ainsi que les microstructures des feuilles. D'une manière générale, la croissance des espèces végétales est ralentie lorsque la concentration saline du milieu externe dépasse 100 mM, et la salinité devient létale à partir de 300 mM (**Greenway et Munns, 1980**).

La salinité influe également sur la croissance et la qualité des fruits dont l'aspect fruits plus petits et nécrosés, et la qualité organoleptique sont modifiés (**Levigneron et al., 1995**).

La production totale des fruits de plusieurs espèces et le poids moyen des fruits diminuent linéairement avec l'augmentation de la salinité.

### **2.3.3. Effet de la salinité sur les pigments photosynthétiques**

L'activité photosynthétique peut être affectée par plusieurs stress dont la salinité, le stress hydrique, le stress métallique, une nutrition inadéquate...etc. (**Tabaeizadeh Z, 1998 ; Tripathi et Tripathi, 1999 ; Chugh et sawhney, 1999 ; Almeida viegas et al., 1999 ; Eliklil, 2002**).

Selon **Landis et Yu (1995)**, les dommages causés se manifestent par des chloroses au niveau des feuilles et des lésions nécrotiques, donc par dégradation des chlorophylles.

A l'échelle du chloroplaste, **Sudhir et Murthy (2004)** ont montré que ce sont les processus de carboxylation, et non la photophosphorylation, qui sont les plus affectés par le stress salin. Cependant, la réponse des plantes aux variations de salinité des milieux est fortement dépendante du génotype et /ou de l'importance de la contrainte saline (**Hawkins et Lewis 1993**) Ainsi, chez *Bruguiera parviflora*, le taux de photosynthèse augmente pour des faibles niveaux de salinité et décroît pour des teneurs élevées, sans modification sur la conductance stomatique (**Parida et al., 2004**).

Les ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  en excès induisent une altération de la machinerie photosynthétique (**Munns et al., 2006**). La teneur en chlorophylle décroît également chez les plantes soumises au stress salin (**Maxwell et Johnson 2000 ; Chutipaijit et al., 2011**). Ainsi, chez *Oryza sativa* des concentrations de 200 mM de NaCl induisent une diminution de la Chlb et dans une moindre mesure de la Chla (**Amirjani, 2011**).

La photosynthèse étant réduite chez les plantes cultivées en milieu salin. **Munns (1993)** a tout d'abord pensé que cet effet dépressif serait à l'origine de la diminution de la croissance. Toutefois, comme cette croissance diminue plutôt que la photosynthèse et, à long terme, elle décline davantage que cette dernière ; il a alors considéré que l'accumulation de carbone par les plantes serait affectée par la salinité à cause d'une réduction de l'indice foliaire plutôt que du taux de la photosynthèse.

Le sel peut également provoquer la modification de la densité des stomates, du nombre et du diamètre des vaisseaux du xylème chez les halophytes, ou accélérer le cycle biologique avec changement de la voie métabolique de fixation du carbone (**Levigneron et al., 1995**).

#### **2.3.4. Effet de la salinité sur les enzymes antioxydantes**

En cas de stress biotique ou abiotique, on observe chez les plantes une production rapide et massive d'espèces réactives de l'oxygène. De nombreuses études ont été menées, notamment chez les plantes, afin de préciser quels facteurs entraînent ce phénomène.

De nombreuses conditions environnementales ont ainsi été définies : la sécheresse, les stress thermiques (hautes et basses températures), l'exposition aux métaux lourds, aux ultraviolets, aux polluants aériens tels que l'ozone et le SO<sub>2</sub>, les stress mécaniques, les carences en nutriments, les attaques de pathogènes, la salinité et les fortes expositions à la lumière (**Ben Naceur et al., 2005**).

Le stress salin cause un déficit hydrique comme conséquence à l'effet osmotique sur les activités métaboliques des plantes. Ce déficit hydrique cause un stress oxydatif à cause de la formation des espèces réactives de l'oxygène comme les superoxydes, les radicaux hydroxyles et peroxydes.

Les espèces réactives de l'oxygène, qui sont le produit des stress hyperosmotique et ionique, causent des dysfonctionnements dans la membrane et la mort cellulaire (**Bohnert et Jensen, 1996**). Les plantes se défendent contre ces espèces réactives de l'oxygène par la biosynthèse de composés antioxydants tels que les composés phénoliques et l'induction de l'activité de certaines enzymes antioxydantes comme la catalase, la peroxydase, la glutathion réductase et la superoxyde dismutase, qui éliminent les espèces réactives de l'oxygène.

## **2.4. Mécanismes de résistance à la salinité**

Une plante cultivée sur sol riche en sel doit faire face à sa pénétration dans ses tissus celui là est rejeté ou accumulé par les différents organes, tissus, cellules et compartiments cellulaires. Les ions chlorure ( $Cl^-$ ) et sodium ( $Na^+$ ) pénètrent via les racines, transportés par la sève xylémique jusqu'aux tiges et feuilles. Là ils se trouvent soit stockés (plantes de type incluser), les feuilles sont riche en ( $Na^+$ ) que les tiges et les racines et le mécanisme de tolérance au sel est dû à la compartimentation des ions toxiques en particulier l'ion sodium dans la vacuole; soit au contraire ils sont très peu retenus dans leurs feuilles (plantes de type excluser) et cette accumulation décroît selon la séquence racines-tiges feuilles et ces ions sont alors revéhiculés par la sève phloémique jusqu'aux racines (Levigneon et al., 1995).

### **2.4.1. Inclusion et compartimentation des ions**

La compartimentation des ions entre les organes (racines/parties aériennes), les tissus (épiderme/mésophile), ou encore entre les compartiments cellulaires (vacuole/cytoplasme) est l'un des mécanismes d'adaptation à la contrainte saline (Ouerghi et al., 1998). L'inclusion et la compartimentation est la stratégie la plus efficace pour éviter la toxicité de  $Na^+$  sur des sites métaboliques dans le cytoplasme (Jebnoue, 2008).

La plante utilise en effet le sel pour ajuster la pression osmotique de ses cellules. Elle capte le sel qui parvient aux feuilles, au même titre que l'eau, par le mouvement ascendant de la sève dans les vaisseaux. A l'intérieur des cellules, le sel est alors stocké dans les vacuoles grâce à des systèmes de "pompes" moléculaires. Les vacuoles étant des compartiments fermés au sein de la cellule, le sel est ainsi isolé des constituants cellulaires vitaux (Sentenac et Berthomieu, 2003). Aussi, la vacuole se chargerait en sodium grâce à l'action d'un antiport sodium-proton  $Na^+/H^+$ , lequel serait entretenu par le fonctionnement accéléré des pompes à proton  $Na^+/H^+$ . L'existence d'un système d'échange  $Na^+/H^+$  est largement signalé. Il est alors admis que c'est la performance de stocker le sel dans les parties aériennes qui est déterminante dans le niveau de tolérance au sel des espèces.



### **2.4.2. Exclusion**

La plante empêche le sel de remonter dans la sève jusqu'aux feuilles. La présence de l'endoderme dans les racines ainsi que le transport sélectif, leur permet d'absorber les ions nutritifs utiles et de ré-excréter les ions  $Na^+$  (**Genoux et al., 2000**).

Quelques halophytes peuvent empêcher l'absorption excessive du sel par son exclusion du sel au niveau des racines et de la partie inférieure de la tige. Dans ce cadre, la sortie de  $Na^+$  des vaisseaux du xylème en échange d'une entrée de  $K^+$  venant des cellules parenchymateuses du xylème et du parenchyme avoisinant, joue un rôle important dans la tige et les racines (**Luttge et al., 2002**).

### **2.4.3. Ajustement osmotique**

Face à l'augmentation des forces de rétention de l'eau dans un sol en cours de dessiccation, un ajustement osmotique peut se manifester, mais à des degrés variables, chez la plupart des végétaux. Les métabolites impliqués dans cet ajustement sont assez variés. Ces solutés ont des propriétés physiques et biologiques compatibles, même à forte concentration, avec les fonctions métaboliques (**Tahri et al., 1998**).

L'un des principaux caractères physiologiques de tolérance aux contraintes du milieu est l'ajustement osmotique. Celui-ci est réalisé grâce à une accumulation de composés osmorégulateurs conduisant à une réduction du potentiel osmotique permettant ainsi le maintien du potentiel de turgescence. L'accumulation de ces composés a été mise en évidence chez plusieurs espèces végétales soumises à la contrainte saline. Cette accumulation varie dans de larges proportions suivant l'espèce, le stade de développement et le niveau de la salinité.

## **2.5. La tolérance des plantes à la salinité**

### **2.5.1. Biosynthèse de solutés compatibles**

Pour adapter l'équilibre ionique dans la vacuole, le cytoplasme accumule des composés de petite masse moléculaire nommés solutés compatibles parce qu'ils n'interfèrent pas avec les réactions normales biochimiques (**Zhifang et Loescher, 2003**). Ces solutés compatibles comprennent principalement la proline (**Singh et al., 2000 in Parida et Das, 2005**), la glycine bêtaïne (**Wang et Nil, 2000**), les sucres (**Pilon-Smits et al., 1995**) et les polyols (**Bohnert et al., 1995**). Les polyols sont classifiés comme acycliques (mannitol) et cycliques (pinitol). Le mannitol, un sucre qui sert comme soluté soluble pour faire face au stress salin, est synthétisé via l'action du mannose-6-phosphate réductase (M6PR) chez le céleri (**Zhifang et Loescher, 2003**). Les polyols agissent en deux manières qui sont difficiles à séparer : ce sont l'ajustement osmotique et osmoprotection. Dans l'ajustement osmotique, ils agissent comme des osmolytes pour faciliter la rétention de l'eau dans le cytoplasme et permettant la séquestration du NaCl à la vacuole ou l'apoplaste.

Les osmolytes protègent la structure cellulaire en interagissant avec les membranes, complexes protéiques, ou enzymes. Ces composés ont des caractéristiques de liaisons d'hydrogène qui leurs permettent de protéger des macromolécules des effets néfastes de l'augmentation de la force ionique dans les milieux avoisinant (**Crowe et al., 1992**). Par une association étroite entre les protéines et les composants de la membrane, les polyols compensent la perte de l'eau pendant le stress (**Yancey et al., 1982**). Les hydrates de carbones comme les sucres (le glucose, le fructose, la saccharose et le fructane) et l'amidon s'accumulent sous le stress salin (**Parida et al., 2002**). Chez *Vicia faba* la salinité cause la diminution des sucres solubles (**Gadallah, 1999**). Sous les conditions de salinité, le taux de l'amidon diminue dans les racine du riz mais ne change pas dans la partie aérienne (**Parida et al., 2002**). Dans les feuilles de la tomate, le taux des sucres solubles et des saccharides solubles augmente significativement mais le taux de l'amidon n'est pas affecté par le traitement du NaCl (**Khavarinejad and Mostafi, 1998**).

La proline s'accumule dans les feuilles, les tiges et les racines de *Pringlea antiscorbutica* et cet osmolyte s'accumule 2 à 3 fois plus dans le cytoplasme que dans la vacuole (**Aubert et al., 1999**).

### **2.5.2. Induction des enzymes antioxydantes**

Le stress salin est complexe et implique un déficit hydrique à cause des effets osmotiques sur une large variété d'activités métaboliques (**Cheeseman, 1988**). Ce déficit hydrique conduit à la formation des espèces réactives d'oxygène (ROS) comme le superoxyde, le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), le radical hydroxyl (OH) et l'oxygène singulet (O<sub>2</sub>) (**Elstner, 1987**). Les espèces d'oxygènes cytotoxiques activées peuvent perturber sérieusement le métabolisme à travers un dommage oxydatif des lipides, des protéines ou des acides nucléiques (**Imlay et Linn, 1988**). Les plantes se défendent contre ces espèces réactives de l'oxygène avec l'induction des activités de certaines enzymes antioxydantes comme la catalase, peroxydase, glutathion réductase et la superoxyde dismutase ce qui élimine les ROS.

### **2.5.3. Protection contre le stress salin par les composés phénoliques**

La salinité est parmi les facteurs abiotiques conduisant à une biosynthèse accélérée des composés phénoliques. En effet, il est probable que les composés phénoliques jouent un rôle physiologique très important dans la tolérance à la salinité, et particulièrement contre les effets oxydatifs. Dans ce contexte, les travaux conduits par **Ksouri et al. (2007)** ont montré que les teneurs en composés phénoliques ainsi que les capacités antioxydantes de *Cakile maritima*, halophyte oléagineuse, cultivée en conditions contrôlées, varient considérablement en fonction des doses de sel appliquées. Ces auteurs ont montré que la tolérance à la salinité est plus importante chez l'écotype qui accumule le plus de composés phénoliques. De même, les travaux de **Navarro et al. (2006)** sur le poivron ont montré que l'irrigation des plantes mûres par une eau modérément salée augmente le contenu des fruits en polyphénols totaux. Pareillement, ces résultats sont confirmés dans les travaux de **Parida et al. (2004)** sur les feuilles d'*Aegiceras corniculatum*.

Ils ont prouvé que la culture d'*Aegiceras corniculatum* pendant 30 jours dans un milieu hydroponique contenant 250 mM de NaCl est capable de doubler le contenu phénolique des feuilles (de 2.4 pour 0 mM NaCl à 4.6 mg.g<sup>-1</sup> MF pour 250 mM NaCl). Cet enrichissement en polyphénols totaux est un mécanisme d'acclimatation des plantes à la salinité car les composés phénoliques améliorent les effets de NaCl dans les tissus (**Parida et al., 2004**).

### 3. COMPOSES PHENOLIQUE = METABOLITE SECONDAIRE

#### 3.1 .Définition

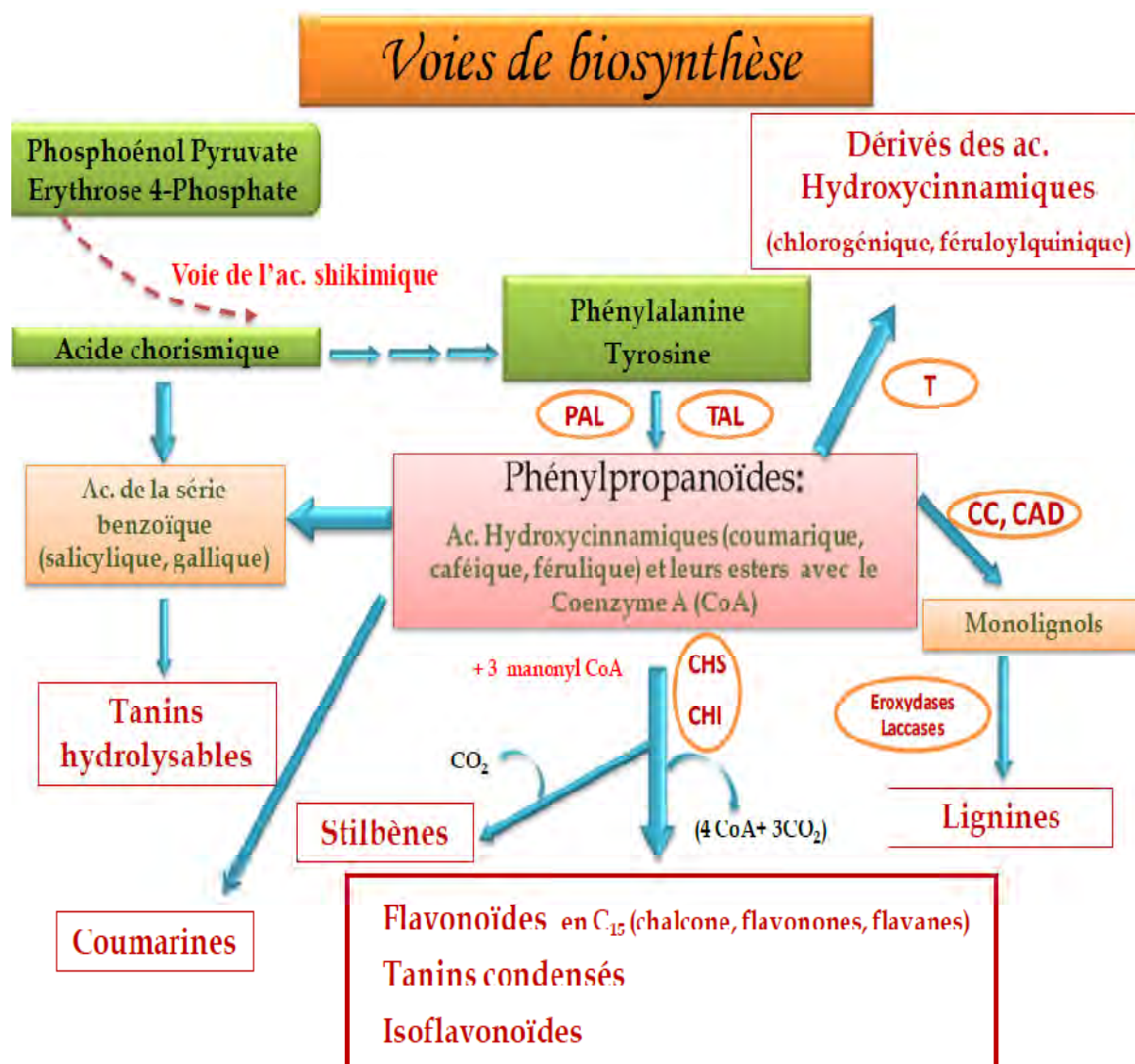
Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires possédant un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (**Ignat et al., 2011**). Ces composés sont synthétisés par les plantes aussi bien au cours du développement normal que dans les conditions de stress. Les preuves de leur présence dans les végétaux sont nombreuses (couleur des fleurs et des fruits et rougissement des feuilles à l'automne), mais le brunissement d'une plante blessée est sûrement l'un des signes les plus visibles de l'intervention des polyphénols dans sa protection (**Macheix et al., 2005**).

Chez la plante ils sont impliqués dans le développement, la reproduction, la croissance cellulaire, la différenciation, l'organogenèse, la floraison et la lignification (**Balasundram et al., 2006**). En outre, la teneur des végétaux en composés phénoliques est très variable en fonction de nombreux paramètres génétiques, physiologiques et environnementaux (**Faller et Fialho, 2010**).

#### 3.2. Biosynthèse des composés phénolique

Les polyphénols se forment selon la voie des phénylpropanoïdes à partir de deux acides aminés dérivant de la voie de l'acide shikimique: la phénylalanine et la tyrosine (**Figure.2**). La désamination de la phénylalanine par la phénylalanine ammonialyase (PAL) conduit à la formation de l'acide *trans*-cinnamique. La formation des dérivés des acides hydroxycinnamiques nécessite leur activation préalable sous forme d'esters avec le coenzyme A catalysée par des hydroxycinnamoyl-CoA ligases. Parmi les dérivés les plus rencontrés, on peut citer l'acide cafféoylquinique ou acide chlorogénique issue de l'estérification avec l'acide quinique. Toutefois, les esters glucosés des acides hydroxycinnamiques (*p*-coumaroylglucose) se forment directement à partir des acides libres (**Macheix et al., 2005**). Les acides hydroxybenzoïques peuvent être synthétisés selon deux voies : ils peuvent dériver directement de la voie des shikimates à partir de l'acide déhydroshikimique sans passage par la phénylalanine ; c'est la principale route de l'acide gallique par exemple.

Ou encore, ils peuvent provenir de la dégradation de la chaîne latérale des acides hydroxycinnamiques d'une manière similaire à la  $\beta$ -oxydation des acides gras. Dans ce cas, les intermédiaires sont des esters des acides hydroxycinnamiques avec le coenzyme A (Macheix et al., 2005). En outre, les hydroxybenzoates peuvent provenir occasionnellement de la dégradation des flavonoïdes.



**Figure.2.** Principales étapes de la voie de biosynthèse des acides phénoliques. (Macheix et al., 2005).

(PAL: phénylalanine ammonialyase; TAL: tyrosine ammoniolyase; CC: cinnamte CoA réductase; CAD: cinnamyl alcool désyhydrogénase; CHS: chalcone synthase; CHI: chalcone flavonone isomérase; T: transférases).

### 3.3. Classification et structure chimique

Les polyphénols peuvent être classés de différentes manières selon la complexité du squelette de base (allant d'un simple composé en C6 à des formes hautement polymérisées) ensuite par le degré d'hydroxylation, d'oxydation et de méthylation, enfin par les liaisons de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides ou protéines) (**Macheix et al., 2005**). Les formes les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple acide phénolique en C6-C1 ou C6-C3 aux flavonoïdes en C15 et à des molécules condensées comme les tanins (C15) n (**Tarascou et al., 2010**). De ce fait, trois grandes classes sont distinguées et suscitent un intérêt particulier grâce à leurs propriétés fort intéressantes dans les domaines agro-alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques, à savoir les acides phénoliques, les flavonoïdes, et les tanins condensés (**Ignat et al., 2011**).

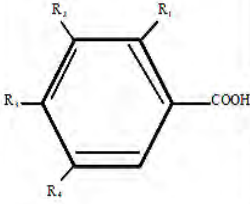
#### 3.3.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques constituent la classe majeure des composés phénoliques se trouvant surtout dans les aliments d'origine végétale. Ce sont des composés non flavonoïdes (ne possédant pas de squelette flavone) et ils ont une origine commune qui est l'acide aminé aromatique, la phénylalanine. Cet acide aminé est produit à partir du produit final de la voie des shikimates : le chorismate (**Robbins, 2003**). On distingue deux sous-classes des acides phénoliques :

##### □ Les acides hydroxybenzoïques

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C6-C1 (**Tableau. 1**). Ils sont particulièrement bien représentés chez les Gymnospermes et les Angiospermes. Ils existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides et peuvent également être intégrés dans les structures complexes comme certains tannins, ils incluent les acides gallique, *p*-hydroxybenzoïque, protocatéchuique, vanillique et syringique (**Balasundram et al., 2006**).

**Tableau.1.** Structure des principaux acides hydroxybenzoïques.

Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatéchique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicyclique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

Source : Sarni-Manchado et Cheyner, 2006



#### □ Acides hydroxycinnamiques

La structure fondamentale des acides hydroxycinnamiques est de type C6-C3, dérivés des acides cinnamiques (Ignat *et al.*, 2011). Les molécules de base de la série des acides hydroxycinnamiques sont l'acide *p*-coumarique et ses isomères (les acide *o*- et *m*-coumariques), l'acide caféique, l'acide férulique et son dérivé 5-hydroxylé, et l'acide sinapique (Tableau.2). Ces acides sont rarement présents à l'état libre et sont en général combinés à d'autres molécules organiques (Macheix *et al.*, 2006).

Un groupe de composés dérivés des acides hydroxycinnamiques sont les stilbènes comme le resvératrol qui apparaît chez la vigne en réponse à des attaques parasitaires (Macheix *et al.*, 2005).



**Tableau .2** . Structure des principaux acides hydroxycinnamiques.

Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
$R_1$ 	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide <i>p</i> -coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
$R_2$ $R_3$ 	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

Sarni-Manchado et Cheyner, 2006

### 3.3.2. Flavonoïdes

#### 3.3.2.1. Définition

Le nom flavonoïde a été plutôt prêté du flavus; (flavus=jaune) (Malesev et Kuntić, 2007). Les flavonoïdes représentent la majorité des composés phénoliques qui sont caractérisés par leur faible poids moléculaire. En effet, plus de 4000 flavonoïdes sont identifiés et peuvent être distribués dans tous les organes de la plante.

#### 3.3.2.2. Biosynthèse

La biosynthèse de flavonoïdes se fait à partir d'un précurseur commun, qui est la phénylalanine (Figure.3). Le cycle A est parvenu par la voie de l'acétate/malonate, alors que le cycle B et C proviennent de la phénylalanine par la voie des shikimates (Ignat et al., 2011).

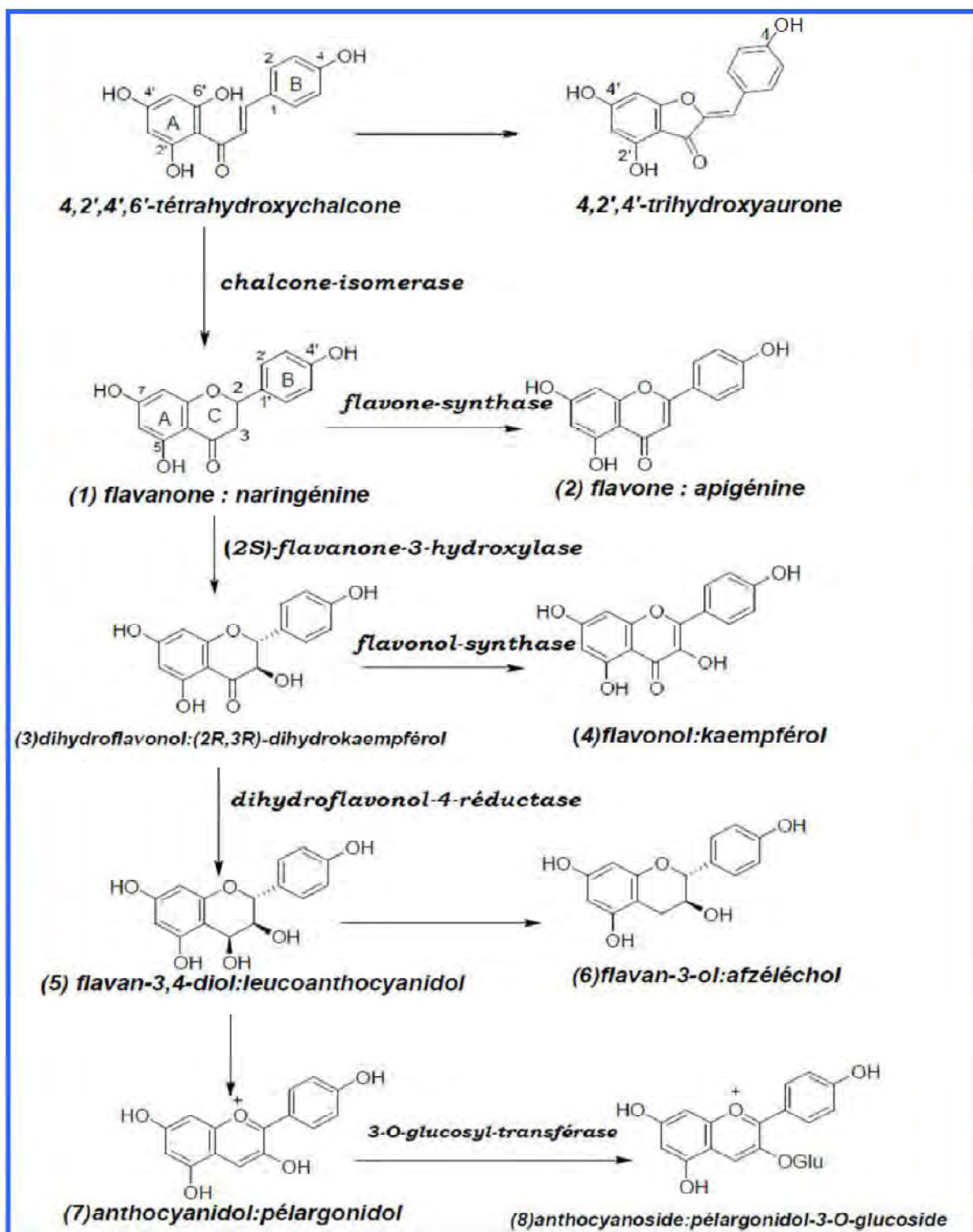


Figure .3. La biosynthèse des flavonoïdes

### 3.3.2.3. Classification et structure

La structure des flavonoïdes se compose de deux cycles aromatiques A et B qui se rejoignent avec un pont de 3 carbones formant un hétérocycle oxygéné (cycle C) (Buer et al., 2010) (Figure.4). Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6 (Emerenciano et al., 2007) en formant une structure de type diphenyle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (Malešev et Kuntić, 2007).

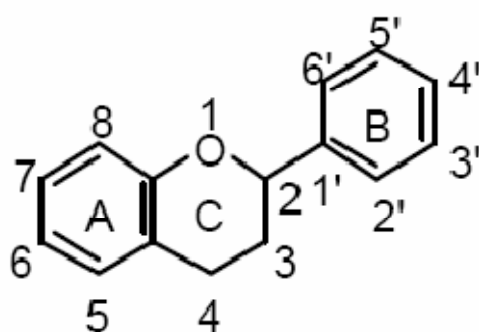
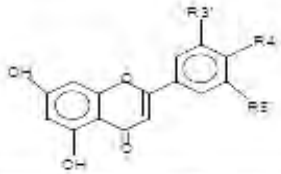
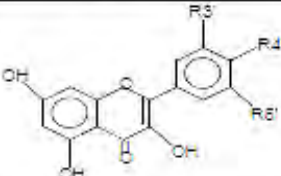
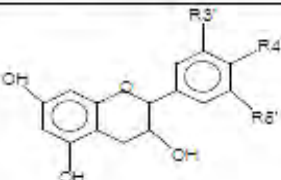
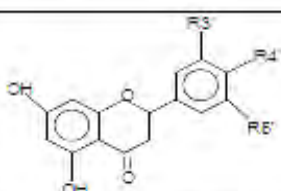
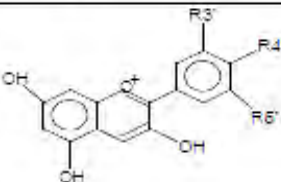
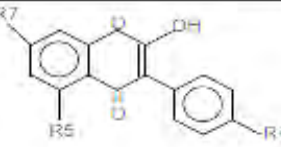


Figure.4. Squelette de base des flavonoïdes.

Les variations dans les modes de substitution de l'anneau C entraînent les principales classes de flavonoïdes, alors que les substitutions d'anneaux A et B donnent lieu à différents composés dans chaque classe de flavonoïdes. Ces substitutions peuvent inclure l'oxygénation, l'alkylation et la glycosylation (Balasundram et al., 2006). La structure de l'hétérocycle central et son degré d'oxydation permettent de distinguer les différentes classes de flavonoïdes. Le cas extrême d'oxydation de l'hétérocycle correspond aux anthocyanidines, toujours présentes en milieu acide sous forme d'un cation de couleur rouge, dite "flavylium". Au contraire, dans le cas des flavanes, le cycle central est fortement réduit (Macheix et al., 2005).

les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les flavan-3-ols, les flavan-3,4-diols et les anthocyanes (Buer et al., 2010).

Tableau.3.Structures des principaux sous-groupes des flavonoïdes

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daïdezine

Source : Buer et al., 2010.

### 3.3.3. Les formes condensées

#### 3.3.3.1. Les tanins

##### 3.3.3.1.1. Définitions

Les tanins tiennent leur appellation de leur effet tanneur, c'est-à-dire à la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible : le cuir. Ils caractérisent les végétaux supérieurs, ils sont en effet absents chez les plantes inférieures tels que les algues.

Ce sont des molécules complexes avec une masse molaire élevée allant jusqu'à 20000 Daltons (**Khanbabaee et Ree, 2001**). Ils peuvent précipiter les alcaloïdes et les protéines. Les tanins ont un goût astringent car ils précipitent les glycoprotéines riches en proline que contient la salive, faisant perdre à celle-ci son pouvoir lubrifiant. Cette propriété est un moyen de défense de la plante contre les agressions des herbivores (**Khanbabaee et Ree, 2001**).

##### 3.3.3.1.2. Biosynthèse des tanins

Les gallotanins et les ellagitanins sont les produits ultimes du métabolisme de l'acide gallique et dérivent de la galloylation d'un D-glucopyranose. Le composé commun à ces deux types de tanins est le  $\beta$ -PGG, ou  $\beta$ -penta-galloylglucose, dont le processus enzymatique de formation est maintenant bien connu. Les gallotanins résulteraient de l'addition supplémentaire de groupes galloyls sur les groupements galloyls présents sur la molécule de  $\beta$ -PGG. Ainsi, en fonction du nombre d'attaches, de leur positionnement et de la longueur des chaînes de galloyls, on retrouve l'ensemble des gallotanins (**Fogliani, 2002**). En ce qui concerne les ellagitanins, la formation de l'HHDP s'effectue par établissement d'une liaison C-C intramoléculaire, entre deux résidus galloyls fixés sur la molécule de  $\beta$ -PGG. Ils supposent que ce couplage existe naturellement *in vivo* entre deux molécules de galloyls et conduit à la formation du 6,6'-dicarbonyl-2,2',3,3',4,4'-hexahydroxybiphenyl plus communément désigné sous le nom de hexahydroxydiphenoyl (HHDP).

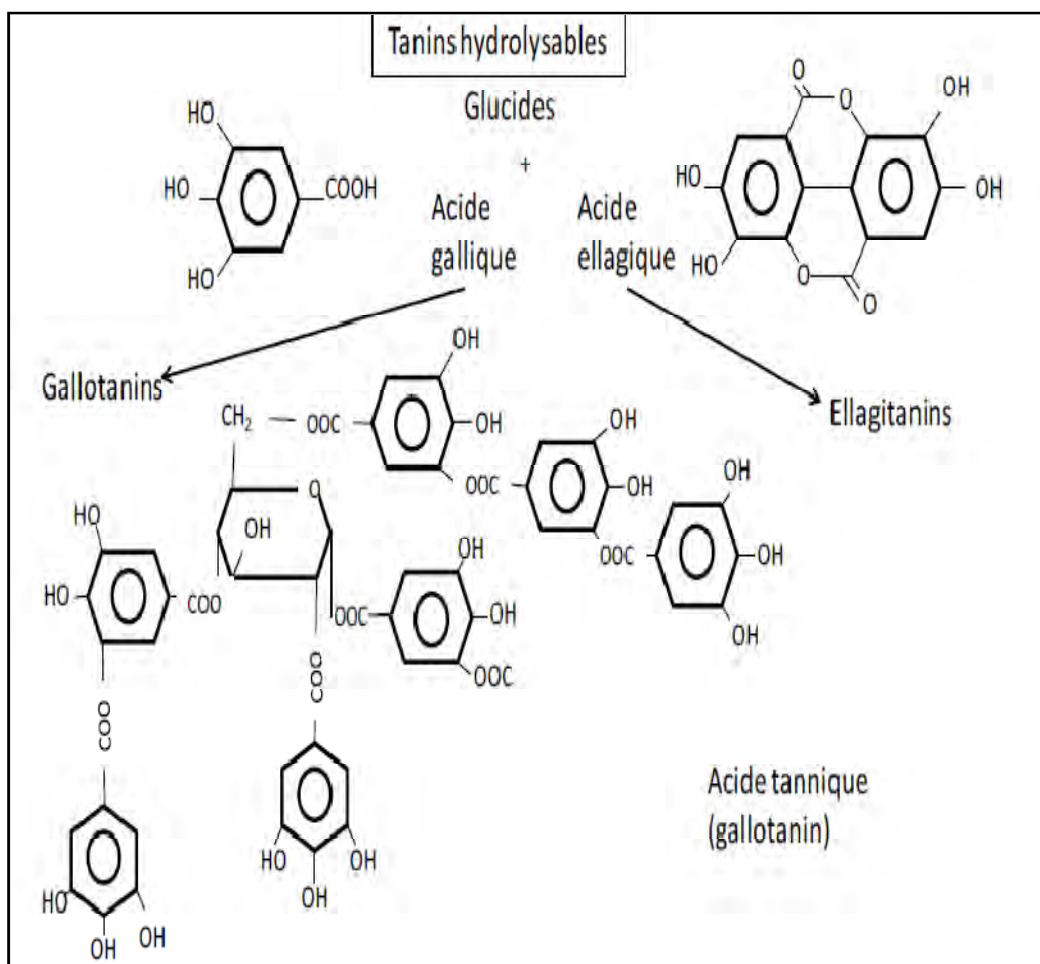
La libération par hydrolyse des groupes esters HHDP conduit à leur conversion facile et irréversible en acide ellagique, à l'origine de la dénomination de ce groupe de produits naturels, les tanins ellagiques (**Fogliani, 2002**).

### 3.3.3.1.3. Structure chimique et classification

Les tanins peuvent être classés en plusieurs groupes:

#### □ Les tanins hydrolysables

Qui sont des esters d'acides phénoliques et de polyols généralement le glucose. Les acides phénoliques sont soit l'acide gallique (cas des tanins galliques) ou l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation (cas des tanins ellagiques).

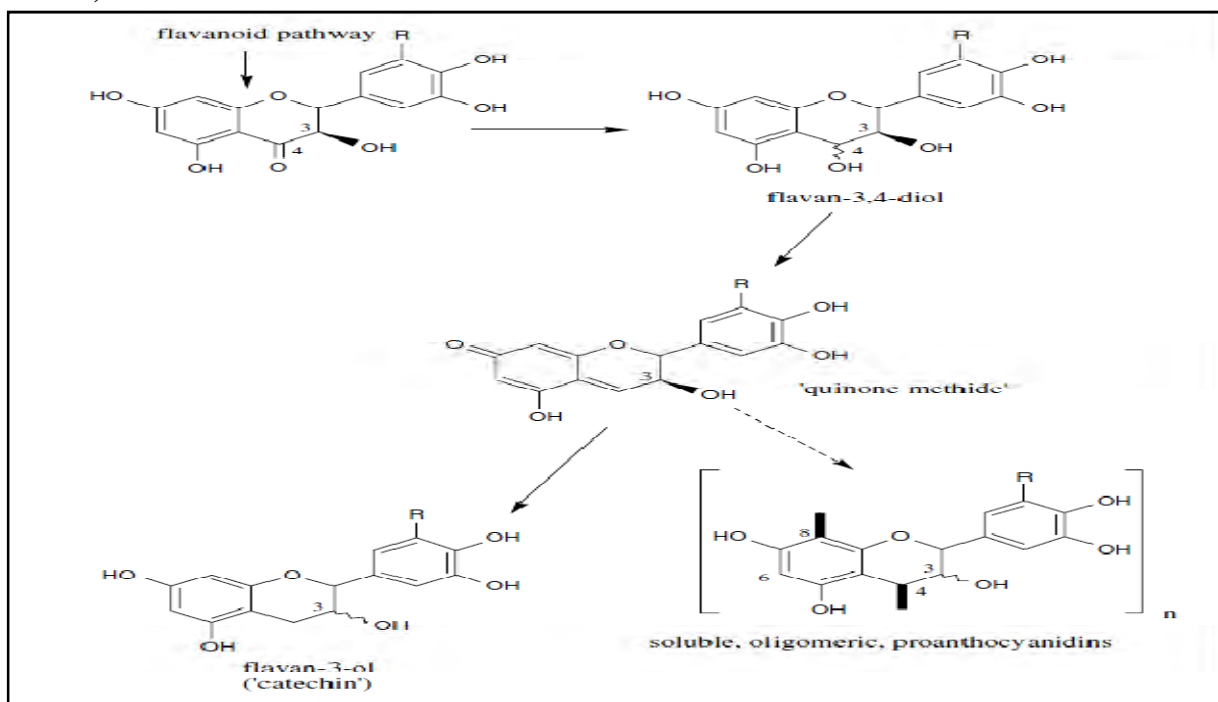


**Figure.5.** Schéma générale des tanins hydrolysables

Les tanins ellagiques représentent la forme la plus fréquente des tanins et l'on dénombre plus de 500 structures. Comme leur nom l'indique, les tanins hydrolysables peuvent être dégradés par hydrolyse acide, alcaline ou enzymatique. Le penta-ester (1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- $\beta$ -D-glucose) issu de la glycosylation de l'acide gallique occupe une position centrale dans le métabolisme des tanins. En effet, l'addition de chaînes latérales constituées d'acides galliques fournit les tanins galliques. Le HHDP est obtenu par couplage oxydatif des résidus galloyles du pentagalloylglucose.

#### □ Les tanins condensés ou proanthocyanidines

Qui sont des polymères flavaniques. Ils sont constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone le plus souvent C4-C6 ou C4-C8 (**Figure .6**). Ils ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide, à chaud, par rupture de la liaison intermonomérique (**Chenyier et al., 2006**). La taille des molécules des proanthocyanidines peut être décrite par le degré de polymérisation (DP) (**Guyot et al., 2002**).



**Figure.6.** Schéma général de la biosynthèse des proanthocyanidines

(Haslam, 2007).



En considérant leurs diverses hydroxylations (au niveau des noyaux A et/ou B), les tanins condensés sont répartis en différentes sous classes (**Tableau.4**) comprenant les propelargonidines, les procyanidines et les prodelphinines (**Sun et Spranger, 2005 ; Castañeda-Ovando et al., 2009**).

**Tableau.4.** Hydroxylation et principales classes des tanins condensés.

Classe	Hydroxylation
Propelargonidine	3, 4', 5, 7
Procyanidine	3, 3', 4', 5, 7
Prodelphinidine	3,3', 4', 5, 5', 7
Proguibourtinidine	3, 4', 7
Profisetinidine	3, 3', 4', 7
Prorobinrtinidine	3, 3', 3', 5', 7
Proteracidine	3, 4', 7, 8
Promelacacidine	3, 3', 4', 7, 8
Proapigeninidine	4', 5, 7
Prolteolinidine	3', 4', 5, 7

Les deux groupes majeurs de proanthocyanidines sont les procyanidines et les prodelphinidines (**Castañeda-Ovando et al., 2009**). Les procyanidines sont des polymères de catéchine et d'épicatéchine, tandis que les prodelphinidines sont constituées de gallocatéchine et d'épigallocatéchine (**Souquet et al., 2000**). Outre leur degré d'hydroxylation, la structure des proanthocyanidols diffère selon les unités monomériques des constituants. D'autres critères, tels que le nombre d'unités qu'ils peuvent comporter, la nature des liaisons interflavaniques reliant ces dernières et la stéréochimie de l'ensemble complètent leur caractérisation.

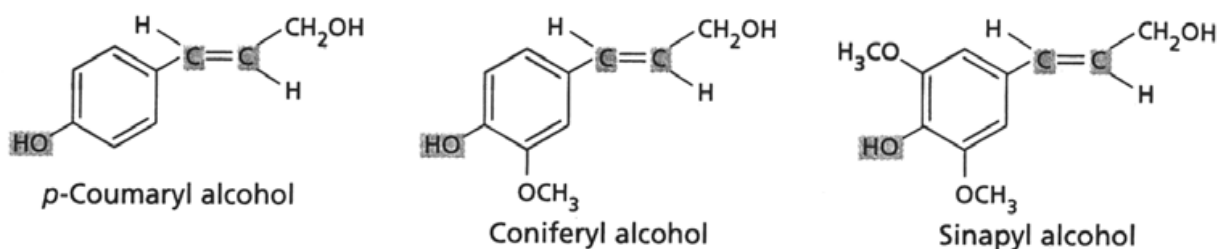


Dans la structure d'un tanin condensé, on distingue l'unité supérieure, les unités intermédiaires (ou unités constitutives) et l'unité inférieure. Les unités monomériques se répartissent indifféremment dans le polymère, aussi bien dans les unités supérieures qu'en position terminale (Souquet *et al.*, 2000).

### 3.3.3.2. Les lignines

Les lignines constituent 15 à 35% des bois des Angiospermes et des Gymnospermes. Il s'agit d'un constituant essentiel de la paroi des systèmes conducteurs de la sève brute et sont responsables de la rigidité des fibres végétales (Macheix *et al.*, 2005).

Les lignines sont les substances organiques les plus abondantes, après la cellulose. Elles ont un polymère ramifié de phénylpropanoïdes (Figure.7) (trois types principaux d'alcools, mais la composition est différente dans les différentes espèces).



**Figure.7.** Les principaux types d'alcools de phénylpropanoïdes

La structure de ces composés est fortement variable (Macheix *et al.*, 2005) en fonction :

- Des différents groupes végétaux (Angiospermes ou Gymnospermes),
- De la nature et de l'âge des tissus (sclérenchyme ou xylème),
- De l'action de certains facteurs externes ou endogènes (lumière, hormones végétales, etc.).

### **3.4. Rôle des composés phénoliques dans la physiologie de la plante**

Outre l'implication des composés phénoliques dans les interactions des plantes avec leur environnement, les fonctions physiologiques des polyphénols au sein des végétaux demeurent encore assez imprécises.

Cependant, l'implication de certains composés phénoliques dans différents domaines de la physiologie de la plante a été prouvé (**Ignat et al., 2011**). Ainsi, il est actuellement admis que l'acide salicylique, outre son implication dans la mise en place de signaux à la suite de l'attaque de la plante par des agents pathogènes, est aussi impliqué dans la régulation de la floraison, de la tubérisation et de la thermogenèse (**Ferrazzano et al., 2011 ; Macheix et al., 2006**). Aussi, les lignines de par la nature complexe de leurs structures, contribuent à la rigidification des parois cellulaires des vaisseaux du bois. Cela permet d'une part la conductance de la sève brute à l'intérieur de la plante et d'autre part la formation d'une structure rigide qui participe au port dressé des végétaux ligneux (**Macheix et al., 2006**). Par ailleurs, certaines hypothèses stipulent que les composés phénoliques interviennent dans les différents processus physiologiques.

#### **3.4.1. La germination**

Plusieurs composés phénoliques, notamment les acides caféique, férulique et chlorogénique, sont connus en tant qu'inhibiteurs chimiques pour leurs effets dépresseurs sur le développement embryonnaire (**Heller et al., 1995**). En effet, la capacité de ces molécules à s'oxyder facilement piège l'oxygène qui ne peut plus parvenir à l'embryon. D'ailleurs, l'acide caféique, comme la coumarine, est un inhibiteur de la germination. Ces substances constituent « les blastokolines » qui empêchent les pépins de germer tant que le péricarpe n'est pas dégradé par les bactéries de la putréfaction. Ils constituent aussi les substances téléttoxiques émises par les racines de certaines plantes et qui inhibent la germination des graines pouvant être tombées à leur voisinage (**Heller et al., 1995**).

### **3.4.2. Floraison.**

Grâce à une interférence positive avec les gibbérellines, les polyphénols sont capables d'inhiber la biosynthèse de l'éthylène et ils sont ainsi capables d'induire la floraison de plantes notamment celles placées en condition de dyspériode particulièrement chez les lamiacées (**Heller et al., 1995**). Par ailleurs, chez les Aracées, l'acide salicylique est responsable du phénomène de la thermogénèse qui se manifeste au cours de la floraison. Lors de ce phénomène, les fleurs mâles à la base de l'inflorescence produisent jusqu'à 100 fois plus d'acide salicylique (**Heller et al., 1995**).

### **3.4.3. Maturation des fruits.**

Certains composés phénoliques, notamment les anthocyanes, sont des marqueurs de maturation particulièrement chez les fruits charnus. Ainsi, le stade mûr de ces fruits est caractérisé par un profil polyphénolique où dominant les anthocyanes et où l'astringence due aux tanins diminue progressivement. Ceci correspond à une diminution, voire même une disparition de la chlorophylle et une apparition des pigments phénoliques synthétisés dans les chloroplastes ou dans des plastes spécialisés, les chromoplastes (**Heller et al., 1995**). Ce phénomène se retrouve aussi dans les autres organes où elles sont quelques fois accompagnés, lorsqu'une déshydratation progressive des tissus intervient (cas des fruits secs et des graines), par une insolubilisation des composés phénoliques et par des liaisons quasi-irréversibles avec les structures des parois cellulaires (**Macheix et al., 2006**).

### **3.4.4. Rhizogénèse.**

Grâce à une synergie avec l'auxine, il semblerait que les acides phénoliques, en particulier les acides chlorogénique et caféique jouent un rôle important dans la différenciation des cellules impliquées dans le phénomène de rhizogénèse (**Heller et al., 1995**). En plus, le déficit des flavonoïdes chez des mutants de *Pétunia* entraîne la réduction de la production et de la longueur des poils absorbants par comparaison aux plantes non mutantes, ce qui suggère que les flavonoïdes jouent un rôle dans la croissance polaire (**Taylor et Grotewold, 2005**).

### 3.4.5. Nutrition minérale.

La libération de composés réducteurs par les racines notamment les composés phénoliques tel que l'acide caféique ou l'acide aliphatique est une réponse à la carence en fer des plantes (Jelali et al., 2010). En effet, l'excrétion de ces composés solubles constitue le mécanisme le plus important qui affecte la dynamique du fer dans la rhizosphère. D'ailleurs, ces agents chélateurs corrigent généralement le déficit en fer, et rendent cet élément plus disponible et plus assimilable par les végétaux et jouent, par conséquent, un rôle important dans l'approvisionnement des plantes en ce nutriment (Jelali et al., 2010). Egalement, Tomasi et al., (2006) ont montré que dans des conditions de déficience en Phosphore (Pi), les racines de *Lupinus albus* L. libèrent de grandes quantités de flavonoïdes, principalement la génistéine et les dérivés d'hydroxygénistéines. Ces flavonoïdes sont sécrétés pour aider la plante à faire face à la carence en Pi, directement par la solubilisation de cet élément et indirectement par l'inhibition de la minéralisation du citrate et la réduction de l'acquisition enzymatique du phosphore par les microorganismes de la rhizosphère (Tomasi et al., 2008).

### 3.4.6. Régulation hormonale.

Certains composés phénoliques regroupés sous le nom de « phytotropines » interviennent dans la régulation du transport polarisé car ils entrent en compétition avec les transporteurs de flux d'auxine (hormone végétale impliquée dans les phénomènes d'élongation, de photo- et de gravi-tropisme et autre) (Macheix et al., 2006). D'ailleurs, un certain nombre d'expérimentations ont suggéré que des classes spécifiques de flavonoïdes peuvent agir comme inhibiteurs du transport d'auxine *in vitro* (Taylor et Grotewold, 2005). En effet, une gamme de composés flavonoïdiques ont été testés pour leur capacité à bloquer le transport de l'auxine synthétique, l'acide naphthylphthalamique (NPA) (Brown et al., 2001). La quercétine, le flavonoïde le plus actif dans cette étude, est un inhibiteur compétitif de la liaison de la NPA, ce qui suggère que les deux composés peuvent se lier à la même protéine (Taylor et Grotewold, 2005).

En outre, le transport d'auxine est altéré dans les jeunes plantules d'*Arabidopsis* qui ne produisent pas les flavonoïdes. De plus, les données *in vivo* démontrent que les changements de la concentration en flavonoïdes endogènes entraînent des changements dans le transport d'auxine ce qui renforce l'hypothèse que les flavonoïdes sont des régulateurs endogènes du transport de l'auxine (**Brown et al., 2001**).

### 3.5. Principales potentialités biologiques des métabolites secondaires

#### 3.5.1. Activités antiradicalaire et antioxydante

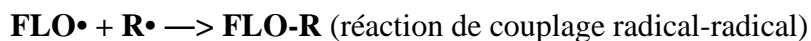
##### 3.5.1.1. Piégeage des radicaux libres.

Les composés phénoliques possèdent une structure chimique aromatique permettant une délocalisation électronique importante, donc une stabilisation de leurs formes radicalaires (**Ignat et al., 2011; Densiov et Afanas'ev, 2005**).

Les flavonoïdes sont capables de piéger les radicaux libres en formant des radicaux flavoxyles moins réactifs, cette capacité peut être expliquée par leur propriété de donation d'un atome d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle selon la réaction représentée ci-dessous :



Cette réaction de piégeage donne une molécule stable (RH) et un radical flavoxyyle (FLO•). Ce dernier va subir un changement de structure par résonance ; redistribution des électrons impaires sur le noyau aromatique pour donner des molécules de faible réactivité par rapport aux R•; en outre les radicaux flavoxyyles peuvent interagir entre eux pour former des composés non réactifs (**Amić et al, 2003**).



### **3.5.1.2. Chélation des ions métalliques**

Les ions métalliques sont nécessaires pour le fonctionnement des processus biochimiques et physiologiques cellulaires, mais dans certains cas et lorsque leur mécanisme d'action n'est pas bien contrôlé ces mêmes ions peuvent être à l'origine d'une peroxydation lipidique, un stress oxydatif, ou une blessure des tissus, à titre d'exemple  $\text{Cu}^{+2}$  est un stimulateur de la peroxydation des LDL (Tiqwari, 2001).

Grâce à leur structure chimique spécifique, Les polyphénols ont un pouvoir chélateur de ces ions métalliques (Falleh et al., 2009 ; Ksouri et al., 2009 ; Xia et al., 2010 ).

La chélation des ions métalliques nécessite trois sites principaux :

- \_ Site situé entre le groupe 3' OH et le groupe 4' OH du cycle B
- \_ Site situé entre le groupe 3OH et 4 C=O de l'hétérocycle C
- \_ Site situé entre le groupe 5OH du cycle A et le groupe 4C=O de l'hétérocycle C

### **3.5.2. Activités antimicrobiennes**

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques.

La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes, sous forme de métabolites secondaires dont les composés phénoliques, sont toujours utilisés dans l'industrie alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire.

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes.

Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiens, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

### 3.5.3. Activité anticancéreuse

Récemment de nombreuses études visent l'évaluation de l'effet cytotoxique des produits naturels, entre autres, les composés phénoliques qui inhibent efficacement la carcinogénèse (**Ferrazzano et al., 2011**).

Des études *in vitro* ont permis de montrer que les acides phénoliques tels que l'acide caféique, syringique, férulique diminuent la prolifération des cellules cancéreuses de la prostate (DU-145, PC3, LNCaP) et des seins (T47D, MCF7, MDA-MB-231) (**Kampa et al., 2007**). De plus, l'épicatéchine et l'épigallocatechine empêchent la croissance des cellules cancéreuses du pancréas (Mia Pa Ca-2), du poumon (H- 661 et H-1299), du colon (HCT-116), du cerveau (H-891) (**Kampa et al., 2007**). En outre, des travaux sur les stilbènes et les flavonols ont rapporté leur efficacité sur la prolifération des cellules cancéreuses du colon (**Ramos et al., 2004**), de la peau (**Yanez et al., 2004**), ainsi que la leucémie (**Gao et al., 2002**). La quercétine et la lutéoline inhibent la tyrosine kinase, en agissant sur la prolifération du carcinome épidermique A431 à travers une surexpression des récepteurs qui en sont responsables (**Huang et al., 1999**). Egalement, la quercétine bloque les récepteurs épidermiques (EGFR) responsables de l'activité de la tyrosine kinase (**Lee et al., 2002**). La curcumine inhibe la prolifération cellulaire de l'angiogenèse par blocage de la progression du cycle cellulaire et/ou par induction de la mort cellulaire programmée *in vivo* et *in vitro* (**Kunnumakkara et al., 2007**). L'action antitumorale de la quercétine pourrait aussi s'expliquer par une interaction de celle-ci avec le complexe calcium-calmoduline qui joue un rôle dans le mécanisme d'action de nombreux promoteurs de tumeurs (**Milane, 2004**). En outre, l'activité oestrogénique attribuée à un certain nombre de composés phénoliques (isoflavonoïdes, flavonoïdes, lignanes) jouant le rôle de phytoestrogènes est utilisée pour lutter contre des troubles associés à la ménopause, contre le développement des cancers du sein et de la prostate (**Macheix et al., 2005**).

### 3.6. Variabilité de la répartition des composés phénoliques dans la plante

Les teneurs et la qualité en composés phénoliques des végétaux sont fortement modifiées sous l'action, d'une part, des facteurs internes ou endogènes tels que les facteurs génétiques conduisant à des différences importantes entre les espèces et les variétés et les facteurs physiologiques en particulier l'âge des organes et leur stade de maturation et d'autre part, les facteurs externes ou exogènes qu'ils soient de nature biotiques ou abiotiques.

#### 3.6.1. Variabilité endogène ou interne

##### 3.6.1.1. Facteurs génétiques

Les facteurs génétiques sont parmi les principaux paramètres qui sont à l'origine des variations qualitatives et quantitatives du contenu phénolique souvent considérable d'une espèce à une autre. Dans ce cadre, **Ammar et al. (2012)** ont trouvé que les teneurs en composés phénoliques varient significativement entre les différentes espèces d'*Opuntia*. En effet, les extraits des fleurs d'*Opuntia stricta* (80 mg EAG g<sup>-1</sup> MS) sont plus riches en polyphénols totaux que ceux d'*Opuntia ficus-indica* (49 mg EAG g<sup>-1</sup> MS). Cette variabilité marquée entre les espèces du même genre peut être due à des facteurs d'ordre endogènes, notamment à l'information génétique.

##### 3.6.1.2. Facteurs physiologiques

Les teneurs en composés phénoliques des organes végétaux sont également variables en fonction du stade du développement physiologique. De ce fait, certains phénols sont alors de bons marqueurs du stade physiologique. Ainsi, sur le plan pratique, la couleur rouge des fraises ou des cerises est l'un des critères majeurs permettant de caractériser la maturité de ces fruits en vue de leur commercialisation. Dans ce contexte, les travaux de **Lisiewska et al., (2006)** ont montré que le contenu en polyphénols des feuilles d'*Anthum graveolens* diffère significativement selon le stade de développement de la plante. A une hauteur de 20 cm de la partie aérienne de cette espèce, les teneurs foliaires en polyphénols sont de l'ordre de 151 mg 100g<sup>-1</sup> MF, alors qu'à une hauteur de 60 cm, ces teneurs atteignent les 248 mg 100g<sup>-1</sup> MF.



### 3.6.2. Variabilité exogène ou externe

#### 3.6.2.1. Variabilité due aux facteurs abiotiques

##### 3.6.2.1.1. La salinité

La salinité induit un stress oxydatif conduisant à une biosynthèse accélérée des métabolites secondaires. En effet, la contrainte saline affecte les teneurs en composés phénoliques et ceci selon la sensibilité des plantes à la salinité. Dans ce contexte, les travaux conduits par **Ksouri et al., (2007)** portant sur *Cakile maritima* ont montré que les teneurs en composés phénoliques varient considérablement en fonction des concentrations de sel appliquées. Ces résultats montrent que les teneurs en polyphénols des plantes de la provenance Jerba traitées par 100 mM NaCl sont de l'ordre de 66,93 mg EAG g<sup>-1</sup> MS, alors que ceux des plantes témoins sont de l'ordre de 43 mg EAG g<sup>-1</sup> MS) sont plus riches en polyphénols totaux que ceux d'*Opuntia ficus-indica* (49 mg EAG g<sup>-1</sup> MS). Cette variabilité marquée entre les espèces du même genre peut être due à des facteurs d'ordre endogènes, notamment à l'information génétique.

##### 3.6.2.1.2. La température

Les composés phénoliques ne répondent pas de la même manière au stress thermique. En effet, les teneurs en polyphénols totaux des tomates collectées en été sont plus élevées que celles collectées au printemps (**Toor et al., 2006**). En outre, des études concernant l'effet de la température sur les teneurs en polyphénols chez *Hypericum brasiliense*, ont montré que les basses températures entraînent une élévation du contenu en phénols solubles totaux (**De Abreu et Mazzafera, 2005**).

#### 3.6.2.2. Variabilité due aux facteurs biotiques

La contamination du végétal par des microorganismes pathogènes (bactéries et champignons) entraîne une forte augmentation des teneurs en métabolites secondaires notamment les composés phénoliques correspondant à la mise en place de mécanismes de défense de la plante (**Pedras et al., 2005**).

En effet, les éliciteurs, molécules produites par les micro-organismes pathogènes, déclenchent chez la plante les gènes de défense conduisant à la mise en place de molécules antimicrobiennes constitutives dénommées phytoanticipines ou inductibles appelées phytoalexines, parmi lesquelles certains groupes de polyphénols sont bien représentés: coumarines, stilbènes et isoflavonoïdes (**Pedras et al., 2005**).

### **3.7. Extraction et caractérisation des composés phénoliques**

#### **3.7.1. Extraction**

L'extraction est l'étape primordiale pour l'isolation et l'identification des composés bioactifs (**Bucič-Kojič et al., 2007**). Elle est influencée par la nature chimique, la méthode d'extraction employée, l'échantillon, la taille des particules, ainsi que la présence de substances interférentes. En effet, les méthodes d'extraction les plus utilisées sont la macération, l'hydrolyse et la thiolysse acide ainsi que l'utilisation de l'appareil du soxhlet (**Ignat et al., 2011 ; Castañeda-Ovando et al., 2009**).

##### **3.7.1.1. Extraction liquide-liquide**

L'extraction liquide-liquide est une opération de transfert de masse dans laquelle une solution liquide contenant un ou plusieurs solutés est complètement mélangée avec un liquide non ou moyennement miscible (solvant). Les solvants présentent une affinité ou une sélectivité préférentielle vis-à-vis du composé en question. L'extraction devient un outil très utile si un solvant d'extraction approprié est choisi (**Müller et al., 2008**). Pour la séparation des composés phénoliques, l'extraction liquide-liquide est la plus utilisée (**Ignat et al., 2011**).

##### **3.7.1.2. Extraction solide-liquide (SPE)**

C'est un procédé de transport de masse qui consiste à faire passer à partir d'une matrice solide et par solubilisation, les substances dans un solvant. L'efficacité de l'extraction dépend des conditions dans lesquelles se produit ce processus.

En effet, plusieurs facteurs affectent la concentration des composés désirés dans les extraits tels que la nature et la concentration du solvant (**Hayouni et al., 2007**), la température (**Corrales et al., 2009**), le rapport solide-liquide (**Nagendra Prasad et al., 2011**), la pression (**Jun et al., 2011**), le temps d'extraction (**Erdogan et al., 2011**), la taille et le taux de ces composés (**Ignat et al., 2011**).

### **3.7.2. Méthodes de quantification et d'identification**

La quantification et l'identification des composés phénoliques demeurent complexes, en particulier la détermination simultanée des composés de différentes familles (**Tsao et Yang, 2003**).

#### **3.7.2.1. Méthodes spectrophotométriques**

Le développement des dosages spectrophotométriques UV reste lourd et difficile et dépend de la nature de la matière à analyser. Les deux techniques spectroscopiques UV et visible sont utilisées pour l'identification des composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes (**Naczk et Shahidi, 2006**). En effet, un dosage rapide des polyphénols totaux peut être obtenu par la méthode de Folin-Ciocalteu (**Macheix et al., 2005**). Cette méthode est très sensible mais malheureusement peu spécifique puisque beaucoup d'autres composés peuvent interférer en particulier l'acide ascorbique. Cependant par ce dosage, on peut avoir une estimation approximative et globale des teneurs en polyphénols totaux dans les extraits végétaux même si elle ne donne aucune indication sur la nature de ces composés phénoliques (**Macheix et al., 2005**).

#### **3.7.2.2. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)**

La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) est utilisée efficacement pour la séparation et la quantification individuelle des composés phénoliques. La CLHP en phase inverse est à la fois qualitative, quantitative et reproductible (**Naczk et Shahidi, 2006**). Elle est devenue un outil dominant analytique pour la séparation et la détermination des composés phénoliques avec différents systèmes de détection à savoir le système de détection d'iode (DAD) (**Sakakibara et al., 2003**).

L'utilisation de détecteurs à barrettes de diodes permet de lever certaines ambiguïtés sur la nature des composés étudiés (**Castañeda-Ovando et al., 2009**). Ce type de détecteur permet, en effet, de différencier les classes de composés phénoliques et de les caractériser par leurs spectres en UV-visibles, ce qui favorise l'étude des solutions riches en ces molécules (**Ignat et al., 2011**). Il est également devenu courant d'utiliser la CLHP couplée à la spectrométrie de masse qui permet d'apporter des informations complémentaires quant à la nature des composés étudiés (**Rijke et al., 2006 ; De Souza et al., 2008**).

## **1. ECHANTILLONNAGE**

Le matériel végétal utilisé pour cette étude provient de la région de Tindouf.

La collecte sur le terrain du matériel végétal s'est déroulée sur plusieurs saisons. Dans un premier temps, les feuilles et l'écorce de l'*Acacia albida* et l'*Acacia raddiana* ont été collectées en septembre 2013. Par la suite, une sortie effectuée en Mai 2014 a permis de collecter les fruits des deux espèces.

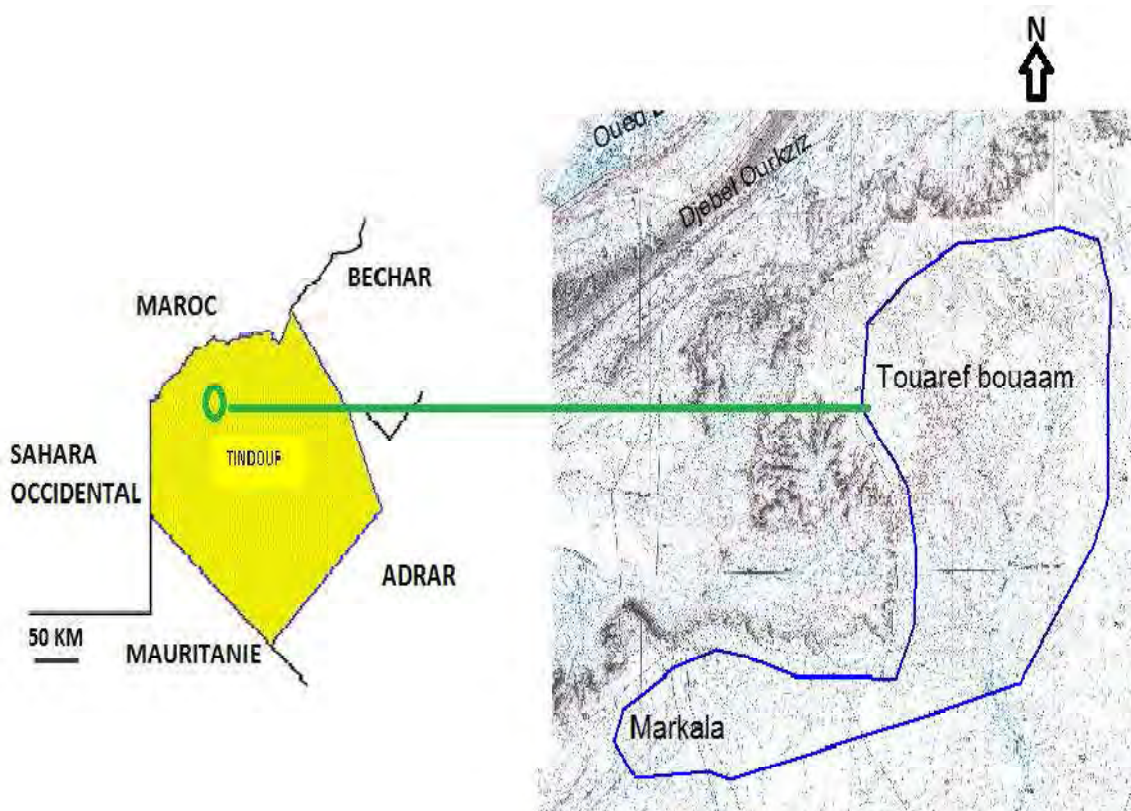
### **1.1. Présentation de la zone d'étude**

#### **1.1.1. Localisation géographique**

La zone d'étude est localisée au nord-ouest de la wilaya de Tindouf (sud-ouest algérien) sur une superficie de 296.000 ha entre 8°05'00" W et 8°40'00" W, 28°25'00" N et 28°45'00" N (**Figure.8**). Elle est limitée au nord par le Maroc, au nord-est par la wilaya de Béchar, à l'ouest par le territoire du Sahara occidental, à l'est par la wilaya d'Adrar et au sud par la Mauritanie.

Notre zone d'étude est caractérisée par un climat saharien à hiver frais, maritime sous l'effet des vents humides venant de l'océan atlantique. Ces conditions climatiques donnent à la région une grande originalité floristique (**Chevalier, 1943**).

Nous signalons que la quasi totalité de la végétation de la région de Tindouf se rencontre dans les lits d'Oueds et les dépressions car les terrains au Nord et à l'Ouest sont constitués de Reg et de Hamada.



**Figure.8.** Situation géographique de la wilaya de Tindouf et localisation de la zone d'étude

### 1.1.2. Relief ou contrastes physiques

Le bassin de Tindouf est limité au Sud par la dorsale Reguibat, au Nord par l'Anti-Atlas, à l'Est par la chaîne d'Ougarta et la dépression de Reggan et à l'Ouest par le bassin d'El Aïoun et la chaîne des Mauritanides. Ce bassin a une longueur de 800 km, dont 540 km en Algérie et d'une largeur de 200 à 250 km. Leur structuration est complètement différente : le flanc Sud est une structure monoclinale avec un très faible pendage vers le Nord (1 à 3° en moyenne) et le flanc Nord fortement redressé contre l'Anti-Atlas marocain et plissé (**Imessaoudene, 2012**).

La région de Tindouf est relativement homogène. Elle est caractérisée par l'extension de la plate-forme Tabulaire des Hamadas et la haute région au Nord-Est d'une altitude de 780 m.

Au Nord du Djebel El-Ouarkziz, l'altitude est plus basse, elle de l'ordre 255 m. L'altitude moyenne est de l'ordre de 450 m. (**Kchairi, 2009**). Dans l'ensemble, la topographie est plane avec des pentes faibles se situant entre 0 et 3 % (**Benkheira, 2009**).

### **1.1.3. Pédologie**

D'après les premiers résultats d'une étude en cours effectuée par la DGF, plusieurs types de sol ont été distingués dans la région, nous citons à titre d'exemple:

- les sols minéraux bruts ou sols très peu évolués qui se trouvent principalement dans les sommets des djebels ;
- les sols peu évolués qui se trouvent en piedmont de relief et sur les lits des oueds ;
- les régosols qui se trouvent à la hamada ;
- les lithosols qui se trouvent sur les versants rocheux, et les fonds de ravins ;
- les fluvisols qui se trouvent sur les oueds, sebkhas et dayas.

### **1.1.4. Hydrographie**

Sur le plan hydrographique, le bassin de Tindouf s'ouvre à l'Est, au Nord du Tanezrouft, sur le bassin d'Oued Daourat recevant en amont de Hassi Remlia les eaux des oueds Ziz et Rhéris collectant en territoire marocain, le ruissellement du Haut-Atlas oriental. **Bumer et al.**, (1999) signalent l'existence de la nappe phréatique à la profondeur de dizaine de mètres en oued Bouyadhine, qui fait partie de l'arganeraie de Tindouf. Les Oueds de la région sont totalement temporaires suite à son caractère désertique.

### **1.1.5. Paramètres climatiques**

La pluie et la température constituent la charnière du climat. Elles influencent de façon directe la végétation. Afin de caractériser le climat de notre zone d'étude, nous avons exploité des données météorologiques de la période 2003 jusqu'à 2012.

### 1.1.5.1. Pluviométrie

Les précipitations constituent avec la température les éléments les plus importants qui définissent le climat d'un lieu donné (El khatri, 2003). D'après Ozenda (1977), en milieu désertique, les précipitations sont très faibles et conventionnellement sont en dessous de 200 mm/an.

Le tableau ci-dessous donne la pluviométrie moyenne mensuelle de la région de Tindouf.

**Tableau.5.** Précipitations moyennes mensuelles enregistrées dans la région de Tindouf durant la période 2003-2012

Mois	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	Cumul
<b>Pluies (mm)</b>	2,72	<b>15,06</b>	4,62	2,41	3,92	1,14	0,38	5,18	7,67	11	0,35	3,02	57,48

Source: [www.tutiempo.com](http://www.tutiempo.com)

D'après l'analyse des données du tableau.5, la région de Tindouf reçoit une tranche pluviométrique annuelle faible (environ 57,48 mm). Les maximums des pluies sont enregistrés dans le mois de février, alors que les mois de Juillet et novembre ne reçoivent que de faibles quantités.

### 1.1.5.2. Température

Un autre paramètre climatique qui peut jouer un rôle capital dans le développement des végétaux : c'est la température de l'air. Si les températures trop hautes peuvent avoir une influence sur le comportement physiologique et la régénération de certaines plantes, les températures trop basses peuvent engendrer de graves dégâts et tuer dans certains cas des peuplements entiers.

Nous présentons dans le tableau ci-dessous les températures mensuelles moyennes pour la région de Tindouf.



**Tableau.6.** Températures moyennes mensuelles (en °C) enregistrées dans la région de Tindouf durant la période 2003-2012

Mois	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	Annuelle
TM	21,01	23,41	28,38	31,37	34,57	39,24	<b>44,29</b>	42,99	37,97	32,24	26,89	21,9	32,02
Tm	<b>6,63</b>	8,92	12,84	14,76	17,32	21,11	27,29	26,73	22,74	18,04	12,29	8,33	16,41
T	13,82	16,16	20,61	23,06	25,94	30,17	35,80	34,86	30,26	25,14	19,59	15,11	<b>24,21</b>

Source: [www.tutiempo.com](http://www.tutiempo.com)

*TM* : température maxima ; *Tm* : température minima ; *T* : température moyenne.

L'analyse du tableau.6, indique que la température moyenne annuelle est de 24,21°C, avec un minimum de 6,63°C enregistré pour le mois de janvier alors que le mois le plus chaud est celui de juillet avec 44,29°C.

### 1.1.6. Synthèse climatique

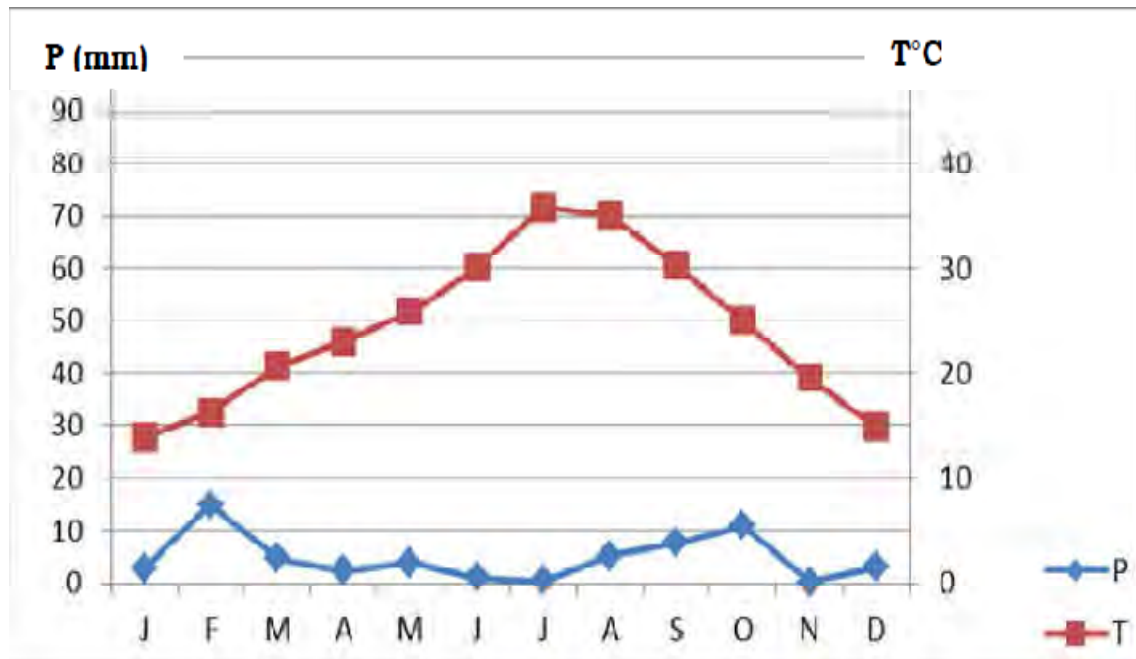
De nombreux indices ont été élaborés pour caractériser le climat d'une région. Ils font intervenir particulièrement, la conjonction des paramètres quantifiables qui sont la température et la pluviométrie. Le climat méditerranéen a été caractérisé par plusieurs chercheurs à savoir, **Bagnouls et Gaussen (1953); Emberger (1955) et Sauvage (1963).**

#### 1.1.6.1. Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gaussen

Le diagramme Ombrothermique est une représentation graphique qui permet de déterminer la suite successive des mois secs, donc les périodes sèches et humides de l'année. Une période est considérée sèche lorsque  $P \leq 2T$ , sachant que :

P : Précipitations moyennes mensuelles en mm et T: températures moyennes mensuelles en °C.

L'analyse de la figure 9 fait apparaître que notre zone d'étude est caractérisée par une période sèche qui s'étale presque sur toute l'année.



**Figure.9.** Diagramme Ombrothermique de la zone d'étude

### 1.6.2. Quotient pluviométrique d'Emberger

Le quotient d'Emberger est le plus fréquemment utilisé pour caractériser le climat méditerranéen notamment, celui de l'Afrique du Nord. Ce quotient  $Q_2$  est défini par la formule suivante :

$$Q_2 = 2000 P / M^2 - m^2$$

avec: M: température moyenne maxima du mois le plus chaud en degré kelvin (°K).

m : température moyenne minima du mois le plus froid en degré kelvin (°K).

P : précipitation annuelle en mm.

La valeur de  $Q_2$  est d'autant plus élevée que le climat est plus humide.

D'après les données climatique de Tindouf (M= 44,29°C m= 6,63°C et P= 57,48 mm), la valeur du quotient pluviométrique est de  $Q_2= 5,1$ .

Selon le diagramme bioclimatique d'Emberger, la région de Tindouf est classée dans l'étage climatique saharien à hiver tempéré.

### **1.6.3. Indice d'aridité**

Le géographe DEMARTONE a défini en 1929 son indice d'aridité (I) en se basant sur la combinaison des régimes thermique et hygrométrique selon la formule suivante :

$$I = P / (T+10)$$

P : la pluviosité moyenne annuelle en (mm) et T : la température moyenne annuelle en (°C). Cet indice est compris entre 0 et 55. Il est d'autant plus faible que le climat est plus aride.

Pour la région de Tindouf (P = 57,48 mm et T = 24,2 °C), l'indice d'aridité de DEMARTONE est égal à 1,68. Selon cet indice, le climat de Tindouf est hyper aride (désert absolu).

## **2. TRAVAIL EXPERIMENTAL**

### **2.1. Etude de la germination**

#### **2.1.1. Effet du prétraitement sur la germination**

Les téguments des graines d'*A. albida* ont une structure anatomique typique des légumineuses qui se traduit par une forte inhibition tégumentaire de la germination. Cela implique qu'une scarification naturelle ou artificielle du tégument est nécessaire pour permettre l'imbibition et la germination des graines. Pour lever l'inhibition tégumentaire des graines, trois prétraitements ont été testés en comparaison avec le témoin :

- Le premier consiste à tremper les graines dans l'eau bouillante (100 °C) pendant 1 h puis laisser refroidir ;
- Le second procédé est l'immersion des graines dans l'acide sulfurique concentré (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 96 %) pendant une heure ;
- Le troisième procédé est celui de la scarification manuelle à l'aide de papier abrasif (**Roussel, 1984 ; Danthu et al., 1992 ; Ndour, 1997**).

Après ces prétraitements, les graines ont été lavées à l'eau distillée pendant 15 min, puis traitées avec un fongicide (Benlate) pendant 1 h et enfin rincées avec de l'eau distillée.

Les graines ont été mises à germer à l'obscurité, car la germination est indifférente à la lumière (Danthu et al., 2003), dans des boîtes de Pétri en plastique sur du papier filtre avec quatre répétitions par traitement, à raison de 12 graines par boîte dans trois incubateurs à trois températures différentes (20, 25 et 30°C) pour l'étude, en parallèle, de l'influence du facteur thermique.

La durée du test a été fixée à la période de germination qui s'est étalée sur 30 jours, le comptage des graines germées et dont la radicule a percé les téguments a été effectué tous les jours.

### **2.1.2. Effet de la salinité sur la germination**

Nous avons procédé aux essais de germination sous contraintes salines en utilisant les conditions optimales de germination déterminées à partir des essais de prétraitements précédents.

Pour ce faire, les graines ont été d'abord immergées dans l'acide sulfurique pendant 1 h, puis lavées à l'eau distillée pendant 15 min, ensuite traitées avec un fongicide (Benlate) pendant 1 h et enfin rincées avec de l'eau distillée.

Les graines sont mises à germer dans des boîtes de Pétri sur du papier filtre et arrosées quotidiennement avec de l'eau distillée contenant différentes concentrations de NaCl (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 et 30 g.l<sup>-1</sup>) et disposées à l'obscurité et à la température optimale de germination identifiée par les tests précédents (25 °C).

### **2.1.3. Paramètres mesurés lors de la germination**

#### **2.1.3.1. Taux de germination**

Calculé par la formule suivante :

$$\text{TG}\% = \frac{\text{Nb de semences germés}}{\text{Nb total des semences}} \quad (\text{Maziliak, 1982}).$$

TG% : taux de germination

### **2.1.3.2. Temps moyen de germination (TMG)**

Le temps moyen de germination (TMG) donne une idée sur la vitesse de germination qui peut s'exprimer par la durée médiane de germination (**Scott et al., 1984**) ou par le temps moyen de germination (**Come,1970**).

Le temps moyen de germination est calculé par la formule donnée par **Maziliak, (1982)**

$$\text{TMG} = \frac{N_1T_1 + N_2T_2 + \dots + N_nT_n}{N}$$

**TMG** : temps moyen de germination

**N<sub>1</sub>** : nombre de graine germant au temps T<sub>1</sub>

**N** : nombre total des semences ayant germé à la fin du temps de l'essai

## **2.2. Etude de la croissance**

### **2.2.1. Analyse du substrat de culture**

Pour notre culture nous avons utilisé un substrat constitué d'un mélange de 2/3 sol et 1/3 sable sur lequel nous avons effectué une série d'analyses physico-chimiques afin de le caractériser. Les analyse sont font avant et après cultures pour avoir l'effet du sel sur le sol.

#### **2.2.1.1. Granulométrie**

La méthode utilisée, pour la détermination des fractions granulométriques, est la méthode internationale à la pipette de « Robinson ». Cette méthode est basée sur la destruction de la matière organique par l'eau oxygénée (110 v), on ajoute par la suite à 20g de sol attaqué par l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 30ml d'une solution dispersante de l'héxamétaphosphate de sodium et 5ml de solution ammoniacale (NH<sub>3</sub> à 20%). On effectue une séparation des différentes fractions (L, A, S) après 2 heures d'agitation.

Les fractions fines, limon et argile, sont séparées par sédimentation. Le prélèvement de ces dernières se base sur la relation, liant le temps de sédimentation et le diamètre des particules, donnée par la loi de Stocks. On prélève un petit volume connu de la suspension dont on pèsera le résidu solide après évaporation du liquide. Tandis que les fractions grossières, sables grossiers et fins, sont séparées par tamisage.

**2.2.1.2. Détermination du pH**

Le pH est déterminé à partir d'une suspension sol/eau suivant un rapport 1/5, après une agitation de 60 minutes et repos de 18 heures, puis une deuxième agitation pendant 5 minutes et repos de 15 minutes. Le pH est mesuré par la suite à l'aide d'un pH mètre préalablement étalonné, avec les solutions étalons pH= 4, pH= 7 et pH= 11. La valeur du pH de la solution du sol est lue sur l'écran digital du pH mètre.

**2.2.1.3. La conductivité électrique CE**

La conductivité électrique donne une idée sur la teneur globale en sels solubles d'une solution. La conductivité électrique est déterminée à partir d'une suspension sol/eau suivant un rapport 1/5 à une température de référence égale à 25°C. Les mesures sont effectuées à l'aide d'un conductimètre.

**2.2.1.4. Détermination de la capacité d'échange cationique (CEC)**

La capacité d'échange cationique (CEC) est définie par la quantité maximale de cations métalliques que le sol peut fixer.

La méthode utilisée est celle décrite par **AFNOR (1994)**. Pour la préparation de la solution du sol, on met 5g de sol dans un flacon, on ajoute 750 mg de carbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>) et 50 ml de la solution d'oxalate d'ammonium, on agite pendant 3 heures et on laisse reposer 12 à 16 heures dans un réfrigérateur. Après ce temps, on prend 10 ml de la solution du sol qu'on a préparé, on rajoute 10ml de NaOH, 190 ml d'eau distillée et quelques gouttes du phénol phtaléine, dans un ballon d'un litre qu'on met dans un chauffe ballon.

**2.2.1.5. Dosage du calcaire total**

La détermination de la quantité totale du calcaire du sol est réalisée en dosant la quantité totale de carbonate présent selon la réaction ci-dessous :



Le volume de CO<sub>2</sub> dégagé est proportionnel à la quantité de carbonate présent, à condition que le dosage soit fait à une température et à une pression constante.

Le calcaire total est déterminé au moyen du calcimètre de Bernard, qui doit être préalablement étalonné avec des quantités connues de CaCO<sub>3</sub>. Le dosage s'effectue dans le substrat, pour cela, 1g du substrat (0.2 mm) est introduit dans un pilulier avec 4 ml de HCl contenu dans un tube à hémolyse. Après fermeture du bouchon, le pilulier est agité et le volume de CO<sub>2</sub> dégagé correspond au niveau atteint par le liquide de la burette du calcimètre. La masse des carbonates contenus dans le substrat, est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage, puis on convertit le taux de calcaire en pourcentage.

#### **2.2.1.5. Dosage du calcaire actif**

Le calcaire actif est déterminé selon la méthode décrite par **Drouineau, 1942**. On met 1g de substrat dans un erlenmeyer de 250 ml ; on ajoute 100 ml d'oxalate d'ammonium (N/5), agiter mécaniquement pendant 2 heures et filtrer en rejetant les premiers ml du filtrant considéré comme impur. Prélever 22 ml du filtrant clair dans un erlenmeyer de 250ml. Ajouter 100 ml d'eau distillée et 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. Titrer avec KMnO<sub>4</sub> (N/5), continuer le titrage goutte à goutte : le virage est atteint si la coloration se maintient pendant au moins 50 secondes. Pour le calcul du pourcentage du calcaire actif, il suffit d'appliquer la formule suivante :

$$\% \text{ CaCO}_3 \text{ actif} = 5(V' - V)$$

Où :

V' : volume de KMnO<sub>4</sub> ajouté au blanc

V : volume de KMnO<sub>4</sub> ajouté au sol

#### **2.2.1.6 .Détermination de la matière organique (MO)**

Le dosage de la matière organique est réalisé à partir de ses constituants qui est le carbone. La méthode de détermination du carbone organique est basée sur l'oxydation à froid de ce dernier, par le bichromate de potassium en milieu acide (méthode de **Walkley et black, 1934 ; cité par Duchaufour, 1970**).

On met 1g de sol dans un erlenmeyer de 30 ml, on ajoute 10 ml de  $K_2Cr_2O_7$ , on agite pour disperser le sol, on ajoute 20 ml de  $H_2SO_4$  et on agite pour assurer un mélange intime, on laisse reposer pendant 15 à 30 minutes.

On ajoute 200 ml d'eau distillée, 10 ml de  $H_3PO_4$  et 1 ml d'indicateur (diphénylamine), et on termine par la titration avec une solution de sulfate ferreux 1N ( $FeSO_4$ ) jusqu'au virage de l'indicateur au vert. Un essai à blanc doit être effectué. Le pourcentage de la matière organique est déduit à partir de la formule suivante :

$$MO\% = 4.1725 \times (a - b) / a$$

Où :

a : volume en ml de la solution de  $FeSO_4$  ajoutée au blanc.

b : volume en ml de la solution de  $FeSO_4$  ajouté au sol.

### 2.2.1.7. Dosage de la dureté totale ou titre hydrotimétrique (TH)

La mesure du TH correspond à l'analyse des ions  $Ca^{++}$  et  $Mg^{++}$ . Le dosage est fait par complexométrie à pH = 10 à l'aide de l'acide Ethylène Diamine Tétracétique (EDTA) en présence d'un indicateur coloré : le Noir d'Erichrome T (N.E.T). La valeur du  $Mg^{++}$  est déduite à partir de TH -  $Ca^{++}$ .

A l'aide d'une pipette jaugée, introduire une prise d'essai 50ml d'échantillon dans un Erlen de 250 ml. Ajouter 4ml de la solution tampon pH = 10 et 3 gouttes d'indicateur au Noir d'Erichrome T. La solution doit se colorer en rouge foncé; doser immédiatement à l'aide de la solution EDTA en agitant constamment. Verser cette solution, rapidement au début, puis lentement vers la fin du dosage, dès que la couleur commence à virer du rouge au violet-bleu. Le dosage est terminé lorsque la dernière nuance de rouge a disparu. La concentration en calcium et magnésium en mmol/l est donnée par la formule suivante :

$$1000. \frac{C \text{ EDTA} \times V \text{ EDTA}}{V \text{ éch}}$$

C EDTA : Concentration molaire de la solution d'EDTA (N/50).

V EDTA : Volume en ml de chute de burette.

V éch : Volume en ml de la prise d'essai.



**2.2.1.8. Dosage de Sodium et Potassium par photomètre d'émission à flamme**

Cette méthode physique est basée sur la propriété des atomes de passer d'un état fondamental stable à un état excité instable.

- Pour le Sodium, on utilise une solution de NaCl comme solution étalon.
- Concernant le potassium, la solution étalon est celle de KCl.

**2.2.1.9. Détermination des sulfates ( $\text{SO}_4^{2-}$ )**

Les ions sulfates sont précipités et pesés à l'état de sulfate de baryum. Il faut maintenir le précipité de  $\text{BaSO}_4$  en suspension grâce à un agent stabilisant comme la glycérine ou la gélatine. La teneur en sulfates est alors reliée à la turbidité de la suspension. Plusieurs précautions doivent être prises : il faut travailler en milieu très acide pour décomposer les carbonates car le  $\text{BaCO}_3$  est, lui aussi, insoluble. Il faut également précipiter les sulfates sous forme de cristaux de  $\text{BaSO}_4$  aussi uniformes que possible. La lecture est faite par spectrophotomètre à  $\lambda = 420$

**2.2.1.10. Les Chlorures**

La méthode utilisée est celle de Mohr. Les ions chlorure réagissent quantitativement avec le nitrate d'argent, avec formation de chlorure d'argent, sel très peu soluble. On utilise le chromate de potassium  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  comme indicateur.

Le chromate d'argent  $\text{Ag}_2\text{CrO}_4$  étant un peu plus soluble que l' $\text{AgCl}$ , celui-ci précipite d'abord. Au-delà du point équivalent du dosage des chlorures, il se forme donc de l' $\text{Ag}_2\text{CrO}_4$  qui précipite dès que le produit de solubilité est atteint (apparition d'une teinte brunâtre) (Tardat, 1984).

**2.2.2. Analyse de l'eau d'irrigation**

La qualité des eaux d'irrigation est un paramètre important à considérer, non seulement dans l'étude de l'impact direct sur les produits agricoles, mais aussi dans celle de l'impact indirect sur les sols par modification de leurs propriétés physique et chimique (Suarez DL et al., 2006).

L'accumulation des sels hydrosolubles dans le sol d'enracinement influe négativement sur la croissance des plantes, on a recensé deux séries d'effets de la salinité: les uns portent sur les végétaux, les autres sur le sol (**Forges. M, 1972**).

Dans nos essais, l'eau utilisée pour l'irrigation provient du barrage « fontaine des gazelles » qui est construit en matériaux locaux (remblai en alluvions compacté) avec un noyau d'argile, il se situe à l'aval de Oued El Hai, alimenté par une surface de 1 660 Km<sup>2</sup>, ayant une capacité normale 55,5 Mm<sup>3</sup>, mais une grande tranche de ce volume apparent, n'est que vase et autres apports solides charriés lors des crues avec un débit solide de 360 000 m<sup>3</sup>/an. Le stock de ce barrage souffre aussi d'une grande perte par évaporation, qui dépasse les 06 Mm<sup>3</sup> par an, ce qui laisse juste 14 Mm<sup>3</sup> à régulariser pour les besoins d'irrigation.

Une série d'analyse est faite sur l'eau d'irrigation pour la caractériser. Les méthodes d'analyse du (pH ; CE, mg<sup>++</sup>, cl<sup>-</sup> Ca<sup>++</sup>, NA<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>) sont décrites dans la partie relative à l'analyse du sol citée précédemment.

### **2.2.3. Culture en pot et application du stress salin**

Les graines sont semées directement en sachet des polyéthylène contenant un mélange SOL-SABLE et irrigués avec de l'eau de barrage dans une serre (T= 25C °) (**Photos .6**).



**Photo.6.**Culture des plants des *Acacia albida* sous serre

Après six mois de croissance les plantes sont réparties en cinq lots et irriguées à l'aide de l'eau additionnée de différentes doses de chlorure de sodium (NaCl) comme suit : 0, 50, 100, 200 et 300 mM. L'application du stress salin a duré trois mois.

#### **2.2.4. Récoltes initiale et finale**

Au cours de la culture sous serre, deux récoltes sont effectuées: une première récolte, dite initiale, vise à caractériser l'état des plantes avant le traitement salin. Une seconde récolte, dite finale, permet de déterminer les effets du traitement sur les plantes. A la récolte (initiale et/ou finale), les plantes sont fractionnées en parties aériennes et racinaires. Ces organes sont rincés dans trois bains successifs d'eau distillée puis essorés et séchés avec du papier filtre.

La longueur des parties aériennes racinaires est immédiatement mesurée. Par la suite, ces organes sont mis dans des sachets en aluminium préalablement tarés puis pesés, à l'aide d'une balance de précision de type Mettler AE 200, avant et après dessiccation à l'étuve à 60°C pendant 72 heures. Les échantillons, une fois séchés, sont broyés en poudre fine au moyen d'un broyeur à lame.

#### **2.2.5. Paramètres biométriques mesurés lors de la croissance**

##### **2.2.5.1. Hauteur de la tige**

Nous avons mesuré la hauteur de la tige depuis le ras du sol jusqu'à l'apex, à l'aide d'une règle graduée. La mesure est faite une fois par semaine.

##### **2.2.5.2. Longueur des racines**

A la fin de l'expérimentation, et à l'aide d'une règle graduée, nous avons mesuré la longueur des racines.

##### **2.2.5.3. La croissance moyenne relative**

La croissance Moyenne Relative (C.M.R) correspond à la production de biomasse par unité de temps et par unité de matière sèche entre deux prélèvements aux jours T1 et T2, elle est calculée comme suit :

$$\text{CMR} = \Delta \text{MS} / \text{MS moyenne} * (\text{T1}-\text{T2})$$

$\Delta \text{MS} = \text{MS}_2 - \text{MS}_1$ : c'est la variation de MS entre T1 (récolte de départ) et T2 (récolte finale).

$\text{MS moyenne} = (\text{MS}_2 - \text{MS}_1) / \text{Ln} (\text{MS}_2 / \text{MS}_1)$  (moyenne logarithmique) ;

#### **2.2.5.4. Biomasse aérienne et racinaire**

A la fin de l'expérimentation les plants sont démotés soigneusement, pour garder le maximum de masse racinaire, on lave la partie racinaire pour éliminer les particules indésirables. La partie aérienne est séparée du système racinaire à l'aide d'une lame au niveau du collet.

- **Poids frais.** On pèse la partie aérienne puis la partie racinaire à l'aide d'une balance de précision (1/100).
  
- **Poids sec.** Le poids sec est déterminé après passage à l'étuve à 60°C pendant 72 heures.

#### **2.2.5.5. Rapport biomasse partie aérienne / partie racinaire**

Après avoir déterminé la biomasse aérienne et racinaire, nous avons jugé utile de calculer le rapport entre la biomasse des deux parties, aérienne et racinaire, afin de déduire la partie qui a mieux résisté à l'effet du sel.

### **2.2.6. Paramètres biochimiques et physiologiques mesurés lors de la croissance**

#### **2.2.6.1. La teneur en eau**

La teneur en eau est calculée par la différence entre la masse de matière fraîche (MF) et celle de matière sèche (MS) sur la matière sèche. Cette teneur est exprimée en  $\text{ml.g}^{-1}$  MS et elle est déterminée selon la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau} = (\text{MF}-\text{MS}) / \text{MS}$$

**2.2.6.2. L'indice de sensibilité (IS).**

Il correspond à l'écart de production de la MS entre les plantes traitées et témoins, ramené à la masse de ces dernières. Il est calculé par le rapport suivant :

$$\text{IS} = 100 * (\text{MS NaCl} - \text{MS témoin}) / \text{MS témoin}$$

Une valeur négative de ce paramètre traduit une inhibition de la croissance par le stress salin. Par contre, la stimulation de la croissance se traduit par des valeurs positives de l'indice de sensibilité.

**2.2.6.3. Extraction et dosage des chlorophylles**

L'extraction des pigments photosynthétiques est faite en présence d'acétone à 80% selon la méthode **d'Arnon (1949)**. 100 mg de matière fraîche sont coupés en fines lamelles en présence de 5 ml d'acétone à 80%. Le mélange est maintenu 72 heures dans l'obscurité totale et à 4°C. L'extrait obtenu sert aux dosages des chlorophylles « a » et « b » ainsi que des caroténoïdes. La détermination de la teneur foliaire en pigments photosynthétiques se fait à partir de la mesure simultanée de la densité optique à trois longueurs d'ondes différentes : 470 nm, 647 nm et 663 nm. Les teneurs des feuilles en pigments sont alors déterminées en se référant aux formules suivantes (**Lichtenthaler, 1987**) :

- Chlorophylles a ( $\mu\text{g/ml}$ ) =  $(12,7 * \text{DO}_{663}) - (2,69 * \text{DO}_{647})$
- Chlorophylles b ( $\mu\text{g/ml}$ ) =  $(22,9 * \text{DO}_{647}) - (4,68 * \text{DO}_{663})$
- Chlorophylles totales ( $\mu\text{g/ml}$ ) = (Chlorophylles a – Chlorophylles b)
- Caroténoïdes ( $\mu\text{g/ml}$ ) =  $(5 * \text{DO}_{470}) + (2,846 * \text{DO}_{663}) - (14,876 * \text{DO}_{647})$

**2.2.6.4. Dosage des éléments minéraux****➤ Extraction des ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$** 

Des quantités connues de poudre végétale (20 mg) sont mises dans des piluliers en présence de 50 ml d'acide nitrique ( $\text{HNO}_3$ , 0,5%).

Les piluliers, hermétiquement fermés pour éviter la concentration des extraits par évaporation, sont agités périodiquement de 4 à 5 fois par jour pendant 3 jours. Les extraits sont ensuite filtrés sur papier filtre sans cendres avant le dosage des éléments minéraux.

➤ **Dosage des ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$**

Ces ions sont dosés par photométrie de flamme. Le principe de la photométrie d'émission est le suivant : l'élément minéral dissout dans la solution aqueuse est envoyé dans une flamme air-propane.

Il subit donc une excitation thermique et émet un spectre de raies caractéristiques lorsqu'il revient à l'état fondamental. Les raies caractéristiques sont sélectionnées par des monochromateurs (filtres spécifiques). Derrière chaque filtre est installée une cellule photo-réceptrice qui détecte l'intensité de la lumière émise, celle-ci étant proportionnelle à la quantité de l'élément émetteur contenu dans la solution vaporisée. Les teneurs en  $\text{K}^+$  et  $\text{Na}^+$  des différents échantillons sont déterminées en se référant à une gamme étalon de KCl et NaCl, respectivement.

#### **2.2.6.5. La sélectivité $\text{K}^+/\text{Na}^+$**

Dans un milieu salé, les quantités des ions  $\text{Na}^+$  dépassent largement celles de  $\text{K}^+$ . Vu le rôle important du potassium dans la croissance et le développement des plantes, ces dernières doivent maintenir une sélectivité  $\text{K}^+/\text{Na}^+$ . Cette sélectivité a été estimée en comparant les rapports  $\text{K}^+/\text{Na}^+$ , calculés dans les parties aériennes et racinaires.

### **3. DOSAGE DES COMPOSES PHENOLIQUES ET EVALUATION DE LEURS ACTIVITES ANTIOXYDANTES**

#### **3.1. Techniques d'extraction**

##### **3.1.1. Extraction par macération**

Ce type d'extraction est appliqué aux plants (parties aérienne et sous terraines) d'*Acacia albida* issus de la culture soumise au stress salin.

Une quantité de poudre fine (2,5 g) de l'échantillon végétal est ajoutée à 25 ml de méthanol pur. Le mélange est ensuite agité pendant 30 mn, puis gardé pendant 24 h à 4°C et à l'obscurité. Le mélange est filtré sur du papier filtre sans cendre (Watmann N°4).

### **3.1.2. Extraction successive par le système soxhlet**

Ce type d'extraction est appliqué aux échantillons de feuilles, fruits et écorces de l'*Acacia albida* et *Acacia raddiana* collectés sur terrain.

➤ **Principe.** Le solvant d'extraction est porté à ébullition. Les vapeurs de solvant traversent le Soxhlet, sont condensées au niveau du réfrigérant et s'écoulent au travers de l'échantillon dans la cartouche. Ce système de distillation-condensation assure au solvant une circulation en continu dans l'échantillon. Un siphon permet au solvant de s'écouler de la cartouche pour retourner dans le ballon. Le solvant peut donc recommencer un nouveau cycle d'évaporation-condensation. Le principal avantage de cette méthode est que l'échantillon est continuellement extrait avec du solvant renouvelé. Par ailleurs, un temps d'extraction long et un volume de solvant important en sont les principaux inconvénients.

➤ **Mode opératoire.** L'extraction des composés phénoliques de l'*Acacia albida* et l'*Acacia raddiana* a été faite par quatre solvants de polarités croissantes à savoir l'hexane (polarité = 0), le chloroforme (polarité = 4.1), l'éthanol (polarité = 4.3) et enfin l'eau étant considéré comme le solvant le plus polaire avec une polarité de 10.2.

20 g de poudre fine de l'*Acacia* sont placés dans une cartouche en présence de 200 ml de solvant. Chaque extraction est faite à une température inférieure à 40°C (pour ne pas détériorer les molécules) et dure 24h au bout desquelles l'extrait est récupéré, filtré avec du papier filtre sans cendre (Wattman N°4) et conservés à l'obscurité à 4°C.

## **3.2. Dosage des composés phénoliques**

### **3.2.1. Polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols se fait avec le réactif de Folin-Ciocalteu qui en milieu alcalin se réduit en oxyde de tungstène et de molybdène donnant une couleur bleue en présence de polyphénols (**Dewanto et al., 2002**).

Une prise de 125 µl de l'extrait est mélangée avec 500 µl d'eau distillée et 125 µl de réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation vigoureuse du mélange suivie d'un repos de 3 minutes, une prise de 1250 µl de  $\text{CO}_3(\text{Na})$  2 à 7 % est additionnée. Enfin le mélange obtenu est ajusté par de l'eau distillée à 3 ml. Après un repos de 90 minutes à l'obscurité, la lecture de l'absorbance a été effectuée à une longueur d'onde de 760 nm. La gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique à des concentrations variables de 50, 100, 200, 300, 400, 500 µg l<sup>-1</sup>. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mgEAG g<sup>-1</sup> MS).

### **3.2.2. Flavonoïdes totaux**

La quantification des flavonoïdes est faite selon une méthode colorimétrique décrite par **Dewanto et al. (2002)**. Une prise de 250 µl d'extrait convenablement diluée est additionnée de 75 µl d'une solution de  $\text{NaNO}_2$  à 5%. Après 6 mn d'incubation à température ambiante, 150 µl d'une solution fraîchement préparée de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ , 10%) sont ajoutés au mélange. Après 5 mn de repos à température ambiante, 500 µl de soude (NaOH, 1M) sont apportés au mélange, et le volume final est porté à 2500 µl avec de l'eau distillée. L'absorbance de cette préparation est mesurée à 510 nm. Une gamme étalon à base de catéchine est également préparée à des concentrations allant de 50 à 400 µg.ml<sup>-1</sup>. Les teneurs en flavonoïdes des extraits sont alors exprimées en mg d'équivalents catéchine par gramme de matière sèche (mg EC.g<sup>-1</sup> MS).

### **3.2.3. Tanins condensés**

En présence d'acide sulfurique, les tanins condensés se dépolymérisent et, par réaction avec la vanilline, se transforment en anthocyanidols de couleur rouge, mesurables par spectrophotométrie à 500 nm (**Sun et al., 1998**). Une aliquote de 0,05 ml d'extrait est ajoutée à 3 ml de vanilline à 4% et 1,5 ml d'acide sulfurique concentré. Après homogénéisation, le mélange est mis en incubation à température ambiante pendant 15 minutes.



L'absorbance est mesurée contre un blanc contenant de l'acétone 80%. Les teneurs en tanins condensés sont déterminées en se référant à une gamme étalon de catéchine (0 à 400  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Comme pour les flavonoïdes, les teneurs en tanins condensés sont exprimées en mg d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EC  $\text{g}^{-1}$  MS).

### **3.3. Évaluation des activités antioxydantes**

#### **3.3.1. Capacité antioxydante totale**

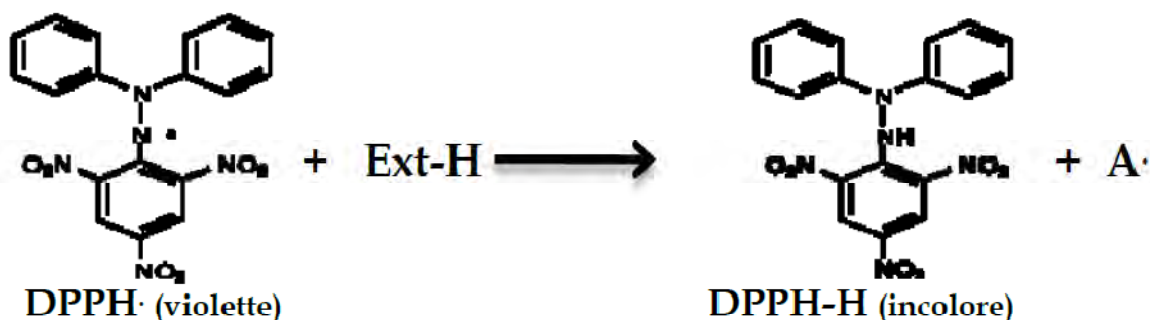
**a) Principe:** L'activité antiradicalaire ou antioxydante repose sur la détermination d'une concentration conférant l'efficacité à un extrait donné. Cette méthode quantitative consiste à réduire les ions  $\text{Mo}^{6+}$  en  $\text{Mo}^{5+}$  par les extraits de la plante ainsi que la formation du complexe (phosphate/  $\text{Mo}^{5+}$ ) de couleur verte à un pH acide (**Prieto et al., 1999**).

**b) Manipulation:** une prise de 200  $\mu\text{l}$  d'extrait de plante est ajoutée à 2 ml de la solution à pH acide contenant de l'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; 0.6M), du phosphate de sodium ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ; 28 mM) et de l'heptamolybdate d'ammonium ( $(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ; 4mM). Le mélange est ensuite incubé à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement à la température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695nm. L'activité antioxydante totale est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG  $\text{g}^{-1}$ MS).

#### **3.3.2. Piégeage du radical DPPH**

**a) Principe:** L'activité antiradicalaire est mesurée par la dégradation du DPPH : 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl, qui est un radical synthétique présentant une intense coloration violette. La couche électronique de ce radical est saturée en contact d'antioxydants, ce qui explique la disparition de sa coloration.

Cette décoloration explique le pouvoir de l'extrait de la plante à piéger ce radical, qu'on peut détecter par un spectrophotomètre-UV.



**b) Mesure de l'activité:** L'estimation de cette activité antiradicalaire est mesurée selon la méthode de **Hanato et al. (1988)**. Un aliquote de 1ml de l'extrait à différentes concentrations, est mélangé avec 250  $\mu$ l d'une solution de DPPH. (0.2 mM). Après agitation vigoureuse du mélange, il est conservé au repos pendant 30 min à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre-UV visible, en se référant à un témoin sans extrait. L'activité antiradicalaire est estimée en pourcentage d'inhibition grâce à la formule suivante :

$$PI = (DO \text{ témoin} - DO \text{ extrait} / DO \text{ témoin}) * 100$$

PI : pourcentage d'inhibition.

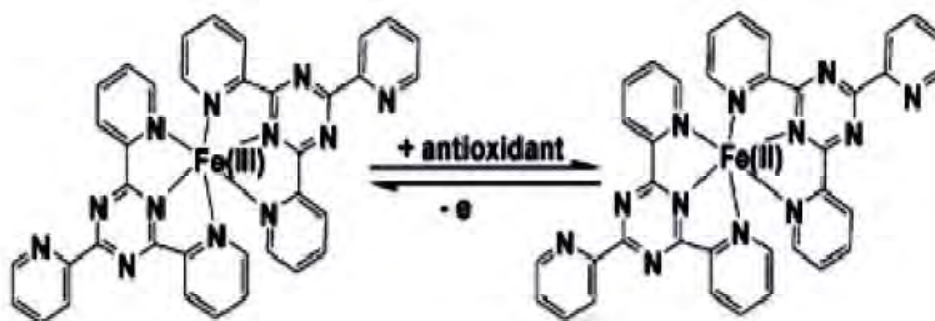
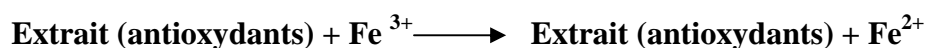
DO témoin : absorbance du témoin.

DO extrait : absorbance de l'extrait.

La réalisation de la cinétique de cette activité a permis de déterminer les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition ( $CI_{50}$ ) ; la valeur de la  $CI_{50}$  la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur de la  $CI_{50}$  est exprimée en  $\mu$ g  $ml^{-1}$  (3 répétitions pour chaque concentration).

### 3.3.3. Mesure du pouvoir réducteur du fer (FRAP)

**a) Principe :** L'activité réductrice est basée sur la réaction d'oxydoréduction entre l'extrait et les ions métalliques de transition, notamment le fer ou le cuivre (**Huang et al., 2005**). En effet, le  $K_3Fe(CN)_6$  fournit des ions  $Fe^{3+}$  qui seront réduits par la capacité de l'extrait de plantes à céder des électrons :



**b) Mesure de l'activité:** Le pouvoir réducteur est déterminé par la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**. Cette méthode consiste à mélanger 1 ml de l'extrait à différentes concentrations (0.1 à 1.5 mg ml<sup>-1</sup>) avec 2.5 ml de tampon phosphate (0,2 mol.l<sup>-1</sup>, pH 6.6) et 2.5 ml de K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> à 1%. Le mélange obtenu est incubé pendant 20 min à 50°C. Après cette incubation, 2.5 ml de TCA (10%) sont additionnés pour arrêter la réaction, suivie d'une centrifugation à 650xg pendant 10 min à température ambiante. Enfin, 2.5ml d'eau distillée et 0.5 ml FeCl<sub>3</sub> (0.1%) sont additionnés au surnageant (2.5ml). La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm (le blanc est le tampon d'extraction). Le témoin positif utilisé est soit l'acide ascorbique soit le BHA à une concentration allant de 0.01 à 1 mg ml<sup>-1</sup>. Les résultats sont exprimés en concentration efficace (CE<sub>50</sub>, µg.ml<sup>-1</sup>), qui est la concentration de l'extrait correspondant à une absorbance égale à 0,5. La valeur de la CE<sub>50</sub> est obtenue par interpolation de la courbe de régression linéaire (**Mau et al., 2004**).

### 3.3.4. Pouvoir chélateur du fer

**a) Principe :** Pour évaluer *in vitro* le pouvoir chélateur d'un extrait donné, le composé stabilisant le plus utilisé est la ferrozine. En effet, la ferrozine forme avec le fer libre présent dans un milieu réactionnel un complexe ferrozine-Fe<sup>2+</sup> de couleur violette intense. La quantification de ce complexe par spectrophotométrie à 562 nm dans un milieu de concentration connue en fer renseigne sur la quantité de fer non chélaté et donc sur la capacité des extraits à piéger cet élément. Plus la coloration de la solution contenant l'extrait testé est claire, plus le pouvoir chélateur de l'extrait n'est important.

**b) Mesure de l'activité:** Un aliquote de 0,1 ml de l'extrait de plante est ajouté à 0,05 ml de  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (2 mM). Après une agitation vigoureuse et un repos de 5 minutes, 0,1 ml de ferrozine (5 mM) sont ajoutés, suivis de 2,75 ml d'eau distillée (**Gulcin et al., 2005**). Le mélange est laissé au repos pendant 10 minutes à température ambiante et l'absorbance est mesurée à 562 nm contre un blanc (sans ferrozine). Les résultats sont comparés à ceux d'un témoin négatif (où l'extrait est remplacé par du méthanol) et d'un témoin positif (EDTA). Comme pour le test avec le DPPH, le pouvoir chélateur est calculé par l'équation:

$$\text{Pouvoir chélateur} = [(\text{DO témoin} - \text{DO extrait}) / \text{DO témoin}] * 100$$

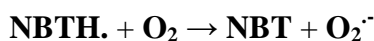
DO témoin : absorbance du témoin

DO extrait : absorbance de l'extrait

L'utilisation de plusieurs concentrations d'extrait de plante permet de déterminer la concentration de l'extrait qui provoque 50% de chélation du fer (=  $\text{CE}_{50}$ ). Des valeurs de  $\text{CE}_{50}$  faibles correspondent donc à une activité antioxydante forte pour l'échantillon testé.

### 3.3.5. Piégeage de l'anion superoxyde

**a) Principe :** Le système NADH/PMS utilisé permet la formation *in vitro* de l'anion superoxyde selon la réaction suivante :



L'anion superoxyde réduit le NBT (nitrobleu tetrazolium chloride) en formazan qui absorbe à 560 nm. La quantification du formazan par spectrophotométrie renseigne sur la quantité d'anions superoxydes formés et donc sur la capacité des extraits à piéger ces anions.

**c) Mesure de l'activité:** Pour la mesure de l'activité, on mélange 200  $\mu\text{l}$  de l'extrait à différentes concentrations avec 200  $\mu\text{l}$  d'une solution de  $\beta$ -NADH à 0,677 mM dans du tampon phosphate à  $\text{pH}=7,4$ , 200  $\mu\text{l}$  d'une solution de NBT à 0,144 mM (dans le même tampon) et 200  $\mu\text{l}$  d'une solution de PMS à 60  $\mu\text{M}$  (dans le même tampon) qui permet l'initiation de la réaction (**Duh et Yen, 1999**).

Après 5 mn d'incubation à température ambiante, l'absorbance est lue à 560 nm contre un blanc ne contenant pas de PMS (et comparée à un témoin sans extrait). L'activité antioxydante est estimée en pourcentage d'inhibition (de la formation du formazan, par piégeage des anions superoxydes) grâce à la formule suivante :

$$\text{PI} = [(\text{DO témoin} - \text{DO extrait}) / \text{DO témoin}] * 100,$$

**PI** : pourcentage d'inhibition.

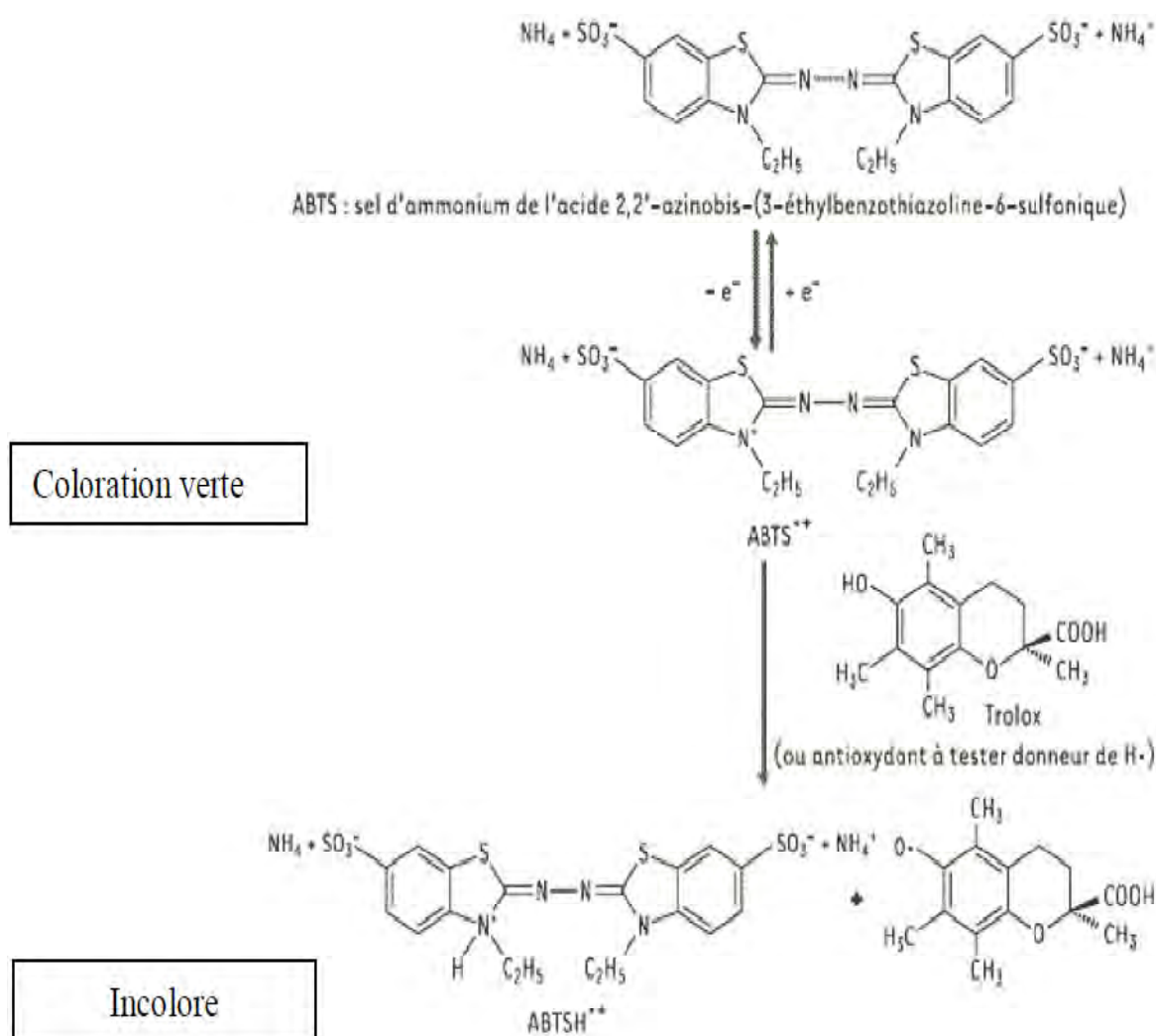
**DO témoin** : absorbance du témoin sans extrait.

**DO extrait** : absorbance de la solution d'extrait.

Elle est également exprimée en  $CI_{50}$  et comparée à celle d'un antioxydant de référence: le BHT.

### **3.3.6. Piégeage du radical cationique ABTS.<sup>+</sup>**

a) **Principe** : L'estimation de l'activité antiradicalaire repose sur la mesure de la régénération du radical ABTS (2,2'-azinobis (acide 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)). L'ABTS.<sup>+</sup> est formé suite à une réaction directe entre le persulfate de potassium et l'ABTS formant le chromophore ABTS.<sup>+</sup> de couleur bleu verte (**Ivanova et al., 2005**). L'addition d'un antioxydant à ce radical préformé le réduit en ABTS. Cette réduction se traduit par une décoloration proportionnelle au pourcentage d'inhibition de l'ABTS.<sup>+</sup> et à la concentration de l'antioxydant en question.).



Ce mélange est agité pendant 16 h à l'obscurité puis dilué par l'éthanol jusqu'à obtenir une absorbance à 734 nm de  $0.700 \pm 0.020$ . Une aliquote (950  $\mu$ l) de cette solution

**b) Mesure de l'activité:** La solution d'ABTS formée (7 mM) et de persulfate de potassium (2,45 mM) est gardée à la température ambiante pendant 16 h pour produire le radical (ABTS.<sup>+</sup>). Cette solution est par la suite diluée avec de l'eau distillée afin d'avoir une absorbance de  $0,700 (\pm 0,02)$  à 734 nm. A 1 ml de cette solution, 10  $\mu$ l d'extrait végétal ou de témoin positif (Trolox) sont ajoutés. Après 6 min de repos, l'absorbance est mesurée à 734 nm à l'aide d'un spectrophotomètre-UV visible, en se référant à un témoin sans extrait. Pour chaque concentration, le test est répété 3 fois. L'activité antiradicalaire est estimée en pourcentage d'inhibition grâce à la formule suivante :

$$PI = (DO \text{ témoin} - DO \text{ extrait} / DO \text{ témoin}) * 100$$

PI : pourcentage d'inhibition.

DO témoin : absorbance du témoin.

DO extrait : absorbance de la solution d'extrait. La réalisation de la cinétique de cette activité permet de déterminer les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition ( $CI_{50}$ ) ; la valeur de la  $CI_{50}$  la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur de  $CI_{50}$  est exprimée en  $\mu\text{g.ml}^{-1}$ .

### **3.3.7. Inhibition du blanchiment du $\beta$ -carotène**

**a)Principe :** En absence d'antioxydants, la  $\beta$ -carotène subit une décoloration rapide en présence d'acides gras ou de lipides. Néanmoins, la présence d'antioxydants, comme les composés phénoliques, peut limiter la destruction de la  $\beta$ -carotène par la neutralisation des radicaux formés par le système  $\beta$ -carotène-linoléate (**Kamath et Rajini, 2007**).

**b) Mesure de l'activité :** La solution stock est préparée en dissolvant 2 mg de  $\beta$ -carotène dans 20 ml de chloroforme. Pour suivre l'inhibition du blanchiment de la  $\beta$ -carotène, 4 ml de cette solution sont mélangés avec 40 mg d'acide linoléique et 400 mg de Tween 40. Après évaporation du chloroforme à 40°C, 100 ml d'eau aérée sont ajoutés et le mélange obtenu est agité vigoureusement. Dans une étape ultérieure, 10  $\mu\text{l}$  des échantillons préparés à différentes concentrations sont ajoutés à 150  $\mu\text{l}$  de la solution du  $\beta$ -carotène/acide linoléique. Ces mélanges sont incubés à 50°C pendant 120 min, et la lecture de la densité optique est mesurée à 470 nm à l'aide d'un lecteur ELISA (lecteur microlitre EAR 400, Labsystems Multiskan MS). Deux lectures sont effectuées, une première à  $t = 0$  min et une seconde après 120 min d'incubation. L'activité antioxydante des extraits est évaluée au terme du blanchiment de la  $\beta$ -carotène selon l'équation suivante et les résultats sont exprimés en  $CI_{50}$  ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) :

$$PI = [(DO E_{120} - DO T_{120}) / (DO T_0 - DO T_{120})] * 100$$

**DO E<sub>120</sub>**= absorbance de l'extrait à T = 120 mn

**DO T<sub>120</sub>**= absorbance du témoin négatif à T = 120 mn

**DO T<sub>0</sub>**= absorbance du témoin négatif à T = 0 mn

Cette activité est également exprimée en CI<sub>50</sub> comme décrit pour le test DPPH.

### **3.4. Identification et caractérisation des composés phénoliques par La chromatographie à haute performance en phase liquide HPLC (ou CLHP)**

#### **3.4.1. Le principe de la méthode de séparation**

La chromatographie est caractérisée par sa haute sensibilité et affinité qui permettent l'identification des composés de faible poids moléculaire. Elle consiste en premier lieu en une étape de séparation qui se fait grâce à la phase mobile qui est constituée de mélange des solvants de polarités différentes. Cette phase est établie selon un gradient de concentrations de ces solvants pendant une durée de temps donnée. Après cette séparation, les composés sont sélectionnés par leur temps de rétention.

Ces deux propriétés de séparation et de sélection de la chromatographie permettent la sortie des composés bien déterminés (selon la variation de la polarité de mélange) correspondant à leurs temps de rétention bien définis. La sortie de ces composés se fait selon un gradient de polarité en phase inverse, de composé moins polaire vers le composé le plus polaire.

#### **3.4.2. Identification et quantification**

Les composés phénoliques ont été identifiés et quantifiés par un système de chromatographie liquide à haute performance en phase inverse de marque Agilent Technologies 1260 (Germany), muni d'un détecteur UV à barrette de diodes (DAD) et équipé d'une colonne chromatographique, remplie d'un gel de silice greffé d'octadécyle, de type Zorbax Eclipse XDB- C18 (4.6 x 100 mm, 3.5 µm).



Le détecteur DAD est ajusté à un balayage de scan de 200 à 400 nm, la température de la colonne est maintenue à 25°C, le volume injecté est de 2 µl et le débit est fixé à 0.4 ml/min. Sur les chromatogrammes, les principaux pics enregistrés sont caractérisés par leurs temps de rétention comparés à ceux de composés standards injectés dans les mêmes conditions chromatographiques.

Les extraits les plus actifs sont analysés grâce à une élution en gradient à l'aide d'un mélange de deux solvants A et B : Solvant A (Méthanol), Solvant B (Eau milliQ contenant 0.1 % d'acide formique) comme décrit dans le **tableau 07**.

**Tableau.07.** Gradient d'élution utilisé pour la séparation des composés phénoliques.

<i>Temps (min)</i>	<i>Solvant A (%)</i>	<i>Solvant B (%)</i>
0	10	90
5	20	80
10	30	70
15	50	50
20	70	30
25	90	10
30	50	50
35	10	90

## **1. VARIABILITE DES ACTIVITES ANTIOXYDANTES ET IDENTIFICATION DES COMPOSES PHENOLIQUES PAR CLHP-DAD DANS LES DIFFERENTS ORGANES DE L'ACACIA ALBIDA ET ACACIA RADDIANA**

### **Résumé**

Ce travail vise essentiellement à étudier la variabilité interspécifique de la composition en polyphénols et de l'activité antioxydante (antiradicalaire) de deux espèces d'Acacia, *Acacia albida* et *Acacia raddiana* dans le but de sélectionner la meilleure espèce sur les deux plans, quantitatif (teneur en polyphénols) et qualitatif (activité antioxydante).

Dans un premier temps nous avons réalisé une extraction successive à l'aide d'un Soxhlet avec quatre solvants de polarité croissante : Hexane, Chloroforme, Ethanol et Eau sur trois organes des deux espèces à savoir : feuilles, fruits et écorces, collectés sur terrain dans la région de Tindouf. Les 18 extraits obtenus ont fait l'objet d'un dosage des polyphénols totaux par la méthode du Folin-Ciocalteu ainsi qu'une évaluation de l'activité antioxydante par le test du radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont montré des différences significatives entre les organes des deux espèces pour les trois solvants d'extraction aussi bien pour la composition en polyphénols que pour l'activité antioxydante. Les extraits éthanoliques de l'*Acacia albida* exhibent les meilleurs résultats de la concentration en polyphénols totaux avec 100.94 et 59.50 mg EAG.g<sup>-1</sup> MS, respectivement pour les feuilles et l'écorce. Les valeurs de la CI<sub>50</sub> du test DPPH sont en faveur des feuilles et écorce de l'*Acacia albida* pour les deux extraits éthanolique et aqueux. Pour l'extrait éthanolique, nous avons enregistré des valeurs de la CI<sub>50</sub> de 28 et 26 µg.ml<sup>-1</sup>, tandis que l'extrait aqueux exhibe des valeurs de 22.5 et 29 µg.ml<sup>-1</sup> pour les feuilles et l'écorce, respectivement. Les deux extraits ont fait l'objet d'une analyse par chromatographie liquide à haute performance (CLHP-DAD). Ces résultats nous permettent de conclure que l'*Acacia albida* est l'espèce la plus active en comparaison avec l'*Acacia raddiana* et que les extraits éthanolique et aqueux des feuilles et de l'écorce ont donné les meilleurs valeurs.

### **1.1. Introduction**

Depuis l'indépendance, le gouvernement algérien déploie beaucoup d'efforts afin de remédier à la restauration, la conservation et le développement des ressources naturelles à travers de nombreux programmes à savoir ; la privatisation de la gestion des exploitations ainsi que l'émergence et application de la notion de développement durable qui accorde une importance particulière au développement équilibré des ressources naturelles des territoires et en conséquence au développement rurale, le lancement du PNR ( Programme National de Reboisement ) en 1999 puis le PNDA et le PNDAR, la mise en œuvre de la convention de lutte contre la désertification et celle sur la diversité biologique ; et autres politiques relatives à la conservation du patrimoine et l'amélioration du niveau de vie des populations y compris la population rurale. Dans la même optique, l'Algérie accord plus d'importance au maintien et au développement des espèces végétales autochtones. La DGF (Direction Général des Forêts) est parmi les organismes qui visent à protéger, conserver et valoriser des espèces autochtones tout en restant dans un contexte de respect de l'environnement. Certaines espèces menacées telles que l'*Acacia raddiana* et l'*Acacia albida* sont d'une grande priorité à être protéger vu leur endémisme et leur intérêt sur les plans écologique et économique pour les régions arides.

Les zones arides et semi-arides, sont des habitats pratiques pour un certain nombre de plantes herbacées, arbustives et arborées connues aussi sous le nom de plantes rustiques. Ces plantes peuvent être potentiellement utile pour des applications économiques, comme de nouvelles sources d'antioxydants naturels (**Meot-Duros et al., 2008**). Ces habitats sont exposés à divers contraintes abiotiques (salinité, sécheresse, chaleur et froid, luminosité et d'autres conditions environnementales difficiles), qui induisent un stress oxydatif aux plantes générant ainsi les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces plantes sont capables de résister et neutraliser les ERO toxiques, car elles sont dotées de puissants systèmes antioxydants, enzymatique et non enzymatiques pour surmonter aux conditions sévères du milieu (**Ben Hamed et al., 2005; Jithesh et al., 2006**).

Parmi les différents types d'antioxydants naturels, les polyphénols qui sont d'une grande importance, en raison de leurs multiples applications dans l'industrie alimentaire, cosmétique, matériaux pharmaceutiques et médicinales (**Maisuthisakul et al., 2007**).

Les Acacias ont un rôle multifonctionnel tel que l'alimentation des ruminants, fournir du bois de cuisson et ils sont également utilisés comme une source de médicaments pour traiter les maladies du bétail et autres maladies humaines par la plupart des communautés vivant dans les zones arides et semi arides de l'Afrique (New, 1984; Grade et al., 2009). En effet, les feuilles de l'*Acacia raddaina*, pilées avec du haricot, sont employées dans le traitement des dermatoses allergiques. Elles sont également utilisées dans les soins des cheveux, le traitement de la teigne. Les fruits sont utilisés contre les inflammations et les maux de dents. L'écorce de l'*Acacia raddiana* a des propriétés vermifuges et guérissent les maladies de la peau, la poudre de l'écorce séchée est saupoudrée sur les plaies pour les désinfecter et les faire cicatriser (Bellakhdar, 1997). Quant à l'*Acacia albida*, c'est un arbre à usages multiples (feuilles et fruits fourragers, bois, propriétés médicinales), potentiellement fixateur d'azote. Cet arbre a été remarqué pour sa capacité à améliorer la fertilité des sols et augmenter le rendement des cultures plantées dans la zone de son ombre (Vandenbeldt, 1992).

La composition phénolique est liée à la génétique de l'espèce (De Abreu et Mazzafera, 2005), et leur quantification dépend aussi du solvant utilisé pour leur extraction. Par exemple, le méthanol absolu a été utilisé pour l'extraction des polyphénols du thé (Yao et al., 2006) et 50% de l'acétone pour l'extraction des polyphénols totaux chez le blé (Zhou et Yu, 2004), qui se sont avérés être plus efficaces que l'eau. En outre, Hayouni et al. (2007) ont rapporté que l'eau et les solvants organiques utilisés individuellement ou en mélange, affectent significativement le contenu en polyphénols totaux de *Quercus coccifera* L. et *Juniperus phoenicea* L. Il est aussi apparu que les extraits du même matériel végétal en fonction du solvant, peuvent largement varier sur les plans concentration en polyphénols et propriétés antioxydantes.

Dans ce contexte, Khokhar et Magnusdottir (2002) rapportent que l'eau se trouve à être le meilleur solvant pour extraire les catéchines du thé par rapport au méthanol 80% et à l'éthanol 70%.

Par conséquent, la solubilité des composés phénoliques est en fait déterminé par le type de solvant utilisé, le degré de polymérisation de composés phénoliques, ainsi que par l'interaction des composés phénoliques avec d'autres constituants (Djeridane et al., 2006).

Le but du présent travail est d'établir une comparaison entre deux espèces d'Acacia, *Acacia raddiana* et *Acacia albida* en utilisant trois solvants de polarité croissante (chloroforme, éthanol et eau) pour trois organes collectés sur terrain (feuilles, fruits et écorce). La comparaison sera faite, à la base, par une étude quantitative des polyphénols totaux et une étude qualitative de l'activité antioxydante en appliquant le test du piégeage du radical libre DPPH. Ces deux paramètres nous permettront de choisir la meilleure espèce pour la suite de nos travaux.

## **1.2. Méthodologie**

### **1.2.1. Préparation des échantillons**

Trois organes (feuilles, fruits et écorce) de l'*Acacia albida* et *Acacia raddiana* ont été collectés dans la région de Tindouf à l'extrême sud-ouest algérien. Les organes prélevés ont été rincés à l'eau distillée, puis séchés à 60°C à l'étuve pendant 72 heures, les échantillons des deux plantes ont été finement broyés à l'aide d'un broyeur à lames pour obtenir une poudre fine qui est conservée dans des flacons en verre à l'obscurité à 4°C jusqu'à analyse.

### **1.2.2. Screening phytochimique**

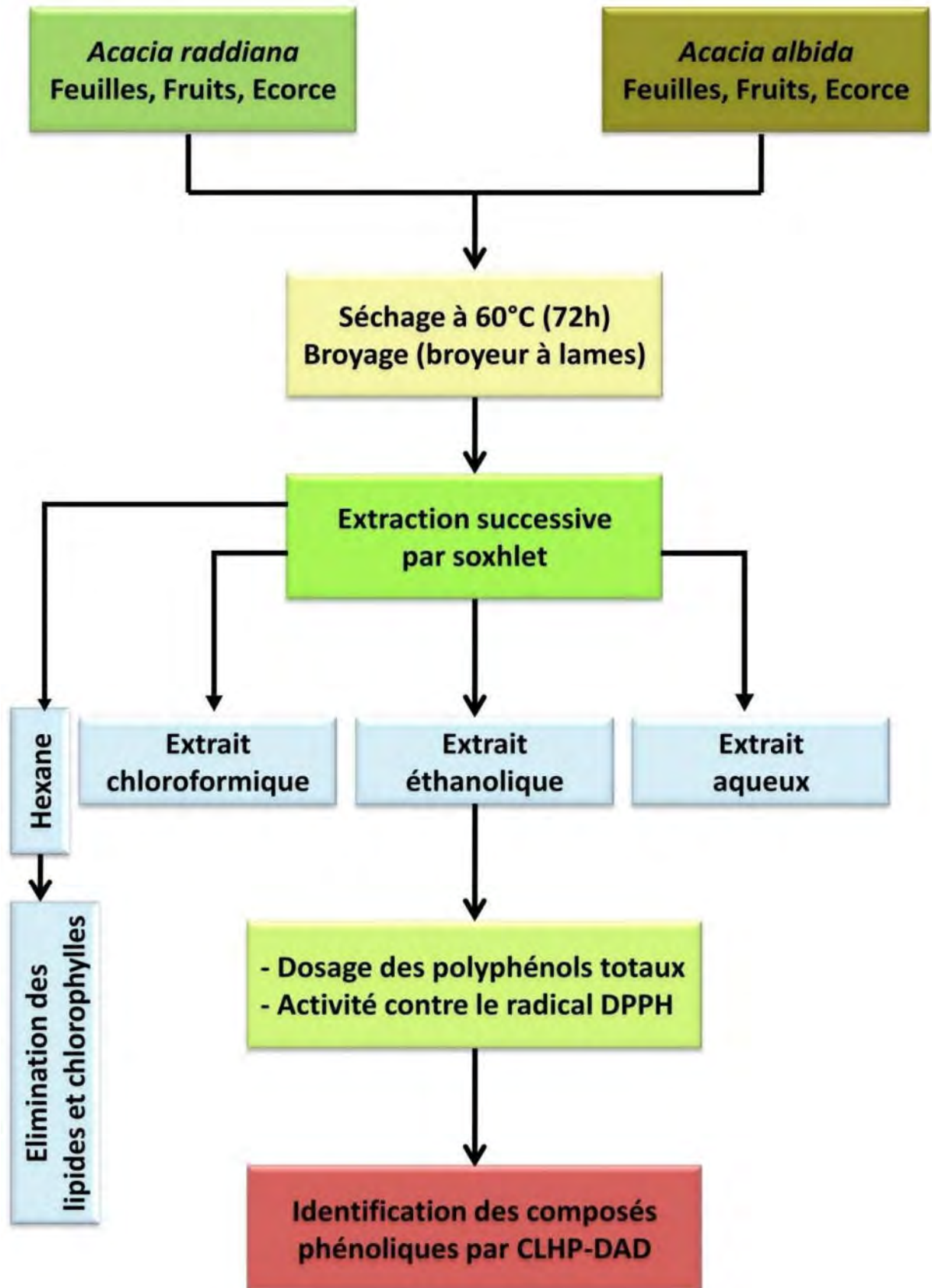
L'extraction a été réalisée par le système Soxhlet où nous avons opté pour une extraction successive ou par épuisement en faisant passer l'hexane en premier afin d'éliminer tout ce qui est inactif (pigments et lipides), puis nous avons fait succéder trois solvants de polarité croissante, à savoir : l'éthanol, le chloroforme et enfin l'eau. Le cycle de chaque solvant a duré 24 heures.

Tous les extraits obtenus ont fait l'objet d'une évaluation quantitative et qualitative par spectrophotométrie. L'évaluation quantitative a été faite au moyen d'un dosage des polyphénols totaux, quant à l'évaluation qualitative, du potentiel antioxydant, a été faite par le test de piégeage du radical libre DPPH.

**1.2.3. Identification des composés phénoliques par Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP)**

Les composés phénoliques ont été séparés et identifiés par un système de chromatographie liquide à haute performance en phase inverse de marque (Agilent Technologies 1260, Germany). Les extraits les plus actifs de l'espèce la plus intéressante ont fait l'objet d'une analyse CLHP. Le détecteur (DAD) est ajusté à un balayage de scan de 200 à 400 nm, la température de la colonne est maintenue à 25°C, le volume injecté est de 2 µL et la phase mobile utilisée est constituée de deux solvants A et B : Solvant A (Méthanol), Solvant B (Eau milliQ contenant 0.1 % d'acide formique). Le débit de cette phase est fixé à 0.4 ml/min.

La démarche méthodologique suivie est résumée par le schéma suivant :

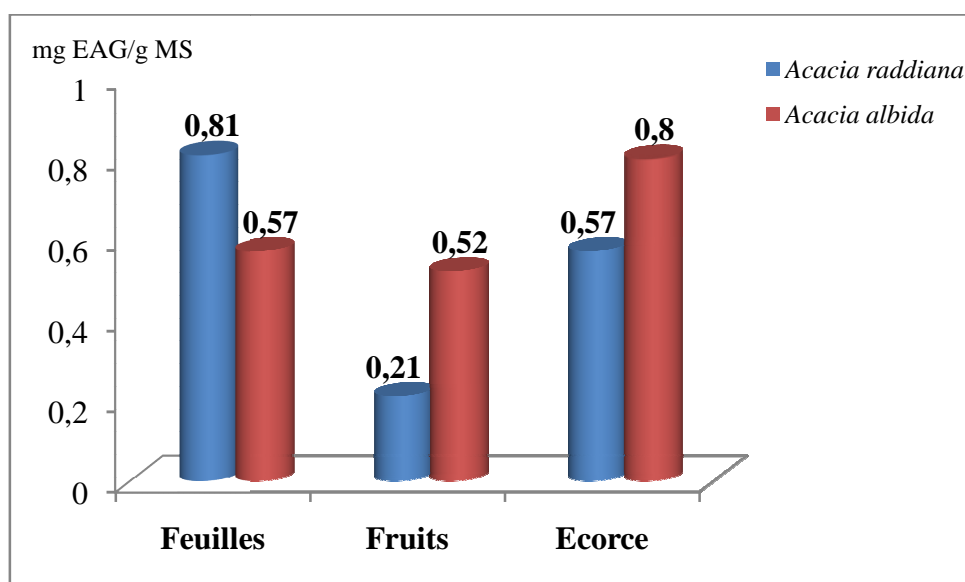


### 1.3. Résultats

#### 1.3.1. Teneurs en polyphénols totaux dans les différents organes de *Acacia albida* et *Acacia raddiana*

##### 1.3.1.1. Extrait chloroformique

L'estimation de la teneur en polyphénols totaux en utilisant le réactif du Folin Ciocalteu indique que *l'Acacia albida* est plus riche en composés phénolique par rapport à *l'Acacia radianna*. (Figure.10).



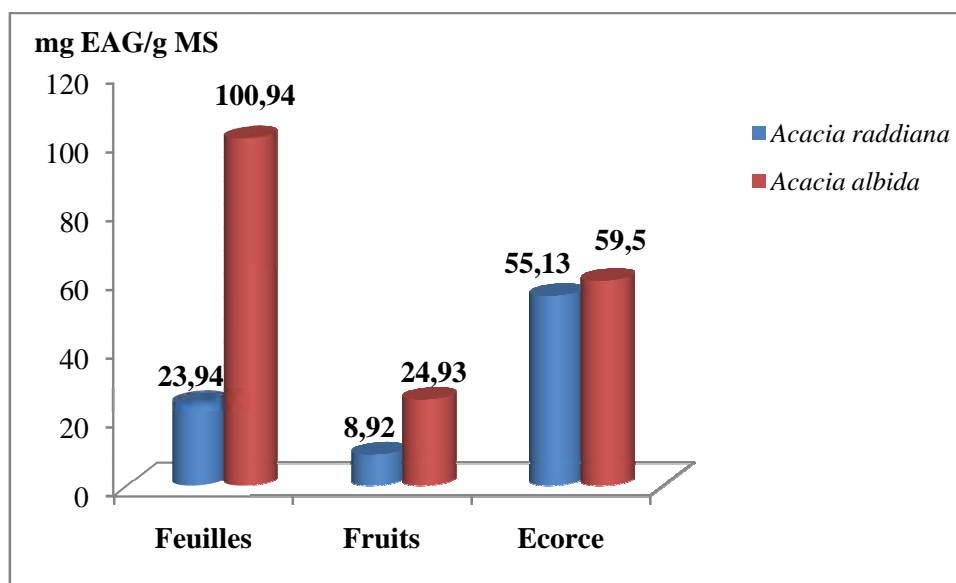
**Figure.10.** Teneurs en polyphénols totaux de l'extrait chloroformique exprimées en mg EAG/g MS des trois organes chez *Acacia raddiana* et *Acacia albida*

Les résultats de la figure 10 indique que la teneur en polyphénols totaux de l'extrait chloroformique est très faible et se situe entre 0.21 et 0.81 mg EAG/g MS cependant, en comparant les organes des deux espèces nous pouvons conclure qu'il existe une différence pour les fruits et l'écorce en faveur de *l'Acacia albida*, tandis que cette différence pour les feuilles et plus marqué en faveur de *l'Acacia raddiana*



### 1.3.1.2. Extrait éthanolique

Les résultats des teneurs en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique exprimées en mg EAG/g MS des trois organes chez l'*Acacia raddiana* et *Acacia albida* sont représentés dans la figure.11.

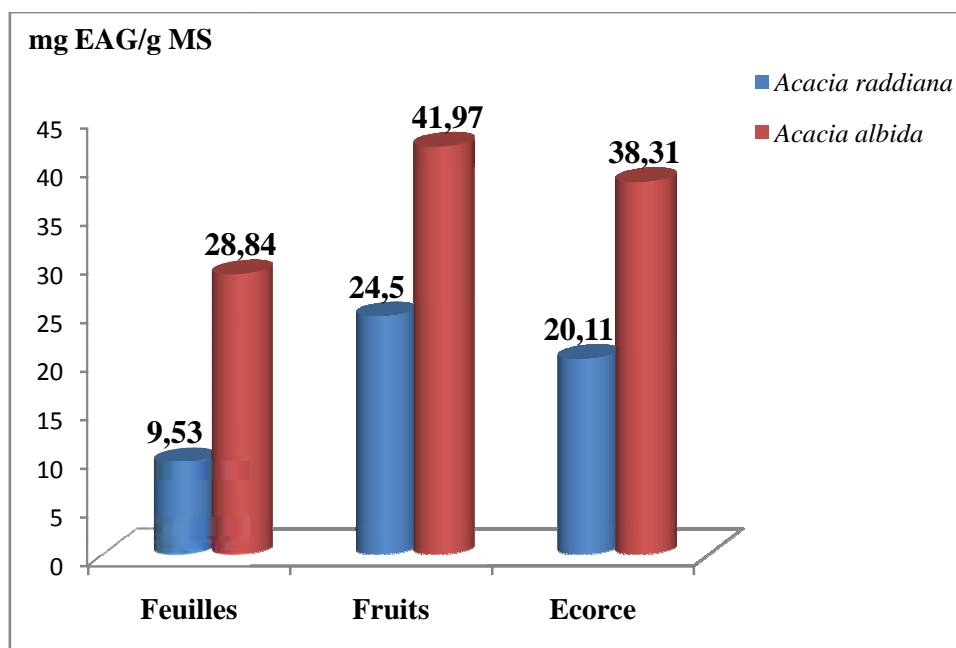


**Figure.11.** Teneurs en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique exprimées en mg EAG/g MS des trois organes chez *Acacia raddiana* et *Acacia albida*

Les résultats de la figure.11 indiquent une variabilité très importante intraspécifique en fonction de l'organe et interspécifique en fonction de l'espèce. Cette variabilité est plus importante dans les feuilles où nous avons noté une concentration en polyphénols totaux de 100.94 mg EAG/g MS pour l'*Acacia albida* contre une valeur de 23.94 mg EAG/g MS pour l'*Acacia raddiana*. Pour l'écorce, les valeurs sont proches où nous avons noté 59.5 et 55.13 mg EAG/g MS pour l'*Acacia albida* et *Acacia raddiana*, respectivement. Les valeurs les plus faibles sont noté pour les fruits avec 24.93 mg EAG/g MS pour l'*Acacia albida* et 8.92 mg EAG/g MS pour l'*Acacia raddiana*.

### 1.3.1.3. Extrait aqueux

Les résultats des dosages des polyphénols totaux des feuilles, fruits et écorce de l'*Acacia raddiana* et *Acacia albida* sont résumés dans la **Figure.12**.



**Figure.12.** Teneurs en polyphénols totaux de l'extrait aqueux exprimées en mg EAG/g MS des trois organes chez *Acacia raddiana* et *Acacia albida*

La figure 12 montre qu'il existe des différences en matière de contenance en polyphénols totaux d'une espèce à une autre pour les trois organes avec une balance en faveur de l'*Acacia albida*. Pour l'extrait aqueux, ce sont les fruits qui exhibent le meilleur résultat où nous avons noté 41.97 et 24.5 mg EAG/g MS pour *Acacia albida* et *Acacia raddiana*, respectivement. Pour l'écorce, la quantité en polyphénols totaux est presque le double chez *A.albida* en comparaison avec *A.raddiana* avec 38.31 mg EAG/g MS. Les feuilles de l'*Acacia albida* renferment 28.84 mg EAG/g MS qui est une valeur triple en comparaison avec celle de l'*Acacia raddiana*.

### 1.3.2. Capacité de piégeage du radical DPPH dans les différents organes de l'*Acacia albida* et *Acacia raddiana*

Comme pour les composés phénoliques, l'activité antioxydante via le piégeage du radical libre DPPH a montré une variabilité significative entre les deux espèces étudiées. L'utilisation de ce test a montré que la capacité antioxydante est très différente entre *Acacia albida* et *Acacia raddiana*, le plus souvent supérieure pour *Acacia albida*. Les différences entre les valeurs de la  $CI_{50}$  sont généralement très significatives pour les trois solvants d'extraction utilisés.

#### 1.3.2.1. Extrait chloroformique

L'extrait chloroformique exhibe une variabilité inter- et intra-spécifique où les valeurs de la  $CI_{50}$  varie de 59 à plus de 200  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  (**Tableau.8**). En comparant la capacité à piéger le radical DPPH entre les deux espèces, nous constatons que les résultats sont en faveur des fruits et écorce de l'*Acacia raddiana* où les valeurs sont deux à quatre fois plus importantes que celles enregistrées pour l'*Acacia albida*. Tandis que pour les feuilles, la  $CI_{50}$  est plus ou moins meilleure chez *Acacia albida*.

**Tableau.8.** Valeurs des  $CI_{50}$  (exprimées en  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) de l'extrait chloroformique pour le test DPPH des trois organes de l'*Acacia raddiana* et *Acacia albida*.

	<i>Acacia raddiana</i>	<i>Acacia albida</i>
<b>Feuilles</b>	190	165
<b>Fruits</b>	59	>200
<b>Ecorce</b>	61	100

#### 1.3.2.2. Extrait éthanolique

Le résultat des valeurs de la  $CI_{50}$  sont enregistrées dans le tableau.9. D'après ce tableau, nous constatons que tous les résultats sont en faveur de l'*Acacia albida* où l'extrait de l'écorce est en première position avec une  $CI_{50}$  égale à 26  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  suivie de l'extrait des feuilles avec 28  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Ces valeurs sont cinq à six fois plus importantes que celles enregistrées pour *Acacia raddiana*. Les valeurs notées pour les extraits de fruits restent semblables.

**Tableau.9** Valeurs des  $CI_{50}$  (exprimées en  $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ) de l'extait ethanologique pour le test DPPH des trois organes de l'*Acacia raddiana* et *Acacia albida*.

	<i>Acacia raddiana</i>	<i>Acacia albida</i>
<b>Feuilles</b>	125	28
<b>Fruits</b>	165	138
<b>Ecorce</b>	175	26

### 1.3.2.3. Extrait aqueux

Le résultat de piégeage du radical DPPH pour l'extrait aqueux est représenté dans le tableau.10. Comme pour l'extrait éthanologique, tous les résultats de la capacité à piéger le radical DPPH sont en faveur de l'*Acacia albida* où nous avons noté des valeurs de la  $CI_{50}$  de 22.5, 29 et 55  $\mu\text{g.ml}^{-1}$  pour les feuilles, l'écorce et les fruits, respectivement.

**Tableau.10.** Valeurs des  $CI_{50}$  (exprimées en  $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ) de l'extait aqueux pour le test DPPH des trois organes de l'*Acacia raddiana* et *Acacia albida*.

	<i>Acacia raddiana</i>	<i>Acacia albida</i>
<b>Feuilles</b>	199	22.5
<b>Fruits</b>	80	55
<b>Ecorce</b>	175	29

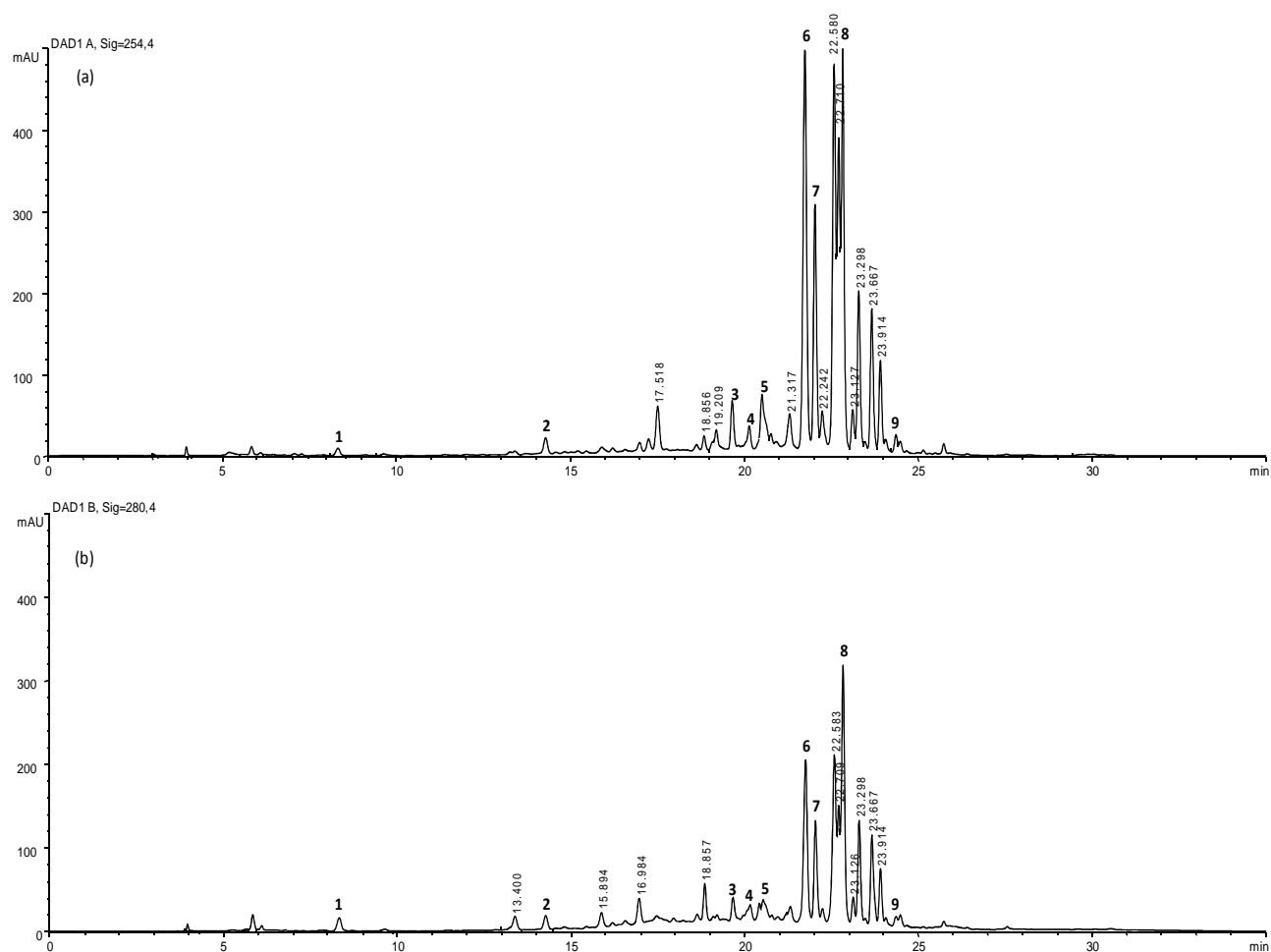
### 1.3.3. Identification des composés phénoliques par CLHP

Pour l'analyse CLHP, nous avons choisi de comparer les deux extraits, éthanologique et aqueux, des feuilles de l'*Acacia albida*, vu leur importante contenance en polyphénols et en raison de leur bonne activité antioxydante contre le radical libre DPPH.

L'identification des composés phénoliques a été effectuée en comparant les temps de rétention des pics obtenus à ceux des standards de composés phénoliques injectés dans les mêmes conditions chromatographiques.

### 1.3.3.1. Extrait éthanolique

L'analyse de l'extrait éthanolique des feuilles de l'*Acacia albida* par CLHP a révélé que cette plante contient des composés phénoliques. Neuf composés ont été identifiés en comparaison avec les standards injectés dans les mêmes conditions chromatographiques. Les Chromatogrammes de l'extrait éthanolique des feuilles enregistrés en UV à 254 nm et 280 nm sont représentés par la figure.13



**Figure.13.** Profils chromatographiques de l'extrait éthanolique des feuilles enregistrés en UV : (a) Chromatogramme enregistré en UV à 254 nm, (b) Chromatogramme enregistré en UV à 280 nm. Les pics correspondent à : (1) Acide gallique, (2) (-)-Epigallocatechine, (3) Resveratrol 3-O- glucoside, (4) Acide P-coumarique, (5) Acide ferulique, (6) Rutine, (7) Oleuropéine, (8) kaempferol-3-O rutinoside, (9) Quercétine.

Selon la figure.13, l'analyse du chromatogramme de l'extrait éthanolique révèle la présence de trois composés phénoliques du types acides phénoliques, quatre du types flavonoïdes et un de la classe des stilbènes.

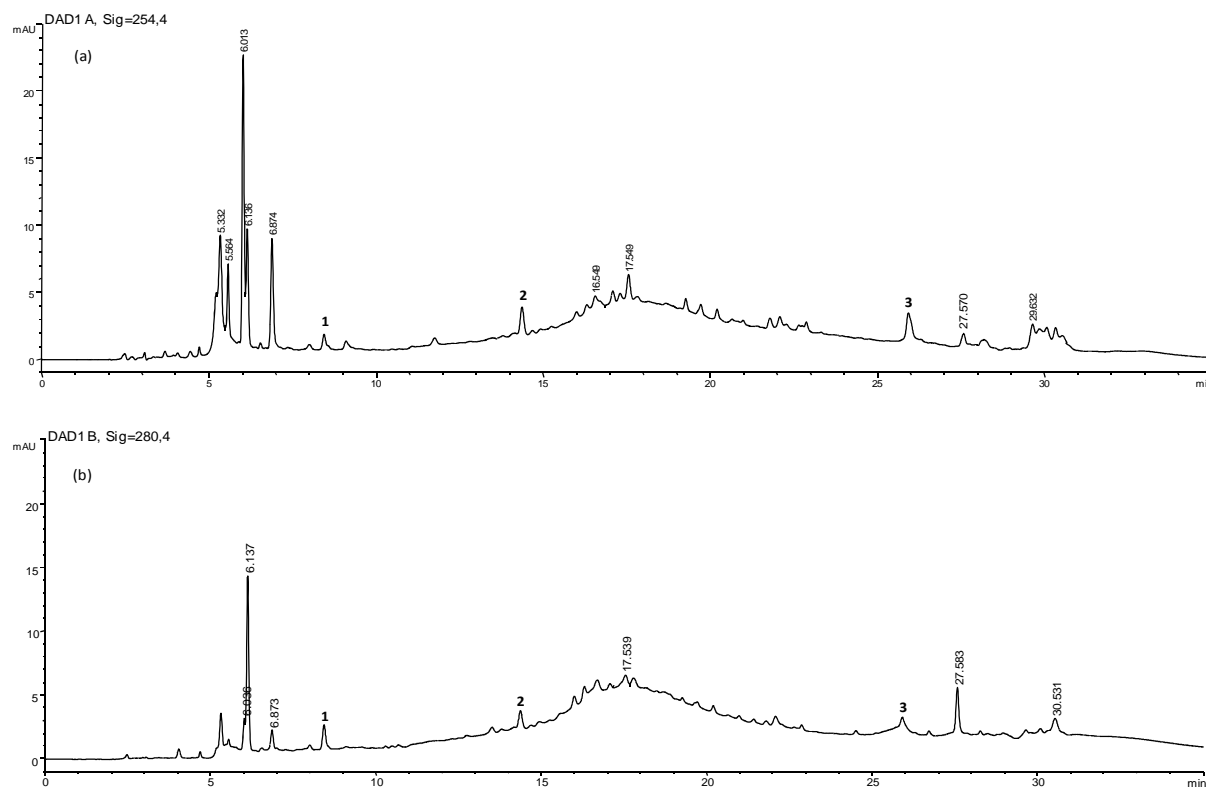
Les acides phénoliques identifiés dans cet extrait sont l'acide gallique, l'acide *p*-coumarique et l'acide férulique (élués à 8.323, 20.159 et 20.526 min respectivement). Les flavonoïdes détectés sont Epigallocatechin, Rutin, kaempferol-3-O rutinoside et la quercétine (élués à 14.284, 21.749, 22.836 et 24.362 min respectivement).

Concernant le Resveratrol 3- O- glucoside, qui fait partie de la classe des stilbènes, a été élué à 19.669 min.

#### **1.3.3.2. Extrait aqueux**

L'analyse de l'extrait aqueux des feuilles de l'*Acacia albida* par CLHP a révélé que cette fraction contient trois composés phénoliques. Ces composés ont été identifiés en comparaison avec les standards injectés dans les mêmes conditions chromatographiques.

Les chromatogrammes de l'extrait aqueux des feuilles enregistrés en UV à 254 nm et 280 nm sont illustrés par la figure.14.



**Figure.14.** Profils chromatographiques de l'extrait aqueux des feuilles enregistrés en UV : (a) Chromatogramme enregistré en UV à 254 nm. (b) Chromatogramme enregistré en UV à 280 nm. Les pics correspondent à : (1) Acide gallique, (2) (-)Epigallocatechine, (3) Apigénine.

Concernant l'extrait aqueux des feuilles de l'*Acacia albida*, nous avons observé un profil phénolique différent de celui de l'extrait éthanolique. En effet, ce chromatogramme (**Figure.14**) est constitué de trois composés phénoliques dont l'acide gallique qui est un acide phénolique élué à 8.444 min et deux flavonoïdes qui sont l'Epigallocatechin et l'Apigenin élués à 14.365 et 25,927 min, respectivement.

## 1.4. Discussion

Dans cette étude, l'effet protecteur antioxydant de l'*Acacia raddiana* et *Acacia albida* a été mesurée par une méthode *in vitro* de piégeage du radical libre. Le contenu en polyphénols totaux des différents organes des deux espèces a également été évalué. Les organes des deux espèces ont été collectés dans la région de Tindouf à l'extrême sud-ouest algérien appartenant à l'étage bioclimatique saharien. Nos données montrent que les deux espèces étudiées exhibent une importante variabilité intra-spécifique dans leur contenu polyphénolique ainsi que dans leur activité antiradicalaire.

Sur la base des valeurs d'absorption après réaction avec le réactif Folin-Ciocalteu, les résultats de l'analyse colorimétrique sont donnés par les figures.10, 11 et 12. Ces résultats affichent une variabilité importante des composés phénoliques en fonction de l'espèce, de l'organe et du solvant d'extraction selon l'analyse statistique ANOVA.

En ce qui concerne la teneur totale en composés phénoliques, les extraits éthanoliques sont ceux qui ont donné les plus hautes teneurs totales en phénols, atteignant une valeur de 100.94 mg EAG/g MS, suivis par les extraits aqueux avec une valeur maximale de 41.97 mg EAG/g MS et enfin les extraits chloroformiques avec une valeur ne dépassant pas 0.81 mg EAG/g MS. Dans ce sens, plusieurs études ont montré que la teneur en polyphénols diffère avec la polarité du solvant d'extraction (**Trabelsi et al., 2010**).

D'une part, la variabilité intra-spécifique est aussi prononcée où nous avons enregistré d'importante quantité en polyphénols totaux en faveur de l'*Acacia albida* où les valeurs maximales ont atteint 100.94 mg EAG/g MS tandis que la plus grande valeur enregistrée chez *Acacia raddiana* est presque la moitié correspondant à 55.13 mg EAG/g MS. Cette différence est sûrement lié à la génétique de l'essence (**Ammar et al., 2012**). Des travaux antérieurs de **Fратиanni et al. (2007)** et ceux de **De Abreu et Mazzafera (2005)** ont déjà signalé que la composition phénolique chez les plantes est liée à la génétique de l'espèce.

D'autre part, nous avons aussi noté une variabilité interspécifique entre les différents organes de la même espèce. Par exemple pour l'extrait éthanolique de l'*Acacia albida*, les feuilles contiennent 100.94 mg EAG/g MS de polyphénols totaux, suivi de l'écorce avec 59.5 mg EAG/g MS et enfin les fruits avec 24.93 mg EAG/g MS.



En comparant nos résultats avec des travaux antécédents, nous pouvons dire que la teneur totale en phénols de l'*Acacia albida* est significativement plus élevée par rapport à d'autres plantes médicinales halophytes telles que *Tamarix gallica* (34,44 mg mg EAG/g MS) et à d'autres espèces glycophytes telles que *Nigella sativa* L. (10,04 mg EAG/g MS) (**Ksouri et al., 2009; Borgou et al., 2008**).

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits de l'*Acacia albida* et *Acacia raddiana*, un test *in vitro* fiable et rapide, qu'est le test de piégeage du radical libre DPPH, a été réalisé. Le DPPH est un radical libre qui accepte un électron ou un radical d'hydrogène pour devenir une molécule diamagnétique stable (**Soares et al., 1997**). La capacité de réduction du radical DPPH a été déterminée par la diminution de l'absorbance induite par les antioxydants végétaux. Le BHT est le réactif utilisé comme standard.

Comme pour la contenance en polyphénols, les résultats de la capacité de piégeage du radical DPPH suivent la même tendance où les extraits éthanolique et aqueux donnent les meilleurs  $CI_{50}$  en comparaison avec l'extrait chloroformique. Cela est probablement dû au fait que la concentration en composés phénoliques de ce dernier est très faible. Nos résultats se joignent à ceux trouvés par **Srikanth et al. (2013)** qui ont comparé l'effet de trois solvants d'extraction, à base d'éthanol, acétate d'éthyle et hexane, sur le piégeage du radical libre DPPH. Leurs résultats ont montré que la meilleure valeur de la  $CI_{50}$  (116  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) est enregistrée par l'extrait éthanolique ce qui confirme en partie les résultats que nous avons obtenu sur l'*Acacia*.

Il est extrêmement important de souligner que certains travaux ont rapporté qu'il y a une corrélation positive entre le potentiel antioxydant et le contenu phénolique estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu (**Ksouri et al., 2007**).

Par conséquent, la haute teneur en phénols totaux dans les extraits éthanoliques pourrait expliquer la forte propriété antioxydante de l'*Acacia albida* et principalement dans les feuilles et l'écorce. En fait, des relations significatives entre la concentration phénolique et l'efficacité antioxydante ont déjà été signalées dans *Suaeda maritima* (**Gazala et al., 2013**) et *Cakile maritima* (**Ksouri et al., 2007**).

Cependant, malgré que l'extrait aqueux montre une richesse moins importante que celle de l'extrait éthanolique, il exhibe une activité antiradicalaire semblable à ce dernier.

Des études ont pu démontrer que cette activité antioxydante contre le radical libre DPPH dépend non seulement de la richesse en polyphénols mais aussi de la nature phénolique, la structure et les interactions synergique (**Djeridane et al., 2006**).

La comparaison de nos résultats avec des travaux antérieurs indiquent que l'*Acacia albida* est plus active par rapport à *Argania spinosa* dont les extraits de fruits exhibent une  $CI_{50}$  égale à  $32,3 \mu\text{g.ml}^{-1}$  (**El Babili et al., 2010**). En outre, cette activité antiradicalaire des extraits d'*Acacia* est meilleure en comparaison avec d'autres plantes médicinales halophytes, telles que *Salicornia herbacea* ( $CI_{50} = 55,3 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) (**Essaidi et al., 2013**) et d'autre espèces glycophytes comme *Pisonia alba* et *Centella asiatica* ( $CI_{50} = 175 \mu\text{g.ml}^{-1}$  et  $200 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , respectivement) (**Subhasree et al., 2009**).

L'analyse des composés phénolique par CLHP a confirmé les résultats obtenus du dosage des polyphénols totaux par spectrophotométrie, où nous avons pu identifier neuf molécules dans l'extrait éthanolique des feuilles contre seulement trois molécules pour l'extrait aqueux. Les deux extraits ont exhibé une forte activité antioxydante à neutraliser le radical libre DPPH, cette forte activité des feuilles de l'*Acacia albida* pourrait être attribuée à la présence de composés phytochimiques tels que les composés phénoliques (**Falleh et al., 2008 ; Oueslati et al., 2012**). Dans ce sens, de nombreux études ont montré que beaucoup de polyphénols contribuent de manière significative à l'activité antioxydante pour de nombreux fruits et légumes (**Negro et al., 2003 ; Luo et al., 2002**) et pour des plantes médicinales (**Borgou et al., 2008**).

De nombreux composés phénoliques identifiés dans les feuilles de l'*Acacia albida* sont connus pour leur pouvoir antioxydants.

L'acide gallique est un acide phénolique qui a été signalé comme étant un composé avec de nombreux activités biologiques telles que le piégeage des radicaux libres (**Kanai et Okano, 1998 ; Dwibedy et al., 1999**) et la perturbation du signal des voies qui génèrent les espèces réactives de l'oxygène (**Sakaguchi et al., 1996, ; Inoue et al., 2000 ; Sohi et al., 2003**). Il a été mis en évidence que l'acide p-coumarique est un antioxydant qui agit contre les radicaux libres (**Laranjinha et al., 1994**).

L'acide férulique est aussi un acide phénolique dont sa spécificité est d'éliminer les espèces réactives de l'oxygène et les radicaux libres.

Ces propriétés antioxydantes ont été confirmées par de nombreuses études (**Graf, 1992 ; Nabi et Liu, 2012 ; Niwa et al., 2001 ; Ogiwara et al., 2002 ; Rice-Evans et al., 1996 ; Xiaokun et al., 2004**).

L'epigallocatechine est un flavonoïde connu pour neutraliser les quantités excessives des espèces réactives de l'oxygène, telles que l'anion superoxyde, les radicaux hydroxyles et l'oxygène singulet (**Yang et Hong, 2013 ; Lambert et Elias, 2010**).

La rutine est un flavonoïde connu aussi sous le nom de vitamine P, il a la capacité de renforcer les vaisseaux capillaires sanguins qui est le résultat de sa forte activité antioxydante et de sa capacité à piéger les radicaux libres (**Guo et al., 2007**).

La quercétine comme le kaempferol-3-O rutinoside sont des flavonoïdes connus pour leur forte activité antioxydante et leur pouvoir à augmenter la résistance au stress (**Rice-Evans et al., 1996 ; Kampkötter, 2008**).

**Sreemanti Das et al. (2013)** ont démontré que l'apigénine est un flavonoïde possédant une importante activité antioxydante et inhibe la génération des espèces réactives de l'oxygène. Plusieurs travaux ont rapporté qu'il existe une corrélation significative et positive entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antiradicalaire (**Hanson et al., 2004 ; Trabelsi et al., 2010**), cependant ce n'est pas le cas de nos résultats où nous avons obtenu une activité antiradicalaire du DPPH importante de l'extrait aqueux qui contient moins de polyphénols en comparaison avec l'extrait éthanolique. Ceci peut être expliqué par les résultats de **Djeridane et al. (2006)** qui estiment que l'existence d'une synergie entre les différents composés phénoliques peut être déterminante dans la capacité antioxydante d'une plante donnée. Ainsi, cette activité ne dépend pas seulement de la teneur en polyphénols mais aussi de la structure et de l'interaction entre les différents composés. En outre, les composés phénoliques d'un extrait peuvent agir de façon antagoniste ou synergique ou encore cumulative ce qui influence l'activité antioxydante finale de l'extrait (**Troszynska et al., 2002 ; Subba Rao et Muralikrishna, 2002 ; Lim et Quah, 2007**).

### **1.5. Conclusion**

Comme conclusion pour ce volet, il convient de dire que l'étude quantitative des composés phénoliques ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante, à travers le test de piégeage du radical libre DPPH des trois extraits de l'*Acacia albida* et *Acacia raddiana*, dévoilent une importante variabilité aussi bien entre les deux espèces qu'entre les solvants d'extraction. En effet, et d'une manière générale, *Acacia albida* s'est distinguée de l'*Acacia raddiana* par sa richesse en composés phénoliques ainsi que par sa propriété antioxydante. Les extraits éthanolique et aqueux des feuilles et écorce sont ceux qui ont donné les résultats les plus significatifs. Cette première sélection a permis de retenir ces deux extraits des deux organes de l'*Acacia albida* sur lesquels d'autres analyses seront menées dans la suite de notre travail.

## 2. QUANTIFICATION DES COMPOSES PHENOLIQUES PAR CLHP-DAD ET EVALUATION DE LEURS ACTIVITES ANTIOXYDANTES CHEZ ACACIA ALBIDA

### Résumé

*Acacia albida* est une espèce arborée spontanée dans le Sahara algérien et résiste à des conditions environnementales sévères. Cet arbre est largement utilisé comme un remède traditionnel contre le rhume, la fièvre, la carie dentaire, les vomissements, la diarrhée, les perturbations urinaires, le paludisme et l'inflammation. Jusqu'à présent, aucune étude sur les composés phénoliques de cette espèce n'a été réalisée en Algérie. Ce travail consiste à évaluer le contenu en métabolites secondaires (composés phénoliques) et d'étudier leurs activités antioxydantes en comparant les différents organes de l'*Acacia albida* (feuilles et écorce) et quantifier ces biomolécules par CLHP de l'organe le plus riche en ces composés. En comparant les résultats quantitatifs des organes analysés, nous avons noté des différences dans le contenu en polyphénols totaux (100 et 59,5 mg EAG.g<sup>-1</sup> MS). Le contenu phénolique des feuilles est deux fois plus élevé que celui de l'écorce. Sur le plan qualitatif les extraits éthanoliques et aqueux des deux organes présentent une bonne activité antioxydante avec des CI<sub>50</sub> allant de 22.66 à 29 µg.ml<sup>-1</sup> pour le piégeage du DPPH et des CE<sub>50</sub> allant de 34.33 à 65 µg.ml<sup>-1</sup> pour le test FRAP. La quantification par CLHP des composés phénoliques identifiés dans les feuilles de l'*Acacia albida* a montré que pour l'extrait éthanolique les concentrations les plus importantes sont notées pour Oleuropéine, kaempferol-3-O rutinoside, Rutine, Resveratrol 3- O- glucoside et Epigallocatechine avec des valeurs supérieures à 100 ppm, tandis que pour l'extrait aqueux la valeur maximale ne dépasse pas les 8 pmm pour l'Epigallocatechine. Les résultats suggèrent que cette espèce peut potentiellement être utilisée comme source d'antioxydants naturels.

## 2.1. Introduction

Dans des conditions climatiques sévères, les plantes soumises à un stress produisent des espèces réactives de l'oxygène (EROs) qui conduisent à des lésions cellulaires et sont connues pour être impliquées dans plusieurs perturbations végétales, ainsi que dans les processus de sénescence. Les EROs peuvent également réagir avec des molécules biologiques, telles que l'ADN, des protéines ou des lipides, génèrent des mutations et endommagent les membranes, conduisant à des lésions au niveau des cellules et des tissus (Abdi et Ali, 1999). Les stress biotiques et abiotiques exercent une influence considérable sur la plage des métabolites secondaires dans les plantes (Ksouri et al., 2007).

Cette plage de composés phénoliques est très variable tant sur le plan qualitatif que quantitatif. Ces variations sont contrôlées par des facteurs génétiques, le développement de la plante et les conditions environnementales (De Abreu et Mazzafera, 2005). Le renforcement de la synthèse des métabolites secondaires en tant que réponse à des conditions de stress est censé protéger les structures cellulaires de l'oxydation (Chanwitheesuk et al., 2005). En effet, l'adaptation de nombreuses espèces de plantes aux conditions environnementales hostiles suggère la présence d'antioxydants dans leurs tissus (Jaleel et al., 2008 ; Maisuthisakul et al., 2007).

Les antioxydants sont divisés en deux principaux types en fonction de leur action. Des antioxydants primaires qui peuvent inhiber ou retarder l'oxydation en piégeant les espèces réactives de l'oxygène, grâce à la réduction. Des antioxydants secondaires qui fonctionnent par des ions métalliques de liaison, la conversion d'hydroperoxydes à des espèces non radicalaires, absorbant les rayonnements UV ou la désactivation de l'oxygène singulet. Parmi les différents types d'antioxydants naturels, les polyphénols sont ceux qui ont reçu plus d'attention (Luo et al., 2002).

Sur le plan de la structure, les composés phénoliques comprennent un cycle aromatique, portant un ou plusieurs substituant hydroxyles, et la gamme des molécules phénoliques va du simple au composé hautement polymérisé (Sakihama et al., 2002).

Les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins sont considérés comme les principaux composés phénoliques alimentaires. En plus de cette diversité, les polyphénols peuvent être associés à divers hydrates de carbone et acides organiques (Manach et al., 2004).

Ces composés présentent un large éventail de propriétés physiologiques, telles que les effets anti-allergiques, anti-athérogène, anti-inflammatoire, antimicrobien, anti-oxydant, anti-thrombotiques, cardioprotecteurs et vasodilatatrices (**Balasundram et al., 2006**).

Il ya un intérêt croissant vis-à-vis des antioxydants naturels pour leur utilisation dans les aliments ou les matériaux médicamenteux pour remplacer les antioxydants synthétiques, qui sont restreints en raison de leur cancérogénicité suspectée (**Velioglu et al., 1998**). En outre, les composés naturels ont une activité antioxydante plus forte que celle des composés synthétiques (**Maisuthisakul et al., 2007**).

*Acacia albida* est une espèce arborée de la famille des Fabacées. Cet arbre est la seule espèce du genre *Faidherbia* marquée par son endémisme. Il est localisé dans l'extrême sud ouest algérien. Cette espèce est connue pour son utilisation traditionnelle pour soigner les rhumes, la grippe, la fièvre, la carie dentaire, les vomissements, les diarrhées, les troubles urinaires, le paludisme et l'inflammation. Jusqu'à présent, très peu de travaux ont étudié la caractérisation de ses composés bioactifs (polyphénols). Ce travail porte sur cet aspect afin de fournir un outil d'aide à la décision pour le développement et la valorisation de cette espèce dans les domaines thérapeutique et médicinal.

## **2.2. Méthodologie**

### **2.2.1. Préparation des échantillons et extraction**

Des échantillons de l'*Acacia albida* (feuilles et écorce) ont été prélevés dans la région de Tindouf à l'extrême sud-ouest algérien (28°28'15.6'' N et 08° 08'25.7'' W, climat saharien) en 2013.

Les organes prélevés ont été rincés à l'eau distillée, laissés à température ambiante pendant 6 jours à l'obscurité, séchés au four pendant une heure à 60 ° C puis broyés en une poudre fine. L'extraction a été effectuée au moyen d'un Soxhlet (type Gerhardt) avec de l'éthanol pur. Les extraits éthanoliques obtenus ont fait l'objet d'une étude quantitative des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés. L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits s'est faite à travers différents tests *in vitro* à savoir : activité antioxydante totale, activité antiradicale DPPH et ABTS, pouvoir réducteur du fer et capacité d'éliminer l'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>).

### 2.2.2. Quantification des composés phénoliques par la chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

La quantification des composés phénoliques dans les organes d'*Acacia albida* a été effectuée en utilisant un système de CLHP (constitué d'un dégazeur à vide, un échantillonneur automatique, et une pompe binaire avec une pression maximale de 600 bar; Agilent 1260, Agilent technologies, Allemagne) équipé d'une phase inverse de la colonne analytique C18 taille 4,6 x 100 mm et 3,5  $\mu\text{m}$  (Zorbax Eclipse XDB C18). Le DAD a été réglé sur une plage de balayage de 200 à 400 nm. La température de la colonne a été maintenue à 25 °C. Le volume de l'échantillon injecté est de 20  $\mu\text{l}$  et le débit de la phase mobile est de 0,4  $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ . La phase mobile B est composée de l'acide formique à 0,1% et la phase mobile A est composée du méthanol. Le gradient du programme d'élution est le suivant : 10% A; 0-10 min, 20% A; 5-10 min, 30% A; 10-15; 50% A; 15-20 min, 70% A; 20-25 min, 90% A; 25-30 min; 50% A de 30 à 35 min; et enfin 10% A.

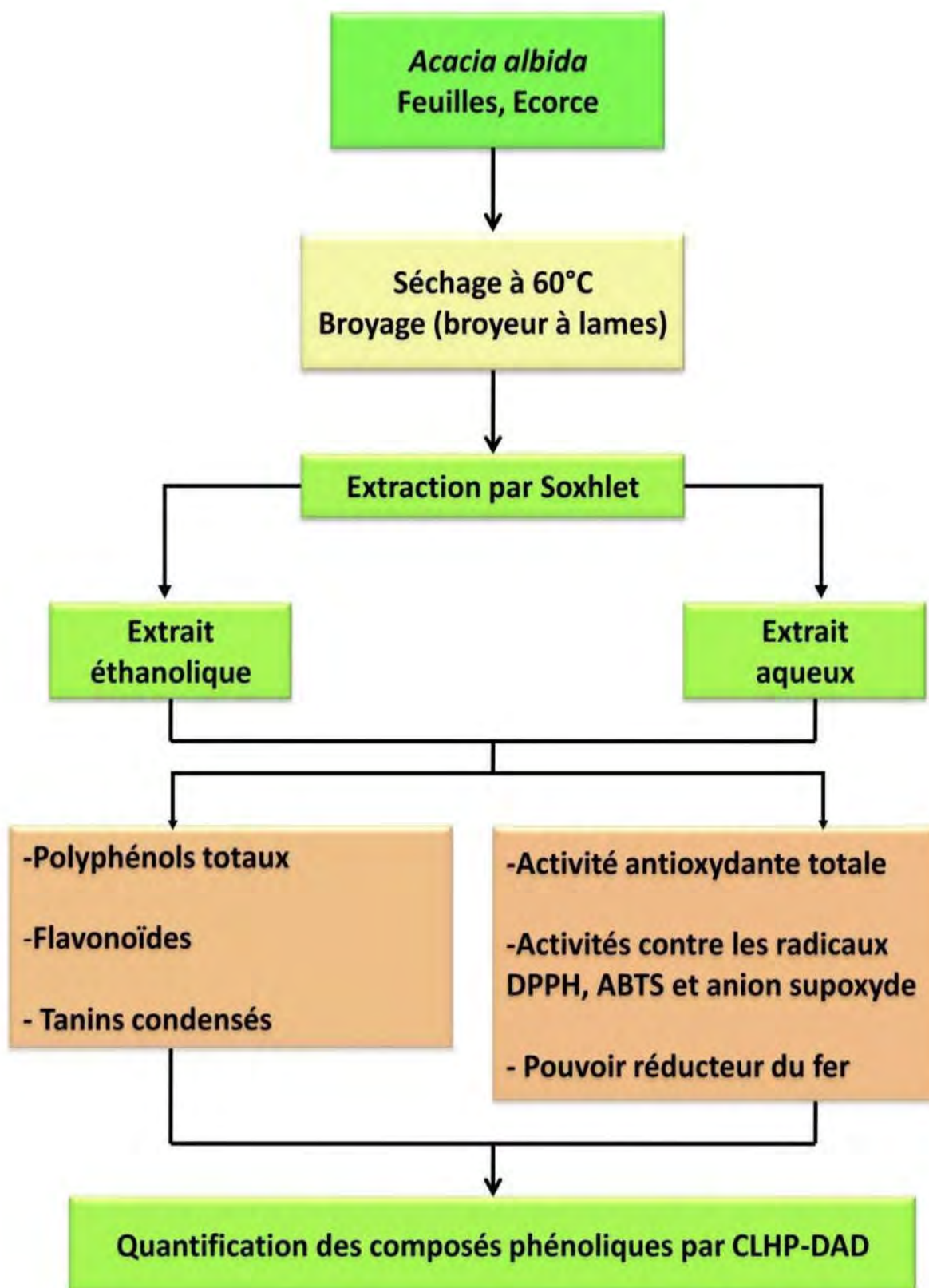
### 2.2.3. Analyse statistique

Toutes les analyses ont été effectuées en trois répétitions. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type. Les données sont analysées statistiquement en utilisant le logiciel statistique Minitab.2000.

Le test indépendant « *t* » a été utilisé pour la comparaison des moyennes entre les groupes. L'analyse de la variance à un facteur contrôlé (ANOVA) et le test de la différence significative de *Tukey* ont été utilisés pour comparer les moyennes des groupes. Un test de corrélation de *Pearson* a été utilisé pour étudier la relation entre la composition en antioxydants et leurs activités antioxydantes. Le niveau de signification est fixé à  $p < 0.05$ .

La démarche méthodologique est résumée par le schéma suivant :





## 2.3. Résultats et discussion

### 2.3.1. Quantification spectrophotométrique des composés phénoliques

Dans cette étude, l'effet protecteur des antioxydants de l'*Acacia albida* a été mesuré par plusieurs méthodes *in vitro*. Les polyphénols totaux, les flavonoïdes, et le contenu en tanins condensés ont également été évalués.

Les feuilles et l'écorce de l'*Acacia albida* ont été récoltées du même site (région de Tindouf) et en même temps afin d'éviter les influences climatiques sur le potentiel de l'activité antioxydante. Nos données montrent que les organes étudiés ont montré une variabilité dans leur contenu polyphénolique ainsi que dans leurs activités antioxydantes.

D'après les résultats obtenus, les deux organes présentent une quantité intéressante de la teneur en composés phénoliques totaux. Toutefois, la plus forte concentration a été notée pour l'extrait éthanolique des feuilles avec 100.94 mg EAG.g<sup>-1</sup> MS suivis par l'extrait éthanolique de l'écorce avec 59.50 mg EAG.g<sup>-1</sup> MS et enfin les extraits aqueux de l'écorce et feuilles avec respectivement 38.31 et 28.84 mg EAG.g<sup>-1</sup> MS (**Tableau.11**).

Malgré cette différence entre les deux organes d'*Acacia albida*, ces résultats restent importants en comparaison avec ceux obtenus sur d'autres espèces connues pour leurs activités biologiques importantes, telles que *Nigella sativa* dans laquelle **Bourgou et al., (2008)** ont rapporté une valeur de 10,04 mg EAG.g<sup>-1</sup> MS. De même, **Ksouri et al., (2009)** qui ont travaillé sur *Tamarix gallica* ont trouvé une quantité de 34,44 mg EAG.g<sup>-1</sup> MS dans les feuilles. Nos valeurs sont également plus élevées que celles trouvées chez certaines espèces halophiles telles que *Suaeda fruticosa* avec 37,1 mg EAG.g<sup>-1</sup> MS (**Oueslati et al., 2012**), *Cakile maritima* avec 66,93 mg EAG.g<sup>-1</sup> MS (**Ksouri et al., 2007**) et *Atriplex halimus* avec 10,12 mg EAG.g<sup>-1</sup> MS (**Benhammou et al., 2009**).

**Tableau.11.** Polyphénols totaux (mg EAG.g<sup>-1</sup> MS), flavonoïdes et tanins condensés (mg EC.g<sup>-1</sup> MS) dans les feuilles et écorce de l'*Acacia albida*.

Organes	Polyphénols totaux	Flavonoïdes	Tanins condensés
	mg EAG.g <sup>-1</sup> MS	mg EC.g <sup>-1</sup> MS	
Feuilles éthanol	100.94±1.42 <sup>a</sup>	2.837±0.989 <sup>a</sup>	0.11±0.04 <sup>a</sup>
Feuilles eau	28.84	1.62	0.003
Ecorce éthanol	59.50±1.308 <sup>b</sup>	2.117±0.814 <sup>a</sup>	0.14±0.05 <sup>a</sup>
Ecorce eau	38.31	2.33	0.13

Les valeurs des flavonoïdes des feuilles et l'écorce sont très proches. Dans l'extrait éthanolique des feuilles, les flavonoïdes représentent 2,837 mg EC.g<sup>-1</sup> MS, soit près de 3% des polyphénols totaux, tandis que dans l'extrait aqueux de l'écorce, ils représentent 2,117 mg EC.g<sup>-1</sup> MS, soit environ 4%. L'analyse statistique ne révèle aucune différence significative entre les deux organes (**Tableau.11**).

Nos résultats sont nettement plus importants que ceux obtenus sur des feuilles de deux variétés de *Zea mays* Aristo et Arper avec 1,11 et 1,08 mg EC.g<sup>-1</sup> MS, respectivement (**Hajlaoui et al., 2009**). De même, les résultats sont aussi plus importants que ceux rapportés par **Ksouri et al., (2008)** dans une espèce halophyte *Mesembryanthemum crystallinum* avec 0,31 mg EC. g<sup>-1</sup> MS.

La même tendance a été observée pour les tanins condensés où l'écorce et les feuilles contiennent 0,14 et 0,11 mg EC. g<sup>-1</sup> MS, respectivement. Statistiquement, il n'y a pas de différences significatives entre les deux organes (**Tableau.11**).

Bien que ces résultats soient faibles mais restent nettement plus élevés que ceux rapportés dans *Mesembryanthemum crystallinum* avec 0,06 mg EC. g<sup>-1</sup> MS (**Ksouri et al., 2008**).

### 2.3.2. Les activités antioxydantes

#### 2.3.2.1. Activité antioxydante totale

La capacité antioxydante totale de l'*Acacia albida* est exprimée par le nombre d'équivalents acide gallique dans un gramme de matière sèche. Le procédé de phosphomolybdène est basée sur la réduction de Mo (VI) en Mo (V) par le composé antioxydant et la formation d'un complexe phosphate vert / Mo (V) avec une absorption maximale à 695 nm. Les résultats ont montré que les feuilles de l'*A. albida* présentent une activité antioxydante totale intéressante qui dépasse 68 mg EAG.g<sup>-1</sup> MS. En outre, cet organe affiche une valeur 1.5 fois plus élevée que celle de l'écorce (45.24 mg EAG.g<sup>-1</sup> MS).

**Tableau.12.** Activité antioxydante totale (mg EAG.g<sup>-1</sup> MS), pouvoir réducteur du fer (EC<sub>50</sub> µg. ml<sup>-1</sup>) et activités contre les radicaux DPPH, ABTS et l'anion superoxyde (CI<sub>50</sub> µg. ml<sup>-1</sup>) des feuilles et écorce de l'*Acacia albida*.

	Activité antioxydante totale	Pouvoir réducteur du fer	Test DPPH	Test ABTS	Anion superoxyde
Feuilles éthanol	68.667	65	27.33	120	426.67
Feuilles eau	40.5	47.66	22.66	106.67	363
Ecorce éthanol	45.240	50	26	110	480
Ecorce eau	35.34	34.33	29	104.33	200
BHT	-	-	11.5	355	1.5
TROLOX	-	-	-	242.3	-
Acide ascorbique	-	40	-	-	-

En comparaison avec les travaux antérieurs, l'activité antioxydante totale des extraits de l'écorce et des feuilles de l'*Acacia albida* est de 3 à 5 fois plus puissante que celle des feuilles de *Tamarix gallica* avec 14.66 mg EAG. g<sup>-1</sup> MS (Ksouri et al., 2009).

Cette forte activité antioxydante de *A. albida* peut être attribuée à la présence de composés phytochimiques tels que les composés phénoliques (Oueslati et al., 2012).

En fait, des études récentes ont montré que de nombreux polyphénols contribuent de manière significative à l'activité antioxydante totale pour de nombreux fruits et légumes (Negro *et al.*, 2003) ainsi que pour des plantes médicinales (Borgou *et al.*, 2008).

De ce fait, la différence dans l'activité antioxydante totale entre les deux organes est probablement liée à la différence dans leur composition phénoliques (Jeong-Ho Lim *et al.*, 2012).

### 2.3.2.2. Pouvoir réducteur du fer

Le pouvoir réducteur pour convertir  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  est également un test indirect de l'activité antioxydante d'un extrait ou d'un composé (Matsushige *et al.*, 1996). Dans le dosage du pouvoir antioxydant de la réduction ferrique, les espèces réductrices présentes dans l'extrait provoquent la réduction du complexe  $Fe^{3+}$ / ferricyanure pour former des ions  $Fe^{2+}$ ; cette réaction est suivie spectrophotométriquement en enregistrant l'absorbance du mélange réactionnel à 700 nm (Moein *et al.*, 2008 ; Prasad *et al.*, 2010 ; Quinming *et al.*, 2010 ; Yen et Duh, 1994 ).

La comparaison de la capacité des extraits des feuilles et de l'écorce de l'*A. albida* à réduire les ions ferriques est statistiquement plus importante au standard (acide ascorbique). Pour l'extrait éthanolique, les feuilles et l'écorce présentent une  $CE_{50}$  égale à 65 et 50  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , tandis que pour l'extrait aqueux ces valeurs sont de l'ordre de 47.66 et 34.33  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , respectivement. En comparaison avec des travaux antécédents, ces résultats sont nettement plus importants que ceux trouvés sur d'autres plantes étudiées telles que *Salsola kali* ( $CE_{50} = 457.66 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) et *Suaeda maritima* ( $CE_{50} = 660 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) (Ksouri *et al.*, 2008 ; Oueslati *et al.*, 2012).

### 2.3.2.3. Activité de piégeage du radical DPPH

Les activités de piégeage des radicaux présents dans les extraits de l'écorce et des feuilles ont été évaluées par leur capacité à neutraliser le radical DPPH synthétique et leur activité a été comparée avec celles du BHT, un composé standard. Le DPPH est un radical libre stable qui accepte un électron ou un radical d'hydrogène pour devenir une molécule diamagnétique stable. La méthodologie fait intervenir la réaction d'un composé ou d'un extrait spécifique avec le DPPH dans une solution de méthanol.

En présence de donneurs d'hydrogène, le DPPH est réduit et un radical libre est généré à partir de l'agent d'épuration. La réaction du DPPH est suivie en mesurant la diminution de l'absorbance de son radical à 517 nm. Après réduction de ce radical par un antioxydant. L'absorbance à 517 nm disparaît, le BHT est le réactif utilisé comme standard.

L'effet de piégeage des extraits éthanolique et aqueux sur le radical DPPH est exprimé en valeurs de  $CI_{50}$  et sont résumées dans le **Tableau.12**.

Les résultats ne diffèrent pas entre les feuilles et l'écorce de l'extrait éthanolique avec des valeurs de  $CI_{50}$  égales à 27 et 29  $\mu\text{g.ml}^{-1}$ , respectivement. Cependant pour l'extrait aqueux la différence est en faveur des feuilles avec une valeur de 22.66  $\mu\text{g.ml}^{-1}$ .

La comparaison avec les travaux antérieurs a montré que nos extraits sont plus puissants que ceux des fruits de *Argania spinosa* avec une  $CI_{50}$  égale à 32,3  $\mu\text{g.ml}^{-1}$  (**El Babili et al., 2010**).

En outre, cette activité antiradicalaire d'*Acacia albida* est meilleure que celle trouvée chez d'autres halophytes médicinales, telles que *Salicornia herbacea* ( $CI_{50} = 55,3 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) (**Essaidi et al., 2013**) et glycophytes comme *Pisonia alba* et *Centella asiatica* ( $CI_{50} = 175 \mu\text{g.ml}^{-1}$  et 200  $\mu\text{g.ml}^{-1}$ , respectivement) (**Subhasree et al., 2009**).

#### 2.3.2.4. Capacité à piéger le radical ABTS

Le potentiel des extraits d'*Acacia albida* à piéger les radicaux libres a été également évalué par leur capacité à éteindre  $ABTS^{\cdot+}$ . Le **Tableau.12** illustre la décoloration dépendant de la concentration de l' $ABTS^{\cdot+}$ , exprimée en valeurs de  $CI_{50}$ , par des extraits éthanoliques et aqueux en comparaison avec le BHT et le TROLOX.

En fait, comme le montre le **Tableau.12**, le test statistique ANOVA a révélé que l'activité des extraits des feuilles est similaire à celle de l'écorce, avec des valeurs de  $CI_{50}$  égales à 120 et 110  $\mu\text{g.ml}^{-1}$  pour l'extrait éthanolique et 106.67 et 104.33  $\mu\text{g.ml}^{-1}$  pour l'extrait aqueux, respectivement.

En comparant les résultats de ces essais antiradicalaires des extraits d'organes d'*A.albida*, nous pouvons remarquer que les deux organes présentent un potentiel antioxydant plus élevé que celui enregistré par le BHT (355  $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ) et le TROLOX (242.3  $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ).

De plus, ces résultats indiquent que des composés ayant une forte puissance antiradicalaire sont présents dans les deux extraits.

Nos résultats sont plus importants que ceux trouvés par **Ksouri et al., (2009)** dans les feuilles de *Tamarix gallica* dans lesquelles la valeur de la  $CI_{50}$  est égale à  $1040 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . En outre, nos résultats sont aussi meilleurs que ceux trouvés dans la plante halophyte *Crithmum maritimum* avec une  $CI_{50}$  de  $418 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  (**Meot-Duros et Magné, 2009**).

#### **2.3.2.5. Activité antiradicalaire sur l'anion superoxyde**

L'anion superoxyde est le plus courant radical libre généré *in vivo*. Sous le stress oxydatif, la concentration de cette espèce peut augmenter considérablement dans toutes les cellules, induisant plusieurs processus physiopathologiques, en raison de sa transformation en espèce plus réactive (**Gulcin et al., 2007**).

Cette activité antiradicalaire sur l'anion superoxyde  $O_2^{\cdot-}$  a été enregistrée pour les deux organes de notre plante (**Tableau .12**). La valeur de la  $CI_{50}$  varie de manière significative entre les deux organes. L'extrait aqueux de l'écorce affiche la valeur la plus petite de  $CI_{50}$  ( $200 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), suivie des feuilles-eau ( $363 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), puis feuilles-éthanol ( $426.67 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) et enfin écorce-éthanol ( $480 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ).

Cette variabilité intraspécifique peut être liée à la différence des teneurs en composés phénoliques dans les organes et solvants d'extraction (**Falleh et al., 2008**).

#### **2.3.3. Quantification par CLHP des composés phénoliques**

La quantification par CLHP des composés phénoliques a été effectuée sur les feuilles de la plante testée, étant donné que les feuilles représentent l'organe le plus riche en ces composés, qui, selon les résultats obtenus, a aussi montré une bonne activité antioxydante et une concentration plus élevée en polyphénols.

Au total, nous avons identifié neuf composés phénoliques dans les feuilles de l'*Acacia albida*. L'acide gallique, (-) épigallocatechine, Apigénine, le resvératrol glucoside 3-O-, de l'acide P-coumarique, l'acide ferulique, rutine (Pic 6), Oleuropéine, Kaempférol-3-O rutinoside, la quercétine.

Tous ces composés phénoliques mentionnés sont résumés dans les **tableau.13** et **tableau .14** avec leur temps de rétention.

**Tableau.13** .Identification et quantification des composés phénoliques de l'extrait éthanolique des feuilles de l'*Acacia albida* par CLHP.

Pic	Temps de rétention (min)	Identification	Concentration (ppm)
1	8.323	Acide gallique	6.191
2	14.284	-(-)Epigallocatechine	119.299
3	19.669	Resveratrol 3- O- glucoside	164.297
4	20.159	Acide P-coumarique	50.499
5	20.526	Acide ferulique	73.762
6	21.749	Rutine	250.235
7	22.035	Oleuropéine	1036.856
8	22.836	kaempferol-3-O rutinoside	279.658
9	24.362	Quercétine	9.663

Les molécules que nous avons identifiées sont connues pour leurs activités antioxydantes et leur potentiel à piéger les radicaux.

Parmi ces composés, la quercétine avec une concentration de 9.663 ppm, est le flavonoïde le plus commun dans la nature et il est présent dans de nombreux fruits et légumes tels que les pommes, les baies, les raisins, les oignons, le thé, et les tomates, ainsi que dans de nombreuses graines, écorces et feuilles (**Kelly, 2011**). Il a été démontré que la quercétine possède un effet protecteur contre les radiations UV qui induisent un stress oxydatif (**Casagrande et al., 2006**). Les travaux de **Fuhrman et al., (1995)** ont montré que la quercétine agit pour piéger les radicaux  $O_2^{\cdot -}$  et pour prévenir contre la peroxydation des lipides.

Quant à la rutine, c'est une sorte de flavonoïde glycoside connu sous le nom de vitamine P et a des propriétés antiplaquettaires, antivirales et anti-hypertensives, ainsi que le renforcement des vaisseaux capillaires sanguins.



Cette molécule est présente avec une concentration de 250.235 ppm, ces propriétés sont le résultat de son potentiel élevé à piéger les radicaux et sa capacité antioxydante (**Guo et al., 2007**). Le pouvoir réducteur de la rutine a été rapporté par **Jianxiong Yang et al., (2008)** qui a mentionné que ce flavone a une puissance remarquable à céder des électrons aux radicaux libres réactifs, les convertir en espèces non réactifs plus stables et met fin à la chaîne de réaction des radicaux libres. D'une part, **Baydar et al., (2007)** ont rapporté que la rutine a montré une efficacité élevée de l'activité de piégeage des radicaux DPPH. D'autre part, les résultats de **Jianxiong Yang et al., (2008)** ont indiqué clairement que la rutine agit pour éliminer ou inhiber des radicaux libres.

L'acide gallique est connu comme un antioxydant naturel puissant, qui est largement utilisé dans les industries pharmaceutiques et alimentaires. Cette acide est enregistré avec une concentration de 6.191 ppm pour l'extrait éthanolique et 0.676 ppm pour l'extrait aqueux.

**Tableau .14.** Identification et quantification des composés phénoliques de l'extrait aqueux des feuilles de l'*Acacia albida* par CLHP.

Pic	Temps de rétention (min)	Identification	Concentration (ppm)
1	8.444	Acide gallique	0.676
2	14.365	-(-)Epigallocatechine	7.585
3	25.927	Apigénine	0.787

Les activités biologiques et pharmacologiques de l'acide gallique comprennent le fort balayage des radicaux libres (**Dwibedy et al., 1999**). **Upendra Bhadoriya et al., (2012)** ont révélé que l'acide gallique a montré une puissante activité pour le piégeage du DPPH et de l'ABTS, celle-ci peut être due à la présence de groupes carbonyles qui sont considérés comme responsables de l'activité antioxydante.

Le resvératrol 3-O-glucoside avec une concentration de 164.297 ppm et l'épigallocatechine avec 119.299 ppm pour l'extrait éthanolique et 7.585 ppm pour l'extrait aqueux, sont deux molécules dont les fonctions antioxydantes ont été rapportées par **Chen et Zhang (2003)** et **Mikulski et Molski (2010)**, respectivement.

L'acide férulique avec 73.762 ppm dans l'extrait éthaolique, est l'acide hydroxycinnamique le plus abondant dans le monde végétal (Mathew *et al.*, 2004) et il a été plus largement étudié pour ses propriétés antioxydantes qui sont importantes dans la prévention de l'oxydation des lipides (Oluyemisi , Adalakun *et al.*, 2012). Ces propriétés antioxydantes sont attribuées à sa structure et plus précisément, à son noyau phenolique couplé à une chaîne latérale conjuguée qui facilite la formation d'un radical phenoxyyl stable (Graf, 1992).

Enfin, l'Oleuropéine est bien connu pour son activité antioxydante et présente une activité antiradicalaire contre l'anion superoxyde (Monika Czerwinska *et al.*, 2012). Cette molécule est présente avec une concentration de 1036.856 ppm dans l'extrait éthanolique des feuilles de l'*Acacia albida*.

#### **2.4. Conclusion**

Cette étude pourrait être considérée comme la première étape pour la mise en évidence de l'importance des activités antioxydantes de l'*Acacia albida* en Algérie.

Les résultats obtenus dans le présent travail ont démontré que les composés phénoliques des organes de l'*Acacia albida* étaient très puissants pour le piégeage *in vitro* des radicaux libres DPPH et ABTS et aussi pourraient avoir un bon pouvoir réducteur du fer. En outre, cette plante comestible et non toxique est une bonne source de polyphénols actifs.

En effet, les feuilles synthétisent des composés avec des activités biologiques très importantes qui leurs permettent d'être valorisées dans différents domaines: pharmacologique, alimentaire et médicinal.

### **3. EFFET DU STRESS SALIN SUR LA GERMINATION DES GRAINES DE L'ACACIA ALBIDA**

#### **Résumé**

Les peuplements d'acacia en Algérie sont soumis continuellement à des contraintes (sécheresse, salinité,...) qui engendrent leur régression. Dans des périmètres arides tel que le sud algérien, les programmes de réhabilitation et de conservation demeurent une priorité, raison pour laquelle, nous avons étudié le comportement germinatif de cette espèce.

Dans ce contexte, nous avons testé différents prétraitements physique (scarification, eau bouillante) et chimique (acide sulfurique) sur les semences d'*Acacia albida* pour lever l'inhibition tégumentaire. L'essai s'est déroulé sous différentes températures. Une fois que les conditions optimales de germination sont déterminées, nous avons pris en considérations ces résultats, puis nous avons soumis les semences à un stress salin avec des concentrations en NaCl allant de 0 à 30 g.l<sup>-1</sup>.

Le prétraitement des semences d'*Acacia albida* avec de l'acide sulfurique et l'utilisation d'une température de 25 °C ont permis d'améliorer le taux et le temps moyen de germination.

Les résultats montrent que l'effet sel influence d'une manière, hautement significative, le taux et le temps moyen de germination. Cette espèce présente une bonne tolérance pour le sel car les semences ont atteint un taux de germination de 41.66 % sous un traitement en NaCl équivalent à 12 g.l<sup>-1</sup>. Ces résultats mettent l'accent sur la capacité germinative de l'*Acacia albida* sous des concentrations salines très élevées. Ceci nous mène à dire que cette essence peut être utilisée pour la réhabilitation des sols et leurs reboisements et élargir ainsi son aire de répartition.

### 3.1 .Introduction

Les terres arides et semi arides représentent un tiers de la surface du globe. Dans ces zones, la salinité des sols et des eaux d'irrigation est l'un des facteurs limitatifs de la productivité végétale et du rendement agricole (**Zid et Grignon, 1991 ; Baatour et al., 2004**).

Ces écosystèmes sont caractérisés par une faible précipitation et une forte irrégularité de cette dernière (**Mnif et Chaieb, 2004 ; Rezgui et al., 2004**) associées à une importante évaporation favorisant l'accumulation des sels dans le sol (**Hayek et Abdelly, 2004**). Ce phénomène affecte près de 7% de la surface globale dans le monde (**Munns, 2002**). L'Algérie est parmi les pays touchés, presque 3,2 millions d'hectares sont des surfaces salines (**Hamdy, 1999**).

L'impact environnemental et social de la déforestation peut être en partie compensé par la plantation d'espèces ligneuses indigènes, assurant la mise en place d'un système forestier durable (**Bonner, 1992**). Parmi ces espèces, les légumineuses arborées du genre *Acacia* qui jouent un rôle multiple et essentiel : protection et enrichissement des sols grâce à la symbiose racinaire avec *Rhizobium*, production de bois et de fourrages aériens, participation à la nutrition humaine et à la pharmacopée (**Kerhar et Adam, 1974; Le Houérou, 1980; Dreyfus et Dommergues, 1981 ; Felker, 1981 ; Bergere et Ribot, 1990**).

De plus, en zone aride, où les caractéristiques de la germination sont fortement impliquées dans la sélection pour l'adaptation des végétaux aux conditions du milieu (**Jordan et al., 1989 ; Koller, 1995**), on peut admettre que la première phase critique de la réhabilitation est celle relative à la germination des espèces à réintroduire.

Pour ces raisons, ce travail a été consacré à l'étude des propriétés germinatives des semences d'une légumineuse autochtone pérenne.

L'*Acacia albida* (ou *Faidherbia albida*) est une espèce d'une grande importance. En effet, grâce à son cycle phénologique inversé (feuillaison pendant la saison sèche), cet arbre est souvent utilisé en agroforesterie pour la pratique des cultures intercalaires qu'il semble favoriser (**Charreau et Vidal, 1965; Louppe, 1990; Oliver et al., 1996**).

L'étude des exigences germinatives des espèces utilisables dans la réhabilitation permet de mieux choisir le matériel végétal le mieux adapté à la mise en œuvre de cette technique (**Bell et al., 1992**).

Ce travail a pour objectif, l'étude de l'effet des principales contraintes environnementales affectant la germination des semences (Côme, 1970 ; Ungar, 1995), notamment la salinité (Ennabli, 1995 ; Hachicha, 2007) qui entravent les essais de restauration des espèces forestières menacées.

Dans ce contexte, nous nous sommes penchés sur l'étude de la germination en conditions de stress salin, afin de mieux maîtriser ainsi les premiers problèmes rencontrés lors des essais de reboisement.

Notre travail évalue la capacité germinative des graines en conditions de contraintes salines simulées par le NaCl et sous l'effet de différentes températures. Il tente enfin de déterminer si la réponse aux contraintes osmotiques appliquées au stade de la germination constitue un indicateur précoce fiable du comportement de la plante adulte. Néanmoins, s'agissant d'une légumineuse connue par son fort taux de graines dures (Behaeghe et al., 1962 ; Clatworthy, 1984 ; Vora, 1989), des prétraitements destinés à lever d'éventuelles inhibitions tégumentaires ont été appliqués aux semences d'*A. albida*, qui présentent de faibles pourcentages de germination (Loth et al., 2005), d'autant plus que ce problème constitue un obstacle aux pépiniéristes qui visent à produire massivement des plants via une synchronisation et homogénéisation de la germination (Roussel, 1995).

### **3.2. Méthodologie**

Les semences de l'*Acacia albida* ont été collectées de la région de Tindouf après maturation des fruits.

Dans un premier temps, nous avons appliqué trois prétraitements, thermique (trempage dans de l'eau bouillante pendant une heure), chimique (trempage dans de l'acide sulfurique pendant une heure) et mécanique (scarification manuelle avec du papier abrasif).

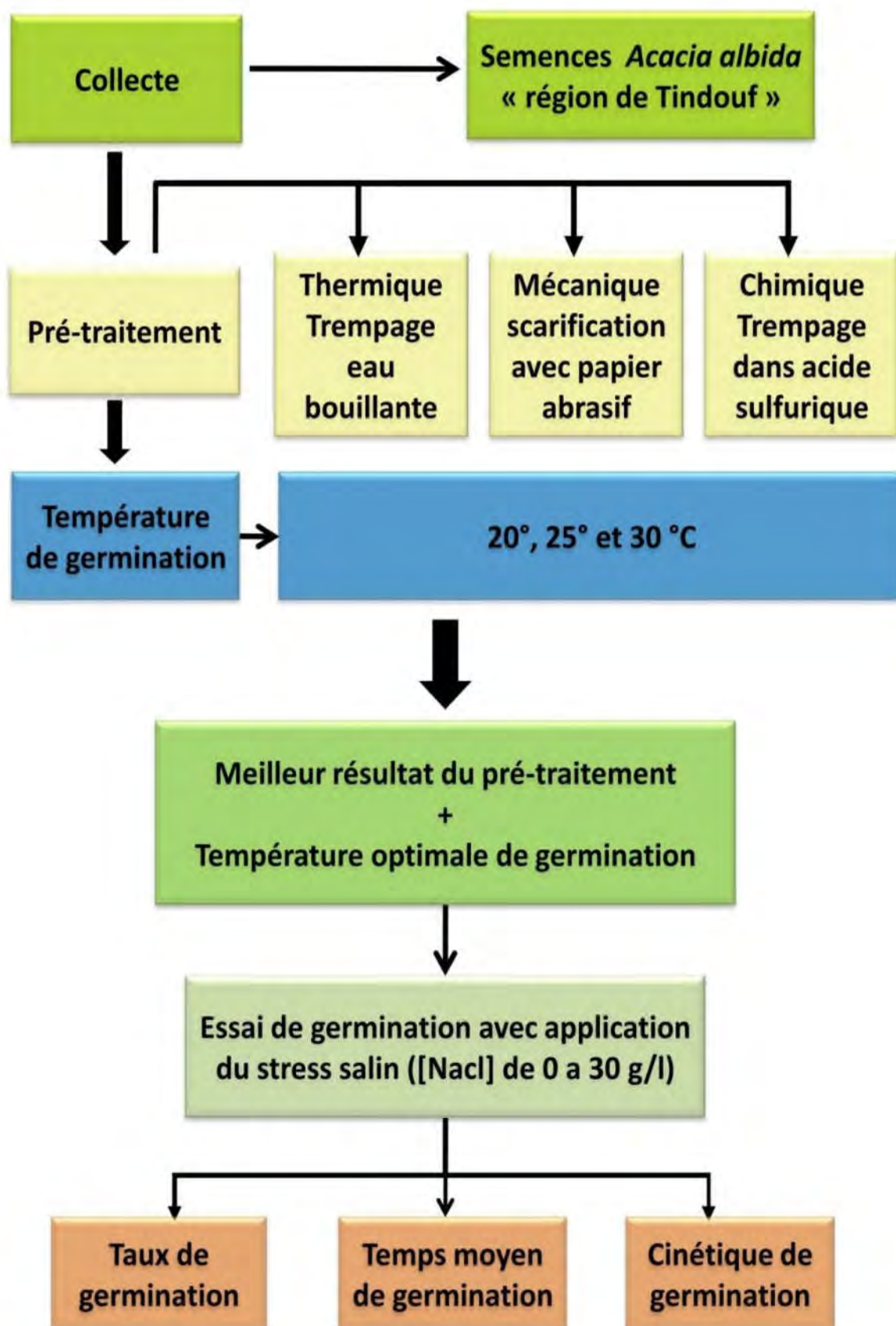
Après un lavage avec de l'eau distillée les semences sont mises à germer à l'étuve réglée sur trois températures différentes : 20, 25 et 30 °C.

Après avoir déterminé les conditions optimales de la germination nous avons procédé aux essais de germination sous la contrainte saline où nous avons appliqué différentes concentrations de sel (NaCl) allant de 0 à 30 g.l<sup>-1</sup>.

L'essai a duré 30 jours où nous avons pris en compte trois facteurs : taux de germination, le temps moyen de germination et la cinétique de la germination.

Chaque traitement a été réalisé avec quatre répétitions à raison de 12 graines par boîte. Les données relatives à chaque essai ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un facteur contrôlé puis un classement des moyennes à l'aide du test de Newman-Keuls.

La méthodologie adoptée dans ce volet est résumé par le schéma suivant :

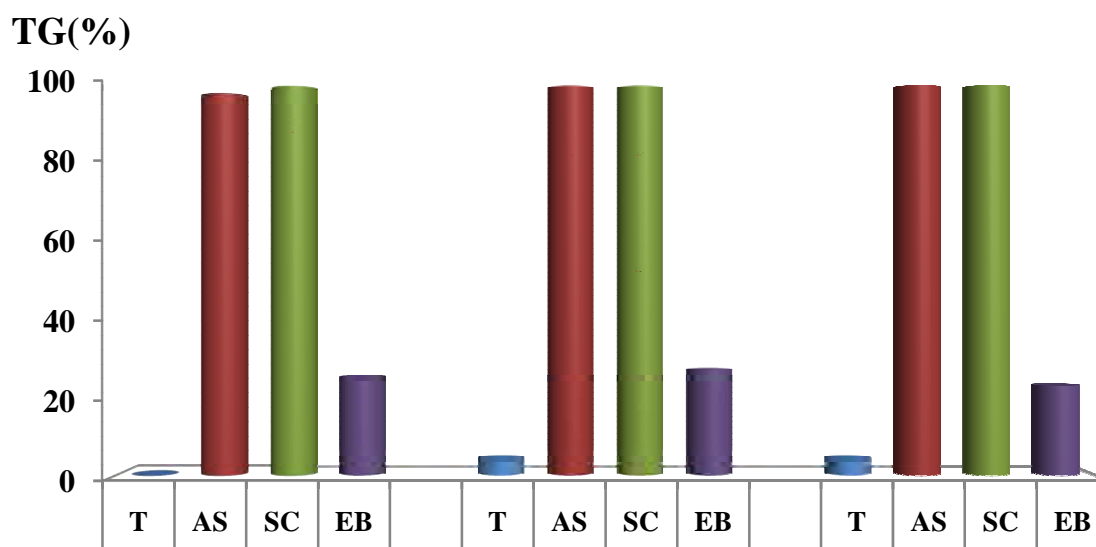


### 3.3. Résultats

#### 3.3.1. Effet de la température et du prétraitement sur la germination

##### 3.3.1.1. Influence de la température et du prétraitement sur le TG et le TMG

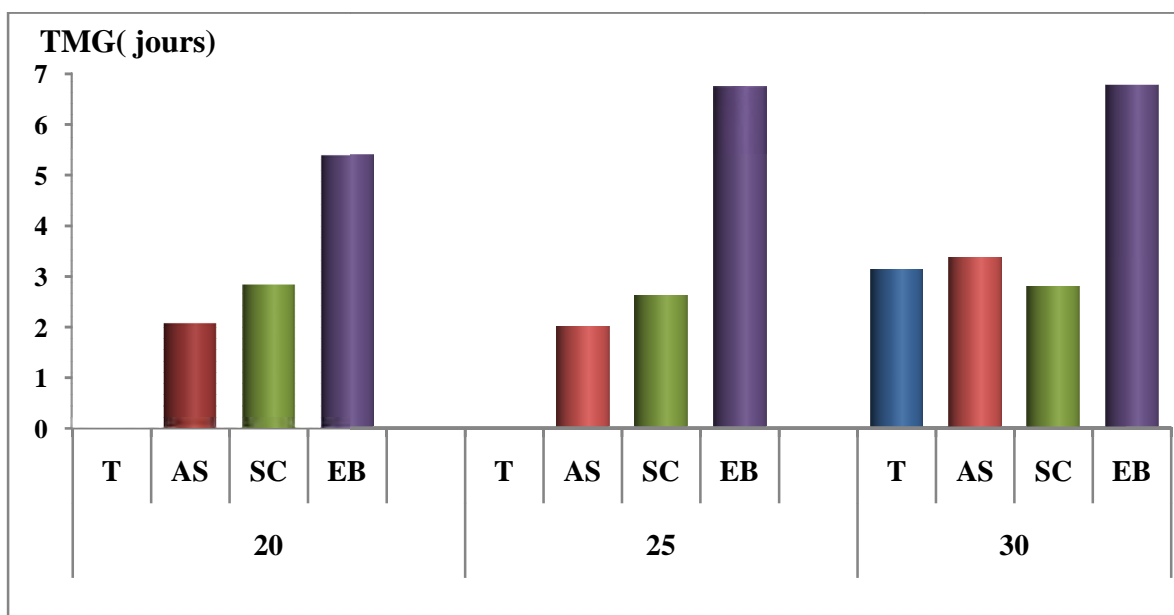
Les Figures .15 et 16 , illustrent les variations des taux et temps moyens de germination en fonction des différents prétraitements et des températures appliqué, montrent que les prétraitements avec l'acide sulfurique et la scarification mécanique (papier abrasif) permettent d'avoir des taux de germination plus élevés (> 95 % ), en comparaison avec le témoin et le prétraitement à l'eau bouillante.



**Figure.15.** Taux de germination (%) de l'*Acacia albida* sous l'effet des différentes températures et des différents prétraitements

T : témoin; EB : eau bouillante ; SC : scarification mécanique; AS : acide sulfurique.





**Figure.16.** Temps moyen de germination (%) de l'*Acacia albida* sous l'effet des différentes températures et des différents prétraitements

T : témoin; EB : eau bouillante ; SC : scarification mécanique; AS : acide sulfurique.

Les meilleurs temps moyens de germination sont enregistrés pour les prétraitements à l'acide sulfurique et la scarification manuelle (Tableau.15).

Ces résultats sont confirmés par l'analyse de la variance qui a révélé un effet prétraitement très hautement significatif sur les taux et les temps moyens de germination ( $p < 0,05$ ) où le prétraitement à l'acide sulfurique et la scarification manuelle forme un même groupe et diffèrent significativement du témoin et du prétraitement à l'eau bouillante qui forment chacun un groupe à part.

Tableau.15. Comparaison des taux et temps moyens de germination d'*Acacia albida* pour chacun des prétraitements (témoin, acide sulfurique, scarification mécanique au papier abrasif et eau bouillante)

Traitements	TG(%)	Similarité statistique des moyennes du TG	TMG(Jours)	Similarité statistique des moyennes du TMG
T	2.78	A	1.042	A
AS	99.31	C	2.486	B
SC	100	C	2.749	B
EB	25	B	6.307	C

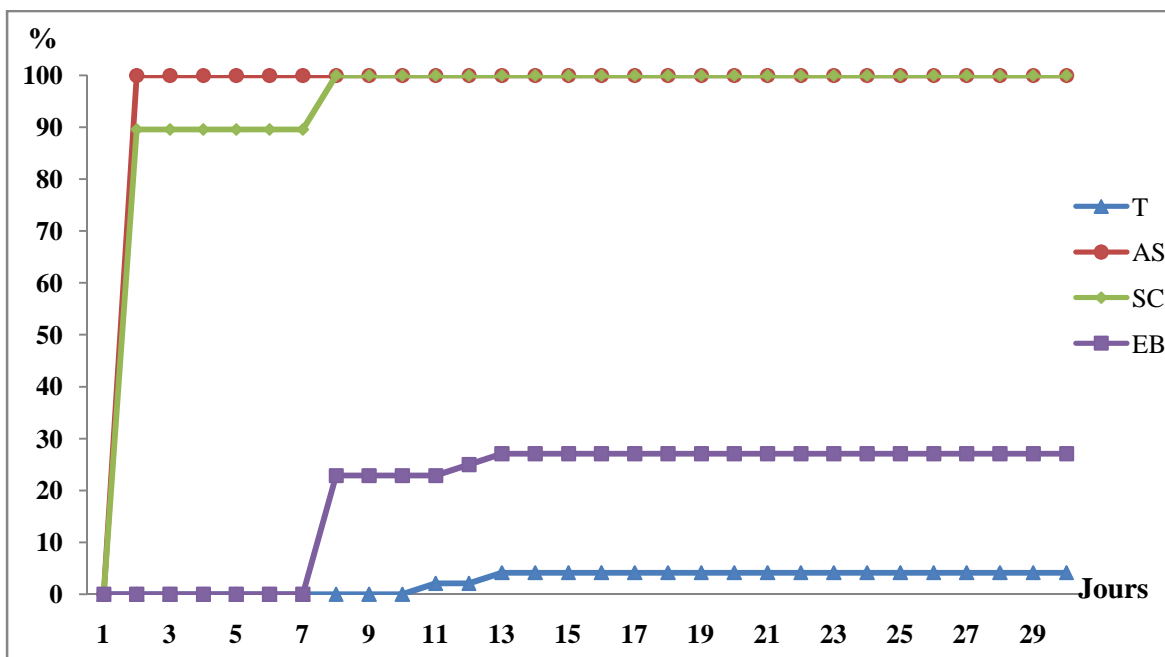
Les résultats de la comparaison des moyennes à l'aide du test de Newman-Keuls du TG et TMG des graines d'*A. albida* pour les différentes températures utilisées sont consignés dans le Tableau.16. Ce dernier montre qu'il n'existe pas de différence significative du taux de germination pour les trois températures tandis que pour le temps moyen de germination nous constatons que les températures 20 et 25 °C forment un même groupe A et diffère significativement du résultat donné sous la température de 30 °C qui forme le groupe B.

**Tableau.16.** Comparaison des taux et temps moyens de germination d'*Acacia albida* pour chacune des températures (20, 25 et 30 °C)

Température	TG	Similarité statistique des moyennes de TG	TMG	Similarité statistique des moyennes du TMG
20	55.73	A	2.579	A
25	57.81	A	2.843	A
30	56.77	A	4.016	B

### 3.3.1.2. Influence de la température et du prétraitement sur la cinétique de germination

La Figure.17. Montre la cinétique de la germination des graines pour chaque prétraitement. Il faut noter qu'une seule température est prise en compte (celle de 25 °C) du fait de la similarité des tendances liées à ce facteur. Ces courbes représentent les taux de germination cumulés pour une période de 30 jours. On peut conclure que l'acide sulfurique et la scarification mécanique ont un effet remarquable sur le démarrage des graines et la vitesse de germination. Ainsi, suite aux résultats obtenus par ces différents prétraitements, nous choisirons pour la suite des essais sur le stress salin, l'application d'un prétraitement à l'acide sulfurique et une température de germination de 25 °C.



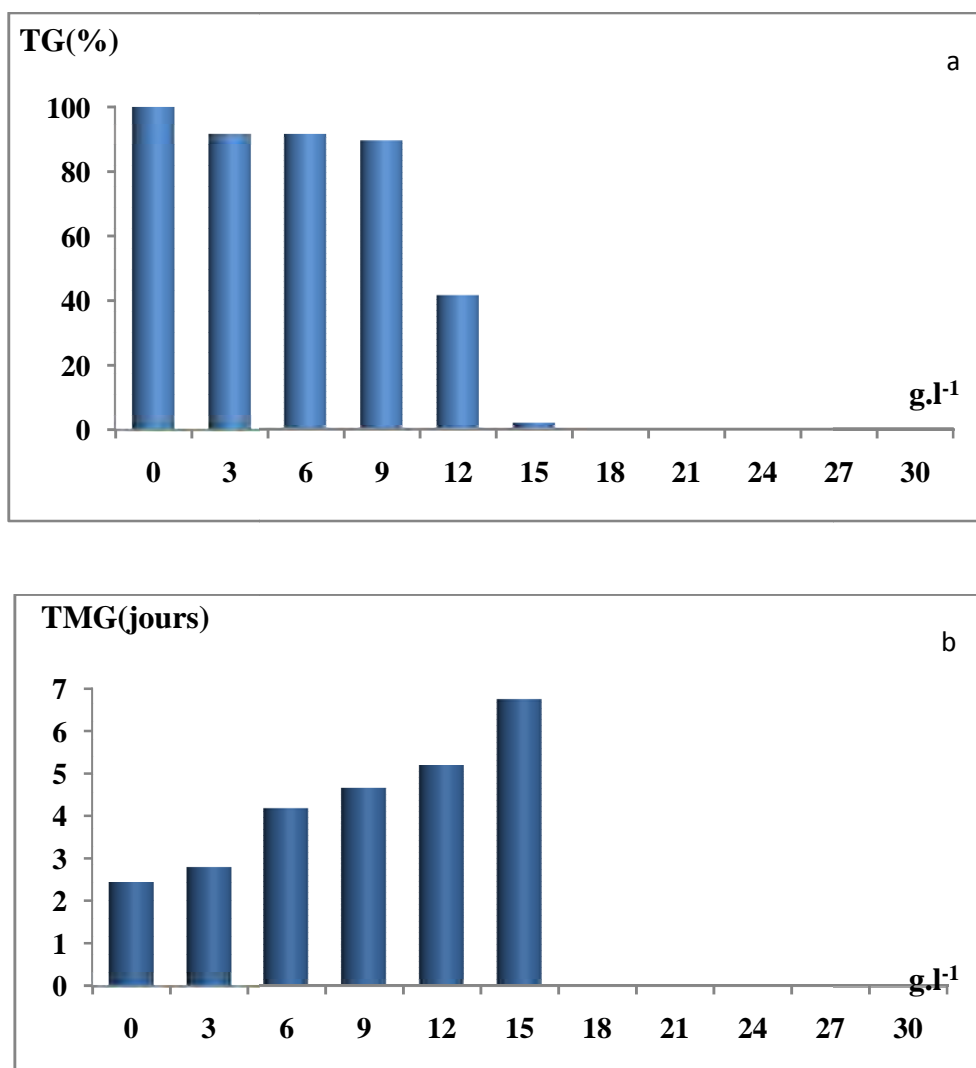
**Figure.17.** Cinétique de la germination de l’*Acacia albida* sous l’effet des différents prétraitements et températures.

T : témoin; EB : eau bouillante ; SC : scarification mécanique; AS : acide sulfurique.

### 3.3.2. Effet de la salinité sur la germination

#### 3.3.2.1. Influence du NaCl sur le TG et le TMG

La figures.18 (a et b) illustre l’évolution des taux et temps moyens de germination en fonction des différentes concentrations de NaCl.



**Figure.18.** Taux et temps moyens de germination de l'*Acacia albida* sous l'effet du traitement salin

Nous constatons que l'impact du stress salin affecte négativement les deux paramètres étudiés. Pour le TG, cet impact devient plus important à partir d'une concentration de 12 g.l<sup>-1</sup> où l'on passe à un taux de 41%. Concernant le TMG, sous l'action du stress salin, on passe de 2 jours pour le témoin à 5 jours sous une concentration de 12 g.l<sup>-1</sup>. Cependant les semences de l'*A. albida* continuent à germer à des concentrations égales à 15 g.l<sup>-1</sup> avec des taux extrêmement faibles de 2.08%.

Les résultats de l'analyse de la variance et le test de Newman-Keuls sont représentés dans le tableau.17

**Tableau.17.** Comparaison des taux et temps moyens de germination de l'*Acacia albida* pour chacun des traitements salins.

Concentration de NaCl (g.l <sup>-1</sup> )	TG (%)	Similarité statistique des moyennes du TG	TMG (jours)	Similarité statistiques des moyennes du TMG
0	100	A	2.43	A
3	91.67	A	2.79	A
6	91.67	A	4.18	B
9	89.68	A	4.67	B
12	41.66	B	5.18	C
15	2.08	C	6.75	D
18	0	CD	> 30	E
21	0	CD	> 30	E
24	0	CD	> 30	E
27	0	CD	> 30	E
30	0	CD	> 30	E

Le test de Newman-Keuls a révélé pour le TG que l'effet des concentrations allant de 0 à 9 g.l<sup>-1</sup> donnent des résultats statistiquement égaux et forment un même groupe (groupe A), le TG relatif au traitement de 12 g.l<sup>-1</sup> forme à lui seul un groupe à part (groupe B) au-delà duquel le TG devient insignifiant. Pour le facteur TMG le test de Newman-Keuls a révélé l'existence de cinq groupes, le témoin et le traitement à 3 g.l<sup>-1</sup> forment le groupe A, les traitements 6 et 9 g.l<sup>-1</sup> forment le groupe B, les traitements 12 et 15 g.l<sup>-1</sup> forment respectivement les groupes C et D et enfin les traitements de 18 à 30 g.l<sup>-1</sup> forment le dernier groupe E.

### 3.3.2.2. Influence du NaCl sur la cinétique de germination.

La cinétique de la germination des graines sous l'effet des concentrations croissantes de NaCl (Figure.19) décrit une forme sigmoïdale comprenant trois phases.

L'analyse de cette cinétique montre généralement une première phase de latence, due à l'imbibition des graines, une deuxième phase exponentielle où l'on assiste à une accélération de la germination et enfin une troisième phase caractérisée par un palier indiquant un arrêt de germination.

Chez le témoin, la phase de latence est très courte et ne dure qu'un jour ; la phase exponentielle de germination dure 4 jours, avant d'atteindre la phase stationnaire où la germination s'arrête après un maximum de germination.

Au fur et à mesure que la salinité augmente, l'allure de cette courbe est modifiée dans le sens d'un étirement, se traduisant par un retard et un ralentissement de la vitesse de germination.

C'est ainsi que pour  $12 \text{ g.l}^{-1}$  de NaCl, le temps de latence et la phase exponentielle durent respectivement 3 et 6 jours.

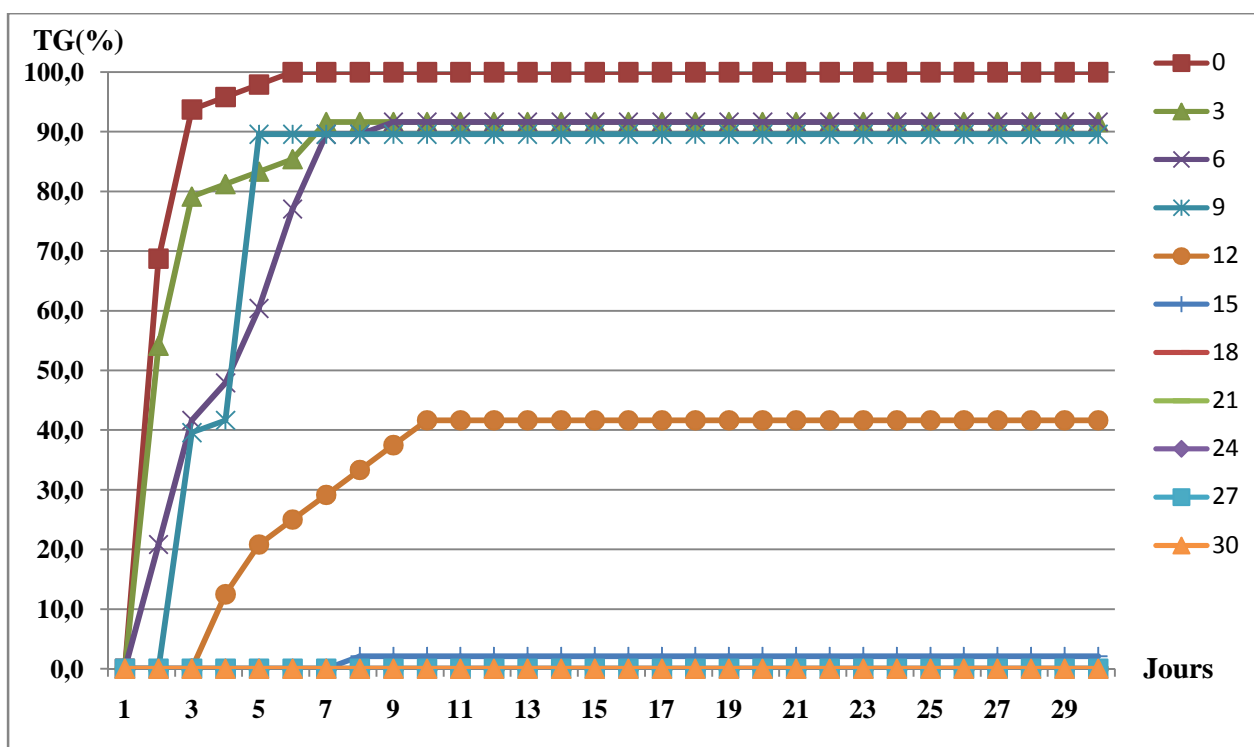


Figure .19. Cinétique de la germination de l'Acacia albida sous l'effet du traitement salin.

### **3.4. Discussion**

L'*Acacia albida* constitue un élément capital de son groupement dans l'équilibre et le maintien de nombreux écosystèmes arides et désertiques.

L'introduction de cette espèce dans les programmes de reboisement offre une solution de reforestation durable dans les zones arides et semi-arides mais aussi dans celles affectées par la salinité [environ 1,5 million d'hectares, soit 10 % de la superficie totale (**Hachicha, 2007**)] et permettrait par conséquent des exploitations diversifiées. Néanmoins, la réussite des phases de germination et de croissance de cette espèce passe inéluctablement par une bonne connaissance de ses caractéristiques germinatives et de développement ainsi que de son comportement vis-à-vis des conditions du milieu.

Les graines d'*A. albida* étudiées présentent des comportements variés vis-à-vis du facteur thermique et du prétraitement au moment de leur germination, les résultats obtenus mettent en évidence le rôle capital de l'acide sulfurique pour lever l'inhibition tégumentaire des graines.

En effet, l'immersion des semences pendant 1 heure dans l'acide sulfurique pur permet d'obtenir le plus fort taux de germination et une diminution du temps moyen de germination. L'efficacité de l'acide sulfurique pour lever l'inhibition tégumentaire sur d'autres espèces prairiales et pastorales avait été démontrée par plusieurs auteurs (**Behaeghe et al., 1962 ; Clatworthy, 1984 ; Grouzis, 1987 ; Vora, 1989**). Toutefois, une immersion prolongée des graines dans l'acide peut endommager l'embryon et réduire les performances germinatives. La durée optimale de trempage paraît être en rapport avec la dureté des téguments (**Neffati, 1994**). D'autre part, nos résultats corroborent avec ceux de **Neffati et al. (1997)** qui ont signalé que les légumineuses des zones arides sont capables de germer sous une large gamme de températures.

Nous confirmons également les conclusions de **Teketay (1996)** qui ont indiqué que la majorité des légumineuses des zones sèches germent à des températures comprises entre 15 et 40 °C.

Concernant le comportement des semences d'*A. albida* vis-à-vis de la salinité, notre étude montre qu'elles sont particulièrement tolérantes et qu'elles sont capables de germer après un traitement allant jusqu'à 12 g.l<sup>-1</sup> de NaCl et probablement à une concentration encore plus élevée.

Ainsi, les valeurs limites affichées par *A. albida* sont nettement supérieures à celles publiées par **Totey et al. (1987)** pour *Acacia auriculiformis* A.Cunn. ex Benth. (dont la germination est réduite dès que la concentration saline atteint 4,6 g.l<sup>-1</sup> de NaCl), par **Kayan et al. (1990)** pour le jojoba (réduction de 50 % de la capacité germinative à 5 g.l<sup>-1</sup> NaCl) et par **Cavalcante et al., (1995)** pour *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.

Le retard de germination engendré par les concentrations croissantes du milieu en NaCl, résulterait d'une difficulté d'hydratation des graines par suite d'un potentiel osmotique élevé et peut être expliqué par le temps nécessaire à la graine pour mettre en place des mécanismes lui permettant d'ajuster sa pression osmotique interne (**Ben Miled et al., 1986 ; Smaoui et al., 1986**).

On peut remarquer une relation entre la tolérance à la salinité au moment de la germination et l'écologie de chaque espèce. Donc cette aptitude et capacité à germer en conditions salines représente une caractéristique importante pour la réhabilitation et le reboisement, mais est aussi intéressante à exploiter pour valoriser les sols marginalisés et touchés par la salinisation.

Nos résultats permettent de supposer que, d'après l'analyse de la tolérance au stress salin, les graines d'*A. albida* ne devraient pas avoir de grandes difficultés à germer en régions arides ou semi-arides.

### **3.5. Conclusion**

En conclusion, nous pouvons dire, d'après notre étude, qu'à partir du moment où les graines sont libérées de leur dormance (que cela soit par traitement artificiel ou naturel), celles-ci sont capables de germer dans une vaste gamme de températures et un large éventail de stress salin.

Cependant, les mesures et techniques de restauration à entreprendre restent encore à définir par le biais d'études à long terme, tenant compte de la dynamique de développement de l'espèce à partir du stock préalable de semences viables contenues dans le sol et par l'introduction de nouvelles semences, voire même des plantules, pour améliorer le processus de régénération de l'espèce.



#### **4. EFFET DU STRESS SALIN SUR LA PHYSIOLOGIE, LA BIOCHIMIE ET LA CAPACITE ANTIOXYDANTE DE L'ACACIA ALBIDA**

##### **Résumé**

Vu la résistance des semences d'*Acacia albida* à la salinité. Le présent travail consiste à développer une expérimentation faisant trait à la réponse morphologique, physiologique et biochimique des plants d'*Acacia albida* sous différentes dose de sel 0, 50, 100, 200 et 300 mM.

L'application du stress salin a duré trois mois et a été faite sur des plants âgés de 06 mois où la démarche consiste à déterminer plusieurs paramètres tels que la croissance (longueur des tiges et racines, poids frais et poids sec), l'hydratation des tissus, la nutrition minérale (teneurs en Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>), teneurs en chlorophylle et caroténoïdes ainsi que l'étude du contenu phénolique (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés) et l'évaluation de son activité antioxydante à travers différents test *in vitro* à savoir l'activité antioxydante totale, activités contre les radicaux DPPH, ABTS et anion superoxyde ainsi que l'évaluation du pouvoir réducteur du fer.

Les résultats obtenus nous mènent à dire que les doses modérées de sel (50 mM) n'affecte pas la croissance en longueur et la biomasse des plants et que ces derniers parviennent à garder une hydratation semblable à celle des plants témoins même sous des concentrations de 100 mM. La salinité fait accroître la teneur en Na<sup>+</sup> au dépens de K<sup>+</sup> surtout dans les parties aériennes ce qui engendre une diminution du rapport de sélectivité Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>.

Les résultats relatifs au contenu phénolique montre qu'une salinité modérée stimule l'accumulation de ces biomolécules surtout dans les parties aériennes où nous avons noté, pour une concentration de 50 mM, des teneurs de 16.33 mg EAG/g MS pour les polyphénols totaux et 12.76 mg EC/g MS pour les flavonoïdes contre des teneurs de 13.6 mg EAG/g MS et 9.64 mg EC/g MS respectivement pour les plants témoins.

Concernant les activités antioxydantes, les plants parviennent à garder de bonnes activités même sous des concentrations de 300 mM. Nous avons noté, pour les plants traités, des valeurs plus importantes que celles du témoin où l'activité antioxydante totale enregistrée est de 17.34 mg EAG/g MS. Pour l'activité contre le radical DPPH, les plants sous stress exhibent des valeurs de  $CI_{50}$  de l'ordre de  $33.72 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  et enfin le test du pouvoir réducteur du fer, le résultat le plus important de la  $CE_{50}$  est de  $504.4 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Ces résultats permettent à cette plante de s'imposer en tant que source de molécules bioactives même sous des conditions de stress.

#### **4.1. Introduction**

Dans plusieurs zones du globe terrestre, la salinisation est le processus majeur de la dégradation des terres (**Mermoud, 2006**). Les zones arides et semi-arides couvrent une grande partie des pays de la frange méridionale du pourtour méditerranéen. Dans ces régions arides et semi arides, la salinité constitue une contrainte majeure à la productivité (**Rozema and Flowers, 2008 ; Abdel Latéf, 2010**). Actuellement, sur 1.5 milliard d'hectares de terre cultivée dans le monde, environ 77 millions d'hectares (5%) sont affectés par la teneur excessive en sel (**Sheng et al., 2008**). Ce chiffre ne cesse d'augmenter d'une année à l'autre à cause de la mauvaise qualité de l'eau d'irrigation (**Pasternak and Malach, 1994, Villa-Castorena et al., 2003**), à l'intensification des cultures (**Ghassemi et al., 1995**) et à l'utilisation démesurée des fertilisants chimiques chez plusieurs espèces cultivées (**Shannon and Grieve, 1999**).

L'Algérie, qui offre toutes les variantes du climat méditerranéen, n'échappe pas à ce phénomène, où la sécheresse observée depuis longtemps a conduit manifestement au processus de salinisation des sols sur 3,2 millions d'hectares affectés (**Benmahioul et al., 2009**).

Pour pallier cette contrainte environnementale, diverses stratégies peuvent être adoptées, comme par exemple l'application des techniques de drainage des sels en excès. Cependant, ces méthodes sont très coûteuses et exigent un volume d'eau important pour lessiver ces sels (**Rhodes et Laveday, 1990**).

De ce fait, l'introduction d'espèces végétales tolérantes aux stress abiotiques et de haute valeur socio-économique, constitue une des approches pour réhabiliter les sols salins. Le choix idéal d'une végétation appropriée à ces conditions, constitue la première étape pour résoudre le problème de la salinité.

Les effets du sel sur les plantes dépendent à la fois de leur stade de développement (Munns *et al.*, 1995), de l'espèce, du cultivar, du génotype (Cornillon et Palloix, 1997) et de la durée de l'exposition aux contraintes salines (Munns et Termaat, 1986). Une forte concentration en NaCl dans le sol est perçue par certaines plantes comme une sécheresse physiologique. Ce changement dans le statut hydrique de la plante serait la cause initiale de la réduction de la croissance induisant son atrophie (Takemura *et al.*, 2000) et la baisse de sa productivité (Vicente *et al.*, 2004 ; Parida et Das, 2005).

Chartzoulakis et Klapaki, (2000); Navarro *et al.*, (2003); Cabanero *et al.*, (2004) ; Munns et Tester (2008) ; Niu *et al.* (2010) ont rapporté que la réduction de la croissance de la plante est due aux diminutions du potentiel osmotique dans le sol, de la conductance stomatique ; de la photosynthèse et aussi à l'augmentation de la concentration des ions Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup>, qui atteignent des niveaux toxiques pour la plante. En effet, la salinité est susceptible de perturber la nutrition minérale des plantes en interférant avec le prélèvement de certains éléments essentiels comme le potassium et le calcium (Zid et Grignon, 1991). De plus, l'augmentation de NaCl diminue l'absorption du potassium et du calcium et interfère avec leurs fonctions physiologiques (Zhu, 2002; Yoshida, 2002).

Ce facteur de salinité, qui est une contrainte environnementale majeure, stimule aussi la voie des phénylpropanoïdes en guise de réponse protectrice et/ou réparatrice à travers la production de molécules phénoliques capables de corriger les effets ioniques de NaCl dans les tissus (Parida *et al.*, 2004 ; Dixon et Paiva, 1995). Macheix (2005), affirme aussi que ces composés interviennent dans la stratégie adaptative et la physiologie de la plante sous contraintes abiotiques et que ces dernières sont parmi les principaux paramètres qui sont à l'origine des variations qualitatives et quantitatives du contenu phénolique (Tsai *et al.*, 2008 ; Hamouz *et al.*, 2007 ; Esteban *et al.*, 2001) et c'est leur potentiel antioxydant qui détermine la capacité de la plante à contrecarrer l'action oxydante des espèces réactives de l'oxygène.

A travers ce volet, nous nous attacherons à suivre l'impact du stress salin sur la croissance, le comportement nutritionnel et hydrique et les activités antioxydantes des composés phénoliques des plants d'*Acacia albida*.

## **4.2.. Méthodologie**

### **4.2.1. Culture et application du stress salin**

Avant de démarrer la culture de l'*Acacia albida*, nous avons fait des analyses sur le substrat de culture ainsi que l'eau de barrage utilisée pour l'irrigation et la préparation des différents traitements salins. Pour le substrat de culture et l'eau, nous avons réalisé une série d'analyses à savoir : la détermination du pH et de la conductivité électrique ainsi que le dosage des éléments minéraux ( $Mg^{++}$ ,  $Cl^-$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $SO_4^{--}$ ). A la fin de l'essai et après récolte des plants, toutes ces analyses ont été refaites sur les substrats après l'application du stress.

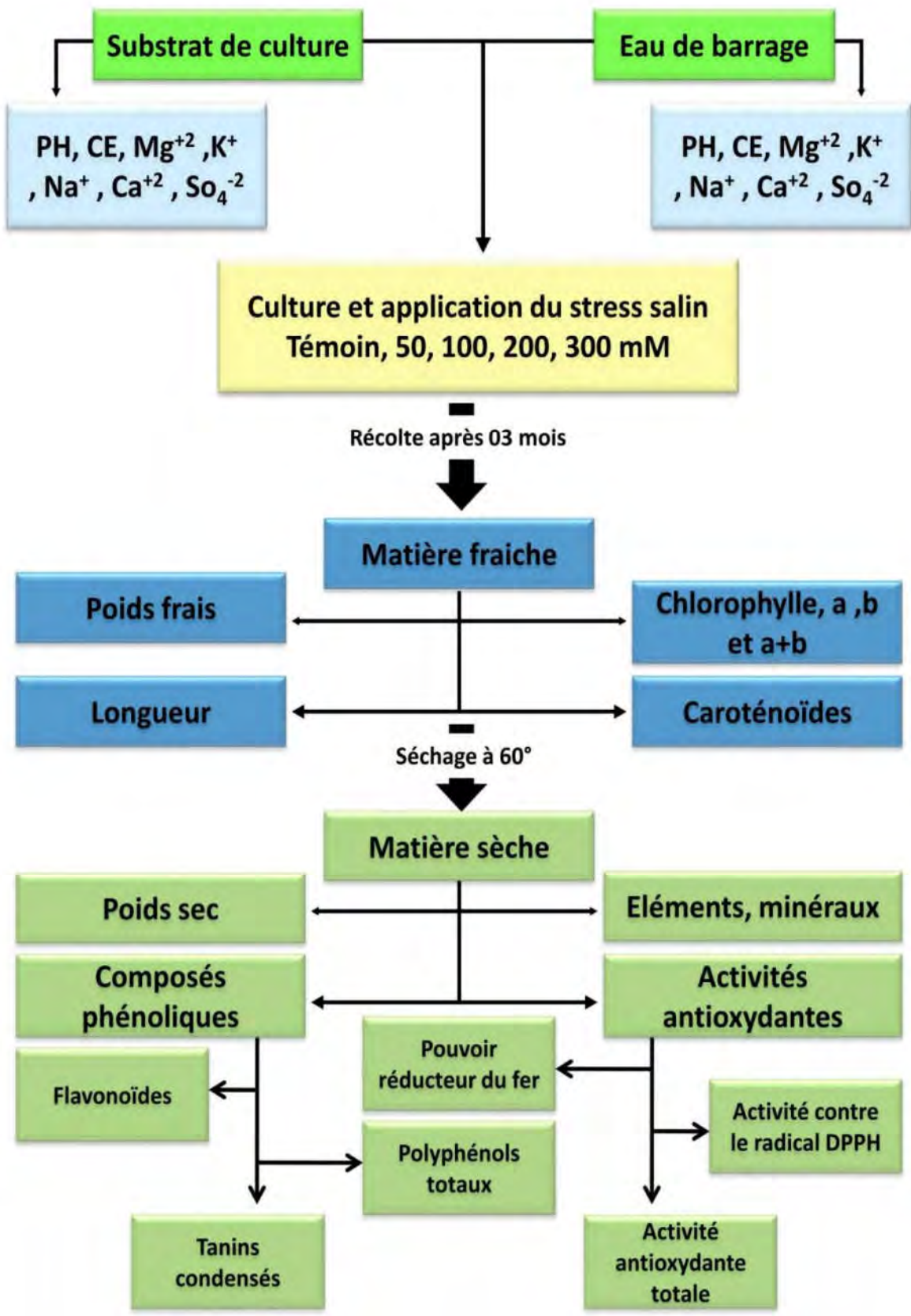
Les plants d'*Acacia albida*, âgés de 06 mois, ont été disposés en blocs aléatoires complets avec 14 répétitions pour chaque bloc. L'application du stress salin a duré 03 mois et a été faite par quatre concentrations croissantes : 50,100, 200, et 300 mM avec un témoin pour l'étude comparative.

### **4.2.2. Paramètres mesurés pendant l'essai et à la fin**

Durant l'essai, nous avons suivi la croissance des plants où chaque semaine nous faisons une mesure de la longueur de la tige.

A la fin de l'essai les plants ont été récoltés et soigneusement nettoyés. La partie aérienne a été séparée des racines. Ces dernières ont fait l'objet d'une mesure de la longueur. Différents paramètres ont été estimés à savoir : paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques. Certains de ces paramètres nécessitent le travail sur de la matière fraîche et d'autres sur de la matière sèche. La matière sèche est obtenue après séchage à l'étuve à 60°C pendant 72 heures.

La démarche méthodologique adoptée est résumée par le schéma suivant :



### 4.3. Résultats

#### 4.3.1. Caractérisation du substrat de culture avant l'application du stress salin

Avant l'application du stress salin aux plants d'*Acacia albida*, différents paramètres physico-chimiques du substrat de culture ont été caractérisés.

##### 4.3.1.1. Détermination du pH, CE et éléments minéraux

Les résultats du pH, de la conductivité électrique ainsi que des éléments minéraux ( $Mg^{++}$ ,  $Cl^-$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $SO_4^{--}$ ) sont résumés dans le tableau.18.

**Tableau.18.** pH, CE et éléments minéraux du substrat utilisé pour la culture d'*Acacia albida*.

	Eléments minéraux (méq/l)						pH	CE ( $\mu s/cm$ )
	$Mg^{++}$	$Cl^-$	$Ca^{++}$	$Na^+$	$K^+$	$SO_4^{--}$		
<b>Substrat de culture</b>	1	0.4	0.5	2.5	0.1	7.5	7.5	840

D'une manière générale, les sols halomorphes ont un  $pH > 7$ , car les carbonates sont plus absorbants que les hydrogènes dans les régions arides.

Selon les résultats physico-chimiques du Tableau.18, nous constatons que le substrat de culture est alcalin avec un pH de 7.5.

Quant à la conductivité électrique (CE), qui est mesurée par la méthode du rapport 1/5, nous constatons que le sol est légèrement salin avec une CE égale à 840  $\mu s/cm$ .

La projection du résultat des éléments minéraux sur le diagramme de Piper (Figure .20), nous permet de faire ressortir le type de faciès de notre substrat de culture qui est un faciès Sulfaté-sodique. Ce résultat a été confirmé par le diagramme de Stabler (Figure .21).

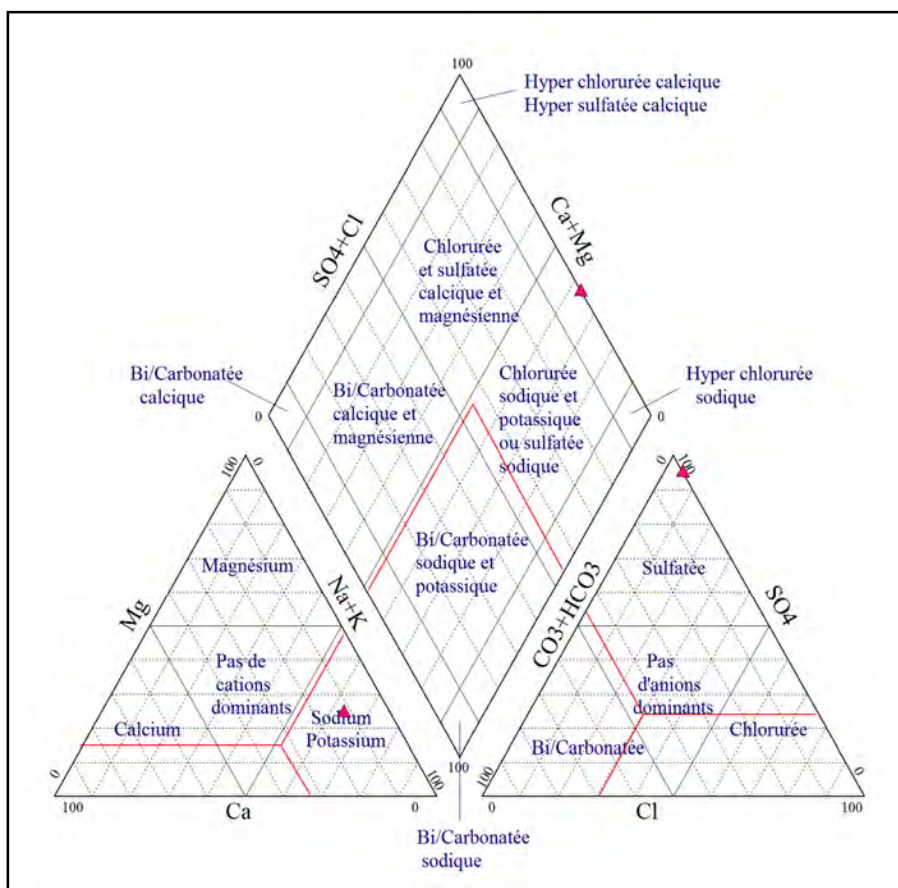


Figure .20. Diagramme de Piper du substrat utilisé pour la culture d’*Acacia albida*.

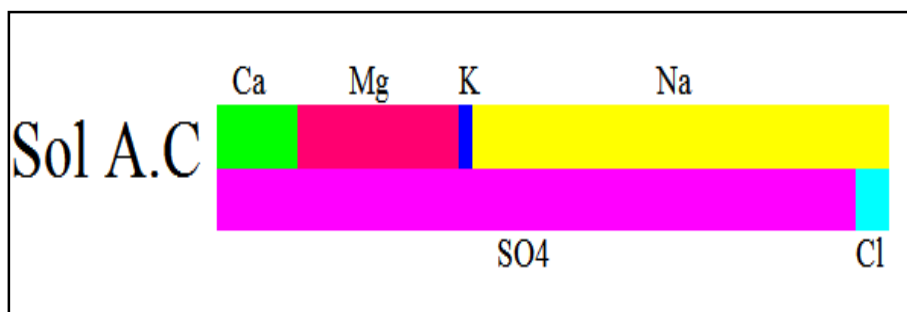
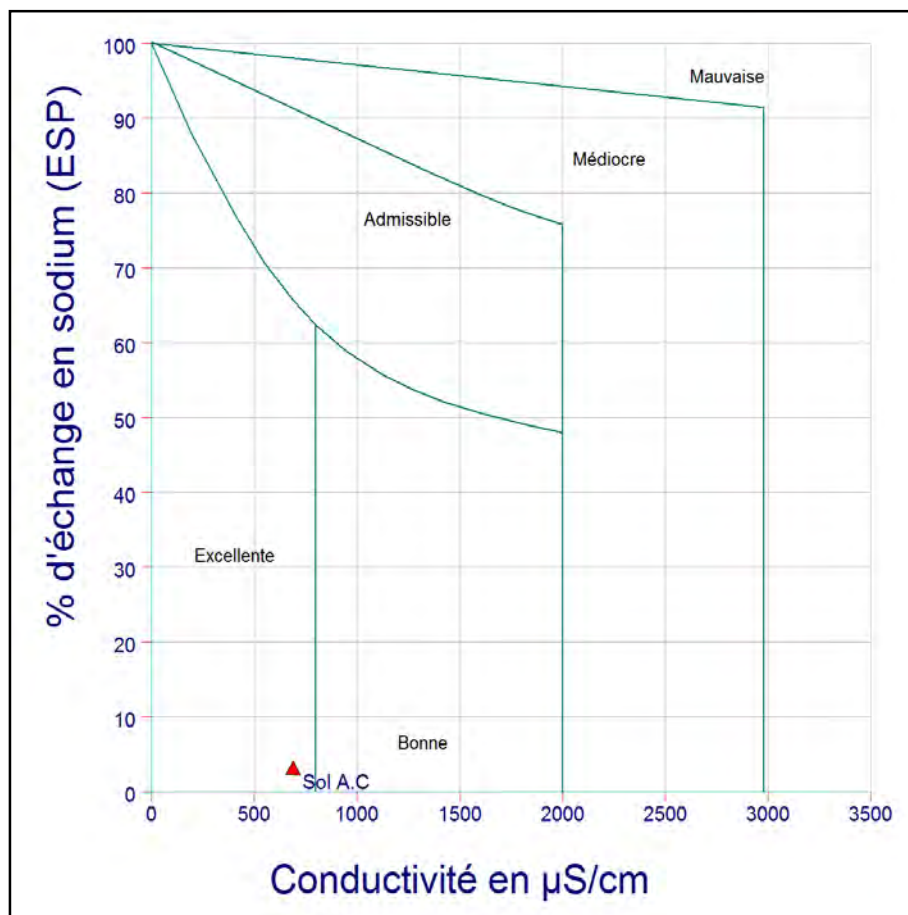


Figure.21. Diagramme de Stabler du substrat utilisé pour la culture d’*Acacia albida*.

#### 4.3.1.1.1. Classification du substrat de culture selon le diagramme de Richards

Après avoir reporté tous les points du sol sur le diagramme de Richards (Figure.22), selon la conductivité électrique et la valeur d’échange en sodium ESP, nous constatons que le substrat de culture appartient à la classe : excellente.



**Figure.22.** Diagramme de Richards pour la classification des sols

#### 4.3.1.1.2. Classification du substrat de culture selon le diagramme de Wilcox

Comme pour le diagramme de Richards, la projection des résultats du  $\text{Na}^+$  et de la conductivité électrique a confirmé que le substrat utilisé pour la culture des plants d'*Acacia albida* appartient à la classe excellente (Figure.23).



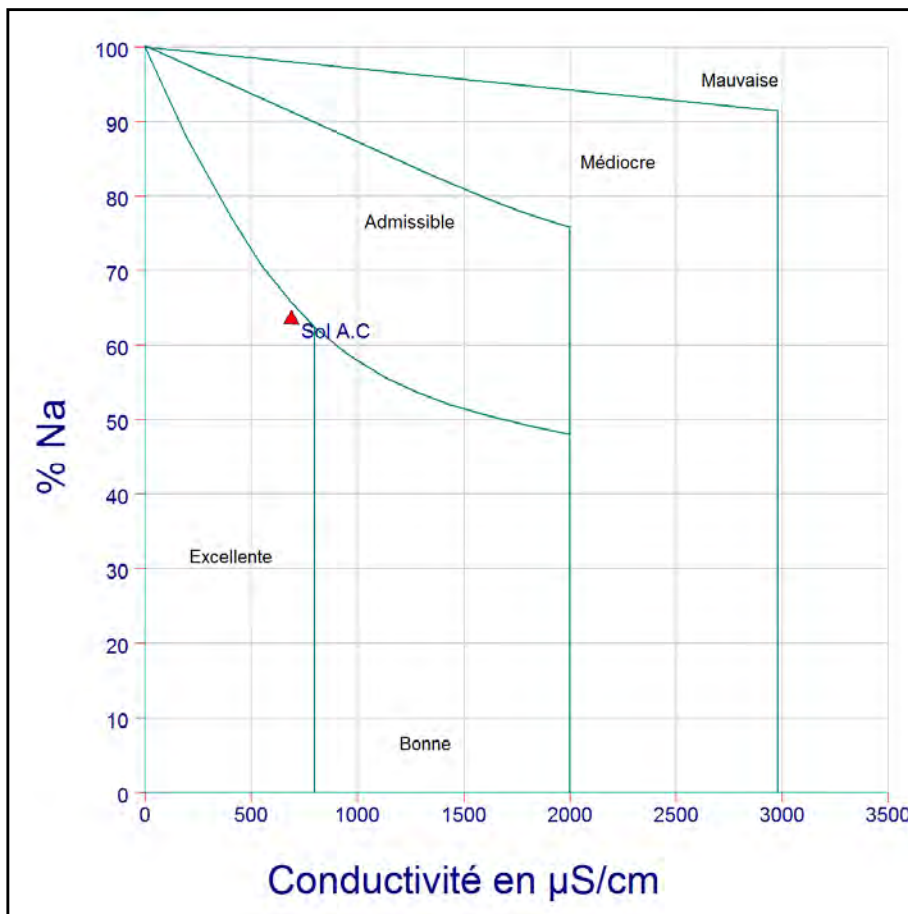


Figure.23. Diagramme de Wilcox pour la classification des sols

4.3.1.2. Granulométrie du substrat de culture

L’analyse granulométrique par la méthode de la pipette de Robinson a permis d’obtenir les fractions suivantes : 15 % Argile, 64 % Limon et 21 % Sable. La projection de ces valeurs sur le triangle textural adapté aux classes USDA (Département de l’agriculture des Etats-Unis) a révélé que notre substrat est considéré comme limoneux (Figure.24).

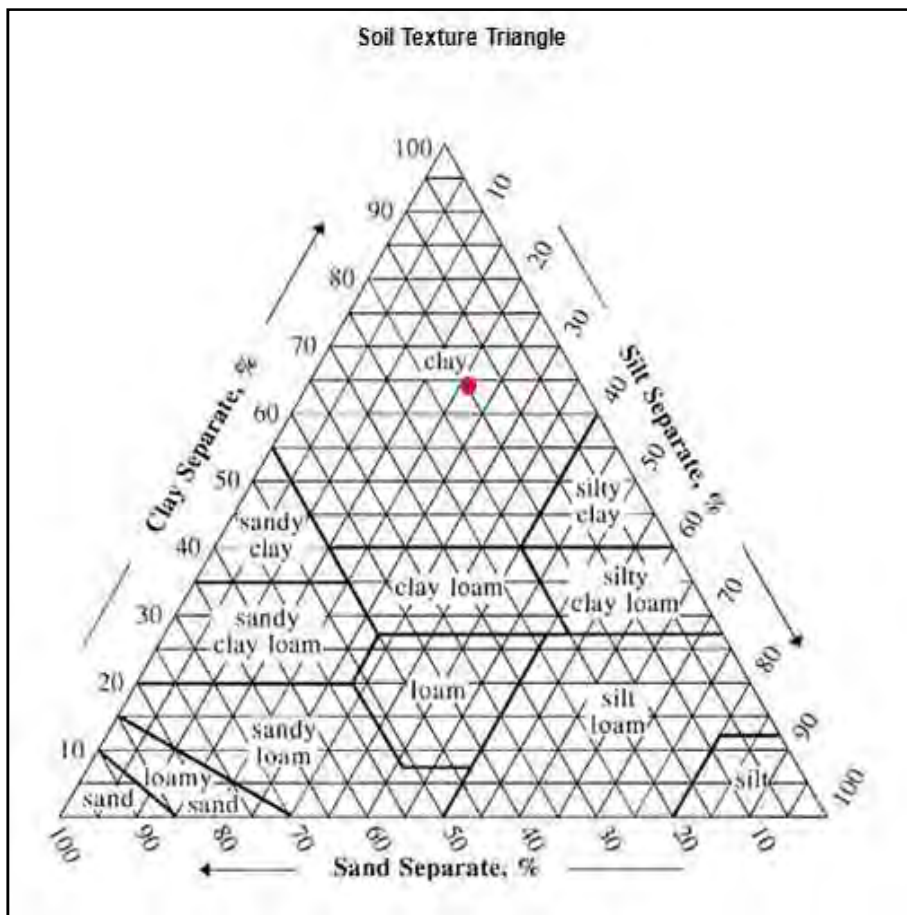


Figure.24. Triangle textural des sols selon les classes USDA

4.3.2. Caractérisation de l’eau de barrage

Une série d’analyses a été effectuée pour caractériser l’eau ayant servi à la préparation des différentes doses salines utilisées pour l’irrigation des plants d’*Acacia albida*.

4.3.2.1. Détermination du pH, CE et éléments minéraux de l’eau de barrage

Les résultats du pH, de la conductivité électrique ainsi que des éléments minéraux ( $Mg^{++}$ ,  $Cl^-$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $SO_4^{--}$ ) sont résumés dans le tableau.19.

Tableaux .19. pH, CE et éléments minéraux de l’eau de barrage.

	Eléments minéraux (még/l)						pH	CE ( $\mu s/cm$ )
	$Mg^{++}$	$Cl^-$	$Ca^{++}$	$Na^+$	$K^+$	$SO_4^{--}$		
<b>Eau de barrage</b>	7.1	9	10.2	9.84	0.37	15.44	7.8	2200

Selon le tableau.19, l'eau de barrage présente un pH de 7.8 et une conductivité électrique de 2200  $\mu\text{s}/\text{cm}$ . Les fluctuations globales de la minéralisation de l'eau peuvent être traduites par la détermination de la conductivité électrique de l'eau, qui est une fonction linéaire des ions dissous (Meybeck, 1986). La projection du résultat des éléments minéraux sur le diagramme de Piper (Figure.25) nous permet de faire ressortir le type de faciès de notre eau d'irrigation qui est un faciès Sulfaté-calcique.

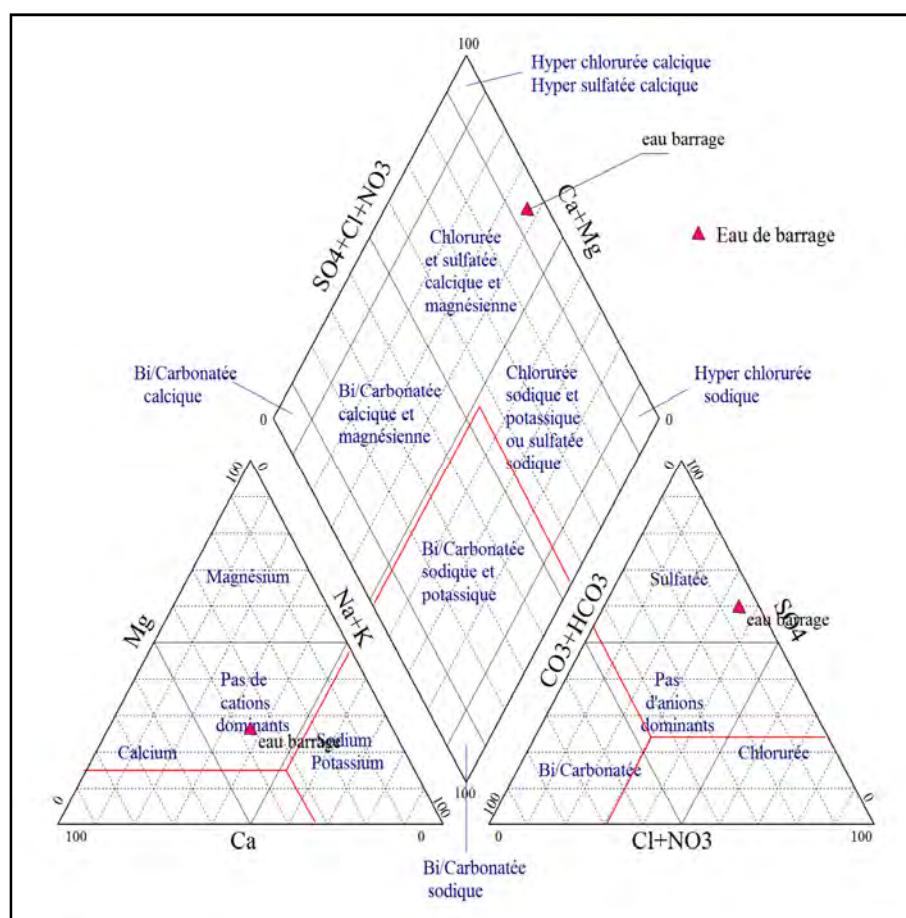


Figure .25. Diagramme de Piper de l'eau de barrage.

#### 4.3..2.2. Qualité de l'eau de barrage

La qualité des eaux d'irrigation est un paramètre important à considérer, non seulement dans l'étude de l'impact direct sur les végétaux, mais aussi dans celle de l'impact indirect sur les sols par modification de leurs propriétés physique et chimique (Suarez et al., 2006).

L'accumulation des sels hydrosolubles dans le sol d'enracinement influe négativement sur la croissance des plantes, on a recensé deux séries d'effets de la salinité (Forges, 1972) : les uns portent sur les végétaux et les autres sur le sol.

Pour ce fait, nous avons utilisé deux diagrammes, le premier est celui de Riverside, qui donne une relation entre le SAR (Sodium Adsorption Ratio) et la conductivité électrique de l'eau. Selon la figure.26, nous pouvons caractériser l'eau de barrage comme eau médiocre.

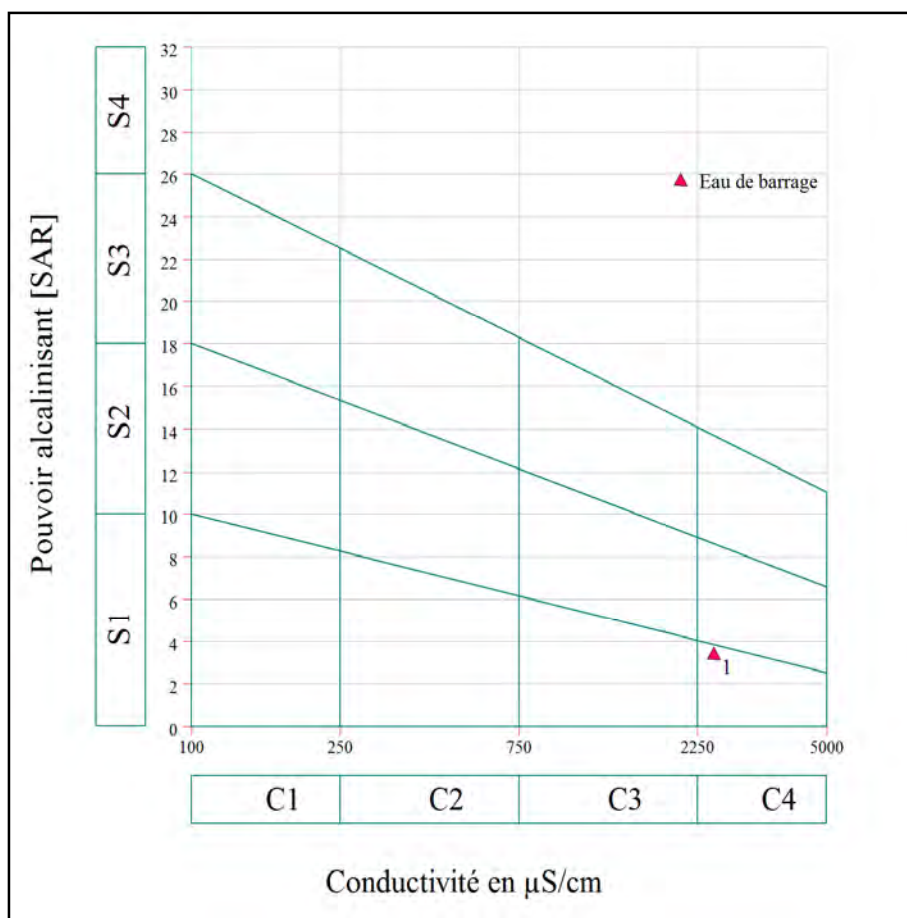


Figure.26. Diagramme de Riverside pour l'eau de barrage.

Le deuxième diagramme utilisé est celui de Wilcox dont la classification est fondée sur la conductivité électrique et la teneur en sodium dans l'eau exprimée en pourcentage. Les résultats de la Figure.27 nous permettent de conclure et confirmer que l'eau de barrage est une eau médiocre.

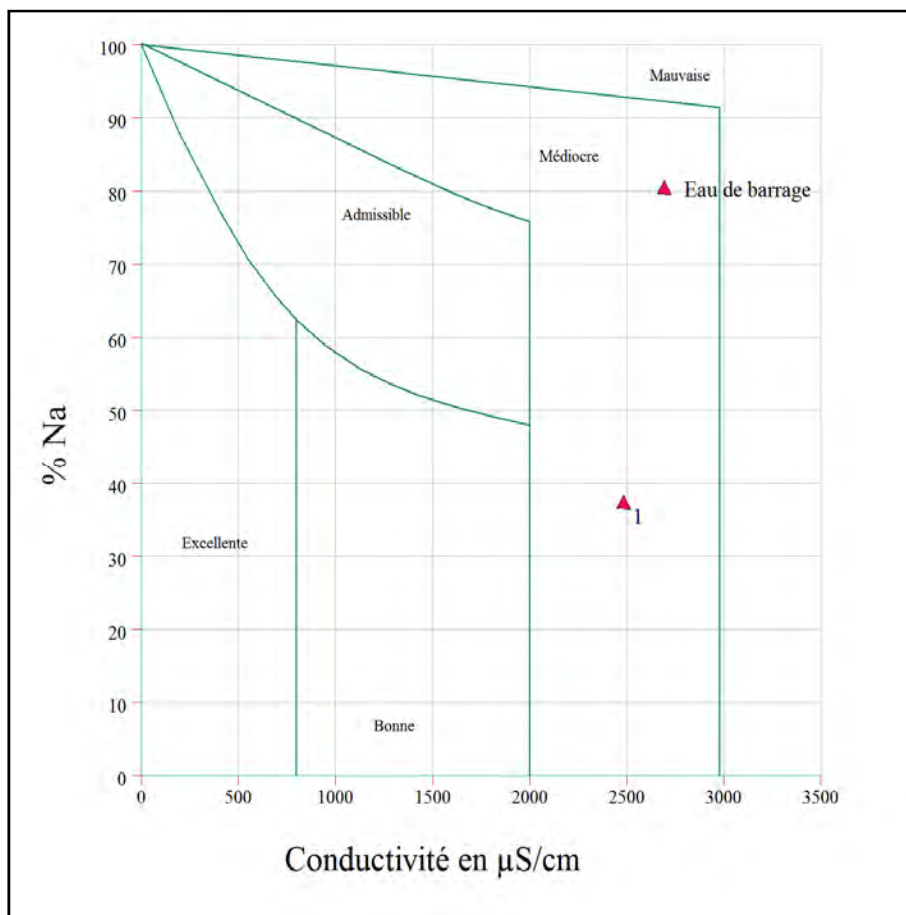


Figure.27. Diagramme de Wilcox pour l'eau de barrage.

### 4.3.3. Caractérisation des substrats de culture des plants d'*Acacia albida*

#### 4.3.3.1. Détermination du pH, CE et des éléments minéraux

Les résultats d'analyse du pH, CE et éléments minéraux des différents substrats de culture utilisés pour les plants d'*Acacia albida* sont résumés dans le tableau.20.

Tableau.20. pH, CE et éléments minéraux des différents substrats de culture.

Substrats	Eléments minéraux (még/l)						pH	CE ( $\mu\text{s/cm}$ )
	Mg <sup>++</sup>	Cl <sup>-</sup>	Ca <sup>++</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>		
Témoin	1.1	0.5	0.6	3	0.24	8.13	8.23	1789
S1	1.2	0.9	0.85	1.10	0.29	8.87	8.28	2500
S2	1.2	1	1.1	4.10	0.37	15.59	8.29	2840
S3	1.4	1.1	1.1	8.73	0.44	17.18	8.30	3750
S4	1.8	1.15	1.75	36.54	1.02	18.98	8.37	4730

La notion de pH du sol permet, de façon commandée et précise, de désigner la réaction du sol. Généralement, les sols salés ont un pH supérieur à 7. Certains auteurs ont établi que l'accroissement du pH reflète la saturation du Na<sup>+</sup> sur le complexe d'échange et l'état de la saturation du sol (Aubert, 1983 ; Bridges, 1978 ; Duchauffour, 1969). Un pH compris entre 8 et 9 est retenu, généralement comme limite de la dégradation de la structure (Aubert, 1983 ; Bridges, 1978). La valeur de 9 est atteinte lorsque Na<sup>+</sup> représente 30 % de la CEC et le pH 10 correspond à une ESP > 15 % (Aubert, 1983). Le pH peut dépasser 10 ; après précipitation du carbonate de calcium, les ségrégations salines sont fortement sodiques et renferment des sels alcalins (NaHCO<sub>3</sub>), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (Servant, 1975).

Selon le tableau.20, tous nos substrats ont un pH compris entre 8.23 et 8.37, qui est une limite de la dégradation de la structure.

Quant à la conductivité électrique qui désigne la salinité du sol (extrait à 1/5), elle varie entre 1789 et 4730  $\mu\text{s/cm}$ . Selon l'échelle de la salinité établie par Aubert (1978), nous pouvons déduire que le témoin est considéré comme peu ou légèrement salé, tandis que les substrats S1, S2, S3 et S4 sont considérés comme très salés.

La projection du résultat des différents éléments minéraux sur le diagramme de Piper (Figure.28) nous a permis de conclure que le faciès de tous les substrats est de type Sulfaté-sodique.

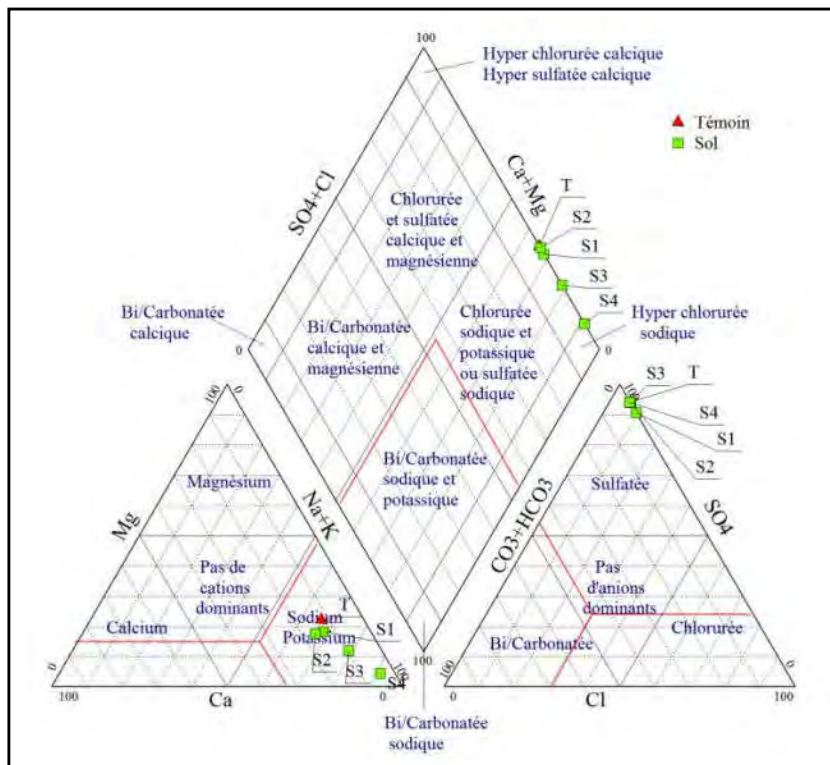


Figure.28. Diagramme de Piper des différents substrats de culture

Pour confirmer le faciès des différents substrats de culture donné par le diagramme de Piper, un autre diagramme a été utilisé qu'est le diagramme de Stabler (Figure.29). Selon ce dernier tous les substrats ont un faciès Sulfaté-sodique.

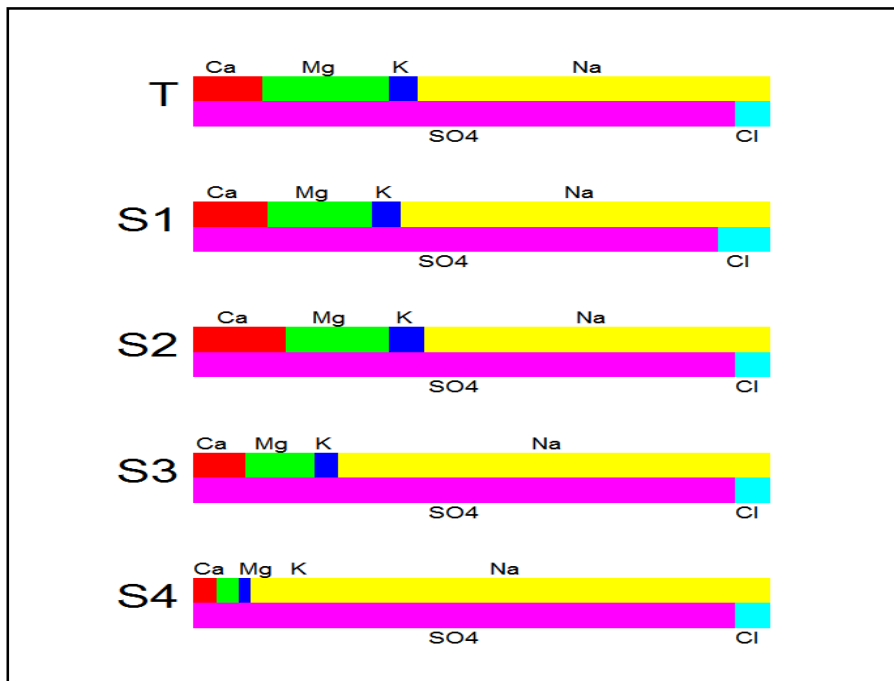


Figure.29. Diagramme de Stabler des différents substrats de culture.



#### 4.3.3.2. Classification des différents substrats de culture selon le diagramme de Richards

Après avoir reporté tous les points des différents substrats sur le diagramme de Richards (Figure.30), selon la conductivité électrique et la valeur d'échange en sodium ESP, nous avons pu dégager trois classes comme suit :

- Excellente : représente le témoin T, elle caractérise une alcalinité légère.
- Bonne : représente les substrats S1, S2 et S3, cette classe est d'une alcalinité modérée.
- Mauvaise : représente le substrat S4, elle caractérise une alcalinité grave.

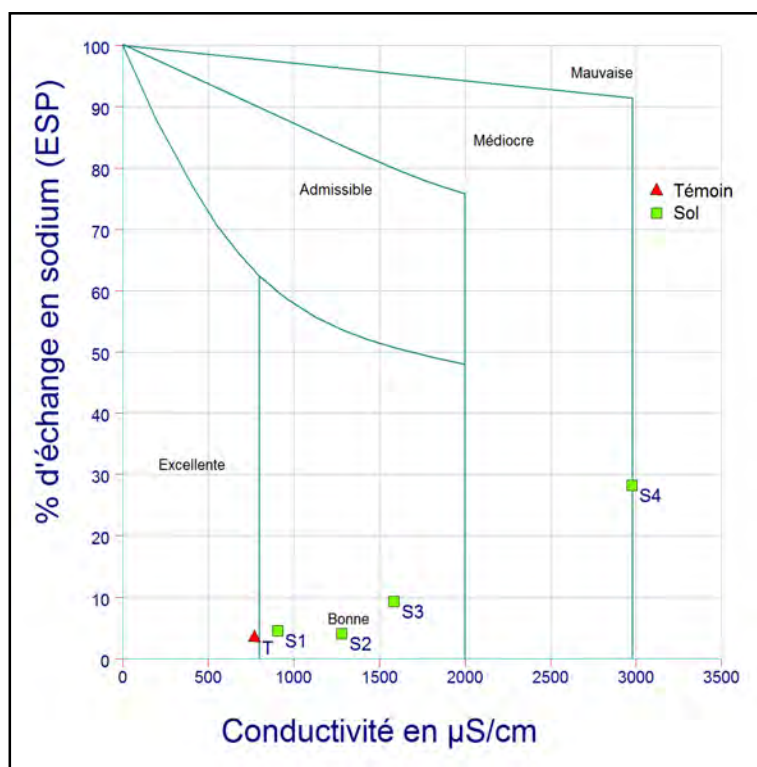


Figure.30. Diagramme de Richards pour les différents substrats de culture.

#### 4.3.3.3. Classification des différents substrats de culture selon le diagramme de Wilcox

La classification de Wilcox fondée sur la conductivité électrique et la teneur en sodium dans le sol exprimée en pourcentage (Figure.31).



La projection des résultats du tableau.20 des différents substrats de culture sur le diagramme de Wilcox nous a permis de dégager deux classes :

- La classe admissible: elle regroupe le témoin (T) et les substrats S1, S2 et S3.
- La classe mauvaise : elle regroupe le substrat S4.

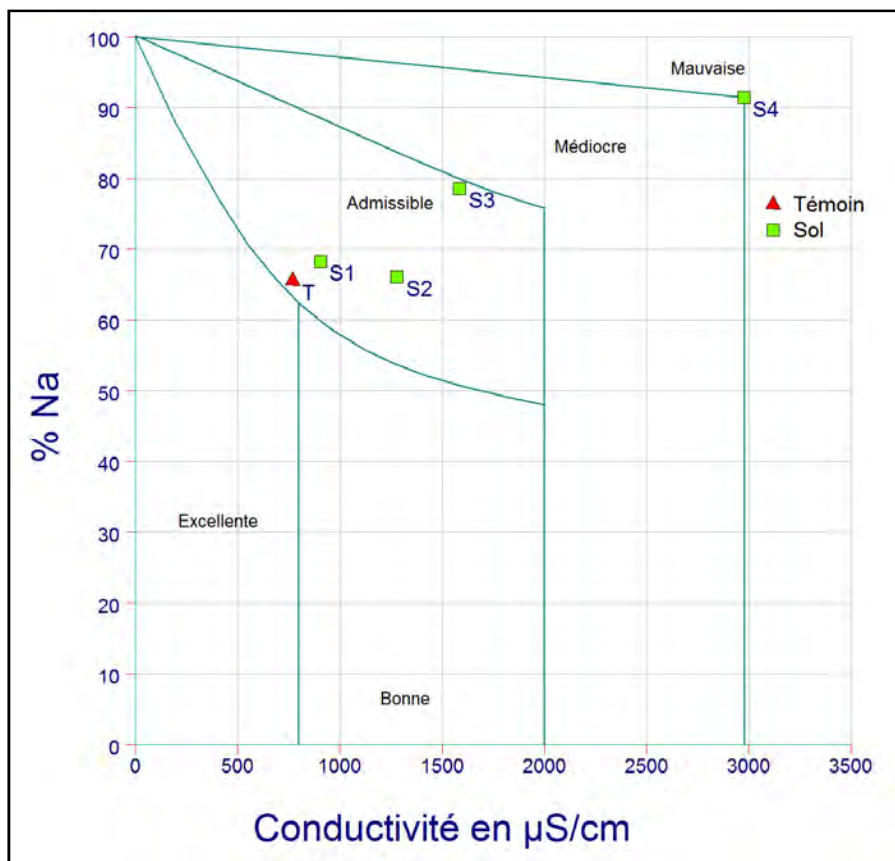
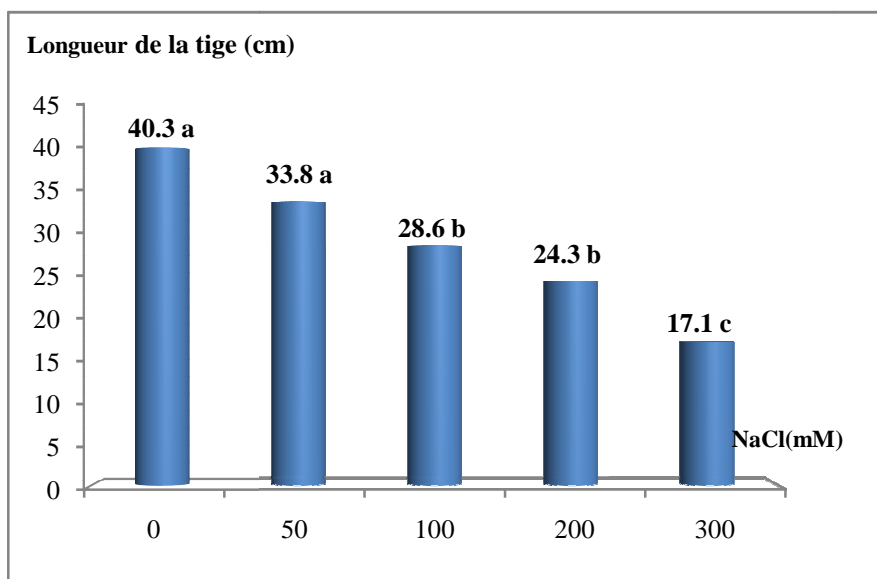


Figure.31. Diagramme de Wilcox pour les différents substrats de culture

#### 4.3.4. Effet de la salinité sur la longueur des parties aérienne et racinaire

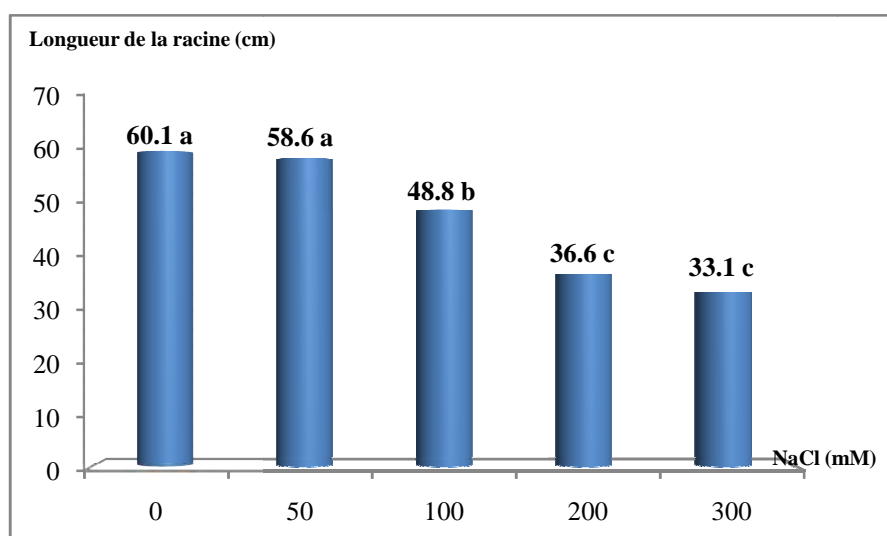
La variabilité en longueur des plants de l'*Acacia albida* en fonction des différentes concentrations salines est résumée par les figures.32 et 33.



**Figure.32.** Effet des différentes doses de sel sur la longueur des tiges des plants d'*Acacia albida* (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%)

D'après les figure.32 et 33, nous constatons qu'il existe une corrélation négative entre les différentes doses de sel appliquées et la longueur des tiges et des racines.

Pour la partie aérienne, nous avons enregistré une longueur de 40.3 cm de la tige pour le témoin, tandis que sous une contrainte saline équivalente à 50 mM, la longueur passe à 33.8 cm. Statistiquement il n'y a pas de différence significative entre le témoin et les plants irrigués avec une dose de 50 mM. La croissance des tiges est affectée à partir d'une dose de 100 mM où nous avons noté une longueur de 28.6 cm, soit une diminution de 29 % par rapport au témoin. A 200 mM, la longueur passe à 24.3 cm correspondant à une diminution de 39.7 %. Enfin, pour le traitement à 300 mM, la longueur de la tige est passée à 17.1 cm soit une diminution de 42.4 %.



**Figure.33.** Effet des différentes doses de sel sur la longueur des racines des plants d'*Acacia albida* (Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%)

Concernant la longueur des racines, nous avons observé la même tendance que pour la partie aérienne (Figure.33).

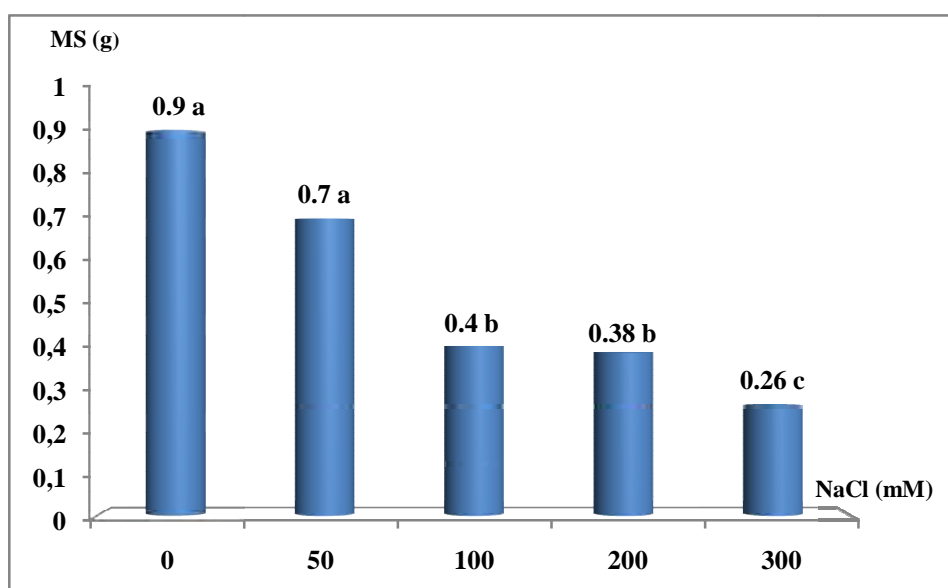
La concentration du sel affecte négativement la croissance en longueur des racines. Pour le témoin et le traitement à 50 mM nous avons enregistré des valeurs de 60.1 et 58.6 cm, respectivement.

L'analyse de la variance a révélé qu'il n'existe pas de différence significative pour ces deux premières catégories de plants d'*Acacia albida*. Sous un traitement de 100 mM, les racines ont atteint une longueur de 48.8 cm soit une diminution de 18.8 %.

L'impact de la salinité se fait sentir de plus en plus sur la croissance des racines, car pour les traitements de 200 et 300 mM, nous avons enregistré des longueurs de 36.6 et 33.1 cm, soit une diminution de 39.1 et 44.9 %, respectivement.

#### 4.3..5.Effet de la salinité sur le poids sec des parties aérienne et racinaire

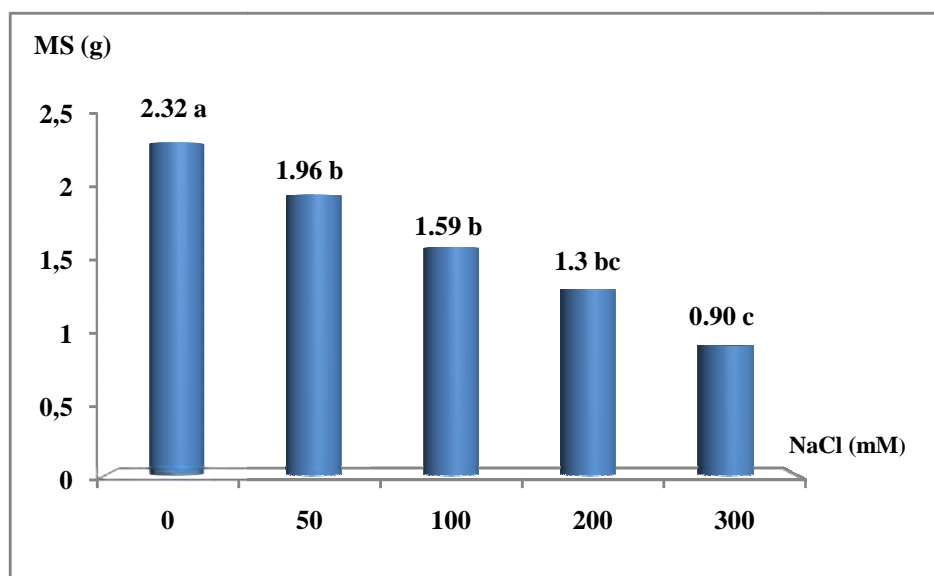
L'évolution des poids secs des parties aérienne et racinaire des plants de l'*Acacia albida* en fonction des différentes doses de sel appliquées a été évaluée et les résultats sont représentés dans les figures 34 et 35.



**Figure.34.** Impact des différentes concentrations de sel sur le poids sec de la partie aérienne des plants d'*Acacia albida* (Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

L'analyse de la figure.34 permet de constater que l'évolution de la matière sèche de la partie aérienne des plants de l'*Acacia albida* est inversement proportionnelle à la concentration saline. Pour le témoin et le traitement à 50 mM, les poids secs correspondent à 0.9 et 0.7 g respectivement. L'analyse de la variance n'a pas révélé de différences significatives pour ces deux traitements. Au-delà de 50 mM, la différence dans le poids sec devient plus significative en comparaison avec le témoin, où nous avons enregistré des poids de 0.4 et 0.38 g pour les traitements 100 et 200 mM, respectivement. Pour le traitement 300 mM, le poids sec a atteint 0.26 g soit une différence de 71 % par rapport au poids sec du témoin. L'analyse de la variance a révélé que ce dernier diffère significativement de tous les autres traitements.

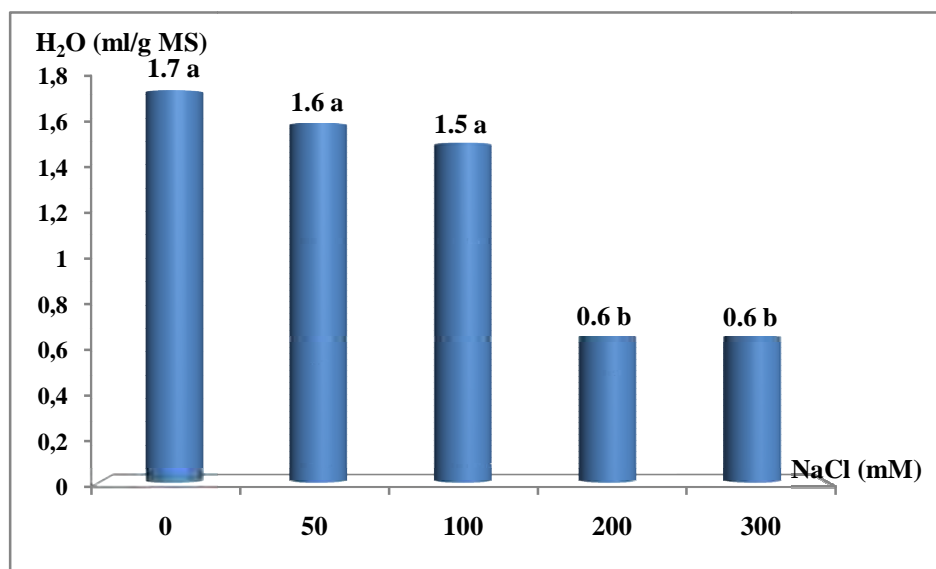
L'impact de la salinité sur le poids sec des racines suit la même tendance que dans la partie aérienne, cependant la différence est significative dès le traitement à 50 mM où le poids est estimé à 1.96 g contre 2.32 g pour le témoin (Figure.35). Le poids sec des racines relatif au traitement 100 mM est statistiquement semblable à celui de 50 mM. Le traitement de 200 mM donne un résultat de 1.3 g, ce qui représente une différence dans le poids de 44 % par rapport au témoin. Quant au traitement de 300 mM, il s'individualise à lui seul avec un groupe à part dont le poids correspond à une valeur de 0.9 g, soit une différence de 61 % en comparaison avec le témoin.



**Figure.35.** Impact des différentes concentrations de sel sur le poids sec des racines de plants d'*Acacia albida* (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

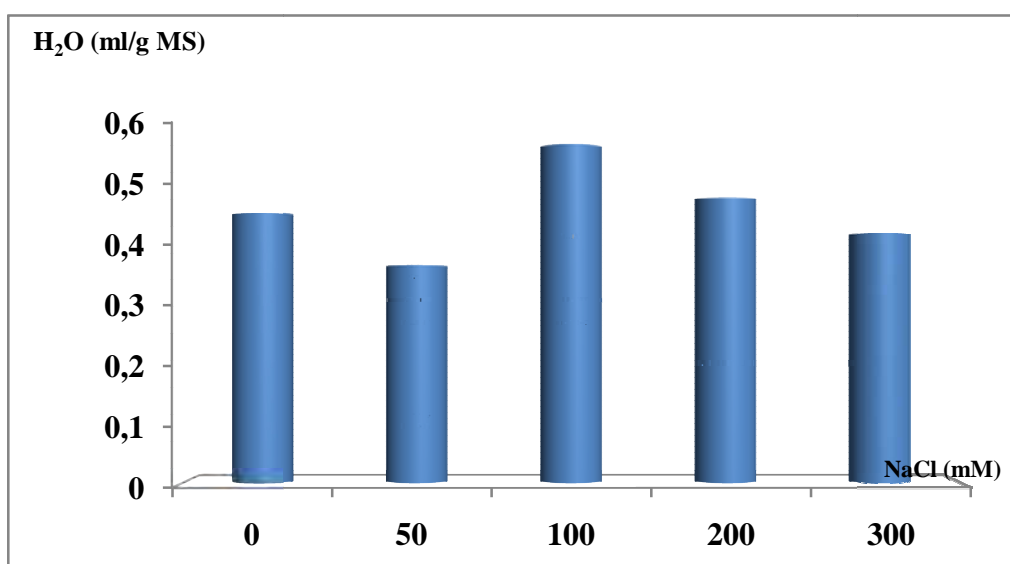
#### 4.3.6. Effet de la salinité sur la teneur en eau des parties aérienne et racinaire

L'hydratation des tissus des parties aérienne et racinaire des plants de l'*Acacia albida* est représentée graphiquement par les figures 36 et 37.



**Figure.36.** Impact des différentes concentrations de sel sur l'hydratation des parties aériennes de plants d'*Acacia albida* (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

Les résultats de la figure.36 nous donnent une idée sur l'évolution de la teneur en eau ou l'hydratation des tissus de la partie aérienne des plants en fonction de la salinité. Nous constatons que les concentrations salines n'affectent pas l'hydratation des tissus jusqu'à des concentrations de 100 mM. Les teneurs en eau pour le témoin et les traitements 50 et 100 mM sont statistiquement semblables avec des valeurs qui correspondent à 1.7, 1.6 et 1.5 ml/g MS, respectivement. Pour les deux traitements 200 et 300 mM, la teneur en eau descend jusqu'à 0.6 ml/g MS. De ce fait, l'impact de la salinité est plus prononcé et l'hydratation devient de plus en plus difficile. En comparaison avec le témoin il y a eu une perte de plus de 64 % d'eau.



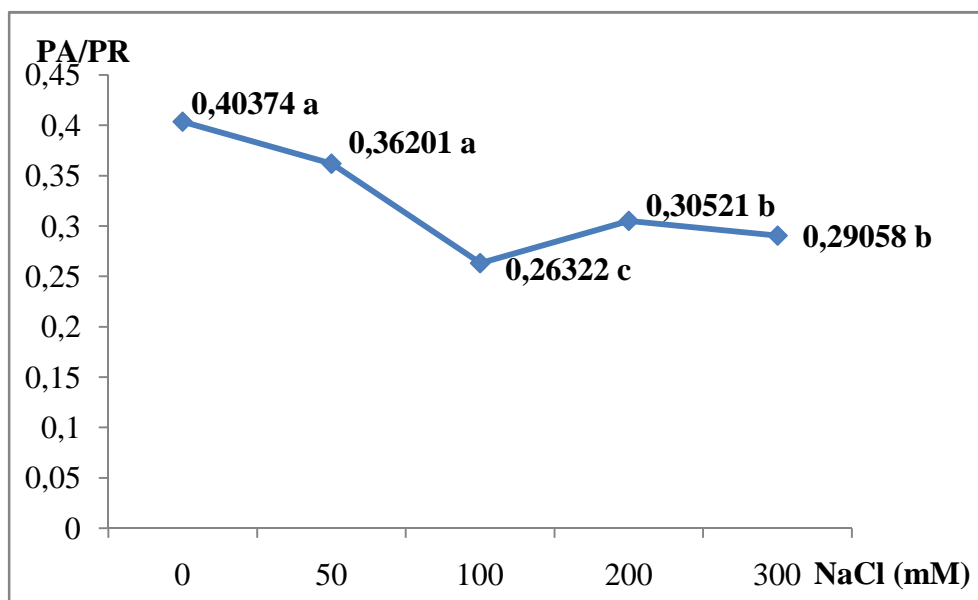
**Figure.37.** Impact des différentes concentrations de sel sur l'hydratation des parties racinaires de plants d'*Acacia albida*.

Contrairement aux parties aériennes, les racines des plants de l'*Acacia albida* sont moins sensibles à l'alimentation en eau sous l'effet du stress salin. Le témoin exhibe une teneur de l'ordre de 0.45 ml/g MS, pour les autres traitements les teneurs varient de 0.38 à 0.57 ml/g MS. L'analyse de la variance n'a révélé aucune différence significative de la teneur en eau pour tous les traitements salins.

#### 4.3.7. Effet de la salinité sur le rapport de biomasse partie aérienne/partie racinaire

Le rapport de biomasse est un critère important pour l'évaluation de l'effet du stress salin sur les végétaux, ainsi on peut déterminer quelle est la partie la plus sensible et la partie la plus résistante à ce stress.

La Figure.38, représente l'évolution de ce rapport PA/PR en fonction des différentes doses de sel.

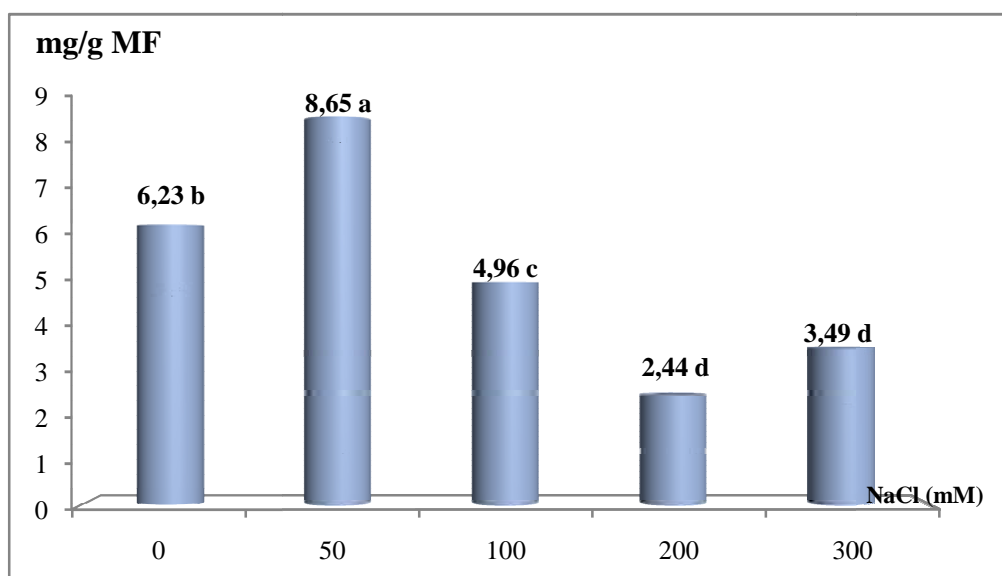


**Figure.38.** Effet des différentes doses de sel sur le rapport partie aérienne/partie racinaire des plants d'*Acacia albida*. (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

D'après la figure.38, nous constatons que la variation du rapport PA/PR du traitement à 50 mM est statistiquement semblable à celle du témoin, cependant au-delà des 50 mM, cette variation devient significative avec une valeur de 0.26 pour le traitement à 100 mM, puis nous enregistrons une légère augmentation du rapport pour atteindre 0.31 et 0.29 pour les traitements à 200 et 300 mM.

#### 4.3.8. Effet de la salinité sur la teneur en pigments chlorophylliens

Le résultat de la variation des teneurs en chlorophylle a et b ainsi que la chlorophylle totale en fonction des doses de sel appliquées sur les plants d'*Acacia albida* est rapporté dans les figures 39, 40 et 41.

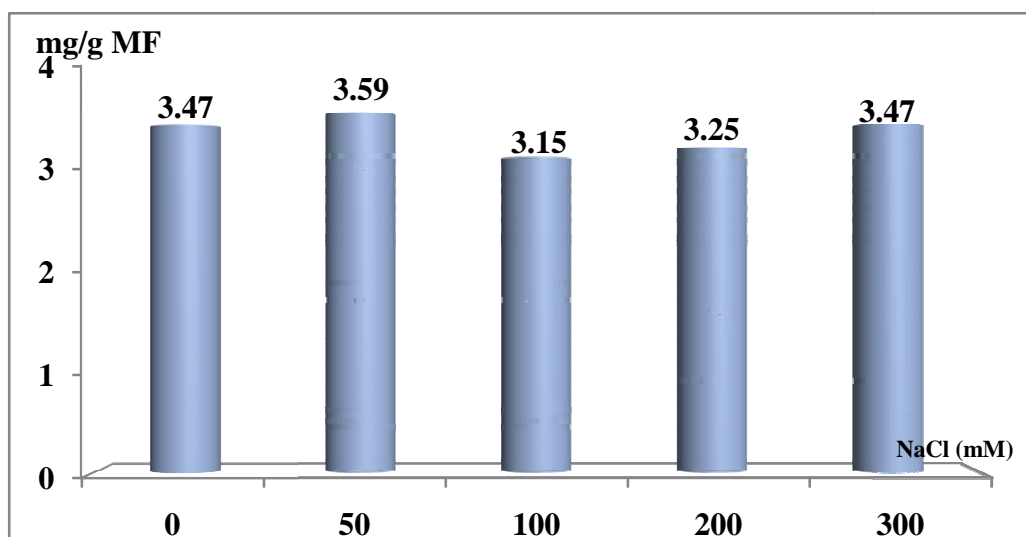


**Figure.39.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en chlorophylle « a » des plants d'*Acacia albida* (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

D'après la **figure.39**, l'évolution de la teneur en chlorophylle « a » en fonction des différents traitements salins prend la forme d'une courbe en cloche asymétrique. Nous constatons que la teneur en chlorophylle « a » est estimée à 6.23  $\mu\text{g/ml}$  pour le témoin. Cependant, sous l'effet d'une dose de sel à 50 mM, cette valeur a augmenté à 8.65  $\mu\text{g/ml}$ . Au-delà de cette dose, cette teneur diminue jusqu'à la moitié par rapport à celle du témoin pour atteindre 3.49  $\mu\text{g/ml}$  pour le traitement à 300 mM.

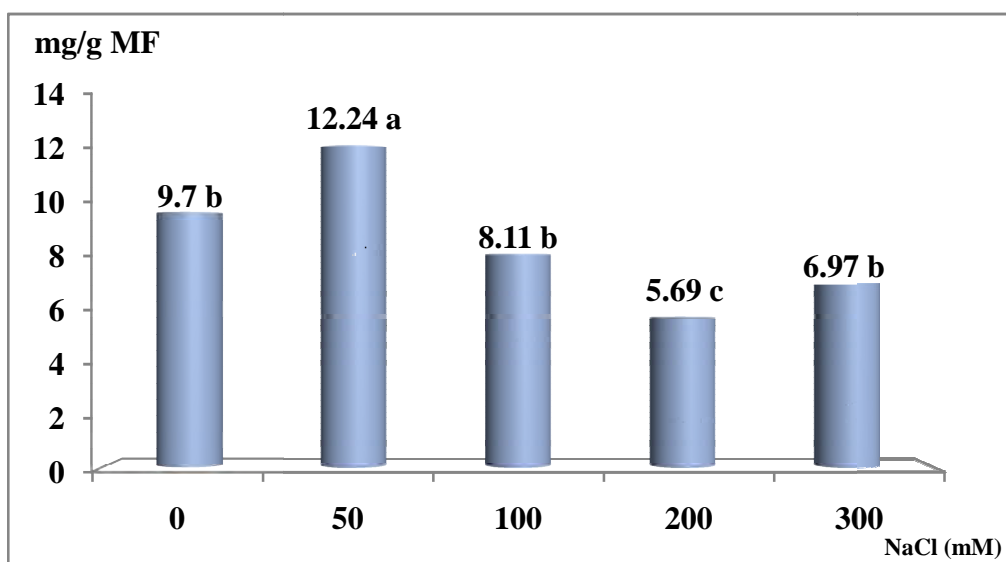
Contrairement à ce qui a été observé pour la chlorophylle « a », les différentes doses de sel appliquées aux plants d'*Acacia albida* n'ont pas affecté significativement les teneurs en chlorophylle « b ». L'analyse de la variance a révélé que tous les traitements donnent des résultats semblables. Sachant que pour le témoin nous avons noté une valeur de 3.4  $\mu\text{g/ml}$ , la plus grande valeur est enregistrée pour le traitement à 50 mM avec 3.5 mg/g MF, tandis que la plus faible valeur est de 3.1  $\mu\text{g/ml}$  pour le traitement 100 mM (Figure.40).





**Figure.40.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en chlorophylle « b » des plants d'*Acacia albida*.

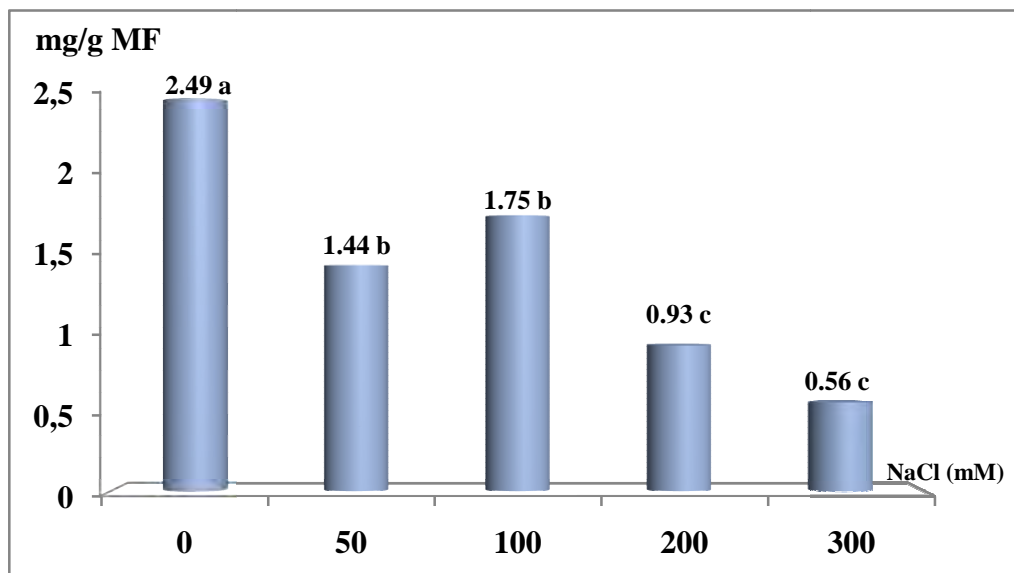
La même tendance est observée pour la chlorophylle totale en comparaison avec la chlorophylle « a », où l'évolution de la teneur en chlorophylle, en fonction des différents traitements de sel, prend l'allure d'une courbe en cloche asymétrique (Figure.41). Nous avons enregistré pour le témoin une teneur égale à 9.7  $\mu\text{g/ml}$ . Sous l'effet d'une dose de 50 mM, la teneur a augmenté pour atteindre 12.2  $\mu\text{g/ml}$ . Au-delà de cette dose, la teneur diminue pour atteindre une valeur de 6.9  $\mu\text{g/ml}$  pour le traitement à 300 mM.



**Figure.41.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en chlorophylle totale des plants d'*Acacia albida* (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

#### 4.3.9. Effet de la salinité sur la teneur en caroténoïdes

Le résultat de l'évolution de la teneur en caroténoïdes en fonction des différentes doses de sel est résumé dans la figure.42.



**Figure.42.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en caroténoïdes des plants d'*Acacia albida* (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

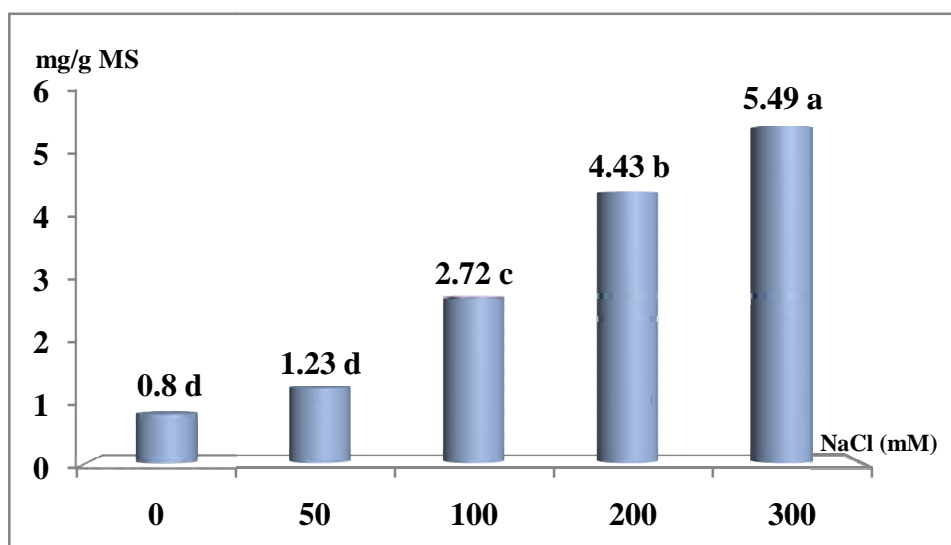
L'examen de la figure.42, nous permet de constater qu'il existe une relation inversement proportionnelle entre la teneur en caroténoïdes des plants d'*Acacia albida* et les différentes doses de sel appliquées.

L'analyse de la variance a révélé l'existence de différences significatives entre les teneurs en caroténoïdes en faisant ressortir trois groupes de moyennes homogènes.

Le premier groupe est formé du témoin avec une teneur de 2.49  $\mu\text{g/ml}$ . Le deuxième groupe est formé des traitements de 50 et 100 mM avec des teneurs de 1.44 et 1.75  $\mu\text{g/ml}$ , respectivement. Enfin le dernier groupe est constitué des traitements de 200 et 300 mM avec des teneurs de 0.93 et 0.56  $\mu\text{g/ml}$ , respectivement.

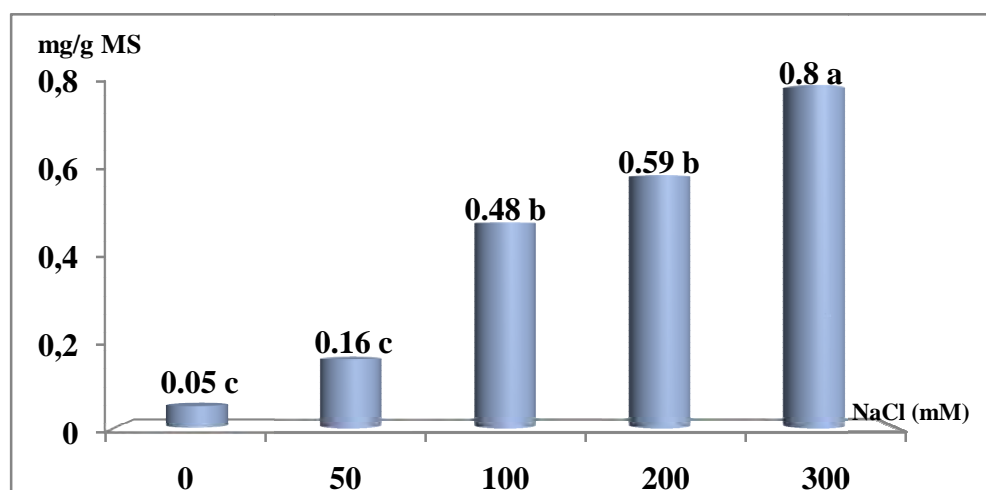
#### 4.3.10. Effet de la salinité sur la teneur en Na et K des parties aérienne et racinaire

□ **Sodium.** Les figures.43 et 44 représentent l'évolution de la teneur en Na des parties aérienne et racinaire des plants d'*Acacia albida* en fonction des différentes doses de sel. Nous constatons que pour la partie aérienne, la teneur en sodium augmente en fonction de la salinité et cette augmentation devient significative au-delà des 50 mM pour atteindre des valeurs de 5.49 mg/g MS. Cette teneur est sept fois plus importante que celle notée pour le témoin.



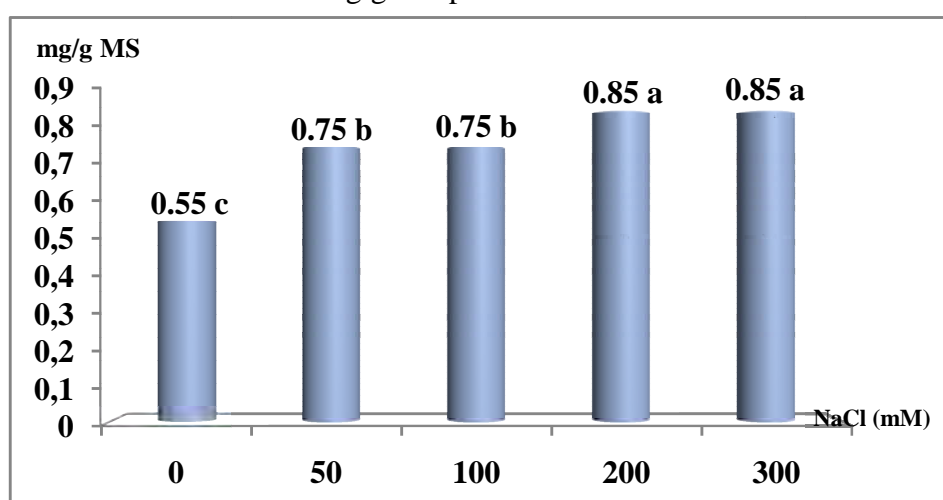
**Figure.43.** Variabilité des teneurs en Na (mg/g MS) dans les parties aériennes des plants d'*Acacia albida* en fonction de la salinité. (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

Concernant les parties racinaires, nous constatons la même tendance où l'évolution de la teneur en Na est proportionnelle à celle de la salinité et cette variabilité devient significative au-delà des 50 mM. Pour le témoin nous avons noté une valeur de 0.05 mg/g MS, sous une dose de 300 mM cette teneur devient 16 fois plus importante que celle du témoin atteignant 0.8 mg/g MS (Figure.44).



**Figure .44.** Variabilité des teneurs en Na (mg/g MS) dans les parties racinaires des plants d'*Acacia albida* en fonction de la salinité. (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

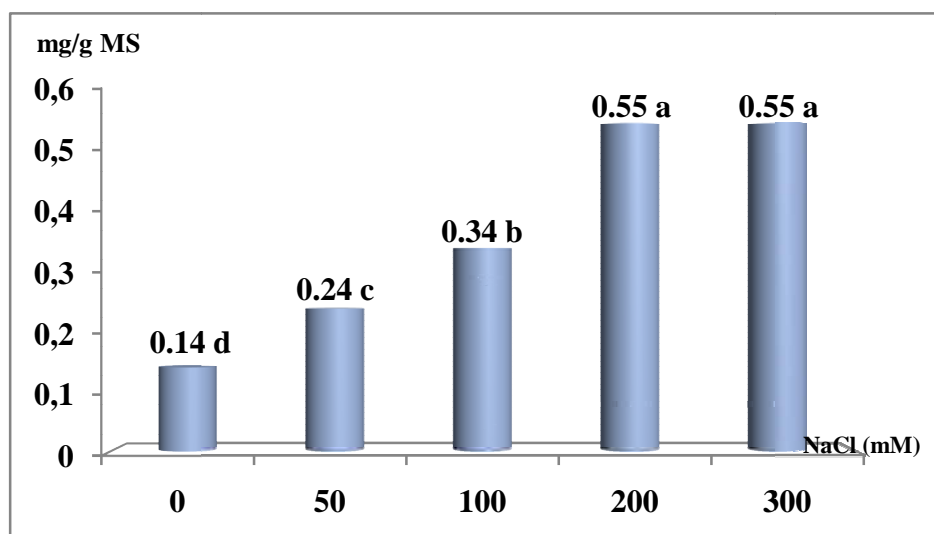
□ **Potassium.** Les figures.45 et 46 représentent la variabilité des teneurs en K dans les parties aérienne et racinaires des plants d'*Acacia albida* en fonction des différentes doses de sel. Les différentes doses de sel ont un effet significatif sur la teneur en potassium, que ce soit pour les parties aériennes ou les parties racinaires. Selon la figure.45, nous avons enregistré des valeurs allant de 0.55 à 0.85 mg/g MS. L'analyse de la variance a révélé la présence de trois groupes homogènes, le premier est celui du témoin avec une teneur de 0.55 mg/g MS, le deuxième regroupe les traitements à 50 et 100 mM avec une même valeur de 0.75 mg/g MS et enfin le troisième groupe rassemblant les traitements à 200 et 300 mM avec une valeur de 0.85 mg/g MS pour les deux.



**Figure.45.** Variabilité des teneurs en K (mg/g MS) dans les parties aériennes des plants d'*Acacia albida* en fonction de la salinité. (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

Concernant les parties racinaires, nous observons la même tendance qu'avec les parties aériennes où les teneurs en K évoluent proportionnellement avec l'augmentation des concentrations salines (Figure.46).

Pour le témoin nous avons enregistré une valeur de 0.14 mg/g MS. La variabilité est significative pour les traitements à 50 et 100 mM qui enregistrent des valeurs de l'ordre de 0.24 et 0.34 mg/g MS, respectivement. Les traitements 200 et 300 mM enregistrent une teneur identique qui est estimée à 0.55 mg/g MS.

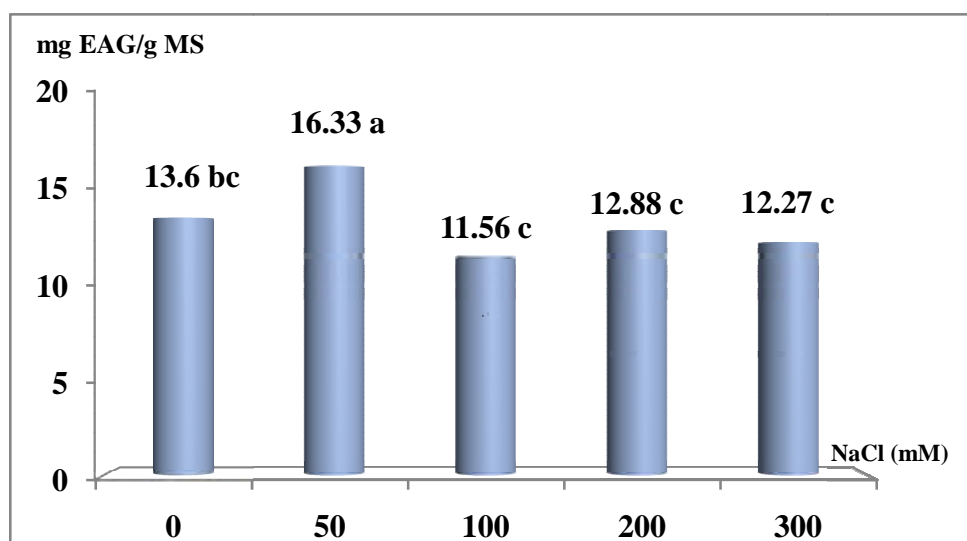


**Figure.46.** Variabilité des teneurs en K (mg/g MS) dans les parties racinaires des plants d'*Acacia albida* en fonction de la salinité. (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

#### 4.3.11. Effet de la salinité sur la teneur en composés phénoliques

##### 4.3.11.1. Effet de la salinité sur la teneur en polyphénols totaux des parties aérienne et racinaire

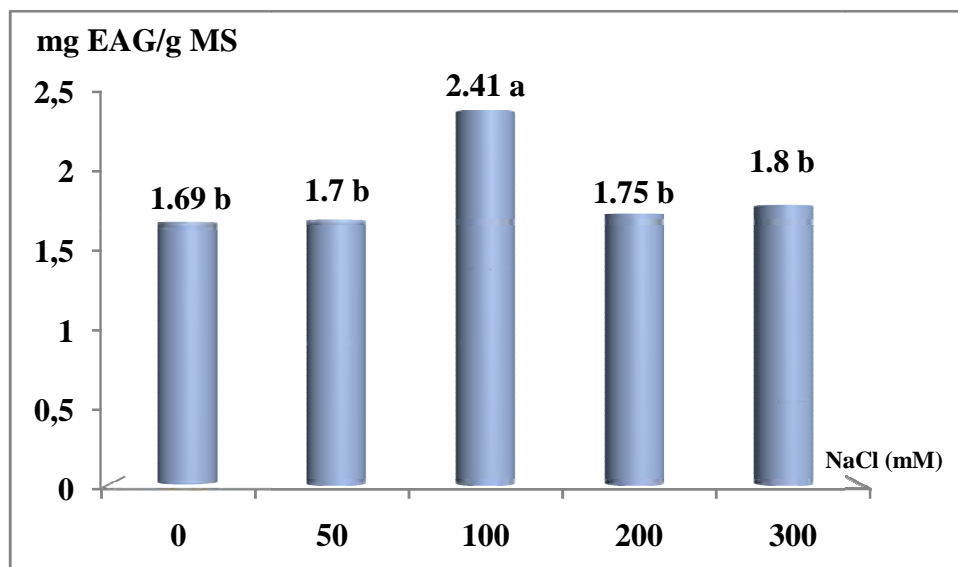
Les figures.47 et 48 représentent les résultats de la variabilité dans l'accumulation des polyphénols totaux dans les parties aérienne et racinaire des plants d'*Acacia albida* en fonction des différentes doses de sel appliquées.



**Figure.47.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en polyphénols totaux des parties aériennes de plants d'*Acacia albida* (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

La figure 47 résume l'impact de la salinité sur l'évolution de l'accumulation des polyphénols totaux dans les parties aériennes des plants d'*Acacia albida*. Nous avons noté une teneur égale à 13.6 mg EAG/g MS pour les plants témoins, cette teneur augmente sous un traitement salin de 50 mM pour atteindre 16.33 mg EAG/g MS. Au-delà des 50 mM, la teneur en polyphénols totaux commence à diminuer pour atteindre 12.27 mg EAG/g MS pour le traitement à 300 mM. L'analyse de la variance a révélé des différences significatives de la teneur en polyphénols totaux en faisant ressortir trois groupes homogènes, le premier celui à 50 mM, le deuxième qui est le témoin et enfin le troisième groupe rassemblant les trois derniers traitements (100, 200 et 300 mM).

L'analyse de la figure.48 montre que l'application des différentes doses de sel affecte significativement les teneurs en polyphénols totaux dans les racines des plants d'*Acacia albida*. Pour le témoin et le traitement à 50 mM, nous avons enregistré des teneurs de l'ordre de 1.69 et 1.7 mg EAG/g MS.

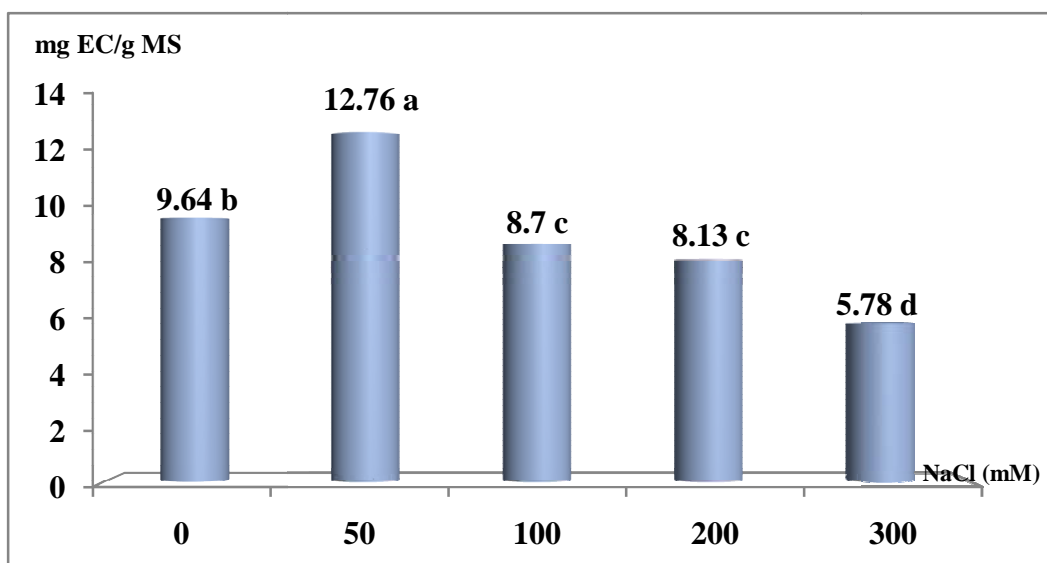


**Figure.48.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en polyphénols totaux des parties racinaires de plants d'*Acacia albida* (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

L'analyse de la variance n'a révélé aucune différence entre ces deux teneurs. Cependant à partir du traitement à 100 mM, la différence dans la teneur devient significative où nous avons noté une valeur de 2.41 mg EAG/g MS. Au-delà de cette dose saline, la teneur commence à diminuer pour atteindre des valeurs de 1.75 et 1.8 mg EAG/g MS pour les traitements à 200 et 300 mM, respectivement. De ce fait, nous remarquons l'existence de deux groupes homogènes, le premier correspond au traitement à 100 mM et le second rassemble tous les autres traitements y compris le témoin.

#### 4.3.11.2. Effet de la salinité sur la teneur en flavonoïdes des parties aérienne et racinaire

L'évolution des teneurs en flavonoïdes des parties aérienne et racinaire en fonction des différentes doses de sel appliquées aux plants d'*Acacia albida* est résumée dans les figures 49 et 50.

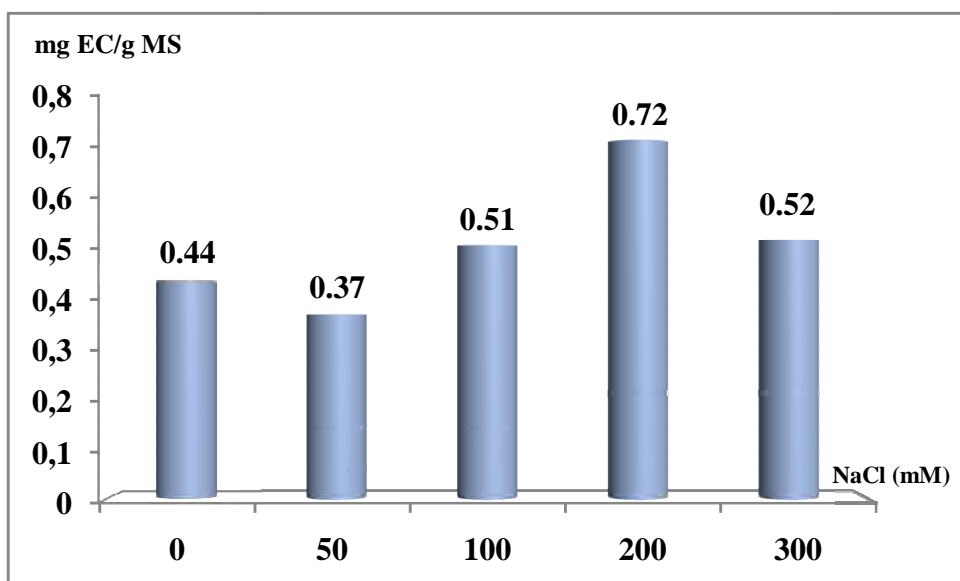


**Figure.49.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en flavonoïdes des parties aériennes de plants d'*Acacia albida* (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

Pour les teneurs en flavonoïdes dans les parties aériennes, la même tendance est observée pour les polyphénols totaux. Le traitement à 50 mM engendre une teneur croissante à raison de 12.76 mg EC/g MS, cette teneur est significativement différente de celle du témoin où ce dernier contient 9.64 mg EC/g MS. Au-delà des 50 mM les teneurs diminuent pour atteindre 8.7 et 8.13 mg EC/g MS pour les traitements à 100 et 200 mM, respectivement, et enfin une teneur de 5.78 mg EC/g MS pour le traitement à 300 mM. L'analyse de la variance de ces résultats a révélé quatre groupes de moyennes homogènes, le premier groupe celui du traitement à 50 mM, le deuxième groupe représenté par le témoin, le troisième groupe rassemble les deux traitements 100 et 200 mM et enfin le dernier groupe avec le traitement à 300 mM.

Contrairement à ce qui a été observé pour la contenance en flavonoïdes des parties aériennes, les parties racinaires ne sont pas affectées par les différentes concentrations salines appliquées aux plants d'*Acacia albida*.



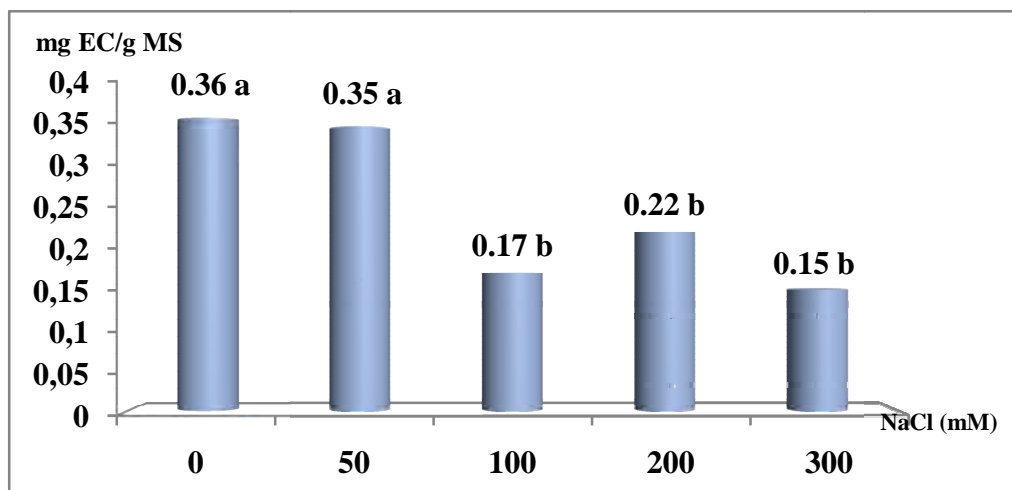


**Figure.50.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en flavonoïdes des parties racinaires de plants d'*Acacia albida*.

D'après la figure 50, nous constatons que la plus grande valeur est enregistrée pour le traitement à 200 mM avec 0.72 mg EC/g MS et la teneur la plus faible est notée pour le traitement à 50 mM. Cependant, l'analyse de la variance n'a révélé aucune différence significative dans la variabilité des teneurs en flavonoïdes en fonction de la salinité.

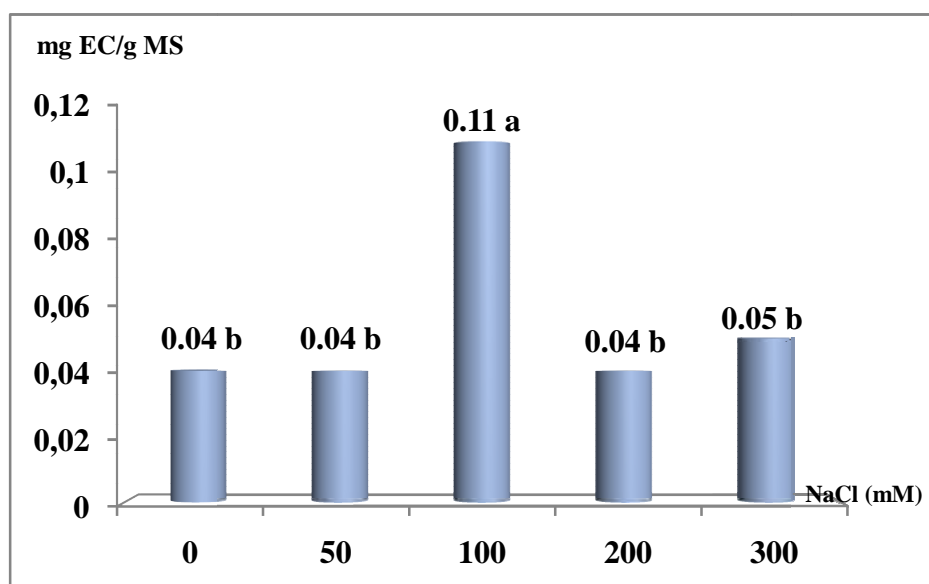
#### **4.3.11.3. Effet de la salinité sur la teneur en tanins condensés des parties aérienne et racinaire**

Les figures 51 et 52 résument tous les résultats relatifs à l'évolution de l'accumulation des tanins condensés sous les différents traitements salins appliqués aux plants d'*Acacia albida*.



**Figure.51.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en tanins condensés des parties aériennes de plants d'*Acacia albida* (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

La figure 51 représente les variations de l'accumulation des tanins condensés dans les parties aériennes des plants de l'*Acacia albida* sous l'effet du stress salin. Nous constatons que le traitement à 50 mM n'affecte pas la teneur en tanins condensés car il donne une valeur de 0.35 mg EC/g MS qui est semblable à celle du témoin (0.36 mg EC/g MS). Au-delà des 50 mM, la teneur en tanins condensés diminue de 51 % pour le traitement 100 mM (0.17 mg EC/g MS), de 39 % pour le traitement 200 mM (0.22 mg EC/g MS) et de 58 % pour le traitement à 300 mM.



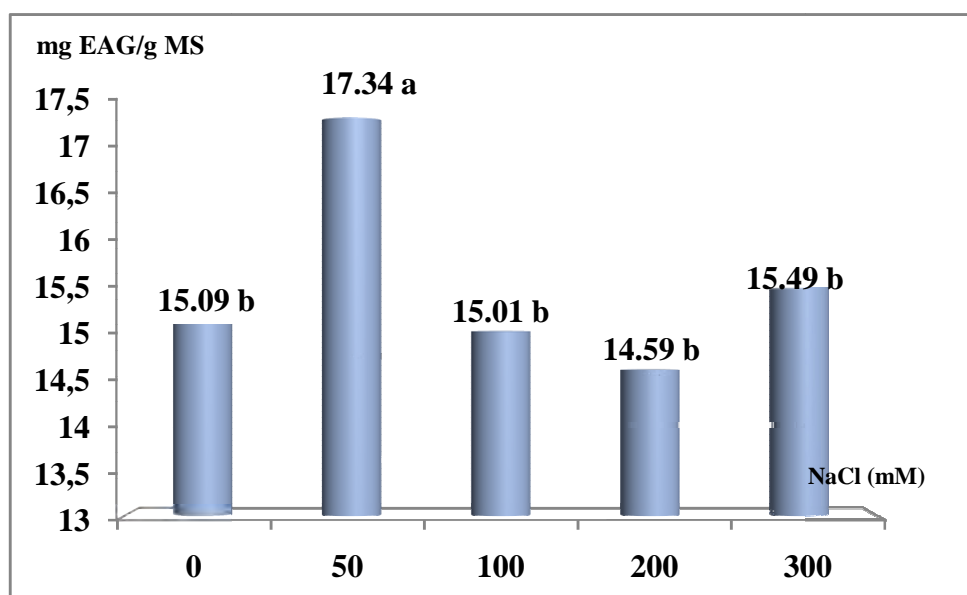
**Figure.52.** Impact des différentes concentrations de sel sur la teneur en tanins condensés des parties racinaires de plants d'*Acacia albida* (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

L'examen de la figure 52, nous permet de constater que la tendance de la variation des teneurs en tanins condensés, sous l'effet du stress salin, dans les racines est totalement différente à celle observée dans les parties aériennes. Contrairement à ces dernières, les racines sous la contrainte saline, accumulent plus de tanins condensés où nous avons enregistré pour le traitement à 100 mM une valeur de 0.11 mg EC/g MS en comparaison avec le témoin et le traitement à 50 mM qui donnent des valeurs semblables de l'ordre de 0.04 mg EC/g MS. Au-delà des 100 mM, la teneur diminue pour atteindre 0.04 et 0.05 mg EC/g MS pour les traitements 200 et 300 mM, respectivement.

#### 4.3.12. Effet de la salinité sur les activités antioxydantes

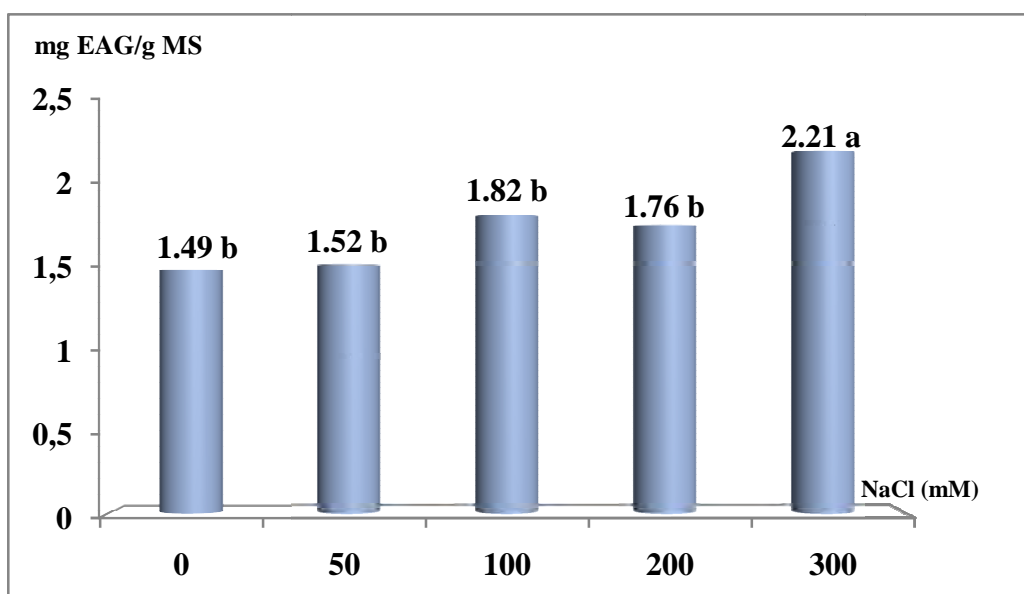
##### 4.12.1. Effet de la salinité sur l'activité antioxydante totale des parties aérienne et racinaire

Les résultats de l'effet des différentes concentrations sur l'activité antioxydante totale des parties aérienne et racinaire des plants d'*Acacia albida* sont rapportés dans les figures.53 et 54.



**Figure .53.** Impact des différentes concentrations de sel sur l'activité antioxydante totale des parties aériennes de plants d'*Acacia albida* (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

Selon la figure 53, nous constatons qu'au départ, l'activité antioxydante totale des parties aériennes des plants d'*Acacia albida* est estimée à 15.09 mg EAG/g MS. Sous l'effet d'une concentration saline égale à 50 mM, cette activité a augmenté pour atteindre 17.34 mg EAG/g MS. Au-delà des 50 mM l'activité antioxydante diminue pour atteindre 15.01, 14.59 et 15.49 mg EAG/g MS respectivement pour les traitements à 100, 200 et 300 mM. Ces trois derniers traitements donnent des résultats statistiquement semblables à celui du témoin. L'analyse de la variance permet de faire ressortir deux groupes de moyennes homogènes, le premier groupe est formé du traitement à 50 mM et le deuxième groupe rassemble tous les autres traitements y compris le témoin.



**Figure.54.** Impact des différentes concentrations de sel sur l'activité antioxydante totale des parties racinaires de plants d'*Acacia albida* (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

A la différence de ce qui a été observé dans les parties aériennes des plants d'*Acacia albida*, l'activité antioxydante totale dans les racines n'est influencée que sous un traitement égal à 300 mM, c'est-à-dire que le comportement des autres traitements est semblable à celui du témoin qui a manifesté une activité égale à 1.49 mg EAG/g MS qui est statistiquement égale à celle des traitements 50, 100 et 200 mM pour former un seul groupe. Le traitement à 300 mM forme à lui seul un autre groupe avec une activité égale à 2.21 mg EAG/g MS.

#### 4.3.12.2. Effet de la salinité sur la capacité à piéger le radical DPPH des parties aérienne et racinaire

Le tableau 21 résume le résultat des  $CI_{50}$  contre le radical libre DPPH exprimées par les parties aérienne et racinaire des plants d'*Acacia albida* soumis à différentes doses de sel. Nous constatons que pour les parties aériennes le témoin exprime une  $CI_{50}$  égale à 36.49  $\mu\text{g/ml}$ , puis une légère diminution non significative sous l'effet du stress salin pour atteindre 35.62 et 33.72  $\mu\text{g/ml}$  pour les traitements 50 et 100 mM, puis une légère augmentation non significative pour les traitements 200 et 300 mM avec des  $CI_{50}$  de 39.24 et 43.03  $\mu\text{g/ml}$ , respectivement.

Les valeurs de la  $CI_{50}$  pour les parties aériennes varient de 33.72 à 43.03  $\mu\text{g/ml}$ , cependant l'analyse de la variance n'a révélé aucune différence significative liée au facteur sel (**Tableau.21**).

**Tableau.21.** Effet des différentes doses de sel sur la capacité antiradical DPPH (exprimée en  $CI_{50}$   $\mu\text{g/ml}$ ) des parties aérienne et racinaire des plants d'*Acacia albida* (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

	Doses de sel (mM)				
	0	50	100	200	300
<b>Partie aérienne</b>	36.49 a	35.62 a	33.72 a	39.24 a	43.03 a
<b>Partie racinaire</b>	418.03 d	239.94 c	91.91 b	366.71 d	392.15 d

Contrairement aux parties aériennes, les parties racinaires manifestent des différences significatives en fonction du facteur salinité.

Le témoin exhibe une  $CI_{50}$  égale à 418.03  $\mu\text{g/ml}$ . Une diminution significative est observée sous l'application d'un traitement salin de 50 mM ( $CI_{50} = 239.94 \mu\text{g/ml}$ ) et cette diminution devient plus importante pour le traitement 100 mM avec une valeur de 91.91  $\mu\text{g/ml}$ . Au-delà des 100 mM, nous observons une augmentation de la  $CI_{50}$  pour atteindre 366.71 et 392.15  $\mu\text{g/ml}$  pour les traitements 200 et 300 mM, respectivement.

### 4.3.12.3. Effet de la salinité sur le pouvoir réducteur du fer des parties aérienne et racinaire

Les résultats relatifs à l'évolution du pouvoir réducteur du fer en fonction des différentes doses de sel appliquées aux plants de l'*Acacia albida* sont résumés dans le tableau.22.

Nous constatons que le facteur salinité affecte significativement la capacité à réduire le fer. Le témoin exhibe une activité avec une  $CE_{50}$  égale à 1014  $\mu\text{g/ml}$  et sous l'influence du sel cette activité devient meilleure avec la plus petite valeur de  $CE_{50}$  (504.4  $\mu\text{g/ml}$ ) pour le traitement à 100 mM. Les traitements 50, 200 et 300 mM donnent des résultats statistiquement semblables et meilleurs que le témoin avec des  $CE_{50}$  égales à 764.2, 763.6 et 850.9  $\mu\text{g/ml}$ , respectivement.

**Tableau.22.** Effet des différentes doses de sel sur le pouvoir réducteur du fer (exprimée en  $CE_{50}$   $\mu\text{g/ml}$ ) des parties aérienne et racinaire des plants d'*Acacia albida* (les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

	Doses de sel (mM)				
	0	50	100	200	300
Partie aérienne	1014 c	764.2 b	504.4 a	763.6 b	850.9 b
Partie racinaire	>1200	>1200	>1200	>1200	>1200

Concernant les parties racinaires, tous les traitements exhibent des  $CE_{50}$  supérieures à 1200  $\mu\text{g/ml}$ .

## 4.4..Discussion

A travers ce volet nous avons fait ressortir l'impact des différentes doses de sel sur les plants d'*Acacia albida*.

Dans un premier temps, nous avons étudié cet impact sur la croissance en longueur des tiges et des racines avec une évaluation de la teneur en eau et de la biomasse. Dans un deuxième temps, nous avons estimé les teneurs en éléments minéraux (Na et K) et en chlorophylle (a et b) ainsi que la teneur en caroténoïdes. Enfin, nous avons fait le dosage des composés phénoliques à travers la quantification des polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés, puis nous avons évalué leurs activités antioxydantes via des tests *in vitro* tels que la capacité antioxydante totale, le test de piégeage du radical DPPH et le test du pouvoir réducteur du fer.

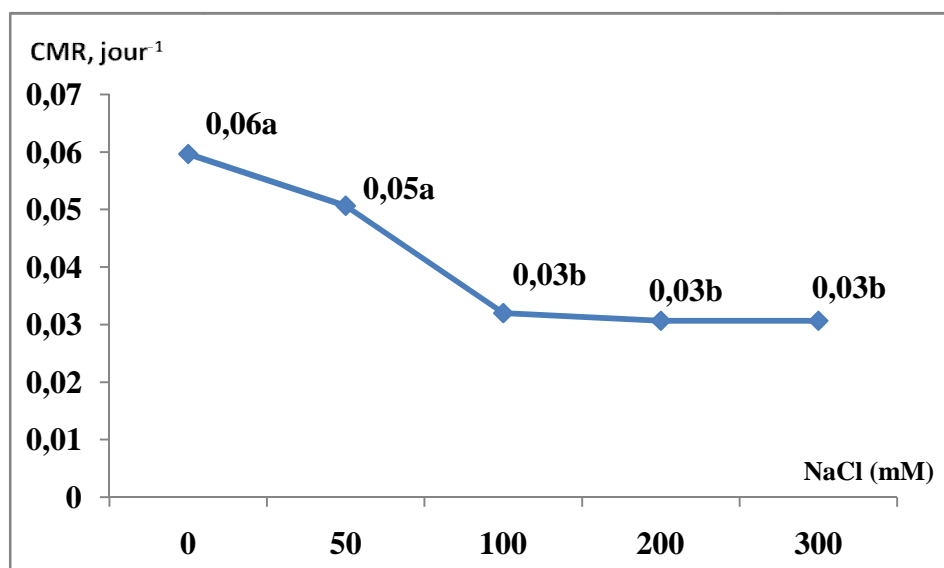
Les stress abiotiques sont responsables d'une perte de rendement estimée à 50 % pour les cultures les plus répandues (**Vincent, 2006**). Ils constituent donc des facteurs limitants non négligeables. Ces stress se traduisent par des changements morphologiques, physiologiques et biochimiques qui affectent négativement la croissance de la plante et sa productivité (**Ben Naceur et al., 1994 ; 1997 ; 1998 ; 2001 ; Semmadi et Rahmoune, 1995 ; Wang et al., 2001**).

Les paramètres de la croissance en longueur, de la teneur en eau et de la biomasse sont affectés négativement par les différentes doses de sel appliquées pour les plants d'*Acacia albida*. D'une manière générale, cette influence sur ces paramètres n'est significative qu'au-delà des traitements à 50 mM. Malgré les fortes concentrations appliquées qui atteignent les 300 mM, les plants d'*Acacia albida* continuent à résister à ces doses élevées de sel.

Selon **Parida et Das (2005)**, la production de biomasse est le facteur le plus déterminant de la croissance de la plante. Dans ce sens et pour donner davantage de valeur à nos résultats et évaluer en plus l'impact de la salinité, nous avons déterminé deux facteurs qui sont la croissance moyenne relative (CMR) et l'indice de sensibilité (IS) pour les parties aériennes et racinaires.

La CMR est un paramètre d'analyse qui permet d'étudier l'effet du sel sur la vitesse de croissance des plantes. La figure.55, montre l'évolution de la CMR en fonction des différentes doses de sel appliquées aux plants d'*Acacia albida*.

Nous constatons que l'effet du sel réduit sensiblement ce paramètre et cette réduction devient significative au-delà du traitement à 50 mM. Pour le traitement 100 mM la CMR est de l'ordre de  $0.03 \text{ jour}^{-1}$  soit une réduction de  $0.03 \text{ jour}^{-1}$  par rapport au témoin ( $0.06 \text{ jour}^{-1}$ ). Au-delà de 100 mM la CMR reste constante.



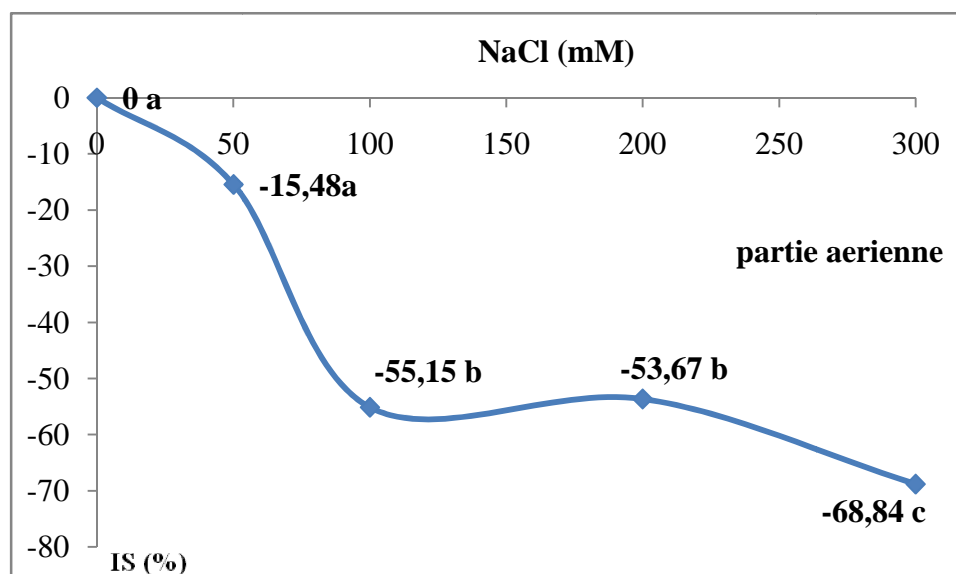
**Figure.55.** Effet des différentes doses de sel sur la croissance moyenne relative (par jour) des plants d'*Acacia albida* (Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par **Falleh et al., (2012)** qui ont travaillé sur l'effet de la salinité sur *Mesembryanthemum edule* et ont trouvé que la croissance moyenne relative diminue en fonction des différentes doses de sel appliquées aux plantes avec 0.10, 0.07 et 0.07  $\text{CMR} \cdot \text{jours}^{-1}$  pour des doses de 0, 300 et 600 mM.

De même pour la CMR, l'indice de sensibilité (SI) nous permet d'évaluer l'effet de la salinité sur l'activité de croissance. Cet indice a été déterminé à la base de la matière sèche produite au niveau des parties aériennes et racinaires (Figures. 56 et 57).

La figure.56. Exprime les résultats de l'évolution de l'indice de sensibilité des parties aériennes en fonction des différentes doses de sel appliquées sur les plants d'*Acacia albida*.



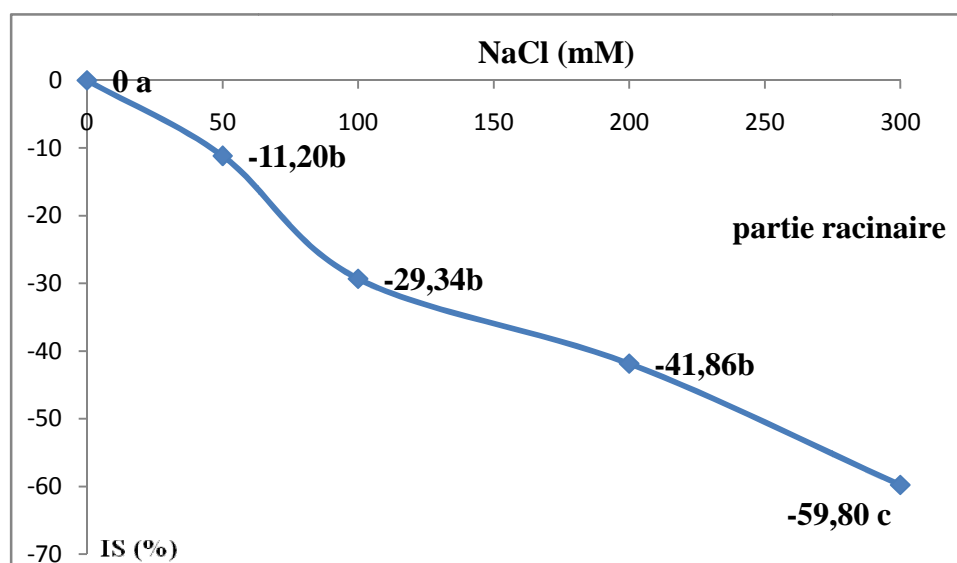


**Figure .56.** Effet des différentes doses de sel sur l'indice de sensibilité (%) des parties aériennes des plants d'*Acacia albida* (Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

La figure.56 montre que les valeurs de ce paramètre sont négatives pour tous les traitements, impliquant une diminution de la croissance des plants traités par comparaison aux plants témoins. Néanmoins, cette sensibilité au sel ne s'exprime d'une manière significative qu'au-delà du traitement à 50 mM de NaCl. En comparaison avec les plants témoins, nous avons enregistré un indice de sensibilité égale à -55.15 % et -68.84 % respectivement pour les traitements à 100 et 300 mM.

De même pour les parties aériennes, l'indice de sensibilité a été déterminé pour les parties racinaires (Figure.57). La même tendance a été observée, où nous avons enregistré une sensibilité de plus en plus importante qui devient significative au-delà du traitement à 50 mM. Pour les traitements à 100 et 300 mM, nous avons noté un indice de sensibilité égal à -29.34 % et -59.80 %, respectivement.

D'après les valeurs de l'indice de sensibilité enregistrées pour les parties aériennes et racinaires, nous constatons que ces dernières sont moins sensibles au sel que les parties aériennes.



**Figure.57.** Effet des différentes doses de sel sur l'indice de sensibilité (%) des parties racinaires des plants d'*Acacia albida* (Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

Pour l'indice de sensibilité, nos résultats coïncident avec ceux trouvés par **Falleh et al., (2012)**, qui ont estimé dans les parties aériennes de *Mesembryanthemum edule* un IS égal à -59.26 % pour une concentration de 300 mM et un IS de -63.77 % pour une concentration de 600 mM. La même tendance a été enregistrée pour les parties racinaires des plantes de la même espèce avec un IS de -60 % et -67.67 % pour les traitements à 300 et 600 mM, respectivement.

Les variations des paramètres morphologiques et physiologiques (longueur des parties aériennes et racinaires, production de la biomasse, teneurs en eau et en chlorophylle) en fonction de la salinité du milieu sont souvent des indicateurs fiables du degré de sensibilité des plantes. En effet, ces paramètres traduisent les effets cumulatifs de l'endommagement et de l'inhibition des fonctions physiologiques de la plante (**González et al., 2009**). Selon **Zid et Grignon (1991)** la tolérance au sel s'exprime habituellement en termes de croissance, de rendement ou de survie.

L'un des facteurs que nous avons déterminé est la longueur des parties aériennes et racinaires. **Kebebew et Mc Neilly (1995) in Lachaal (1998)** utilisent la longueur des racines comme un indicateur fiable de la tolérance au sel.

De même la longueur des parties aériennes peut aussi prédire la tolérance au stress salin (Ashraf et al., 1986 in Lachaal, 1998). La croissance en longueur des parties aériennes diminue en fonction des différentes doses de sel. Des résultats similaires aux notre ont été signalés par Falleh et al., (2012), qui ont noté chez *Mesembryanthemum edule*, une longueur des plantes témoins de 26.83 cm qui passe à 15.17 et 11.60 cm sous des concentrations salines de 300 et 600 mM, respectivement. La même tendance est observée pour la longueur des racines et ce résultat est confirmé aussi par les travaux de Doudech et al., (2008), qui ont trouvé que la longueur moyenne des racines de boutures de *Paspalum notatum* passe de 3.31 cm pour le témoin à 2.45 cm sous un traitement de 8 g/l de NaCl.

De même pour la matière sèche et la teneur en eau dans les tissus, leur évolution est inversement proportionnelle à l'augmentation de la salinité. Ces résultats sont confirmés par Koyro (2006) qui a trouvé que la biomasse de *Plantago coronopus* diminue en fonction de la salinité. La même tendance, concernant la matière sèche, a été trouvée sur plusieurs espèces à savoir : *Spartina anglica* (Parrondo et al., 1978), *Aster tripolium* (Van Diggelen, 1988) et *Beta vulgaris ssp. maritima* (Rozema et al., 1993; Niazi, 2007).

Le rapport de biomasse est un critère important pour l'évaluation de l'effet du stress salin sur les végétaux. Ainsi, on peut déterminer quelle est la partie la plus sensible et la partie la plus résistante à ce stress.

Dans ce sens, nos résultats ont montré que les parties aériennes sont plus sensibles à la salinité que les parties racines. Ces résultats correspondent avec ceux trouvés par Viégas et Silveira (1999) qui ont signalé chez *Anacardium occidentale* L. cultivé en milieu salin avec 50 et 100 mM de NaCl en solution nutritive pendant 30 jours, une réduction du poids sec des pousses de 23 à 50 %. La réduction du poids sec des racines n'a été observée qu'à des niveaux plus élevés de NaCl en comparaison avec le témoin.

Pour s'adapter au stress salin, la plante peut éviter les dommages par la réduction de la croissance (Yeo, 1983 ; Zhu, 2002). C'est l'effet le plus commun des stress abiotiques sur la physiologie des plantes; la réduction de la croissance est une capacité adaptative nécessaire à la survie d'une plante exposée à un stress abiotique.

En effet, ce retard de développement permet à la plante d'accumuler de l'énergie et des ressources pour combattre le stress avant que le déséquilibre entre l'intérieur et l'extérieur de l'organisme n'augmente jusqu'à un seuil où les dommages seront irréversibles. La croissance est inversement corrélée à la résistance au stress salin d'une espèce (**Bois, 2005**).

La teneur en chlorophylle est le critère le plus utilisé pour quantifier l'état général de la plante, c'est un excellent bio-indicateur de stress (**Tripathi et Tripathi, 1999**). Nos résultats ont montré que la teneur en chlorophylle diminue sous l'effet des concentrations croissantes de sel, à l'exception de la concentration 50 mM où nous avons observé une légère augmentation par rapport au témoin pour la chlorophylle « a » et totale.

Selon **Naumann et al., (2007)**, la salinité est connue pour inhiber la photosynthèse chez beaucoup d'espèces par suite de fermeture des stomates, en limitant de cette façon la diffusion du CO<sub>2</sub> dans les chloroplastes (**Bongi and Loreto, 1989; Hernández et al., 1999; Chaves et al., 2002 ; Centritto et al., 2003**).

Nos résultats corroborent à ceux obtenus par **Koyro (2006)** qui a rapporté une diminution de la teneur en chlorophylle chez *Plantago coronopus* sous l'effet du stress salin et a expliqué que cette diminution est due à une réduction du flux d'électrons à travers le photosystème qui mène à diminuer le risque de photo-inhibition. **Feigin et al., (1991)** et **Grattan et Grieve (1994)** expliquent aussi que la diminution de la teneur en chlorophylle sous stress salin peut être due au fait que le NaCl a un effet antagoniste sur l'absorption de l'azote qui est une composante essentielle dans la structure de la molécule de chlorophylle.

Nos résultats correspondent parfaitement avec ceux trouvés par **Nedjimi (2014)** qui a signalé que la diminution de la chlorophylle chez *Atriplex canescens* ne devient significative qu'au-delà des concentrations modérées. Nos résultats, concernant l'augmentation de la teneur en chlorophylle « a » et totale sous le traitement à 50 mM par rapport au témoin, rejoignent ceux trouvés par **Sharaf et al., (1990)** sur la tomate et ceux de **Dali et al. ; (1997)** sur le piment, qui ont indiqué qu'une salinité modérée augmente la quantité de la chlorophylle « a » et de la chlorophylle totale.

Concernant la teneur en caroténoïdes des plants d'*Acacia albida*, les résultats ont montré que, par comparaison aux plants témoins, les caroténoïdes diminuent significativement dès 50 mM de NaCl. Cette réduction des teneurs est probablement causée par le stress oxydatif généré par la salinité excessive du milieu (Da Costa et al., 2005). En effet, nos résultats correspondent avec ceux enregistrés par Degl'Innocent et al., (2009) qui ont trouvé la même tendance chez *Hordeum maritimum* où ils ont noté que sous l'effet de différentes concentrations salines, la teneur en caroténoïdes passe de 0.17 mg/g MF pour le témoin à 0.11 mg/g MF pour un traitement à 50 mM de NaCl.

La teneur en sodium ( $\text{Na}^+$ ) dans les parties aériennes et racinaires augmente en fonction des différentes doses croissantes de sel, cependant cette accumulation est plus importante dans les parties aériennes que racinaires. Malgré cette forte accumulation en ce cation, la teneur en eau dans les racines n'a pas été influencée. De même pour les parties aériennes, qui jusqu'à des doses de 100 mM, parviennent à maintenir un niveau d'hydratation comparable à celui des plants témoins.

Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par Belkheiri et Mulas (2013) qui ont enregistré une accumulation croissante en  $\text{Na}^+$  en fonction de la salinité dans les parties aériennes et racinaires d'*Atriplex halimus* et *Atriplex nummularia*. La même tendance a été observée chez *Suaeda fruticosa* (Ajmal Khan et al., 2000), *Oryza sativa* (Dionisio-Sese et Tobita, 1998), *Lactuca sativa* (Ouhibi et al., 2014) et *Capsicum annum* (R'him et al., 2013).

La même tendance est observée pour le potassium ( $\text{K}^+$ ) où son accumulation est proportionnelle aux différentes doses de sel appliquées aux plants d'*Acacia albida*. La teneur en cet élément est plus importante dans les parties aériennes (0.85 mg/g MS pour le traitement à 300 mM) que celle dans les racines (0.55 mg/g MS pour le traitement à 300 mM). Cependant, en comparant les plus grandes valeurs avec celles des témoins, nous constatons que la salinité stimule l'accumulation du  $\text{K}^+$  dans les racines (4 fois) plus que dans les parties aériennes (1.5 fois).

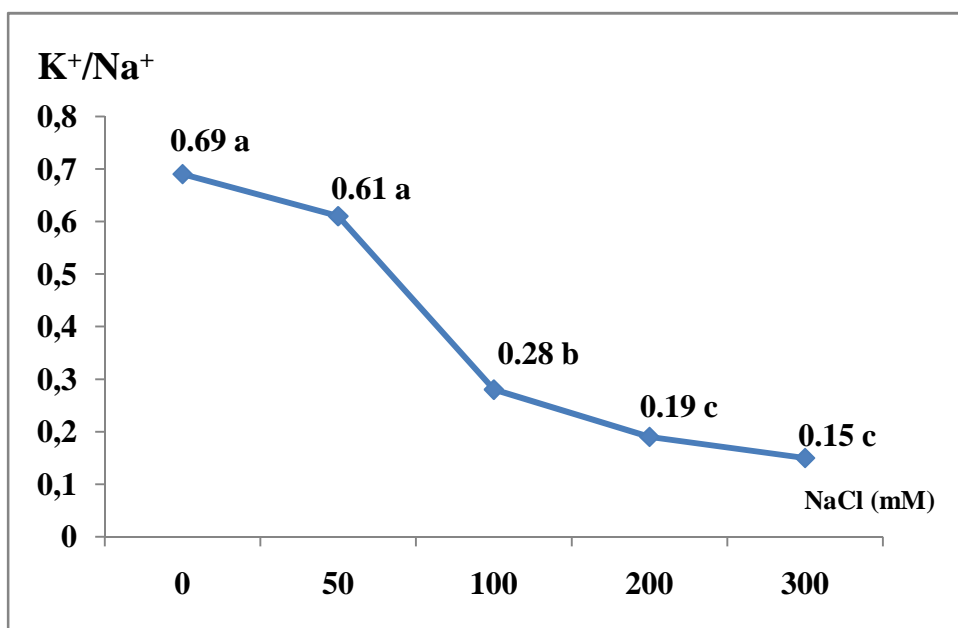
Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par Belkheiri et Mulas (2013) qui ont enregistré une accumulation du  $\text{K}^+$  chez *Atriplex halimus* sous des doses salines allant jusqu'à 1000 mM et chez *Atriplex nummularia* sous des doses allant jusqu'à 600 mM.

De même, **Haouala et al., (2007)** ont noté une augmentation dans la teneur en  $K^+$  pour le chiendent et le ray-grass sous l'effet de la salinité. Chez le chiendent la teneur foliaire en  $K^+$  pour le témoin était de  $0.41 \text{ méq.g}^{-1} \text{ MS}$ , celle des racines était de  $0.33 \text{ méq.g}^{-1} \text{ MS}$ . En présence de NaCl, les teneurs en ce cation augmentent dans les feuilles et les racines pour atteindre respectivement  $0.58$  et  $0.54 \text{ méq.g}^{-1} \text{ MS}$ . De même chez le ray-grass, la salinité fait augmenter ces teneurs dans les feuilles et les racines qui passent respectivement de  $0.10$  et  $0.35 \text{ méq.g}^{-1} \text{ MS}$  pour le témoin à  $0.17$  et  $0.44 \text{ méq.g}^{-1} \text{ MS}$  sous un traitement salin.

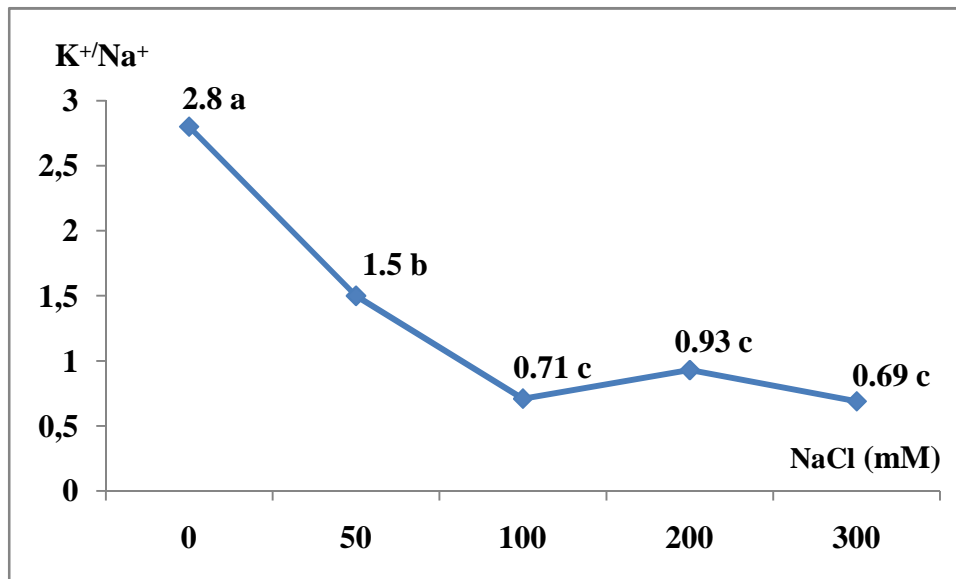
Selon **Grattan et Grieve (1999)**, la salinité peut affecter le niveau d'absorption du potassium en fonction de l'espèce et du seuil de salinité.

En effet, selon **Khan et al., (2000)**, le  $Na^+$  peut avoir un effet toxique direct quand il interfère comme cofacteur avec les différentes réactions et fonctions du  $K^+$ . L'efficacité d'absorption et d'utilisation du  $K^+$ , qui agit comme osmoticum, est donc capitale dans l'adaptation au stress salin. **Hamrouni et al (2011)** ; **Niu et al. (2010)** ; **Aktas et al. (2006)** ont rapporté que les génotypes de piment tolérants au sel accumulent moins de  $Na^+$  dans les feuilles que les génotypes sensibles. Ces études indiquent que les génotypes ayant la capacité d'exclure  $Na^+$  sont généralement plus tolérants à la salinité.

Dans un milieu salé, les quantités des ions  $Na^+$  dépassent largement celles de  $K^+$ . Vu le rôle important du potassium dans la croissance et le développement des plantes, ces dernières doivent maintenir une sélectivité  $K^+/Na^+$ . L'étude du rapport  $K^+/Na^+$  permet de comparer l'aptitude des plantes à maintenir une absorption sélective de  $K^+$  aux dépens de  $Na^+$ . Cette sélectivité a été estimée en comparant les rapports  $K^+/Na^+$ , calculés dans les parties aériennes et racinaires et représentés dans les figures 58 et 59.



**Figures.58.** Variation du rapport K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> dans les parties aériennes des plants d'*Acacia albida* en fonction des différentes doses de sel (Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).



**Figures.59.** Variation du rapport K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> dans les parties racinaires des plants d'*Acacia albida* en fonction des différentes doses de sel (Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%).

Chez les végétaux, le maintien d'une bonne sélectivité  $K^+/Na^+$  dans les tissus peut être considéré comme un critère de tolérance à la salinité (Parida et Das, 2005). D'ailleurs, un rapport élevé de  $K^+/Na^+$  dans le cytosol est essentiel pour les fonctions cellulaires normales des plantes (Nasim et al., 2008). Dans notre expérimentation, bien que la teneur en  $K^+$  augmente en fonction de la salinité croissante, le rapport  $K^+/Na^+$  diminue. Cela signifie que l'accumulation du  $Na^+$  est plus importante que l'accumulation du  $K^+$  dans les parties aériennes et racinaires et le rapport  $K^+/Na^+$  indique qu'il n'existe pas de sélectivité en faveur du  $K^+$  au dépens du  $Na^+$ . Nos résultats correspondent à ceux obtenus par Belkheiri et al. (2013) ; Degl'Innocenti (2009) ; R'him et al (2013) ; Arjen C. de Vos et al. (2012) qui ont tous noté une diminution du rapport de sélectivité  $K^+/Na^+$  en fonction de la salinité croissante. Selon Belkheiri et al. (2013) les deux éléments  $K^+$  et  $Na^+$  sont en continuelle compétition dans les conditions salines, cependant le  $Na^+$  peut, à un certain degré, remplacer le  $K^+$  surtout dans sa fonction autant qu'osmoticum dans la vacuole.

Flowers et al. (1986) ont aussi indiqué que chez certaines plantes, le  $Na^+$  peut jouer un rôle dans l'ajustement osmotique à la place du  $K^+$  pour leur permettre de continuer à s'accroître. Selon Lindhauer et al. (1990), l'ampleur à laquelle le  $Na^+$  peut remplacer le  $K^+$  varie en fonction de l'espèce, de la variété, et même de l'âge des feuilles d'une même plante, tout en notant que les plus jeunes feuilles comptent plus sur  $K^+$  que les feuilles âgées. La diminution du rapport de sélectivité  $K^+/Na^+$  peut être expliquée aussi par le fait qu'en présence des concentrations élevées de NaCl,  $Na^+$  déplace  $Ca^{2+}$  du plasmalemme des cellules racinaires, ce qui entraîne l'augmentation de la perméabilité de la membrane et provoque un efflux du  $K^+$  et une altération du rapport de sélectivité  $K^+/Na^+$  (Cramer et al., 1985).

Concernant l'étude de l'impact de la salinité sur les composés phénoliques et leurs activités antioxydante, nous avons fait une évaluation de ces teneurs dans les parties aérienne et racinaire des plants d'*Acacia abida* soumis à un stress salin. D'une manière générale, la biosynthèse des composés phénoliques est stimulée par l'effet de la salinité jusqu'à des seuils donnés, au-delà desquels nous assistons à une diminution de la teneur en ces composés. Pour les parties aérienne, ce seuil est de 50 mM tandis que pour les racines, il peut aller jusqu'à 100 mM.



Cette stimulation a été expliquée par **Ksouri et al. (2009)** ainsi que d'autres auteurs du fait que dans les plantes, les conditions défavorables de l'environnement, telles que la contrainte saline, mènent à produire et augmenter l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui peuvent mener à des dégâts cellulaires et des désordres métaboliques (**Menezes-Benavente et al., 2004**). En effet, ERO peuvent réagir avec des molécules biologiques, telles que l'ADN, les protéines, ou les lipides et génèrent ainsi des mutations et des blessures dans les tissus (**Abdi et Ali, 1999**). Certaines plantes sont connues pour leur capacité à éliminer ces espèces toxiques grâce à un système d'antioxydant puissant qui inclut des composantes enzymatiques et non-enzymatiques (**Ksouri et al., 2008**). Donc, ces antioxydants peuvent prévenir ou réparer les dégâts causés par l'oxygène au niveau cellulaire (**Tepe et al., 2006**) et les composés phénoliques jouent un rôle important dans le système de défense de ces plantes (**Calucci et al., 2003**).

Nos résultats corroborent avec ceux de plusieurs auteurs. **Jeong-Ho Lim et al. (2012)** a rapporté que la teneur en polyphénols totaux augmente sous l'effet du stress salin chez *Fagopyrum esculentum*. **Hajlaoui et al. (2009)** ont noté que le traitement croissant en NaCl allant de 0 à 102 mM, a fait augmenter la teneur en polyphénols totaux dans deux variétés de *Zea mays* (*Aristo* et *Arper*). **Ksouri et al. (2007)** a rapporté que des traitements salins de 100 mM stimulent la biosynthèse des polyphénols chez *Cakile maritima*.

Dans notre expérimentation, sous l'effet de concentrations élevées de salinité, nous avons enregistré une baisse dans la teneur en polyphénols totaux. Ce résultat est similaire à celui obtenu par **Neffati et al. (2011)**, qui ont rapporté une diminution de la teneur en polyphénols totaux de 37 %, 43 % et 66 % sous des traitements salins de 20, 50 et 75 mM en comparaison avec le témoin (1.04 mg EAG/g MS). Cette diminution est probablement due au degré de sensibilité de la plante vis-à-vis au sel (**Neffati et al., 2011**).

La quantité des flavonoïdes enregistrée dans les parties aériennes est 18 fois plus importante que celle enregistrée dans les racines. Comme pour les polyphénols totaux, la même tendance est observée pour flavonoïdes, où la salinité à un certain seuil stimule l'accumulation des ces biomolécules.

Nos résultats se joignent à ceux de **Hajlaoui et al. (2009)** qui ont enregistré pour *Zea mays* une teneur en flavonoïdes égale à 1.21 mg EC/g MS, alors que sous une contrainte saline de 102 mM NaCl, cette teneur augmente jusqu'à 9.20 mg EC/g MS. En plus, **Tattini et al. (2006)** a mentionné une relation étroite entre la tolérance au stress oxydatif et l'accumulation des flavonoïdes.

Pour les tanins condensés, l'effet du sel diffère selon l'organe. Pour les parties aériennes nous avons enregistré le maintien d'une teneur semblable à celle du témoin jusqu'à une concentration de 50 mM, au-delà de cette dose la teneur diminue, tandis que dans les racines la teneur augmente sous une concentration de 100 mM puis au-delà de cette dose elle diminue. Nos résultats obtenus dans les racines correspondent avec ceux de **Hajlaoui et al. (2009)** qui ont mentionné une stimulation de l'accumulation des tannins dans *Zea mays* sous l'effet d'un stress salin.

Aussi, **Abd EL-Azim et Ahmed (2009)** ont rapporté que le taux des tannins augmente en fonction de la salinité chez *Achillea fragratissima* Forssk. Contrairement à cela, les parties aériennes ont manifesté une diminution de la teneur en tanins condensés sous stress salin ce qui coïncide avec les résultats obtenus par **Odjegba et al. (2013)**, qui ont mentionné une diminution des teneurs en tannins chez *Acalypha wilkesiana* sous stress salin. Cette variabilité dans la réponse des parties aérienne et racinaire a été déjà rapportée par **Schweitzer et al. (2008)** qui ont signalé que la teneur en tannins varie non seulement en fonction de l'espèce mais aussi en fonction de l'âge, de l'organe et des tissus d'une même plante.

D'une manière générale, les activités antioxydantes étudiées dans notre expérimentation sont bien prononcées dans les parties aériennes que dans les parties racinaires. Pour l'activité antioxydante totale, le dosage de phosphomolybdène est un procédé quantitatif pour évaluer la capacité antioxydante totale. Cette activité augmente avec la salinité, cependant elle commence à diminuer au-delà du traitement à 50 mM. Cette tendance épouse parfaitement celle des polyphénols totaux.

Cette activité antioxydante des plants d'*Acacia albida* pourrait être attribuée à la présence de composés phytochimiques tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes (**Falleh et al., 2008 ; Oueslati et al., 2012**).

En fait, des études récentes ont montré que beaucoup de flavonoïdes et polyphénols contribuent de manière significative à l'activité antioxydante totale pour de nombreux fruits et légumes (Negro *et al.*, 2003; Luo *et al.*, 2002) et pour des plantes médicinales (Bourgou *et al.*, 2008).

Ainsi, la variabilité de l'activité antioxydante totale entre les différents traitements est probablement liée à la différence dans leur composition en polyphénols qui peuvent être influencés par le stress salin (Jeong- Ho Lim *et al.*, 2012 ; Neffati *et al.*, 2011). Cette ressemblance dans les tendances entre les composés phénoliques et l'activité antioxydante totale, explique la diminution de cette dernière dans les plants traités avec des doses en NaCl supérieures à 50 mM.

Concernant le test de neutralisation du radical DPPH exprimé pour les plants d'*Acacia albida*, plus l'extrait est riche en composés phénoliques et plus il exprime une activité importante contre le radical DPPH, ceci dit, et d'une manière générale, le pouvoir antioxydant est fortement corrélé à la concentration en composés phénoliques (Hanson *et al.*, 2004 ; Trabelsi *et al.*, 2010). C'est ce qui a été observé durant notre expérimentation en comparant les parties aériennes et racinaires. Les parties aériennes, qui sont plus riches en composés phénoliques, exhibent des  $CI_{50}$  plus importantes que celles des parties racinaires. Ceci n'est pas toujours le cas, car les plants traités avec une concentration en NaCl de 100 mM exhibent la  $CI_{50}$  la plus importante malgré qu'il renferme une quantité moins importante en polyphénols que ceux soumis à une dose de 50 mM. Ceci peut être expliqué par les résultats obtenus de Djeridane *et al.* (2006) qui estiment que l'existence d'une synergie entre les différents composés phénoliques peut être déterminante dans la capacité antioxydante d'une plante donnée. Ainsi cette activité ne dépend pas seulement de la teneur en polyphénols mais aussi de la structure et de l'interaction entre les différents composés

Dans le test du pouvoir réducteur du fer, la présence d'agents réducteurs (antioxydants) dans l'extrait se traduirait par la réduction de  $Fe^{+3}$ /complexe ferri-cyanide à la forme ferreux par un donneur d'électrons (Sahreen *et al.*, 2010).

Les résultats obtenus pour cette activité, en particulier pour les parties aériennes, ont montré que tous les plants soumis au stress salin donnent un résultat meilleur que celui du témoin. Par conséquent, nos résultats confirment des études antérieures qui suggéraient que les composés phénoliques produits sous stress salin sont plus susceptibles d'être de puissants antioxydants (Jeong- Ho Lim et al., 2012)

#### **4.5. Conclusion**

A travers ce volet nous avons étudié l'impact du stress salin sur la réponse morphologique, physiologique et biochimique des plants d'*Acacia albida*. Les résultats du rapport partie aérienne/partie racinaire ainsi que l'indice de sensibilité ont montré que l'influence négative de la salinité est plus marquée sur la croissance des parties aériennes que racinaires. Cependant, les plants parviennent à se développer sous des doses de NaCl allant jusqu'à 300 mM. La déshydratation des tissus n'a commencé à être significative qu'au-delà d'une concentration de 100 mM. La salinité modérée qui ne dépasse pas les 50 mM peut stimuler l'accumulation de la chlorophylle. Il est aussi à noter que les doses croissantes de NaCl font augmenter l'accumulation du Na<sup>+</sup> plus que le K<sup>+</sup> ce qui a conduit à une diminution du rapport de sélectivité K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>. Nos résultats ont aussi montré que la salinité influence la teneur en composés phénoliques ainsi que leurs activités antioxydantes. Les doses modérées de sel augmentent la teneur en ces biomolécules, cependant même sous des concentrations élevées de NaCl les plants d'*Acacia albida* parviennent à maintenir une activité antioxydante importante surtout pour le piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur du fer, ce qui confirme l'intérêt pratique de la plante dans différents domaines.

## CONCLUSION GENERALE

Ce travail a été mené au Laboratoire d'Ecotoxicologie et Stress Abiotiques de l'Université Constantine 1, au Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Arides (CRSTRA, Biskra) et au Laboratoire des Plantes Extrêmophiles du Centre de Biotechnologie de Bordj Cédria (Tunisie). Ces travaux se sont déroulés dans le cadre d'un projet de recherche FNR (Fond National de Recherche) intitulé « Caractérisation écophysiological et phytochimique des acacias dans la région de Tindouf et possibilités de valorisation ».

Nous avons commencé par un travail de screening phytochimique sur les différents organes de deux espèces d'acacias, *Acacia raddiana* et *Acacia albida* afin d'étudier la variabilité interspécifique sur la base de la teneur en polyphénols totaux et de l'activité antiradicalaire contre le radical DPPH. Les résultats révèlent qu'il existe des différences significatives entre les deux espèces où les fractions éthanolique et aqueuse des feuilles et écorce de l'*Acacia albida* se sont révélées les plus actives. La fraction éthanolique présente des teneurs en polyphénols de 100.94 et 59.5 mg EAG/g MS et des  $CI_{50}$  pour le test DPPH de l'ordre de 28 et 26  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  pour les feuilles et l'écorce respectivement. De même pour la fraction aqueuse, les teneurs sont de l'ordre de 28.84 et 38.31 mg EAG/g MS et les valeurs des  $CI_{50}$  sont estimées à 22.5 et 29  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  pour les feuilles et l'écorce respectivement.

De ce fait, *Acacia albida* a été retenue pour approfondir davantage notre travail qui consiste à doser les flavonoïdes et les tanins condensés ainsi que de faire d'autres test *in vitro* de l'activité antioxydante. Les résultats ont révélés que les organes de cette espèce renferment des composés phénoliques très puissants surtout pour le piégeage des radicaux libres DPPH (22.66 et 26  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), ABTS (106.67 et 104.33  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) et anion superoxyde (363 et 200  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) et pour réduire le fer ( 47.66 et 34.33  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) pour les feuilles et l'écorce respectivement.

L'impact de la salinité sur cette espèce a été aussi étudié sur les graines et les plants. Les résultats de l'effet du stress salin sur la germination des semences de l'*Acacia albida* a révélé que la salinité affecte la cinétique et le temps moyen de germination, cependant, et même sous des concentrations élevées en NaCl avec 9 et 12 g/l, les graines parviennent à atteindre des taux de germination de 89.68 et 41.66 %, ce qui reflète la résistance des semence vis-à-vis du sel pour germer.

Une autre expérimentation *ex situ* a été réalisée pour l'étude de l'impact du stress salin sur des plants d'*Acacia albida*. Les résultats relatifs à la croissance ont révélés que la longueur et la biomasse sous des concentrations salines modérées de 50 mM ne sont pas affectées et les plants parviennent à garder une hydratation des tissus comparable à celle des témoins même sous des concentrations de 100 Mm. Concernant la nutrition minérale, les résultats ont révélé une accumulation plus importante du sodium au dépens du potassium dans les feuilles des plants, diminuant ainsi le rapport de sélectivité  $K^+/Na^+$ . Par ailleurs, sous des concentrations modérées en NaCl, nous avons noté une accumulation des composés phénoliques indiquant une stratégie de défense contre les effets toxiques du sel. En effet, même sous des concentrations élevées atteignant 300 mM les plants parviennent à maintenir une bonne activité antioxydante, en comparaison avec le témoin, traduite par des valeurs de  $CI_{50}$  allant de 33.72 à 43.03  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  contre le radical DPPH et de  $CE_{50}$  allant de 504.4 à 850.9  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  pour le pouvoir réducteur du fer.

A travers ce travail, les résultats sont très favorables pour la valorisation de l'*Acacia albida* vu sa richesse en molécules bioactives et son comportement physiologique et biochimique vis-à-vis du stress salin. Cette essence peut être utilisée comme moyen de restauration et de conservation des sols dégradés des régions arides tout en ayant une retombée socio-économique qui débouche vers une valorisation durable dans différents domaines : alimentaire, thérapeutique et pharmacologique.

Comme perspectives nous recommandons les points suivants :

- Approfondir des recherches pour la compréhension du mécanisme de tolérance de l'*Acacia albida* vis-à-vis du stress salin ;
  
- Développer d'autres activités biologiques (antimicrobienne, antivirale, anticancéreuse,...) pour élargir le champ de valorisation de cette essence ;
  
- Isoler et purifier les biomolécules de l'*Acacia albida* responsables de son activité antioxydante dans le but de les valoriser dans les domaines thérapeutique et agro-alimentaire.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Abdel Latef A.A., 2010.** Changes of antioxidative enzymes in salinity tolerance among different wheat cultivars. *Cereal Res. Comm.* 38, 43–55.
- **Abd el Aziz W.M., Ahmed S.Th. 2009.** Effect of salinity and cutting date on growth and chemical constituents of *achillea fragratissima* Forssk, under Ras Sudr conditions. *Res J Agr Biol Sci.* 5(6):1121-9.
- **Abdi S. and Ali A, 1999.** Role of ROS modified human DNA in the path-ogenesis and etiology of cancer. *Cancer Lett.*, 142: 1-9.
- **AFNOR ., 1994 .**Qualité des sols. Environnement. Recueil des normes françaises. A.F.N.R., Paris, pp : 77-97.
- **Ahn J.H., Robertson B.M., Elliot R., Gutteridge C., Ford C.W., 1989.** Quality assessment of tropical browse legumes: tannin content and protein degradation, *Animal Feed Science and Technology*, 27, 147-156.
- **Ajmal Khan M., Ungar Irwin A., Showalte Allan M., 2000.** The effect of salinity on the growth, water status, and ion content of a leaf succulent perennial halophyte, *Suaeda fruticosa* (L.) Forssk. *Journal of Arid Environments*.
- **Aktas H., Abak K., Cakmak I., 2006.** Genotypic variation in the response of pepper to salinity. *Sci.Hortic.*110:260-266.
- **Almeida viégas R ., Gomes da silveira J.A., 1999.** Ammoniac assimilation and proline accumulation in young cashew plants during long term exposure to NaCl-salinity .*Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal.* 11(3): 153-159.
- **Ammar I., Ennouria M., Khemakhem B., Yanguid T., Attia H., 2012.** Variation in chemical composition and biological activities of two species of *Opuntia* flowers at four stages of flowering. *Ind. Crops. Prod.* 37: 34-40.
- **Amić D., Davidović-Amić D., Bešlo D. et Trinajstić N., 2003.** Structure–Radical scavenging activity relationships of flavonoids. *CROATICA CHEMICA ACTA CCACAA.*, 76 (1) : 55-61.
- **Amirjani M. R., 2011.** Effect of Salinity Stress on Growth, Sugar Content, Pigments and Enzyme Activity of Rice. *International Journal of Botany.* 7 (1) : 73-81.
- **Arnon DI., 1949.** Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24: 1-1



- **Arjen C de Vos., Rob Broekman, Ctia C., Guerrab A., Rijsselberghe M. Rozema J., 2012.** Developing and esting new halophyte crops: A case study of salt tolerance of two species of the Brassicaceae *Diplotaxic tenuifolia* and *Cochlearia officinalis*. Environmental and experimental Botany.
- **Aronson J., Floret C., Le Floc'h E., Ovale C., Pontanier R., 1993.** Restoration and rehabilitation of degraded ecosystems in arid and semi-arid lands. I. A view the South. Restoration Ecology, 1 : 8-17.
- **Ashraf M., O'Leary J.W. 1996.** Effect of drought stress on growth, water relations and gaz exchange of two lines of sunflower differing in degree of salt tolerance. J. Plant Sci.157 6: 729-732p.
- **Astedu, M., Coppock, D.I., Delting, J.K., 1994.** Fruit production of *Acacia tortilis* and *Acacia nilotica* in semi-arid Ethiopia. Agroforestry Systems. 27 : 23-30.
- **Aubert G., 1978.** Méthodes d'analyse des sols. Edition C.R.D.P., Marseille 360P.
- **Aubert G., 1983.** Observation sur les caracteristiques, la dénomination et la classification des sols sales ou sales sodiques. Cash.ORSTOM. ser ; ped ;Vol n°1.73-78 pp.
- **Aubert S., Hennion F., Bouchereau A., Gout E., Blingy R. & Dome A.J., (1999).** Subcellular compartmentation of proline in the leaves of the subantartic Kerguelen cabbage *Pringlea antiscorbutica* R-Br. In vivo C-13 NMR study. Plant Cell Environ. 22, 255-259.
- **Audru J., Cesar J., Lebrun J. P., 1994.** Les plantes *vasculaires* de la République de Djibouti. Paris, Cirad-EMVT, 3 vol., 968 p.
- **Baatour O., M'rah S., Ben Brahim N., Boulesnem F., Lachaal M. 2004.,** Réponse physiologique de la gesse (*Lathyrus sativus*) à la salinité du milieu. Revue des Régions Arides, Tome 1, No. Spécial : 346-358.
- **Ba E.H., 2008.** Etude des propriétés biomécaniques et de la capacité de vie symbiotique des racines d'arbres d'Acacia senegal Willd. et de Prosopis juliflora DC. Thèse Doctorat, Université Sheikh Anta Diop, Dakar. Univ. Bordeaux I.122 p.
- **Bagnouls F., Gaussen H., 1953.** Saison sèche et Indice Xérothermique. Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse. 88, 193-239.
- **Bajji M., Kinet J.M., Lutts Stanley., 2002.** Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplex halimus* L. and their corresponding callus cultures. Plant Science. 137:131-142.

- **Balasundram N., Sundram K., Samman S ., 2006.** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 99(1): 191-203.
- **Barnes R.D., Filer D.L., Milton S.J., 1996.** *Acacia karroo*: Monograph and Annotated Bibliography. Tropical Forestry Papers No. 32. University of Oxford.
- **Baumer M., Zeraïa L. 1999.** La plus continentale des stations de l'arganier en Afrique du Nord. *rev. for. fr.*3: 446-452.
- **Baydar N.G., Ozkan G., Yas-ar. S., 2007.** Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts. *Food Control.* 18:1131-1136.
- **Behaeghe T., Blouard R., 1962.** Amélioration des semences et sélection des plantes prairiales au Congo, au Rwanda et au Burundi. *Bull. Inf. INEAC*, 11(6) : 307- 338.
- **Belhadjadji Y., Melekmi N., Belboukhari N., Chériti A., 2008.** Une approche environnementale par phytoextraction assistée par micro-ondes (MAE) d'*Acacia raddiana*. Colloque National sur la Chimie et l'Environnement CNCE. Saida.
- **Belkheiri O., Mulas M., 2013.** The effects of salt stress on growth, water relation and ion accumulation in two halophyte *Atriplex* species. *Environmental and Experimentation Botany.* 86: 17 -28.
- **Belkhoja K., Bidai Y., 2004.** Réponse des graines d'*Atriplex halimus* L à la salinité au stade de la germination. *Sécheresse*, 15 (4) : 331-335.
- **Bell D.T., Bellairs S.M., 1992.** Effects of temperature on the germination of selected Australian native species used in the rehabilitation of bauxite mining disturbance in Western Australia. *Seed Sci. Technol.*, 20 : 47-55.
- **Bellakhdar J., 1997.** *La pharmacopée marocaine traditionnelle*. Paris, Ibis Press, 764 p.
- **Benabid A., 2000.** Flore et écosystèmes du Maroc. Ibis press, Paris, 359p.
- **Ben Hamed K., Ben Youssef N., Ranieri A., Zarrouk M., Abdelly C. 2005.** Changes in content and fatty acid profiles of total lipids and sulfolipids in the halophyte *Crithmum maritimum* under salt stress. *J. Plant. Physiol.* 162, 599-602.
- **Benhammou N., Atik Bekkara F., Tatjana KP., 2009.** Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *Comptes Rendus Chimie.*12 :1259-1266.

- **Benkheira A. 2009.** L'arganeraie algérienne Bulletin d'information, conservation de la biodiversité et gestion durable des ressources naturelles, publication du projet ALG/G35, 15p.
- **Benmahioul B., Daguin F., Kaid-Harche M. 2009.** Effet du stress salin sur la germination et la croissance in vitro du pistachier (*Pistacia vera* L.). Comptes Rendus Biologies, 332 (8) : 752-758.
- **Ben Miled D., Boussaid M., Abdelkefi A., 1986.** Tolérance au sel d'espèces annuelles du genre *Medicago* au cours de germination. In : Colloque sur les végétaux en milieu aride, 8-10 septembre 1986, Djerba, Tunisie.
- **Ben Naceur M., Rahmoune C., Paul R., 1994.** Evaluation of drought tolerance in Barley leaves. Rev. Sc. Technol. 5:1-5.
- **Ben Naceur M., Cheikh-M'hamed H., Maalem S., Rahmoune C. 2005.** Les indicateurs précoces de la tolérance à la salinité. 1<sup>er</sup> Colloque Euroméditerranéen de Biologie Végétale et Environnement. Annaba 28-30 Novembre 2005.
- **Bergere T.A., Ribot J.C. 1990.** L'arbre nourricier en pays sahélien. Maison des sciences de l'homme, Paris, 237 p.
- **Berhaut J. 1967.** *Flore du Sénégal*. Dakar. Clairafrique., 2<sup>e</sup> éd., 485 p.
- **Bohnert H.J., Nelson D.E., Jensen R.G. 1995.** Adaptations to environmental stresses. *Plant Cell*, 7: 1099-1111.
- **Bohnert H.J., Jensen R.G. 1996.** Strategies for engineering waterstress tolerance in plants. Trends Biotechnol. 14, 89-97.
- **Bonner F.T., 1992.** Seed technology: a challenge for tropical forestry. Tree Planters' Notes., 43 : 42-145.
- **Bot A., Nachtergaele F., Youg A., 2000.** Land resource potential and constraints at regional and country levels. World Soil Resources Report N 90. Rome: FAO of UN.
- **Boudy P. 1950.** Economie forestière nord-africaine (monographies et traitements des essences forestières). Tome II (1), Larose. 382-416.
- **Bucić-Kojić A., Planinić M., Tomas S., Bilić M., Velić D. 2007.** Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. Journal of Food Engineering, 81: 236–242.

- **Boukachabia E. 1993.** Contribution à l'étude de quelques mécanismes d'adaptation (*Triticum durum* Desf.). Mémoire de magistère en production et physiologie végétale. Université d'Annaba. 108 p.
- **Borchert R., 1994.** Water storage in soil or tree stems determines phenology and distribution of tropical dry forest trees. *Ecology* 75:1437–1449.
- **Bot A., Nachtergaele F., Young A. 2000.** Land resource potential and constraints at regional and country levels. World Soil Resources Report N 90. Rome: FAO of UN.
- **Bourgou S., Ksouri R., Skandrani I., Chekir-ghedira L. Marzouk B., 2008.** Antioxidant and antimutagenic activities of the essential oil and methanol extract from Tunisian *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Italian Journal of Food Science*. (2008) 2, 191-202.
- **Boulghalagh J., Berrichi A., El Halouani H. & Bou-kroute A. 2006.** Effet des stress salin et hydrique sur la germination des graines du jojoba (*Simmondsia chinensis* [link] schneider). Proceedings du Premier congrès national « Amélioration de la production agricole » Settat, les 16 et 17 mars 2006.
- **Brenan J. P. M., 1957.** *Acacia tortilis* (Forssk.) Hayne. Notes on Mimosoideae. *111. Kew Bulletin*. 1 (4): 68-89.
- **Brenan J. P. M., 1983.** Manual on taxonomy of *Acacia* species. Present taxonomy of four species of *Acacia* (*A. albida*, *A. senegal.* *A. ni/otica.* *A. tortilis*). Rome, FAO. 47 p.
- **Brenan J.P.M., 1959.** Leguminosae - subfamily Mirnosoideae. In *Flora of Tropical East Africa*, London, 173 pp
- **Brenan J.P.M ., Kessler A.,1995.,** *Acacia pennata* and its relatives in tropical Africa. *Bol.Soc. Brot.* 31 199- 140.
- **Brown D.E., Rashotte A.M., Murphy A.S., Normanly J., Tague B.W., Peer W.A., Taiz L. & Muday G.K., 2001.** Flavonoids act as negative regulators of auxin transport *in vivo* in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 126, 524-535.
- **Buer C.S., Imin N., Djordjevic M.A.2010.** Flavonoids: New Roles for Old Molecules. *J. Int. Plant Biol.* 52 (1), 98-111.
- **Cavalcante A.M.B., Perez S.C.J.G.A. 1995.** Efeitos dos stresses hidrico e salino sobre a germinação de sementes de *Leucaena leucocephala*. (Lam.) de Wit. *Pesq. Agropec. Bras.*, 30 : 281-289.

- **Calu G. 2006.** *Arabidopsis thaliana* et *Thellungiella halophila*, plantes modèles dans l'étude du stress salin. Spectro Sciences.
- **Castañeda-Ovando A., Pacheco-Hernández M.L., Páez-Hernández M.E., Rodríguez J.A. , Galán-Vidal C.A. 2009.** Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chem.* 113, 859-871.
- **Chaieb M., Floret Ch. & Pontanier R. 1991.** Réhabilitation d'écosystèmes pastoraux de la zone aride tunisienne par réintroduction d'espèces pastorales. Comm. présentée au IVème Congrès International des terres à pâturages. Montpellier, du 22 au 26 avril 1991, 5 p.
- **Charreau U.C., Vidal P. 1965.** Influence de l'*Acacia albida* Del. sur le sol, nutrition minérale et rendements des mils Pennisetum au Sénégal. *L'agronomie Tropicale, série Agronomie Générale*, 6-7 : 600-625.
- **Chartzoulakis, K., G. Klapaki. 2000.** Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Scientia Horticulturae*, 86: 247-260.
- **Cheeseman J.M. 1988.** Mechanism of salinity tolerance in plants. *Plant Physiol.* 87, 547-550.
- **Cheynier V., Dueñas-Paton M., Salas E., Maury C., Souquet J.M., Sarni Manchado P., Fulcrand H., 2006 .** Structure and Properties of Wine Pigments and Tannins. *Am. J. Enol. Vitic.* 57: 298-305.
- **Chevalier A. 1943.,** L'argan, les marmulanos et les noyers, arbre d'avenir en Afrique du Nord, en Marocaine et dans les régions semi-désertiques du globe si on les améliore. *Rev. Bot. Appl. Agric. Trop.* 165-168 et 363- 364.
- **Chevalier A. 1934.** Nouvelles observations sur quelques acacias de l'Afrique occidentale. *Rev. Bot. Appliq.*, 14: 875-884.
- **Chugh L.K., Sawhney S.K. 1999.** Photosynthetic activities of *Pisum sativum* seedlings grown in presence of cadmium. *Plant Physiol. Biochem.*, 37 , 297–303
- **Chutipajit S., Cha-um S., Sompornpailin K. 2011.** High contents of proline and anthocyanin increase protective response to salinity in *Oryza sativa* L. spp.indica. *Aust J Crop Sci*, 5(10):1191–1198.
- **CIRAD-Forêt, 1996.** Les parcs à faidherbia. Cahiers scientifiques no12 du CIRAD-Forêt. CIRAD-CORAF- ORSTOM, 311p.
- **Cowan MM .1999.** Plants products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12: 564-582.

- **Clatworthy J.N. 1984.** Recherche sur le pâturage au Zimbabwe. Recherche sur l'amélioration des pâturages en Afrique orientale et australe. In: Comptes-rendus d'un atelier tenu du 17 au 21 septembre 1984 à Harara, Zimbabwe. Ottawa : Centre de Recherche pour le Développement International (CRDI) : 25-61.
- **Cornet F., Diem H.G. 1982.** Etude comparative de l'efficacité des souches de Rhizobium d'Acacia isolées de sols du Sénégal et effet de la double symbiose Rhizobium/ *Glomus mossaea* sur la croissance d'*Acacia holosericea* et *A. raddiana*. Bois et Forêts des Tropiques, 198 : 3-15.
- **Corrales M., Garci A.F., Butz P., Tauscher B. 2009.** Extraction of anthocyanins from grape skins assisted by high hydrostatic pressure. *J. Food Eng.* 90: 415-421.
- **Côme D. 1970.** Les obstacles à la germination. Paris : Masson & Cie.
- **CTFT, 1988.** *Faidherbia albida* (Del.) A. Chev..(Synonyme: *Acacia albida* Del.). Monographie CTFT: 7p.
- **Crowe J.H., Hoekstra F.A., Crowe C.M. 1992.** Anhydrobiosis. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 54, 579-599.
- **Danthu P., Roussel J., Dia M., Sarr A. 1992.** Effect of pretreatment on the germination of *Acacia Senegal* seeds. *Seed Sci. Technol.*, 20 : 111-117.
- **Danthu P., Roussel J., Neffati M.O. 2003.** La graine et la germination d'*Acacia raddiana*. Un arbre au désert, *Acacia raddiana*. Édi. IRD. Paris:269-287.
- **De Abreu N., Mazzafera P. 2005.** Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. *Plant Physiol. Biochem.* 43. 241-248.
- **Debez A., Chaïbi W., Bouzid S. 2001.** Effet de NaCl et de réulateurs de croissance sur la germination d'*Atriplex halimus* L. *Cahiers Agricultures*, 10 : 135–138.
- **De Lajudie P., Laurent-Fulele E., Willems A., Torck U., Coopman R.G., Collins M.D., Kersters K., Dreufus B., Gillis M. 1996.** *Allorhizobium undicola* gen. nov. sp. nov. for nitrogen-fixing bacteria efficiently nodulating *Neptunia natans* in Senegal *Int J. Syst Bacteriol.* 48 : 1277-1290.
- **Densiov E.T., Afanas'ev I.B. 2005.** Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. Eds: Taylor & Francis Group (USA) 703-861.

- **Depommier D., Guérin H. 1996.** Emondage traditionnel de *Faidherbia albida*. Production fourragère, valeur nutritive et récolte de bois à Dossi et Watinoma (Burkina Faso). In: Les parcs à Faidherbia. Montpellier, France, CIRAD-Forêt, p 55-84
- **Dewanto V.W.X., Adom K.K., Liu R.H. 2002.** Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 50, 310-3014.
- **De Souza LM., Cipriani TR., Iacomini M., Gorin PAJ., Sasaki GL .2008.** HPLC/ESI-MS and NMR analysis of flavonoids and tannins in bioactive extract from leaves of *Maytenus ilicifolia*. *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.* 47: 59-67.
- **Djeridane M., Yousfi B., Nadjemi D., Boutassouna P., Stocker N., 2006.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 97: 654-660.
- **Diouf M., 1996.** Étude du fonctionnement hydrique et réponses à l'aridité des ligneux sahéliens. Cas d'*Acacia raddiana* en zone soudano sahélienne du Sénégal. Thèse de 3<sup>e</sup> cycle, UCAD Dakar, 172 p.
- **Drouineau G., 1942.** Méthode rapide d'appréciation du pouvoir chlorosant des sols calcaires. *Ann.Agr.*1, pp : 16-18.
- **Dreyfus B. L., Dommerguy E.S.R., 1981.** Nodulation of *Acacia* species by fast- and slowgrowing tropical strains of *Rhizobium*. *Appl. Environ.Microbiol.*, 41 : 97-99.
- **Dubief J., 1963.** Le Climat du Sahara. Ed. Institut rech. saha., Univ. Alger, T. 2, 275 p.
- **Ducouso M., Colonna J.P., Thoen D. 1991.** Occurrence of nodulation among woody legumes in Senegal. *Nitrogen Fixing Tree Res. Reports* 9, 53-55.
- **Duchaufour PH., 1970.** Précis de pédologie Ed Masson et Cie 3<sup>ème</sup> édition. Paris, 481p.
- **Duh P.D., Yen G.C. (1999).** Antioxidant activity of water extract of Harnng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) varieties in soybean oil emulsion. *Food Chemistry*. 66 (4), 471-476.

- **Dwibedy P., Dey G.R., Naik D.B., Kishore K., Moorthy P.N., 1999.** Pulse radiolysis studies on redox reaction of gallic acid: one electron oxidation of gallic acid by gallic acid OH adduct. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 1, 1915– 1918.
- **El Mekkaoui M. 1990.** Etude des mécanismes de tolérance à la salinité chez le blé dur (*T. durum* Desf.) et l'orge (*H. vulgare* L.) : Recherche de tests précoces de sélection. Thèse Doct. en Sc. Agr., USTL, Montpellier.
- **Elkhlil Y., Karrou M., Mrabet R., Benicho M., 2002.** Effet du stress salin sur la variation de certains métabolites chez *Lycopersicon sheesmanii*. *Can. J. Plant Sci.* 82, pp: 177- 183.
- **Elstner E.F. 1987.** Metabolism of activated oxygen species. In: Davies, D.D. (Ed.), the Biochemistry of Plants. Vol. II, Biochemistry of Metabolism. Academic Press, San Diego, CA. 252–315.
- **El khatri S. 2003.** Manuel du cours de climatologie. École Hassania des travaux publics, 2-25.
- **Ennabli N. 1995.** L'irrigation en Tunisie. Tunis :INATDGREF : 278-304.
- **El Babili F., Bouajila J., Fouraste I., Valentin A., Mauret S. & Moulis C., 2010.** Chemical study, antimalarial and antioxidant activities, and cytotoxicity to human breast cancer cells (MCF7) of *Argania spinosa*. *Phytomedicine*. 17, 157.160.
- **Emberger L. 1938.** Les Arbres du Maroc et comment les reconnaître. Le Rose éditeur, Paris, 317p.
- **Emberger L. 1955.** Une Classification Biogéographique des Climats. Rec. trau. lab. bot. geol. ZOO~F.a c. SC. Montpellier, série bot., n° 7 . Pp : 3-43.
- **Emerenciano V.P., Barbosa K.O., Scotti M.T., Ferriro M.J.P. 2007.** Self organising maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae: a classification of tribes using flavonoid data. *J. Braz. Chem. Soc.* 18: 891-899.
- **Epommier D., Détienne P. 1996.** Croissance de *Faidherbia albida* dans les parcs du Burkina-Faso. In : Les parcs à *Faidherbia albida*. Nogent-sur-Marne, France, CIRAD-Forêt.
- **Erdogan S., Ates B., Durmaz G., Yilmaz I., Seckin T. 2011.** Pressurized liquid extraction of phenolic compounds from Anatolia propolis and their radical scavenging capacities. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 1592–1597.
- **Essaidi I., Brahmi Z., Snoussi A., Ben Haj Koubaier H., Casabianca H., Abe N., El Omri A., Chaabouni M.M. & Bouzouita N., 2013.** Phytochemical



investigation of Tunisian *Salicornia herbacea* L., antioxidant, antimicrobial and cytochrome P450 (CYPs) inhibitory activities of its methanol extract. Food Control. 32, 125-133.

- **FAO et IPTRID. 2006.** Conférence électronique sur la salinisation : extension de la salinisation et stratégies de prévention et réhabilitation. <http://www.ciseau.org>.
- **Fagg CW., Barnes RD., 1990.** African acacias: study and acquisition of the genetic resources. Final Report on ODA Research Scheme R. 4348. Oxford Forestry Institute, Oxford, 99 p.
- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. & Abdely C., 2008.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. Compt. Rend. Biol. 331, 372-379.
- **Falleh H., Ksouri R., Oueslati S., Guyot S., Magné C., Abdely C. 2009.** Interspecific variability of antioxidant activities and phenolic composition in Mesembryanthemum genus. Food Chem. Toxicol. 47: 2308-2313.
- **Faller A.L.K., Fialho E. 2010.** Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23: 561–568.
- **Felker P. 1981.** Uses of tree legumes in semiarid regions. Econ. Bot., 35 : 174-186.
- **Ferrazzano GF., Amato I., Ingenito A., Zarrelli A., Pinto G., Pollio A. 2011.** Plant Polyphenols and Their Anti-Carcinogenic Properties: A Review. **Molecules**. 16: 1486-1507
- **Fogliani B. 2002.** De la connaissance physiologique des Cunoniaceae endémiques de la nouvelle-Calédonie, à la recherche des caractéristiques physico-chimiques et biologiques de leurs substances bioactives d'intérêt. Thèse de Doctorat en physiologie végétale et phytochimie. 42-52.
- **Forges M. 1972.** Irrigation et salinité. CIHAM, options méditerranéennes. Pages 40-45.
- **Fратиanni F., Tucci M., De Palma M., Pepe R., Nazzaro F., 2007.** Polyphenolic composition in different parts of some cultivars of globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori). Food Chem. 104: 1282-1286.

- **Gadallah M.A.A. 1999.** Effect of kinetin on growth, grain yield and some mineral elements in wheat plants growing under excess salinity and oxygen deficiency. *Plant Growth Regul.*, 27: 63–74
- **Gama P.B.S., Inanaga S., Tanaka K. & Nakazawa R. (2007).** Physiological response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to salinity stress. *African Journal of Biotechnology*. 6 (2), 079-088.
- **Gao X., Xu Y.X., Divine G., Janakiraman N., Chapman R.A., Gautam S.C. 2002.** Disparate in vitro and in vivo antileukemic effects of resveratrol a natural polyphenolic compound found in grapes. *J. Nutr.* 132: 2076-2081.
- **Gazala S., Pelletier JS., Storie D., Johnson J., Demetrios J., Kutsogiannis and Bédard E., 2013.** A Systematic Review and Meta-Analysis to Assess Patient-Reported Outcomes after Lung Cancer Surgery. Review Article. Volume 2013 (2013), Article ID 789625, 7 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2013/789625>.
- **Genoux C., Putzola F., Maurin G. 2000.** La Lagune méditerranéenne : Les plantes halophiles. *TPE*. 1 ère S-2, 22p.
- **Gill K S., 1979.** Effects of soil salinity on grain filing and grain development in burly. *Biologia plantarum* , 24 (4): 266 – 269.
- **Grade J.T., Tabuti J.R.S. et Van Damme P. 2009.** Ethnoveterinary knowledge in pastoral Karamoja, Uganda, *Journal of Ethnopharmacology*, 122, 273-293.
- **Graf E., 1992.** Antioxidant potential of ferulic acid. *Free Radic Biol Med.* 1992 Oct;13(4):435-48.
- **Greenway H., Munns R. 1980.** Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 31, 149-190.
- **Grouzis M. 1987.** Structure, productivité et dynamique des systèmes écologiques sahéliens (Mare d’oursi, Burkina Faso). Thèse d’État : Université de Paris Sud, Centre d’Orsay (France).
- **Grouzis M. 1991.** Réhabilitation des terres dégradées au nord et au sud du Sahara. Utilisation des légumineuses pérennes et des micro-organismes associés pour l’établissement des formations pluristrates. Contrat Union européenne STD3, TS3\*TT92-0047, Dakar, ORSTOM, 80 p.
- **Grouzis M., Sicot M. 1980.** A method for phenological study of Browse population in the Sahel : the influence of some ecological factors. *In* le Houérou H.N. (Eds) *Browse in Africa*, Adis-Abeba, ILCA : 233-240.

- **Gucci R., Aronn G., Lombardini L., Tattini M. 1997.** Salinity tolerance in *Phillyrea* species. *New Phytol.* 135: 227-234 p.
- **Guo Q., Johnson C. A., Unger J. B., Lee L., Xie B., Chou C.-P., Pentz M., 2007.** Utility of the theory of reasoned action and theory of planned behavior for predicting Chinese adolescent smoking. *Addictive Behaviors*, 32(5), 1066-1081.
- **Guignard J.L., 2004.** Abrégé de botanique. Ed. Masson. Paris. 259p.
- **Guinet P., Vassal J., 1978 .** Hypothesis on the differentiation of the major group in the genus *Acacia* (Leguminosae). *Kew Bul/.* 32 (3) : 509-527.
- **Gülcin I, Alici HA, Cesur M .2005.** Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chem. Pharmaceut. Bull.* 53: 281-285.
- **Gutterman Y., 1993.** Porcupine diggings as a unique ecological system in a desert environment. *Oecologia* 85, 122–127.
- **Guyot S., Le Bourvellec N., Marnet N., Drilleau J.F. 2002.** Procyanidins are the most abundant polyphenols in dessert apple maturity. *L.WT.* 35, 289-291.
- **Hachicha M., 2007.** Les sols salés et leur mise en valeur en Tunisie. *Sècheresse*, 18: 45-50.
- **Halevy G., Orshan G., 1973.** Ecological studies on *Acacia* species in the Negev and Sinai. II. Phenology of *Acacia raddiana*. *A. tortilis* and *A. gerrardii* ssp. *negevensis*. *Israel j. of Botany.* 22 (2): 120-139.
- **Hamdy A., 1999.** Saline irrigation and management for sustainable use. Advanced short Course on saline Irrigation Proc.Agadir: 152-227p.
- **Hanato T., Kagawa H., Yasuhara T., Okuda T., 1988.** Two new flavonoids and other constituents in licorice root their relative astringency and radical scavenging effect. *Chem. Pharm.* 36, 1090-1097.
- **Hanson G. T., Aggeler R., Oglesbee D., Cannon M., Capaldi R. A., Tsien R. Y., 2004.** Investigating mitochondrial redox potential with redox-sensitive green fluorescent protein indicators. *J. Biol. Chem.* 279, 13044–13053  
10.1074/jbc.M312846200.
- **Haro, G. O., Oba G., 1993.** Dynamics of *Acacia tortilis* litter in the Turkwel River floodplain woodlands, Kenya. *31 (3),* 200-209. doi:10.1111/j.1365-2028.1993.tb00533.x
- **Haslam E., 2007.** Vegetable tannins – Lessons of a phytochemical lifetime. *Phytochemistry*, 68: 2713–2721.

- **Hawkins H J., Lewis O Am., 1993.** Effect of NaCl salinity, nitrogen form, Calcium and potassium concentration on nitrogen uptake and kinetics in *Triticum Aestivum* L.cv.Gamtoos. *New Phytol.* (1993), 124, 171-177.
- **Hayek T., Abdelly C., 2004.** Effets de la salinité sur l'état hydrique foliaire, la conductance stomatique, la transpiration et le rendement en grains chez 3 populations de mil (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.). *Revue des Régions Arides*, Tome 1, No. Spécial: 273-284.
- **Hayouni E.A., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M., 2007.** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105: 1126–1134.
- **Heller R., Esnault R., Lance C., 1995.** *Physiologie végétale. 2. Développement.* 5<sup>ème</sup> Ed. MASSON, Paris.
- **Hopkins W G; 2003.** *physiologie végétale.* Traduction de la 2e édition américaine par serge rambour révision scientifique de Charles- Marie Evradr.Boeck Univ. Bruxelles .p 464-469.
- **Huang D., Ou B., Prior R.L., 2005.** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1841-1856.
- **Huang J., Redmann R.,1999.** Salt Tolerance of Hordeum and Brassica Species During Germination and Early Seedling Growth. *Can. J. Plant Sci.* 75: 815-820.
- **Hutchinson J., Dalziel J.M., 1958.** *Bora of West Tropical Africa*, Vol. 1 Part II. 2nd ed. (Revised by Keay, R W J.). London, UK: Crown Agents for Overseas Governments and Administrations. 499 pp.
- **Ignat I., Volf I., Popa V.I., 2011.** A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem.* 126, 1821-1835.
- **Imlay J.A., Linn S., 1988.** DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science.* 240, 1302-1309.
- **Inoue Y.H., do Carmo Avides M., Shiraki M., Deak P., Yamaguchi M., Nishimoto Y., Matsukage A., Glover D.M. ,2000.** Orbit, a novel microtubule-associated protein essential for mitosis in *Drosophila melanogaster*. *J. Cell Biol.* 149(1): 153--166. (Export to RIS)

- **Ivanova D., Gerova D., Chervenkov T., Yankova T., 2005.** Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarians medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 96: 145-150.
- **Jabnoute M., Very Anne-Aliénor, Abdelly C., Guiderdoni Emmanuel., 2008.** Rôle de transporteurs de sodium et de potassium chez le riz : analyse des propriétés fonctionnelles par électrophysiologie. In : Colloque "Biotechnologies végétales et gestion durable des résistances face à des stress biotiques et abiotiques chez les plantes", 30 juin au 3 juillet 2008, Rennes, France
- **Jelali N., M'sehli W., Dell'orto M., Abdelly C., Gharsalli M., Zocchi G., 2010.** Changes of metabolic responses to direct and induced Fe deficiency of two *Pisum sativum* cultivars. *Env. Exp. Bot.* 68 (3), 238-246.
- **Joly H, 1991.** *Acacia albida* ou *Faidherbia albida* ? Taxonomie : potentialités de l'électrophorèse enzymatique, *Bois For Trop*, 230 : 33-37
- **Jithesh M.N., Prashanth S.R., Sivaprakash K.R., Parida, A.K. 2006.** Antioxidative response mechanisms in halophytes: their role in stress defence. *J. Genetics*. 85: 237-254.
- **Jun X., Deji S., Ye L., Rui Z. 2011.** Micromechanism of ultrahigh pressure extraction of active ingredients from green tea leaves. *Food Control*, 22: 1473-1476.
- **Jordan G.L., Haferkamp M.R., 1989.** Temperature responses and calculate heat units for germination of several range grasses and shrubs. *J. Range Manage.*, 42 : 41-45.
- **Jouadi W., Hamrouni L., Souayeh N., Khouja M.L. 2010.** Etude de la germination des graines d'*Acacia tortilis* sous différentes contraintes abiotiques. *Rev. Biotechnol Agronomic, Soc. Environnement*, 14(4) :643-652.
- **Kamath V., Rajini P.S., 2007.** The efficacy of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) skin extract as a free radical scavenger. *Food Chemistry*, 103: 428–433.
- **Kampa M., Nifli A.P., Notas G., Castanas E. ,2007.** Polyphenols and cancer cell growth. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 159: 79-113.
- **Kampkötter A., Timpel C., Zurawski RF., Ruhl S., Chovolou Y., Proksch P., Wätjen W. Kampkötter A., Timpel R. F., Zurawski . 2008.** Increase of stress

resistance and lifespan of *Caenorhabditis elegans* by quercetin. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 149(2):314-23.

- **Kanai S., Okano H., Abe H., 1998.** Efficacy of toki-shigyaku-ka-gosyuyu-syokyo-to on peripheral circulation in autonomic disorders. *Am J Chin Med.* 1998;25:69–78.
- **Kasbadji N.M., 1999.** Carte des Vents de l'Algérie ; Résultats préliminaires. *Rev. Energies Renouvelables* : 209-214.
- **Kayan S.I., Naqv I.H., Ting.P., 1990.** Salinity effects on germination and mobilisation of reserves in jojoba seeds. *Crop. Sci.*, 30 : 704-708.
- **Kechairi R., 2009.** Contribution à l'étude écologique de l'Arganier *Argania spinosa* (L.) Skeels dans la région de Tindouf (Algérie). Mémoire de magistère, Université des sciences et de la technologie «Houari Boumediene».61p+Annexe.
- **Kerhar O.J., Adam J.G. 1974.,** La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Vigot Frères, Paris, 1011p.
- **Khavarinejad RA., Mostofi Y., 1998.** Effects of NaCl on photosynthetic pigments, saccharides, and chloroplast ultrastructure in leaves of tomato cultivars. *Photosynthetica* 35: 151-154.
- **Khanbabae K, Ree T.V., 2001.** Tannins: classification and definition. *Nat. Prod. Rep.* 18, 641-649.
- **Kho R.M., Yacouba B., Yayé M., Katkoré B., Moussa A., Iktam A., Mayaki, A., 2001.** Separating the effects of trees on crops: the case of *Faidherbia albida* and millet in Niger. *Agroforest. Syst.* 52, 219e238.
- **Khokhar S., Magnusdottir SGM., 2002.** Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *J Agric Food Chem* 50: 565–570.
- **Kiema A., Nianogo A. J., Ouedraogo T., Somba J., 2008.** Use of local feed resources in the farmers ram fattening scheme: technical and economical performance. Étude originale .*Rev.Cahiers Agricultures*, 17 (1): 23-27.
- **Koller D. 1995.,** The regulation of germination in seeds (review). *Bull. Res. Counc. Israel*, 5D: 85-108.
- **Ksouri R., Megdiche W., Debez A., Falleh H., Grignon C., Abdely C.,2007.** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry.* 45, 244-249.

- **Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A., 2008.** Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptes Rendues Biologies*, 331(11), 865–873.
- **Ksouri R., Falleh H., Megdiche W., Trabelsi N., Hamdi B., Chaieb K., Bakhrouf A., Magné C., Abdelly C., 2009.** Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L and related polyphenolic constituents. *Food Chem. Toxicol.* 47, 2083-2091.
- **Kunnumakkara A.B., Guha S., Krishnan S., Diagaradjane P., Gelovani J., Aggarwal B.B., 2007.** Curcumin potentiates antitumor activity of gemcitabine in an orthotopic model of pancreatic cancer through suppression of proliferation, angiogenesis, and inhibition of nuclear factor kappa- $\beta$  regulated gene products. *Cancer Res.* 67: 3853-3861.
- **Lambert JD., Elias RJ., 2010.** The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: a role in cancer prevention. *Arch Biochem Biophys.* 2010 Sep 1;501(1):65-72. doi: 10.1016/j.abb.2010.06.013. Epub 2010 Jun 15.
- **Laranjinha J., Almeida A., Madeira V., 1994 .** Reactivity of dietary phenolic acids with peroxy radicals: antioxidant activity upon low density lipoprotein peroxidation. *Biochem.Pharmacol.* 48, 487-494 (1994).
- **Lee L.T., Huang Y.T., Hwang J.J., Lee P.P. Ke F.C., Nair M.P., Kanadaswam C., Lee M.T., 2002.** Blockade of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase activity by quercetin and luteolin leads to growth inhibition and apoptosis of pancreatic tumor cells. *Anticancer Res.* 22: 1615-1627.
- **Lemzeri H., 2006.** Réponses écophysiologiques de trois espèces forestières du genre *Acacia*, *Eucalyptus* et *Schinus* (*A. cyanophylla*, *E. gomphocephala* et *S. mölle*) soumises à un stress salin. Mémoire de magistère, Université de Mentouri Constantine, 180 p + annexe
- **Levigner A ., Lopez F ., Varisuyt G ., Berthomien P ., Casse- Delbar T., 1995.** Les plantes face au stress salin. Cahier d’agriculture.
- **Le Houérou H. N., 1989.** Bioclimatologie et biogéographie des steppes arides du nord de l'Afrique. Diversité biologique, développement durable et désertification. CIHEAM/ACCT, Zaragoza, 396 p.

- **Le Houerou H.N., 1980.** La végétation de la Tunisie steppique avec référence au Maroc, à l'Algérie et à la Libye. Ann. INRAT, 42(5).
- **Le Floc'h, E., 1983.** Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Publ. Sc. Tunisiennes, Programme "Flore et Végétation Tunisiennes". Imprimerie Officielle de la République Tunisienne : 402 p.
- **LE Floc'h E., Grouzis M., 2003.** *Acacia raddiana*, un arbre des zones arides à usages multiples. Un arbre au désert : *Acacia raddiana*. Édi IRD Paris : 21-58.
- **Levitt J., 1980.** Responses of Plant to Environmental Stress Chilling, Freezing and High Temperature Stresses. 2<sup>nd</sup> edi. Levitt, J. (ed.). Academic Press, New York, NY.
- **Lichtenthaler HK ., 1987.** Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods Enzymol. 148: 350-382.
- **Lisiewska Z., Kmiecik W., Korus A., 2006.** Content of vitamin C, carotenoids, chlorophylls and polyphenols in green parts of dill (*Anethum graveolens* L.) depending on plant height. *J. Food. Comp. Anal.* 19: 134-140.
- **Loth P.E., De Boer W.F., Heitkönig I.M.A., Prins H.H.T., 2005.** Germination strategy of the East African savanna tree *Acacia tortilis*. *J. Trop. Ecol.*, 21(5) : 509-517.
- **Louppe D. 1990.** *Faidherbia albida* : l'arbre miracle du Sahel. Agroforesterie aujourd'hui, Nairobi, Kenya, ICRAF, avril-juin 1989, vol 1, n° 2.
- **Luo Z.-X., Kielan-Jaworowska Z., Cifelli R.L., 2002.** In quest for a phylogeny of Mesozoic mammals. *Acta Palaeontologica Polonica* 47 (1): 1-78.
- **Luttge U., Kluge M., Bauer G., 2002.** Botanique. 3<sup>ème</sup> édition, Tec et Doc Lavoisier, Paris: 439-450.
- **Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne, 192p.
- **Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C., 2006.** Dans P. Sarni-Manchado, V. Cheynier, Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Tec & Doc.
- **Malešev D., Kuntić V. 2007.** Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *J. Ser. Chem. Soc.* 72: 921-939.



- **Maslin BR., Pedley L. 1982.**The distribution of Acacia (Leguminosae: Mimosaceae) in Australia part 1. Species distribution maps. Research Notes, Western Australian Herbarium, 6, 1-1.
- **Maisuthisakul P., Suttajit M., Pongsawatmanit R., 2007.** Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. Food Chemistry, 4, 1409–1418.
- **Maillard J., 2001.** Le point sur l'irrigation et la salinité des sols en zone sahélienne. Risques et recommandations. Handicap International, 34p.
- **Mau J.L., Chang C.N., Huang S.J., Chen C.C., 2004.** Antioxidant properties of methanolic extract from *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminosus mycelia*. Food Chem. 87: 111-118.
- **Maxwell K., Johnson G.N, 2000 .** Chlorophyll fluorescence –a practical guide, J Exp Bot. 51: 659 – 668.
- **Maziliak P., 1982.** Physiologie végétale croissance et développement. vol. Ed. Herman. 461p.
- **Meot-Duros L., Le Floch G., Magné C.,2008.** Radical scavenging, antioxidant and antimicrobial activities of halophytic species. J. Ethnopharmacol. 116: 258-262.
- **Mnif L., Chaieb M., 2004.** Efficacité comparée de l'utilisation de l'eau de pluie en milieu aride par quatre populations d'une Poaceae pérenne. Revue des Régions Arides, Tome 1, No spécial : 252-257.
- **Milane H., 2004.** La quercétine et ses derives: molécules à caractères pro-oxydants ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat en pharmacochimie. 155 p.
- **Munns R., 1993.** Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. Plant Cell Environ. (16): 15-24.
- **Munns R., 2002.** Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell and Environment, Vol. 25: 239-250.
- **Munns R., James R. A., Läuchli A., 2006.** Approaches to Increasing the Salt Tolerance of Wheat and Other Cereals.J. Exp. Bot., 57(5):1025-1043.
- **Müller E., Berger R., Blass E., Sluyts D., Pfennig A. 2008.** Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry, Liquid–Liquid Extraction.

- **Nabi G., Liu Z-Q., 2012.** Ferrocenyl chalcones: antioxidants or prooxidants in radical-induced oxidation of DNA?. *Med Chem Res* (2012) 21:3015–3020 DOI 10.1007/s00044-011-9836-5.
- **Naczki M., Shahidi F., 2006.** Phenolics in cereals, fruits, and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.* 41: 1523-1542.
- **Nagendra Prasad K., Abdulrahman Hassan F., Yang B., Weng Kong K., Ramanan R.N., Azlan, A., Ismail A., 2011.** Response surface optimisation for the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities of under utilised *Mangifera pajang* Kosterm. peels. *Food Chemistry*, 128: 1121-1127.
- **Navarro JM., Flores P., Garrido C., Martinez V., 2006.** Changes in the contents of antioxidants compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chem.* 96: 66-73.
- **Neffati M. 1994.** Caractérisation morphobiologique de certaines espèces végétales nord africaines : implication pour l'amélioration pastorale. Thèse de doctorat : Université de Gand (Belgique).
- **Neffati M., Akrimi M., 1997.** Études des caractéristiques germinatives des semences de quelques légumineuses spontanées de la Tunisie steppique. *Rev. Rég. Arides*, NS : 272-287.
- **Negro C., Tommasi L., Miceli A., 2003.** Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. *Bioresource Technology*, 87, 41-44.
- **New T.R., 1984.** A biology of acacias. Oxford University Press Melbourne 193.
- **Ndour P., 1997.** Effet des contraintes hydrique et saline sur la germination de quelques acacias africains. *Projet National de Semences Forestières du Sénégal*. 11 p.
- **Niwa Y., Akamatsu H., Niwa H., Sumi H., Ozaki Y., Abe A., 2001.** Correlation of tissue and plasma RANTES levels with disease course in patients with breast or cervical cancer. *Clin Cancer Res.* 2001 Feb;7(2):285-9.
- **Nongonierma A., 1977.** Contribution à l'étude biosystématique du genre *Acacia* Miller en Afrique occidentale. IV Distribution climatique des différents taxa. *Bull. de l'IFAN*, sér.A., (39) 2 : 318-339.
- **Ogiwara T., Satoh K., Kadoma Y., 2002.** Radical scavenging activity and cytotoxicity of ferulic acid. *Anticancer Res* 2002 22:2711–2717.

- **Ollet B., 1992.** Destins de l'arbre dans les sociétés tropicales : idées pour une politique de conservation des forêts. Rev. Bois et Forêts des Tropiques, 232(2).
- **Oliver R., Depommie D.R., Janode T.E. 1996.** Influence de *Faidherbia albida* sur le sol et le sorgho. Observations dans le parc de Wanitorna au Burkina Faso. In : Les parcs à Faidherbia, CiradForêt. Cahiers scientifiques, n° 12 : 141 -1 52.
- **Ouedraogo JS., 1994.** Dynamique et fonctionnement des parcs agroforestiers traditionnels du Plateau Central Burkinabè. Influence des facteurs biophysiques et anthropiques sur la composante arborée. Thèse de Doctorat, Univ Paris 6 : 222 p.
- **Ouerghi Z, Zid E, Hajji M et Soltani A., 1998.** Comportement physiologique du blé dur (*Triticum durum* L.) en milieu salé. CIHEAM - Options Méditerranéennes: 309 – 31.
- **Oueslati S., Ksouri R., Falleh H., Pichette A., Abdely C., Legault J., 2012.** Phenolic content, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of the edible halophyte *Suaeda fruticosa* Forssk. Food Chemistry 132 (2012) 943–947.
- **Oyaizu M., 1986.** Studies on products of the browning reaction prepared from glucose amine. Jap. J. Nut. 44: 307-315.
- **Ozenda., 1977.** La végétation ligneuse du Sahara. Cah. Rivières et Forêts, 9/10 : 65-75.
- **Parida A.K., Dasa A.B., Sanada Y., Mohanty P., 2004.** Effects of salinity on biochemical components of mangrove, *Aegiceras corniculatum*. *Aquatic Botany*, 80: 77-78.
- **Parida AK., Das AB., 2005.** Salt tolerance and salinity effects on plants: A. Rev. Ecotoxicol. environ. Saf. 60: 324-349.
- **Payne W.A., Williams J.H., Maï Moussa K.A., Stern R.D., 1998.** Crop diversification in the Sahel through use of environmental changes near *Faidherbia albida* (Del.) A. Chev. Crop Sci. 38, 1585e 1591.
- **Pedras M.S.C., Ahiahonu P.W.K., 2005.** Metabolism and detoxification of phytoalexins and analogs by phytopathogenic fungi. *Phytochem.* 66, 391–411.
- **Pélissier P., 1980.** L'arbre en Afrique tropicale. La fonction et le signe. Cahiers ORSTOM, Sci..Hum., 3-4: 127- 130.

- **Pilon-Smits EAH., Hwang SB., Lytle CM, Zhu YL., Tai JC., 1995.**  
Overexpression of ATP sulfurylase in *Brassica juncea* leads to increased selenate uptake, reduction and tolerance. *Plant Physiol.* 119:123–32.
- **Plot J., Nebout J.-P., Nanot R., Toutain B., 1980 .** Utilisation des ligneux sahéliens par les herbivores domestiques. Études quantitatives dans la zone sud de la Mare d'Oursi (Haute-Volta). Paris, CTFT-IEMVT, 34 p.
- **Prieto P., Pineda M., Aguilar M., 1999.** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem.* 269: 337-341.
- **Quezel P., 1963.** Les peuplements d'Acacia au Sahara nord-occidental. Étude phytosociologique. *Trav. Inst Rech. soh.*, 20 : 80-120.
- **Quezel P., Santa S., 1963 .** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris. CNRS, vol. 1. 566 p.
- **Quezel P., Simonneau P., 1963.** Les peuplements d'Acacia du Sahara nord-occidental. Étude phytosociologique. *Trav. Inst Rech. Sahariennes*, 20 : 79-121.
- **Ramos J., Lopez M.J., Benlloch M., 2004 .** Effect of NaCl and KCl salts on the growth and solute accumulation of the halophyte *Atriplex nummularia*. *Plant Soil.* 259: 163-168.
- **Rahmoune C., Maalem S., Kadri K., Ben naceur M., 2008.** Etude de l'utilisation des eaux fortement salées pour l'irrigation des plantes du genre *Atriplex* en zones semi arides. *Revue des régions arides*, 21 (2): 924- 929.
- **Rejili M., Vadel AM., Guetet A., Mahdhi M., Lachiheb B., Ferchichi A., Mars M., 2006.** Influence of Temperature and Salinity on the Germination of *Lotus Creticus* (L.) from the Arid Land of Tunisia. *Afr. J. Eco.* 48: 329-337.
- **Reich P. B., Borchert R., 1984.** Water stress and tree phenology in a tropical dry forest in the lowlands of Costa Rica. *Journal of Ecology* 72: 61-74.
- **Rezgui M., Bizid E., Ben Mechlia N. 2004.,** Etude de la sensibilité au déficit hydrique chez quatre variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) cultivées en conditions pluviales et irriguées en Tunisie. *Revue des Régions Arides*, Tome 1, No spécial: 258-265.

- **Rijke E., Out P., Niese WMA., Ariese F., Gooijer C., Brinkman UAT., 2006.** Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J. Chromat. A* 1112: 31-63.
- **Rice-Evans C. A., Miller J. M., and Paganga G.,1996.** Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.* 20, 933-956
- **Richard D., 1989.** Ingestibilité et digestibilité des aliments par le dromadaire. *Rev. Options Méditerranéennes - Série Séminaires (2):* 55-59.
- **Robbins R.J., 2003.** Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 2866–2887.
- **Ross J.H., 1966.** *Acacia albida* Del. in Africa, *Boletin de Sociedade Broteriana*, 2, (40), 187-205.
- **Roussel J., 1984.** Germination des semences forestières : utilisation de l'acide sulfurique en traitement des principales espèces sahéliennes, soudano-sahéliennes et exotiques. Fiche technique n°3. Dakar : Centre national de recherches forestières.
- **Rozema J., Flowers T., 2008.** Crops for a salinized world. *Science* 322, 1478–1480.
- **Sakaguchi S., Nishiyama Y., Ishii Y., 1996.** Selective oxidation of monoterpenes with hydrogen peroxide catalyzed by peroxotungstophosphate (PCWP). *J. Org Chem.* 61, 5307-5311.
- **Sakakibara K., Nishiyama T., Sumikawa N., Kofuji R., Murata T., Hasebe, M. 2003.** Involvement of auxin and a homeodomain-leucine zipper I gene in rhizoid development of the moss *Physcomitrella patens*. *Development* 130, 4835-4846.
- **Sauvage., 1963.** Notes botaniques sur le Zemmour oriental (Mauritanie septentrionale). *Mém. Office nat. anti-acridien.* n° 2,46 p.
- **Sarni-Maachado P., Cheynier V., 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire. *TEC et DOC.*Ed. Paris, pp, 29-30.
- **Schulz E., Amadou A., 1992 .** *Leben in der Südlichen Sahara. Die tradition elle Nutzung der Vegetation im Nord-Niger.* Abschlussbericht zum Forschungsv. 1/52749.188 p.
- **Scott S.J., Jones R.A .,Williams W.A.,1984.** Review of data analysis methods for seed germination. *Crop science*,24(6),pp :1192-1199.

- **Sentenac H ., Berthomieu P., 2003.** Functional analysis of AtHKT1 in *Arabidopsis* shows that Na<sup>+</sup> recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. EMBO J 22: 2004-2014
- **Smaoui A., Chérif A., 1986.** Effet de la salinité sur la germination des graines de cotonnier. In : Colloque sur les végétaux en milieux arides, 8-10 septembre 1986, Djerba, Tunisie.
- **Soares JR., Dinis TCP., Cunha AP and Almeida LM .,1997.** Antioxidant Activities of some Extracts of *Thymus zygis*. Free Radical Research 26: 469-478.
- **Sohi K.K., Mittal N., Hundal M.K., Khanduja K.L., 2003.** Gallic acid, an antioxidant, exhibits antiapoptotic potential in normal human lymphocytes: a Bcl-2 independent mechanism. J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo) 49, 221– 227.
- **Souquet JM., Labarbe B., Le Guerneve C., Cheynier V., Moutounet M ., 2000.** Phenolic composition of grape stems J. Agric. Food Chem. 48: 1076-1080.
- **Sreemanti D., Das J., Samadder A., Paul A., Khuda-Bukhsh A. ,2013.** Strategic formulation of apigenin-loaded PLGA nanoparticles for intracellular trafficking, DNA targeting and improved therapeutic effects in skin melanoma in vitro." Toxicology letters 223 (2): 124-138. doi:10.1016/j.toxlet.2013.09.012.
- **Srikanth S., Pragathi BH., 2013.** Pulmonary function tests in type ii diabetics in correlation with fasting blood glucose. Int J Med Res Health Sci. 2013;2 (4):756-761.
- **Suarez DL., Wood JD., Lesch SM .,2006.** Effect of SAR on water infiltration under a sequential rain irrigation management system. Agric Water Manage; 86 : 150-64.
- **Subba Rao MV ., Muralikrishna G., 2002.** Evaluation of the antioxidant properties of free and bound phenolic acids from native and malted finger millet (ragi, *Eleusine coracana* Indaf 15). J Agric Food Chem. 2002 Feb 13;50(4):889-92.
- **Subhasree B., Baskar R., Keerthana RL., Susan RL., Raja sekaran P., 2009.** Evaluation of antioxidant potential in selected green leafy vegetables. Food Chem. 115:1213 1220.
- **Sudhir P., Murthy S. D. S. 2004.** Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. Photosynthetica 42 , 481-486.
- **Sun B., Spranger MI .,2005.** Review: quantitative extraction and analysis of grape and wine proanthocyanidins and stilbenes. Ciência Téc. Vitiv. 20 (2): 59-89.

- **Sun B., Richardo-da-Silvia JM., Spranger I.,1998.** Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.* 46:4267-4274.
- **Tabaeizadeh Z.,1998.** Drought-Induced responses in plant cells.*Int Rev Cytol*,182.pp:193-247.
- **Tackholm V., 1974.** *Student's flora of Egypt* Cairo Univ., 2<sup>éd.</sup>, 888 p.
- **Tahri E H., Belabed A., Sadki K., 1998.** Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticum durum*).*Bul.I.S.Rabat*,n°21,pp :81-87.
- **Tarascou I., Souquet J.M., Mazauric J.P., Carrillo S., Coq S. Canon F., Fulcrand, H., Cheynier V., 2010.** The hidden face of food phenolic composition. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 50: 16–22.
- **Tardat-henry M ., Beaudry J.P., 1984.** Chimie des eaux, Edition le griffon d'argile, I.N.C, Québec, Canada.
- **Taylor LP., Grotewold E ., 2005.** Flavonoids as developmental regulators. *Curr. Opin. Plant Biol.* 8(3): 317-323.
- **Teketay D., 1996.** Germination ecology of twelve indigenous and eight exotic multipurpose leguminous species from Ethiopia. *Forest Ecol. Manage.*, 80: 209-223.
- **Tiqwari AK., 2001.** Imbalance in antioxidant defence and humandiseases: multiple approach of natural antioxidant therapy *Curr. Sci.*, 81 (2001), pp. 1179–1187.
- **Tomasi N., Weisskopf L., Renella G., Landi L., Pinton R., Varanini Z., Nannipieri P., Torrent J., Martinoia E., Cesco S., 2008.** Flavonoids of white lupin roots participate in phosphorus mobilization from soil. *Soil Biol. Biochem.* 40 (7): 1971-197.
- **Toor R.K., Savage G.P., Lister C.E., 2006.** Seasonal variations in the antioxidant composition of greenhouse grown tomatoes. *J. Food. Comp. Anal.* 19: 1-10.
- **Totey N.G., 1987.** Afforestation of salt affected wasteland. Screening of forest tree species of Madhya Pradesh for salt tolerance. *Indian Forester*, 113: 805-815.

- **Thripathi A K., Tripathi S., 1999.** Change in some physiological and biochemical characters in *Albizia lebbek* as bioindicateurs of heavy metal toxicity .J. Environ.Biol., 20(2).pp :93-98.
- **Trabelsi N., Megdiche W., Ksouri R., Falleh H., OueslatiS. ,Bourgou S., Hajlaoui H., Abdelly C.,2010.** Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. LWT - Food Science and Technology 43 (2010) 632–639.
- **Troszyńska A., Ciska E.,2002.** Phenolic compounds of seed coats of white and coloured varieties of pea (*Pisum sativum L.*) and their total antioxidant activity. Czech J. Food Sci., 20: 15–22.
- **Tsao R., Yang R., 2003.** Optimization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition: Towards a total phenolic index using high-performance liquid chromatography. *J. Chromat. A.* 1018: 29-40.
- **Ungar I.A., 1995.** Seed germination and seed-bank ecology of halophytes. In: Kigel J. and Galili G., eds. Seed development and germination. New York, USA: Marcel & Dekker Inc.
- **Vandenbeldt R.J., 1992.** *Faidherbia albida* in the West African Semi-arid Tropics Proceedings of a Workshop, 22-26 April 1991, Niamey, Niger. ICRISAT & ICRAF, Patancheru, A.P. 502324, India. 206pp.
- **Vassal J., 1972.** Apport des recherches ontogéniques et séminologiques à l'étude morphologique, anatomique et phylogénique du genre *Acacia*. *Bull. Soc Hist Nat Toulouse.* 108 (1-2) :125-247.
- **Von Maydell H. J., 1986 .** Arbres et arbustes du Sahel. Leurs caractéristiques et leurs utilisations. Eschborn, Schriftenreihe der GTZ No. 147, 531 p.
- **Vora R.S., 1989.** Seed germination characteristics of selected native plants of the Low Rio Grande Valley, Texas. *J. Range Manage.*, 42(1) : 36-40.
- **Wang Y., Nil N., 2000.** Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. *J Hortic Sci Biotechnol* 75:623-627.
- **Wickens G.E., 1969.** A study of *Acacia albida* Del.(Mimosoideae), *Kew Bulletin*, 23, (2), 181–202.



- **Wood P.J., 1992.** The botany and distribution of *Faidherbia albida*. Pages 9-17 in *Faidherbia albida* in the West African semi-arid tropics: proceedings of a workshop, 22-26 Apr 1991, Niamey, Niger (Vandenbeldt, R.J., ed.). Patancheru, A.P. 502 324, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics; and Nairobi, Kenya: International Centre for Research in Agroforestry.
- **Xia EQ., Deng GF., Guo YJ., Li HB .,2010.** Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *Int. J. Mol. Sci.* 11: 622-646.
- **Xiaokun S., Antoine R.,Michael Z. L.,Todd A. A., Varda L., Paul A., Roger Y. 2009.** Mammalian Expression of Infrared Fluorescent Proteins Engineered from a Bacterial Phytochrome. *Science* 324, 804 (2009); DOI: 10.1126/science. 1168683 .
- **Yancey P. H., M. E. Clark S., C. Hand., R. D. Bowlus, and G. N Somero., 1982.** Living with water stress: Evolution of osmolyte systems. *Science*, 2171212-1222.
- **Yanez J., Vicente V., Alcaraz M., Castillo J., Benavente-Garcia O., Canteras M., Teruel J.A. ., 2004.** Cytotoxicity and antiproliferative activities of several phenolic compounds against three melanocytes cell lines: relationship between structure and activity. *Nutr. Cancer.* 49: 191-199.
- **Yang H., Pfister S., Bhaduri A., 2013.** Accounting for a scarce resource: virtual water and water footprint in the global water system. *Current Opinion in Environmental Sustainability.* 5(6): 599-606.
- **Yao L.H., Jiang Y.M., Caffin N., D'Arcy B., Datta N., Liu X., Singanusong R., Xu Y. 2006.** Phenolic compounds in tea from Australian supermarkets. *Food. Chem.* 96, 614–620.
- **Zahran HH., 1999.** *Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate.* *Microbiol Mol Biol Rev* 63: 968–989
- **Zhifang G., Loescher WH., 2003.** Expression of celery mannose 6-phosphate reductase in *Arabidopsis thaliana* enhances salt tolerance and induces biosynthesis of both mannitol and glucosyl-mannitol dimmer. *Plant Cell Environ* 26:275-283.
- **Zhou K., Yu L.L., 2004.** Antioxidant properties of bran extracts from tregro wheat grown at different locations. *J. Agric. Food. Chem.* 52, 1112-1117.
- **Zid E., 1982.** Quelques aspects de la tolérance l'*Atriplex halimus* au chlorure de sodium, multiplication, croissance minérale. *Oecol Plant*, Tome 12. 4. pp3 51- 362.
- **Zid E., Grignon C., 1991.** Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes aux stress. Cas des stress salin et hydrique. L'amélioration des plantes

pour l'adaptation aux milieux arides, AUPELF-UREF. Jon Libbey Eurotext, Paris: 91-108.

- **Zohary M., 1972.** *Flora Palaestina*. The Israel academy of sciences and humanities .Vol. 2, p. 25.