



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

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

Spécialité: Biologie Végétale

THEME

Etude biologique et phytochimique de trois genres
endémiques en Algérie: «*Genista numidica* Spach,
Genista ferox Poiret et *Genista tricuspidata* Desf»

Présentée par: M^{me}. ATI Samira

Membres de Jury:

MrTAHARAli	Prof	Président	Université d'Annaba
MmeBENNADJA Salima	Prof	Directeur	Université d'Annaba
Mr DJAMAI Rachid	Prof	Examineur	Université d'Annaba
Mr CHEFROUR Azzedine	Prof	Examineur	Université Souk-Ahras
Mr SLIMANI ALI	Prof	Examineur	Université d'El Tarf
Mme LAZLI Amel	MCA	Examinatrice	Université d'El Tarf

Année universitaire: 2017 - 2018

REMERCIEMENTS

Avant tout, louange et gratitude à Dieu le tout puissant pour la volonté, la santé, la force et la patience qu'il m'a donnée dans l'accomplissement de ce travail et l'atteinte de cet objectif.

*Mes plus vifs remerciements vont tout d'abord à mon directeur de thèse **Mme. Salima BENNADJA** (Professeur de l'Université d'Annaba) qui m'a fait l'honneur et le plaisir de diriger ce travail. Elle a su me transmettre avec beaucoup de passion et de rigueur tout l'amour qu'elle porte à la science et à la recherche.*

*J'exprime toute ma gratitude à **Mr. TAHAR Ali** (Professeur de l'Université d'Annaba) pour avoir accepté de présider ce jury.*

*Je suis très honorée par la présence dans ce jury de **Mr DJAMAI Rachid** (Professeur de l'Université d'Annaba), de **Mr. SLIMANI ALI** (Maitre de conférence A à l'Université d'El Tarf) de **Mr. Azzedine CHEFROUR** (Professeur de l'Université de Souk-Ahras) et de **Mme. LAZZI Amel** (Maitre de conférence A à l'Université d'El Tarf) et je leur adresse mes sincères remerciements pour avoir accepté humblement de lire l'intégralité de ce manuscrit et de l'évaluer.*

Je remercie tout particulièrement, ma famille qui m'a toujours soutenue dans mes choix, et qui a été présente chaque fois que cela a été nécessaire. Merci à mon mari, Merci Maman, Merci Papa, Merci mes Sœurs et mes Frères. C'est avec vous, que j'ai partagé mes joies, mes peines, vous m'avez soutenue grâce à votre présence, à votre sourire, à votre amitié.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé

Afin de valoriser la flore locale algérienne, on a entrepris une étude sur trois genêts endémiques appartenant à la famille des Fabacées, qui sont *Genista numidica* ssp *numidica*, *Genista ferox* Poiret et *Genista tricuspidata* Desf. L'approche est botanique, écologique, analytique et biologique.

Les analyses pédologiques ont révélé des sols de texture limono-sableuse, relativement riches en sodium, potassium, magnésium échangeable et en fer mais pauvres en azote et en phosphore. À pH alcalin, avec une très faible salinité.

Les 03 espèces possèdent des traits morphologiques et anatomiques qui leur permettent de s'adapter au climat méditerranéen (faible surface foliaire, présence de cryptes, épiderme cutinisé, présence de poils épidermiques)

Le screening phytochimique a révélé surtout la présence de polyphénols, flavonoïdes et saponines. L'estimation quantitative des flavonoïdes, des phénols totaux et des tannins par la méthode colorimétrique a montré que ces plantes sont riches en ces composés.

L'activité antioxydante des extraits méthanoliques des trois genêts, évaluée par trois méthodes; le piégeage du radical libre DPPH, la réduction du fer et le piégeage du radical hydroxyle, a été modestement comparée aux antioxydants de référence.

La composition chimique des extraits méthanoliques des trois genêts, déterminée par CPG/SMa permis l'identification d'alcaloïdes et des acides gras.

L'étude du pouvoir antibactérien des principes actifs et extraits des trois genêts testés, a montré une efficacité très modeste vis-à-vis des souches bactériennes étudiées.

Mots clés: *Genista numidica* ssp *numidica*, *Genista ferox* Poiret, *Genista tricuspidata* Desf, Etude morpho-anatomique, Etude analytique, Activités biologiques.

Abstrat

In order to promote the local flora of Algeria, we have undertaken a study on three endemic genets belonging to the Fabaceae family, which are *Genista numidica* ssp numidica, *Genista ferox* Poiret and *Genista tricuspidata* Desf. The approach is botanical, ecological, analytical and biological.

Soil analyzes revealed soils of sandy-loamy texture, relatively rich in sodium, potassium, exchangeable magnesium and iron but poor in nitrogen and phosphorus. At alkaline pH, with very low salinity.

The 03 species have morphological and anatomical traits that allow them to adapt to the Mediterranean climate (low leaf area, presence of crypts, cutinized epidermis, presence of epidermal hairs).

Phytochemical screening revealed mainly the presence of polyphenols, flavonoids and saponins. Quantitative estimation of flavonoids, total phenols and tannins by the colorimetric method has shown that these plants are rich in these compounds.

The antioxidant activity of the methanolic extracts of the three brooms, evaluated by three methods; DPPH free radical scavenging, iron reduction and hydroxyl scavenging was modest compared to standard antioxidants.

The chemical composition of the methanolic extracts of the three brooms determined by GC / MS allowed the identification of alkaloids and fatty acids.

The study of the antibacterial power of the active principles and extracts of the three brooms tested, showed a very modest efficiency vis-à-vis the bacterial strains studied.

Keywords: *Genista numidica* ssp numidica, *Genista ferox* Poiret, *Genista tricuspidata* Desf, Morpho-anatomical study, Analytical study, Biological activities.

الملخص

من أجل تقييم النباتات المحلية في الجزائر ، أجرينا دراسة حول ثلاثة أنواع نباتية أصلية تنتمي إلى عائلة الفولية وهي *Genista numidica ssp numidica* ، و *Genista ferox* Poiret ، و *Genista tricuspidata* Desf. هذا النهج نباتي ، بيئي ، تحليلي وبيولوجي.

كشفت تحاليل نوعية التربة عن تربة رملية طينية ، غنية نسبيا بالصوديوم ، البوتاسيوم ، المغنيسيوم والحديد ولكنها فقيرة من النتروجين والفوسفور، في درجة حموضة قلوية، معنسبة ملوحة ضعيفة.

الأنواع الثلاثة لها سمات شكلية وتشريحية ، تسمح لها بالتأقلم مع مناخ البحر الأبيض المتوسط (صغرمساحة الورقة ، وجود أقيية ، بشرة ذات قشرة سميكة مغطاة بشعيرات).

الفحص الكيميائي للنباتات المدروسة أظهر عند هذه الأخيرة بشكل رئيسي عن وجود مادة البوليفينول ، الفلافونيدات والصابونيزات ، وقد أظهر التقدير الكمي لفلافونيدات ، الفينول الكلي والتانينات بالطريقة الطيفية اللونية ، أن هذه النباتات غنية بهذه المركبات.

النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات الميثانولية لهذه النباتات ، تم تقييمه بثلاث طرق ، اختبار الجذر الحر DPPH ، ارجاع الحديد ، وتثبيط جذر الهيدروكسيل (OH•) أعطى نتائج متواضعة مقارنة بمضادات الأكسدة القياسية.

سمح التحليل الكيميائي للمستخلصات الميثانولية للنباتات الثلاثة بواسطة GPC / SM ، بتحديد القلويدات والأحماض الدهنية.

وأظهرت دراسة القوة المضادة للبكتيريا للمواد الفعالة ، كفاءة متواضعة جدا مقابل سلالات بكتيرية.

الكلمات المفتاحية: *Genista numidica ssp numidica* ، *Genista ferox* Poiret ، *Genista tricuspidata* Desf ، دراسة مورفوتشريحية ، دراسة تحليلية ، أنشطة بيولوجية.

Sommaire

Liste des figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction..... 1

Aperçu bibliographique

Chapitre I: La famille des Fabacées et le genre *Genista*

1. Les Fabacees	3
1.1. Distribution.....	3
1.2. Classification systématique.....	3
1.3. Description botanique.....	4
1.3.1. Appareil Végétatif.....	4
1.3.2. Appareil reproducteur.....	5
1.4. Importance économique des fabacées.....	6
1.5. Plantes médicinales et utilisation thérapeutique.....	7
1.6. Toxicité de certaines fabacées.....	9
2. Le Genre Genista	10
2.1. Généralités.....	10
2.2. Distribution et aire géographique.....	10
3. Position systématique.....	11
2.4. Caractère chimique du genre Genista.....	11
2.5. Intérêt biologique du genre Genista.....	11
2.6. Description des trois genêts.....	12
2.6.1. <i>Genista numidica ssp numidica</i>	12
2.6.2. <i>Genista ferox</i> Poiret.....	12
2.6.3. <i>Genista tricuspidata</i> Desf.....	13
2.7. Aire de répartition des trois genêts.....	14
2.8. Caractères chimiques des espèces étudiées.....	14

Chapitre II : Les métabolites secondaires

1. Introduction.....	15
2. Définition et fonctions des métabolites secondaires.....	15
3. Classification des métabolites secondaires.....	16
3.1. Les composés phénoliques.....	16
3.1.1. Classification des composés phénoliques.....	16
3.1.1.1. Les acides phénoliques.....	16
3.1.1.2. Les coumarines.....	17
3.1.1.3. Les quinones.....	17
3.1.1.4. Les tannins.....	18
3.1.1.5. Les flavonoïdes.....	18
3.1.1.6. Les anthocyanes.....	19
3.2. Les alcaloïdes.....	19
3.3. Les isoprénoides (Terpénoides).....	19
4. Propriétés pharmacologiques des métabolites secondaires.....	20

Chapitre III : Evaluation de l'activité antioxydante, anti-hémolytique et anti-bactérienne

1- Activité antioxydante.....	21
1.1 Introduction.....	21
1.2. Quelques méthodes de piégeage des radicaux libres.....	22
1.2.1. Piégeage du radical superoxyde (O_2^-).....	22
1.2.2. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 scavenging activity)	23
1.2.3. Activité antioxydante par la méthode de décoloration du bêta-carotène (β -carotènebleaching method).....	23
2- Activité anti-hémolytique.....	24
2.1-Les globules rouges.....	24
2.2-Définition d'hémolyse.....	24
2.3-Les signes biologiques de l'hémolyse.....	25
3- Activité antibactérienne.....	25
3.1. Introduction.....	25
3.2. Principales bactéries en cause dans différents syndromes cliniques.....	25

CHAPITRE IV : Matériels et méthodes

1. Description de la zone d'étude	27
1.1. Présentation de la région d'Annaba.....	27
❖ Situation géographique et cadre administratif.....	28
❖ Relief.....	28
❖ Hydrographie.....	28
❖ Géologie, géomorphologie et pédologie.....	30
❖ Climatologie.....	33
1.2. Présentation de la région de Tipaza.....	33
❖ Situation géographique et cadre administratif.....	34
❖ Relief.....	35
❖ Hydrographie.....	35
❖ Climatologie.....	37
1.3. Sites de récolte des plantes et des sols.....	39
2. Exigences pédologiques	39
2.1. Détermination de la granulométrie.....	39
2.2. Détermination du pH eau et pH KCl.....	40
2.3. Détermination de la conductivité électrique.....	41
2.4. Détermination de la porosité (P).....	41
2.5. Mesure de la matière organique et la teneur en carbone.....	41
2.6. Calcaire total (CaCO ₃).....	42
2.7. Dosage d'azote.....	43
2.8. Dosage de phosphore.....	43
2.9. Dosage de fer.....	43
2.10. Dosage des cations échangeables.....	44
3. Estimation de la qualité trophique du sol	45
3.1. La surface foliaire.....	45
3.2. Détermination de Leaf Dry Matter Content et Specific leaf area.....	46
4. Caractères morpho-anatomiques des trois genêts	46
4.1. Phénologie.....	46
4.2. Morphologie.....	46
4.3. Structure anatomique.....	47
5. Etude analytique	48

5.1. Détermination de la matière sèche, matière minérale et la teneur en eau.....	48
5.2. Analyse quantitative des éléments minéraux des plantes étudiées.....	49
5.3. Screening phytochimique.....	49
6. Etude thérapeutique.....	51
6.1. Extraction et calcul du rendement des principes actifs.....	51
6.2. Analyse quantitative des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tannins.....	52
❖ Dosage des phénols totaux.....	52
❖ Dosage des flavonoïdes.....	54
❖ Dosage des tannins.....	56
6.3. Activité antioxydante.....	57
❖ Piégeage du radical libre DPPH● (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).....	57
❖ Réduction du fer : FRAP (<i>Ferric reducing antioxidant power</i>).....	59
❖ Piégeage du radical hydroxyle.....	60
6.4. Recherche de l'activité anti-hémolytique.....	61
6.5. Etude de la composition chimique des extraits méthanolique et dichlorométhane par GC-SM.....	62
6.6. Activité antibactérienne.....	63

CHAPITRE V : Résultats et discussion

1. Etude pédologique des sols recueillis sous les trois genêts.....	65
2. Qualité trophique du sol.....	65
3. Caractères morfo-anatomiques des trois genêts.....	68
3.1. Caractères morphologiques.....	69
3.2. Phénologie des trois genêts.....	69
3.3. Caractères anatomiques des trois genêts.....	78
4. Etude analytique.....	89
5. Etude thérapeutique.....	93
Conclusion et perspectives.....	111
Références bibliographiques.....	114

Annexes

Liste des figures

Figure 01	Feuille composée des Fabacées. Evolutions et variations autour de la feuille imparipennée typique de la famille	05
Figure 02	Fleur des Fabacées	05
Figure 03	Fruit des Fabacées	06
Figure 04	Limite de la région de Annaba (D.P.A.T-S/D.A.T.,1990) (Echelle : 1/250 000 ème)	27
Figure 05	Carte géologique du massif de l'Edough et de Cap de Fer (Echelle 1/200.000) d'après Hilly (1962) tramée in Toubal (1986)	30
Figure 06	Carte Pluviométrique de l'extrême Nord-Est Algérien (1/50.000) (in Bouna 2006)	31
Figure 07	Diagramme pluviothermique de Gaussen (Annaba)(1985-2015)	33
Figure 08	Situation géographique de la wilaya de Tipaza	34
Figure 09	Diagramme pluviothermique de Gaussen (tipaza)(1985-2015)	37
Figure 10	Schéma illustratif de la méthode de dosage des polyphénols totaux.	54
Figure 11	Schéma illustratif de la méthode de dosage des flavonoïdes.	56
Figure 12	Schéma illustratif de la méthode de dosage des tannins	57
Figure 13	Teneur en polyphenols totau des 03 espèces (en mg/g)	94
Figure 14	Teneur en Flavonoides des 03 espèces (en mg/g)	95
Figure 15	Teneur en Tanins des 03 espèces (en mg/g)	95
Figure 16	Activité antiradicalaire de l'acide ascorbique (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais \pm SD)	97
Figure 17	Activité antiradicalaire de BHT (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais \pm SD)	97
Figure 18	Concentration d'inhibition IC50 des 03 espèces et des antioxytant référentiels	98
Figure 19	Pouvoir réducteur des extraits methanolique des fleurs, de vitamine C, d'acide Gallique et de BHT	99
Figure 20	Pouvoir réducteur des extraits methanolique des feuilles, de vitamine C, d'acide Gallique et de BHT	100
Figure 21	Concentration d'inhibition IC50 des 03 espèces et de l'acide ascorbique	100
Figure22	Evolution du taux d'hémolyse en présence de différentes concentrations des extraits methanolique des fleurs des 03 genêts	101
Figure23	Evolution du taux d'hémolyse en présence de différentes concentrations des extraits methanolique des feuilles des 03 genêts	102
Figure 24	Chromatogramme GC-SM d'analyse d'extraits méthanolique de <i>Genista numidica</i>	104
Figure 25	Chromatogramme GC-MS d'analyse des extraits méthanolique de <i>Genista ferox</i>	104

Figure 26	Chromatogramme GC-MS d'analyse des extraits méthanolique de <i>Genista tricuspidata</i>	106
Figure 27	Chromatogramme d'analyse GC-MS l'extrait dichloromethane de <i>Genista numidica</i>	107
Figure 28	Histogramme représentant les zones d'inhibition des 03 extraits sur la croissance bactérienne <i>Genista numidica</i>	108
Figure 29	Histogramme représentant les zones d'inhibition des 04 extraits sur la croissance bactérienne <i>Genista .ferox</i>	109
Figure 30	Histogramme représentant les zones d'inhibition des 03 extraits sur la croissance bactérienne <i>Genista tricuspidata</i>	110

Liste des Photos

Photo 01	Substrat de <i>Genista numidica ssp numidica</i>	37
Photo 02	Substrat de <i>Genista ferox</i> Poiret	38
Photo 03	Site de récolte de <i>Genista tricuspedata</i> Desf	38
Photo 04	Rameau florifère de <i>Genista numidica</i> en herbier	70
Photo 05	Inflorescence	70
Photo 06	Aspect côtelé de la tige de <i>G. numidica</i> vue sous binoculaire	71
Photo 07	Calice	71
Photo 08	Fleur, Feuille et Graine de <i>G. numidica</i>	71
Photo 09	Morphologie de la feuille de <i>G. numidica</i> (face supérieure) vue sous binoculaire	72
Photo 10	Morphologie de la feuille de <i>G. numidica</i> (face inférieure) vue sous binoculaire	72
Photo 11	Pollen tricolpé de <i>G. numidica</i>	72
Photo 12	Système racinaire pivotant de <i>G. numidica</i>	72
Photo 13	<i>G. ferox</i> en fleurs (Cap de garde)	73
Photo 14	Aspect sillonné de la tige de <i>G. ferox</i>	73
Photo 15	Rameau de <i>G. ferox</i>	74
Photo 16	Pièces florales de <i>G. ferox</i>	74
Photo 17	Fleur, Feuille et Graine de <i>G. ferox</i>	74
Photo 18	Morphologie de la feuille de <i>G. ferox</i> (face supérieure) vue sous binoculaire	75
Photo 19	Morphologie de la feuille de <i>G. ferox</i> (face inférieure) vue sous binoculaire	75
Photo 20	Inflorescence en grappe de <i>Genista ferox</i> vue sous binoculaire	75
Photo 21	Système racinaire d'un jeune plant de <i>Genista ferox</i>	75
Photo 22	Pollen tricolpé de <i>Genista ferox</i> (Vues polaire et équatoriale)	76
Photo 23	<i>Genista tricuspidata</i> Desf	76
Photo 24	Fleur, Feuille et Graine de <i>Genista tricuspidata</i> Desf	77
Photo 25	Morphologie de la feuille de <i>G. tricuspedata</i> (face supérieure) vue sous binoculaire	77
Photo 26	Morphologie de la feuille de <i>G. tricuspedata</i> (face inférieure) vue sous binoculaire	77
Photo 27	Coupe transversale de la tige, vue au microscope optique (GX10)	78
Photo 28	Détail des fibres celluloses vues sous microscope optique (Grx40)	79
Photo 29	Détail d'un crypte stomatifère et pilifère de <i>G. numidica</i> vu sous microscope optique (Grx40)	79
Photo 30	Pachyte chez la tige de <i>G. numidica</i> vu sous microscope optique (Grx40)	80
Photo 31	Coupe transversale de la feuille, vue au microscope optique (GX10)	81
Photo 32	Coupe transversale de la feuille vue au microscope optique (GX40)	81
Photo 33	Détail du stomate, vu au microscope optique GX40	81

Photo34	Détail du poil sécréteur glandulaire, vu au microscope optique (GX40)	82
Photo 35	Allure générale de la tige de <i>G. ferox</i> sous microscope optique (Gr x10)	82
Photo 36	Structure anatomique de la tige de <i>G. ferox</i> vue au microscope optique (Gr x 40)	83
Photo37	Coupe transversale de la feuille, vue au microscope optique GX10	83
Photo 38	Epiderme avec des poils sécréteurs glandulaires, vus au microscope optique GX40	84
Photo 39	Détail des poils tecteurs unicellulaires, vus au microscope optique (GX40)	84
Photo 40	Allure générale de la coupe transversale de la tige de <i>G. tricuspidata</i> vue au microscope optique (Gr x10)	85
Photo 41	Structure de la coupe transversale de la tige de <i>G. tricuspidata</i> vue au microscope optique (Gr x10)	85
Photo42	Détail du collenchyme angulaire, vu au microscope optique GX40	86
Photo 43	Coupe transversale de la feuille, vue au microscope optique GX10	87
Photo44	Stomate au niveau de l'épiderme inférieur vu au microscope optique (Gr x 40)	87
Photo45	Coupe transversale de la feuille, vue au microscope optique GX40.	88
Photo 46	Recherche des tannins	92
Photo 47	Recherche des anthocyanes	92
Photo 48	Recherche des saponines	92
Photo 49	Recherche des flavonoïdes	92
Photo 50	Recherche des alcaloïdes	92
Photo 51	Recherche des leuco-anthocyanes	92

Liste des tableaux

Tableau 01	Température moyennes mensuelles de la période (1895-2015) Annaba	31
Tableau 02	Humidité moyennes mensuelles de la période (1895-2015) Annaba	32
Tableau 03	Précipitation et températures moyenne mensuelle de la région d'Annaba (1985-2015)	32
Tableau 04	Température moyennes mensuelles de la période (1895-2015) Tipaza	35
Tableau 05	Humidité moyennes mensuelles de la période (1895-2015) Tipaza	36
Tableau 06	Précipitation et températures moyenne mensuelle (1985-2015) Tipaza	36
Tableau 07	Classification des sols selon leur pH (Gauchiers et Soltser, 1981)	40
Tableau 08	Echelle de la conductivité électrique des sols (U.S.S.L.S, 1954)	41
Tableau 09	Echelle d'interprétation du pourcentage de la porosité des sols d'après CADOT(2005)	41
Tableau 10	Classification des sols selon leur teneur en matière organique (Soltser, 1981)	42
Tableau 11	Classification des sols selon leur teneur en calcaire total (%)	43
Tableau 12	Signification des diamètres d'inhibition (Duraffourd, 1987)	64
Tableau13	Caractéristiques physico-chimiques des sols abritant les 03 genêts	65
Tableau 14	Surface foliaire des 03especes	68
Tableau 15	Détermination de la SLA et de la LDMC	69
Tableau 16	Teneur en eau et composition minérale des 03 genêts	89
Tableau 17	Screening phytochimique des 03 plantes	91
Tableau 18	Rendements d'extraction (%) des 03 plantes	93
Tableau 19	Valeurs des coefficients de corrélations "r ² "	103
Tableau 20	Composés identifiésdans l'extrait méthanoliques de <i>G.numidica</i> .	105
Tableau 21	Composés identifiésdans l'extrait méthanoliques de <i>G.ferox</i> .	106
Tableau 22	Composés identifiésdans l'extrait méthanoliques de <i>G.tricuspidata</i> .	107

Liste des abréviations

ABTS^{•+}: 2, 2'-azynobis-[3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid]

Abs : Absorbance

ATCC: American Type Culture Collection.

BHT : Butylhydroxytoluène

Ca²⁺:Calcium

CaCO₃: Carbonate de calcium

CG-SM : Chromatographie en phase gazeuse/Spectre de masse.

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

Cu:Cuivre

DMSO : diméthylsulfoxyde **DO**: Densité optique

DPPH: 2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl

EDTA:Éthylène Diamine Tétra-Acétique

Fe: Fer

Fe³⁺:Sulfate de fer

Fe²⁺: Fer ferreux

FeCl₃: Trichlorure de fer

Fe SO₄ : Sulfate ferreux

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

GF:*Genista ferox* Poiret

GN:*Genista numidica ssp numidica*

GT: *Genista tricuspedata* Desf

HCl : Acide chlorhydrique

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

IC₅₀: Concentration d'inhibition médiane

INRA: Institut National de la Recherche Agronomique

K⁺:Potassium

Kcl:Chlorure de potassium

Kpc + : *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase positive.

Kpc -: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase négative

LDMC : Leaf Dry Matter Content

mg GAE/g : Milligramme d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait

mg QE/g: Milligramme d'équivalent quercétine par gramme d'extrait.

mg CE/g : Milligramme d'équivalent catéchine par gramme d'extrait

Mg⁺⁺:Magnésium

MM: Matière minérale

mM:milimole

MS: Matière sèche

N:Azote

Na⁺:Sodium

P:Phosphore

NaCl: Chlorure de sodium

NaOH: Hydroxyde de sodium

NH₄: Ion ammonium

NH₄OH: Ammoniaque

NIST11:National Institute of Standards and Technology

nm: Nanomètre

O₂^{·-} : Le radical superoxyde

OH[·]: Radical hydroxyle

OMS:*Organisation mondiale de la santé*

P:Phosphore

PBS:phosphate buffered saline

ppm:partie par million

RO: Radical alcoxy

ROO: Radical peroxy

SF: Surface foliaire

SLA: Specific leaf area

T° : Température

μS: migrosiemens

U.S.S.L.S: United State Salinity Laboratory Staff

UV : Ultrat violet

Zn:Zinc

INTRODUCTION

Introduction

La flore algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% sont endémiques, reste très peu étudiée tant sur le plan écologique que sur le plan phytochimique. Notre étude porte un intérêt spécial à trois espèces papilionacées appartenant au genre *Genista*, il s'agit de *Genista numidica* ssp *numidica*, *Genista ferox* et *Genista tricuspidata*.

Le genre *Genista* fait l'objet de quelques études phytochimiques; ces travaux ont permis d'isoler des alcaloïdes de façon majoritaire (**Pistelliet al, 2001 ; Kirch, 1995**) ainsi que les composés phénoliques notamment les flavonoïdes et les isoflavonoïdes (**Bollandet al, 1998; Giachi et al, 2002**).

Des recherches effectuées sur *Genista ferox* ont permis d'isoler des flavones et des flavols telles que l'apigénine, la lutéoline et 7-O Glucoside apigénine (**Harbonne 1969**) et des isoflavones, Génistéine de phytol et B-sitosterol (**Mekkioun et al, 2012**).

Des travaux phytochimiques sur *Genista tricuspidata* ont permis d'isoler des flavones et des flavols tels que la quercétine (**Boumaza, 2006**), 3-O- β -glucoside isorhamnétine, 4'-5,7-trihydroxy-3',8-diméthoxy-3-O-glucosylflavone entre autres (**Boumaza, 2011**) en plus des isoflavones : Génistéine et isoprunétine (**Harbonne, 1969**).

Genista numidica Spach n'a fait l'objet que d'une étude sur son huile essentielle par **Lograda (2010)** mais notre sous espèce *Genista numidica* ssp *numidica* n'a fait l'objet d'aucune étude phytochimique.

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de la flore locale et notamment les endémiques d'entre elles. Pour cela notre travail sera subdivisé en deux grandes parties:

- Une première partie, bibliographique, Comportant trois chapitres dont:
 - Le premier sera consacré à une présentation botanique de la famille des légumineuses (fabacées) et le genre *Genista*.
 - Le deuxième sera réservé aux métabolites secondaires.
 - Le troisième chapitre portera sur quelques activités biologiques (antioxydante et antibactérienne).
- Une partie expérimentale qui portera sur:
 - La L'étude des prédispositions adaptatives des 03 genêts, du point de vue morphologique et anatomique en plus d'un criblage phytochimique.

- L'extraction et le dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins dans les feuilles et les fleurs des trois espèces.
- Préparation des extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs des trois genres et évaluation de leurs activités antioxydantes selon les méthodes de piégeage du radical libre DPPH, le piégeage de radical hydroxyle, la réduction du fer et leur analyse par CPG/SM.
- Recherche d'une activité antibactérienne de différents extraits des trois plantes vis-à-vis de quelques souches bactériennes. .
- Les résultats obtenus seront confrontés à la bibliographie disponible. Enfin une conclusion générale fera ressortir les résultats les plus importants.
- détermination des exigences pédologiques des trois taxons.

Aperçu
bibliographique

Chapitre I: La famille des Fabacées et le genre *Genista*

1. Les Fabacées:

La famille des Fabacées constitue la troisième famille des Angiospermes (de par le nombre de ses représentants). Elle doit son unité à son fruit, appelé gousse ou légume, d'où l'autre dénomination sous laquelle elle est plus connue: les légumineuses.

Les formes arborescentes de cette famille prédominent dans les pays chauds et les formes herbacées dans les régions tempérées (**Dupont et al, 2007**). Néanmoins, la prédilection des plantes de cette famille pour les habitats arides ou semi-arides est reliée à leur métabolisme dépendant de l'azote, qui est considéré comme une adaptation aux variations climatiques et imprévisibles de l'habitat. En effet, la fixation de l'azote *via* la symbiose légumineuses-*rhizobium* permet aux plantes de cette famille d'obtenir des taux élevés en azote ammoniacal au niveau de leurs racines en fonction de la demande de leur métabolisme (**Wojciechowski et al, 2004**). Cette famille est composée de variétés horticoles et beaucoup d'espèces sont récoltées dans un but alimentaire, tant pour l'alimentation humaine (haricot, pois, fève, soja) qu'animale (trèfle, luzerne, sainfoin), pour leur huile (arachide, soja), leurs fibres et leurs bois comme combustible, leur utilisation en médecine (spartéine extraite du genêt à balais, réglisse) ou en chimie (**Wojciechowski et al, 2004**). .

Les Fabacées constituent une des plus grandes familles des plantes à fleurs, avec plus de 730 genres et 19 400 espèces, réparties aussi bien en milieu tempéré que tropical (**Wojciechowski et al, 2004**).

1.1. Distribution

La famille est cosmopolite. Elle est particulièrement concentrée dans les régions subtropicales et tempérées chaudes, comme en Afrique du sud ou sur le pourtour méditerranéen. Les régions tropicales abritent essentiellement des espèces ligneuses, tandis que les régions tempérées regorgent d'espèces herbacées.

1.2. Classification systématique:

Trois sous-groupes sont généralement reconnus à l'intérieur des Fabacées : les Caesalpinioideae, les Mimosoideae et les Faboideae (= Papilionoideae). Les Faboideae sont cosmopolites, alors que les Mimosoideae et les Caesalpinioideae sont plutôt tropicales. Dans la plupart des classifications, ces groupes sont considérés

comme des sous familles, mais ils sont parfois traités en familles indépendantes, comme par exemple dans la classification de Cronquist. Le concept «Leguminosae » est lui utilisé soit à un niveau familial (chez Engler), soit à un niveau ordinal (chez Cronquist). Bien que le terme Fabaceae soit actuellement préféré dans la nouvelle classification systématique de l'Angiosperm Phylogeny Group (APG), le terme Leguminosae est encore couramment utilisé par certaines catégories de scientifiques (spécialistes des légumineuses). Ces deux termes sont considérés comme des synonymes par l'International Code of Botanical Nomenclature (ICBN) (**Judd et al, 2002;Spichiger et al, 2004**).

1.3Description botanique

1.3.1. Appareil Végétatif:

Les Fabacées sont des arbres, des arbustes ou des lianes ligneuses, caduques ou persistantes, ou encore des herbes annuelles, vivaces ou pluriannuelles. Quelques espèces tropicales sont épiphytes et d'autres, grimpantes, elles développent des tiges vrillées, tournant généralement dans le sens des aiguilles d'une montre, plus rarement dans le sens inverse (*Phaseolus, Wisteria*), ou des vrilles axillaires, ou encore des crochets. Quelque fois, les feuilles sont réduites, les fonctions photosynthétiques étant transférées aux tiges, ou modifiées en phyllodes (**Dewit,1963**).

Feuilles : elles sont généralement bien développées, généralement alternes mais parfois opposées à verticillées comme chez les Mirbelieae, spiralées ou distiques.

Pulvinées ou non, elles sont très majoritairement stipulées, les stipules étant intrapétiolaires, caduques ou persistantes, souvent libres, parfois conrescentes ou transformées en écailles, en épines ou développant des glandes(**Familia Lind,1963**).

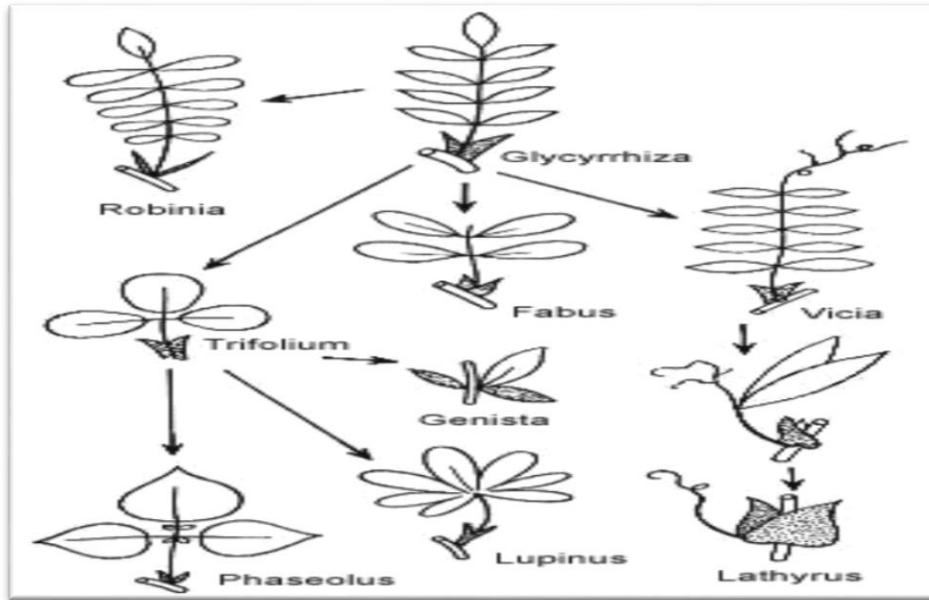


Figure 01: La feuille composée des Fabacées. Evolutions et variations autour de la feuille imparipennée typique de la famille.

1.3.2 Appareil reproducteur

Fleurs : elles sont solitaires ou rassemblées en panicules, en fascicules, en racèmes, en épis ou en têtes axillaires et terminales ou opposées aux feuilles comme chez certains membres des Bossiacea.

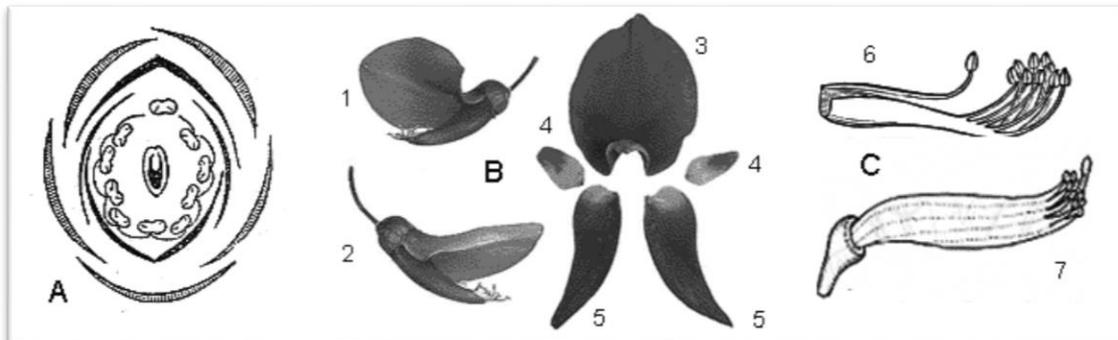


Figure 02: La fleur des Fabacées

A - Diagramme floral chez *Phaseolus vulgare*; **B**- La corolle chez *Erythrina cristagalli* : 1 et 2 vues des fleurs, 3 étendards, 4 ailes et 5 carènes; **C** - Androcée diadelphé 6 et Monadelphé 7.

Fruit : est un légume charnu ou non, déhiscent ou plus rarement indéhiscent, parfois lomentacées. La déhiscence est double: ventrale, le long de la ligne de suture du carpelle, et dorsale, au niveau de la nervure principale de la feuille carpellaire.

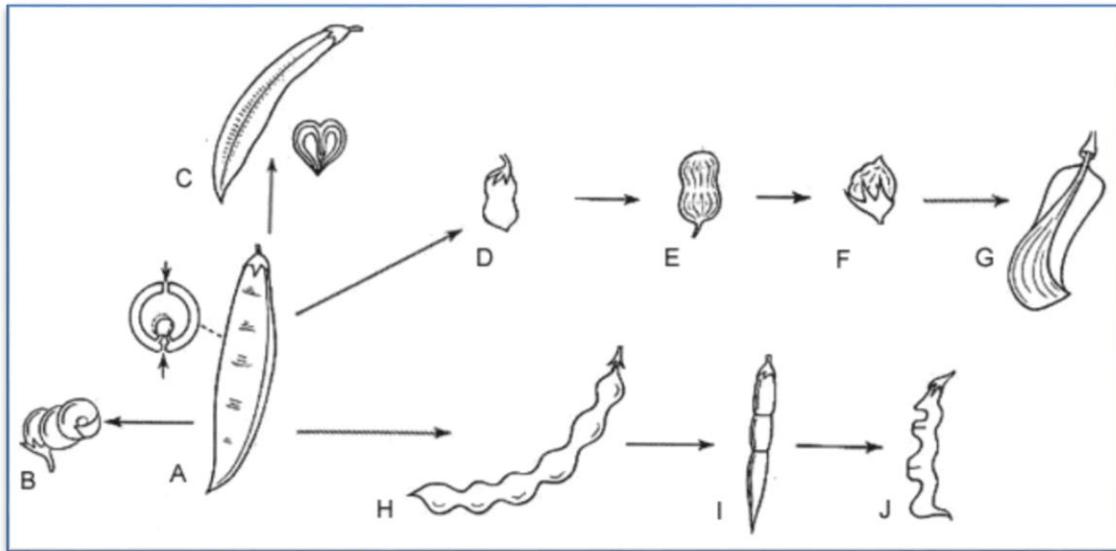


Figure 03: Le fruit des Fabacées

- A- Gousse typique des Fabaceae chez *Phaseolus*
- B - Gousse spiralée chez *Medicago sativa*
- C - Gousse à intraflexion chez *Astragalus*
- D - Gousse bisperme chez *Lens culinaris*
- E - Gousse pauciséminée devenue indéhiscente chez *Arachis hypogea*
- F - Gousse uniséminée et indéhiscente de type akenoïde chez *Lathyrus*
- G - Gousse monosperme, indéhiscente et ailée de type samaroïde chez *Toluiфера*
- H - Gousse lomentacée chez *Sophora japonica*
- I - Gousse articulée chez *Coronilla*
- J - Gousse articulée chez *Hippocrepis*

1.4. Importance économique des Fabacées:

La vaste famille des fabacées regroupe de nombreuses plantes utiles recevant des applications industrielles, alimentaires ou encore ornementales (**Debelmas et Delaveau, 1983**). L'intérêt agronomique des fabacées provient en premier lieu de leur aptitude à s'associer à des bactéries du sol (*Rhizobiacées*), spécialement la bactérie « *Rhizobium leguminosafum* », pour former des organes symbiotiques racinaires « nodules » au sein desquels ces bactéries transforment l'azote atmosphérique en une forme assimilable par la plante, grâce à quoi, les fabacées peuvent produire en

abondance des protéines végétales même en l'absence de fertilization azotée. Pour cela, elles sont le Pois (*Pisum*), la Féverole (*Faba*), le Haricot dites plantes améliorantes (Mylona et al, 1995; Echevin, 1964).

L'intérêt alimentaire découle du fait que les fabacées constituent une source très importante de protéines et lipides et rentrent dans l'alimentation humaine et animale (Guignard, 1994; Etienne et al, 2001).

- Protéagineux tels que (*Phoscolus*), le Pois chiche (*Cicer*) et les Lentilles (*Ervum*).
- Oléo protéagineux comme le Soja (*Soja*) et l'Arachide (*Arachis*).
- Fourrages tels que les Luzernes (*Medicago*), le Sainfoin (*Onobrychis*) et le Trèfle (*Trifolium*).

L'intérêt industriel résulte du fait que beaucoup d'espèces de cette famille fournissent des produits industriels tels que le Soja qui est utilisé à grande échelle dans l'élevage industriel, les *Derris* et les *Lonchocarpus* qui donnent les roténoïdes insecticides (Guignard, 1994). On peut citer comme exemple les *Derris*, dont l'espèce *Derris elliptica* Benth est utilisée contre les parasites des animaux domestiques, des habitations et des végétaux (Bézanger et al, 1986). D'autres espèces produisent des substances colorantes, et d'autres sont utilisées en parfumerie comme *Pterocarpus santalinus* (Arnone et al, 1977). Certaines espèces sont ornementales telles que le Robinier faux Acacia, Cytise, Glycine,... etc (Guignard, 2004).

L'intérêt pharmaceutique des fabacées est à son tour très important vu le nombre élevé d'espèces figurant dans les pharmacopées et donnant de nombreux produits utilisables en thérapeutique (Bézanger et al, 1986; Bruneton, 1993).

1.5. Plantes médicinales et utilisation thérapeutique:

Beaucoup d'espèces de Fabacées ont des propriétés thérapeutiques et sont utilisées en médecine traditionnelle. Dans ce qui suit, nous allons citer quelques exemples d'espèces de très grande importance ayant des propriétés médicinales (Haeib et al, 1999; Mahmoudi, 1980).

**Alexa wachenheimi* Benoist (Fabacée): l'écorce de cet arbre est utilisée en lavage externe contre la fièvre, elle est également employée par les amérindiens (du Nord-Ouest) contre le paludisme et les morsures de *Bothrops* (serpent venimeux) (Grenand et al, 1987).

Andira coriacea* Pulle (Fabacée): plante utilisée en Guyane pour guérir les lésions buccales (Kraft et al, 1987**).

Diploptropis purpurea* Rich. (Fabacée): cet arbre, est fréquemment utilisé dans la construction des canoës, et possède par ailleurs des propriétés anti-fongiques (Cirad-forêtbet al, 1993; Miller et al, 2003**).

Eperua* sp. (Fabacée): les copeaux de ce genre de bois, utilisés comme litière, auraient un effet bénéfique contre le paludisme chez les singes et les écureuils en captivité (*Saimirisciureus*) (Sauvain, 1989**). L'espèce *E. falcate* Aubl est utilisée par les Alukus et les Créoles comme analgésique dentaire (décoction de l'écorce), tandis que la résine est employée par les Saramaka pour ses vertus cicatrisantes (l'effet antiseptique a été démontré *in vitro*) (**Delaveau et al, 1988**).

Hymenea courbaril* L. (Fabacée): En médecine traditionnelle créole, la décoction de l'écorce de tronc de cet arbre très commun possède une fonction dépurative et antipyrétique, additionnée de sucre elle peut remplacer le thé. On utilise également la résine pour traiter les plaies récentes. Chez les Wayãpi, les sécrétions résineuses fraîches ainsi que l'arille des fruits offre un remède contre la dysenterie. Les Palikur, quant à eux, se servent de la résine fraîche délayée dans de l'eau pour combattre le « vents » (douleurs abdominales) et les « maux de coeur ». L'écorce est préparée en décoction (avec du miel) contre les maux d'estomac (Grenand et al, 1987**). Le thé de courbaril est également utilisé contre la grippe, les courbatures et le paludisme (**Cirad-forêtbet al, 1993; Andelvan, 2000**).

Hymenolobium flavum* Kleinh (Fabacée): l'écorce de ce grand arbre est préparée en décoction à titre d'antiseptique local, Une diminution de la parasitémie chez les singes atteints de paludisme est également observée lors d'un usage de ce bois en litière (Cirad-forêtbet al, 1993; Sauvain, 1989**).

Inga alba* Willd. (Fabacée): cette espèce, comme de nombreuses autres espèces du même genre, produit une sève riche en tanin utilisée comme colorant, ainsi que des fruits comestibles. Les Wayãpi utilisent l'écorce râpée et pressée en usage externe contre les dermatoses buccales et les piqûres de fourmi chez l'enfant. De manière générale, on observe un usage fréquent de l'écorce contre les infections cutanées et pour ses vertus cicatrisantes (Grenand et al, 1987**).

Parkia nitida* Milk. (Fabacée): Les Tiriyo (de la famille liKarib) du Surinam utilisent le bois de cet arbre en décoction (une fois râpé), mais aussi en lavage externe pour soigner les fièvres (Cirad-forêtbet al, 1993**).

Pterocarpus rohrii* Vahl. (Fabacée): *P. rohrii* est une espèce utilisée en Guyane contre le paludisme (Bertani et al, 1988**).

Pseudoxandra cuspidata* Maas. (Fabaceae): Les indiens Wayãpi et Palikur utilisent le décocté d'écorce contre le paludisme (Bertani et al, 1988**).

Peltogyne* spp. (Fabaceae): Ce genre se compose d'espèces employées comme bois de construction (*P. venosa* (Vahl.) Benth). Placés en litière, les copeaux auraient un effet positif contre le paludisme observé chez des spécimens de singes écureuils en captivité (Cirad-forêtbet al, 1993**).

Wisteria floribunda* Willd. (Fabacée): cette plante ornementale d'origine asiatique (la glycine) n'a pas fait l'objet d'une sélection par enquête ethno pharmacologique, mais a été sélectionnée suivant l'hypothèse phytochimique de la présence d'isoflavones antipaludiques (Konoshima et al, 1988**).

**Zygia racemosa* Ducke (Fabacée): les espèces appartenant à ce genre sont utilisées par un grand nombre de populations indiennes d'Amérique du Sud (ex: *Z. latifolia* Fawc et Rendle). La décoction de l'écorce, en lavage externe, permet de lutter contre les douleurs corporelles et les fièvres.

1.6. Toxicité de certaines Fabacées:

Un nombre non négligeable de fabacées est toxique et il est important de noter que son ordre comporte plus de 16000 espèces dangereuses (**Bruneton, 2001**). Après avoir cité quelques espèces d'intérêt thérapeutique, il serait utile d'attirer l'attention sur un certain nombre d'espèces dangereuses. Les parties le plus souvent incriminées dans les empoisonnements sont les graines où sont accumulés les principes toxiques.

- *Physostigma venenosum* : (fève de Calabar), elle pousse spontanément en Afrique occidentale et elle est utilisée par les habitants locaux comme poison d'épreuve. Le principal principe actif de cette espèce est la physostigmine **1** ou ésérine isolée dès 1864. C'est un inhibiteur réversible des cholinestérases. Elle empêche la destruction de l'acétylcholine et se comporte comme un parasymphomimétique provoquant bradycardie, hypotension et autres effets comme vertiges, convulsions, paralysie respiratoire (**Pousset, 1992**). Cependant la physostigmine reste intéressante dans la myasthénie et dans les soins à donner aux malades empoisonnés par les organophosphates. Il a été reporté que la prise par voie orale ou intraveineuse de physostigmine redonnait la mémoire aux patients atteints de la maladie d'Alzheimer (**Takano et al, 1989**).

- *Tephrosia vogelii*: elle est utilisée comme poison de pêche (Les feuilles, les gousses et les graines sont grossièrement pilées et jetées dans les cours d'eau préalablement barrés, les poissons meurent et remontent à la surface). Et pour la désinfection des animaux domestiques et les habitations car elle possède des propriétés insecticide (**Marston et al, 1984**).
- Certaines espèces du genre *Coronilles*, sont toxiques à certains moments de leur développement. Spontanément, le bétail évite de les consommer à ces periods (**Deyson, 1979**).
- Le mélilot connu, pour ses propriétés thérapeutiques devient toxique à de très fortes doses, il provoque divers troubles et se montre émétique. Lorsque le mélilot moisit, la coumarine se transforme en dicoumarol, substance toxique utilisée pour tuer les rats et les souris par hémorragie interne (**Hostettmann 1997**).

2. Le Genre *Genista*:

2.1. Généralités:

Le genre *Genista* a été décrit pour la première fois par Linne en 1753, il appartient à la famille des légumineuses (fabales), sous-famille des papilionacées (fabacées) et à la tribu des génistées (**Maire 1987**). Parmi les 700 genres de la famille des fabacées, on trouve en Algérie environ 53 genre et 337 espèces (**Quezel et Santa 1963**). Le genre *Genista* comporte 23 espèces dont 11 sont endémiques à l'Algérie (**Maire 1987**). Ce genre constitue un matériel intéressant qui mérite d'être exploré afin de mettre en lumière tous ses avantages et ses potentialités. Il se distingue également par ses effectifs élevés d'espèces, sous espèces et des variétés endémiques et rares. Pour notre part, nous nous sommes intéressés dans ce travail au genre *Genista* qui montre une richesse en composés phénoliques, notamment les isoflavonoïdes connus pour leurs activités biologiques divers (**Gordon 1996; Dixon 2004**).

2.2. Distribution et aire géographique:

Le genre *Genista* est circumméditerranéen, il est constitué d'arbustes épineux et nonépineux, la plupart de ces espèces forment des maquis sclérophylles ou des matorrals avec 87 espèces (**Martins et al, 2005**). Le genre *Genista* est largement distribué dans le bassin méditerranéen, en Europe et en Afrique du nord (Libye, Tunisie, Algérie et Maroc). En Algérie, il est localise dans la région est, sud et au grand Sahara (**Quezel et Santa 1963**).

2.3. Classification APG III (2009)

Règne	<i>Plantae</i>
Clade	Angiospermes
Clade	Dicotylédones vraies
Clade	Rosidées
Clade	Fabidées
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Sous-famille	<i>Papilionoideae</i>
Tribu	<i>Genisteae</i>
Genre	<i>Genista</i>

2.4. Caractères chimiques du genre *Genista*:

Les travaux phytochimiques effectués sur ce genre ont permis essentiellement l'isolement des alcaloïdes (Pistelli et al, 2001; Van Rensen et al, 1994), et des flavonoïdes notamment les isoflavonoïdes (Pistelli et al 1998; Pistelli et al, 2000).

2.5. Intérêts biologiques du genre *Genista*:

Le peu de travaux réalisés dans ce domaine, ont pumettre en évidence quelques intérêts pharmacologiques dont on peut citer: Une étude faite par (Harionov 1988) a montré:

- que les extraits flavoniques des deux plantes médicinales, *G. tinctoria* et *G. sessilifolia* ne sont pas toxiques à des doses ≤ 2000 mg/Kg.
- Aucune action ostrogénique ni androgénique n'a pu être mis en évidence pour unedose de 100 mg/Kg.
- le mélange flavonique de *G. sessilifolia* a une forte action anabolique et Anti-inflammatoire alors que celui de *G. tinctoria* ne montre aucune action. Une autre étude réalisée par Korpachov et ses collaborateurs (1995) (Korpachov et al, 1995) sur la fonction de la thyroïde a pu montrer que l'extrait flavonique de l'espèce médicinale *G. tinctoria* provoque une augmentation de la thyroxine de 19 à 31% chez les rats sains pour une dose de 20 à 60 mg/Kg et garde un niveau normal chez les rats hypothyroïdiens.

2.6. Description des trois genêts :

2.6.1. *Genista numidica ssp numidica* Ann. Sc. Nat. Ser.3, 2, p.244 (1844); B. & T. Fl. Alg. P. 197, et Fl. Syn. p. 83 ; Batt. Contr. Fl. Atlant. (1919), p.24

C'est un arbrisseau ou un arbuste de 0,6-2,5 m de hauteur, dressé, buissonnant, vert, à rameaux cylindriques, dressés, pubescents-soyeux dans la jeunesse, puis glabrescents, feuillés puis nus. Les feuilles inférieures sont trifoliolées, les supérieures sont unifoliolées, toutes sub-sessiles. Les folioles de 5-13 mm de long, sont linéaires, lancéolées ou spatulées, entières, glabres sur la face supérieure et pubescentes soyeuses sur la face inférieure.

L'inflorescence est en grappe terminale de 5-30 flores, courte et dense. Les fleurs, de 10-11 mm de long, sont d'un jaune d'or, étalées ou étalées-dressées. Le calice est bilabié et persistant de 3-5 cm de long, plus ou moins densément villos-soyeux. La corolle est marcescente ; l'étendard de 8-9 mm de long et largement ovale de 5 mm de large et les ailes sont un peu plus courtes, de 8 mm de long, oblongues cultriformes et glabres ; la carène est de 10-11 mm de long, oblongue cultriforme, droite, dressée, villos-soyeuse et argentée sur le dos.

Les étamines sont concrescentes en gaine fermée. L'ovaire est sessile, 4-8 ovulé, lancéolé et villos. La gousse est villos-tomentueuse, rarement glabre, brune ou noirâtre. La graine est ovoïde-comprimée, lisse et luisante. Grappes denses et courtes (5-7 cm) son nom commun "Elchatba" et "Fraha".

2.6.2. *Genista ferox* Poiret: C'est un arbrisseau épineux de 1- 3 m. Feuilles unifoliolées, stipulées ou non. Graines non arillées. Calice presque glabre, caduc en entier ou en partie sur la gousse (**Quezel et Santa, 1963**), se coupant circulairement au-dessus de la base; celle-ci longue de 3-6 cm. Folioles ovales larges de 3-6 mm. Arbuste de 1-3 m, vert gai.

Vieux rameaux transformés en énormes épines très vulnérantes. Feuilles stipulées, à stipules transformées en petits aiguillons.

La fleur jaune présente un calice à 5 segments, les 2 supérieurs libres ou soudés, les 3 inférieurs formant une lèvre à 3 dents profondes; rarement calice campanulé à 5 dents subégales. Carène oblongue, droite ou presque, bigibbeuse latéralement.

Etendard étroit. 10 étamines monadelphes, en tube non fendu, 5 longues et 5 courtes. Stigmate oblique. Gousse déhiscente, variable. Son nom commun est "Guendoul" et "Taguendla". Cette espèce comporte plusieurs sous espèces qui sont :

- Ssp. *Typica var typica* (Maire) : T. Commun en Kroumirie_ Alg Commun sur le littoral constantinois et algérois jusqu'à Alger.

- *Var. salditana* : Cap de Garde (Batt) ; Bougie (Pomel), Dellys et Azzeffoun(Batt).

2.6.3. *Genista tricuspidata* Desf : M.C. 789, 993, 1797, 1993, 2422, 3449 ; J. et M. Cat. Maroc, p. 351, 1026. Desf , Fl. Atlant., 2, p. 138, et tab.183 (1799) ; B. et T. Fl.Alg. p. 199, et Fl. Syn. p. 84 ; B. et B. Cat. Tun. p. 100

Ce sont des arbrisseaux épineux, buissonnants et très rameux de 0,3-1,2 m de hauteur. Les rameaux florifères verts sont plus ou moins allongés et effilés, feuillés, grêles pubescents puis glabres. Les épines trifurquées ou simples, robustes, divariquées vertes de 1-4,5 cm de long. Les feuilles sont toutes unifoliolées, vertes et sub-sessiles, les folioles sont lancéolées entières et aiguës vêtus sur les deux faces de poils apprîmés de 7-15 mm de long.

L'inflorescence est en grappes terminales multiflores de 1,5-25 cm de long, l'axe de la grappe est inerme et non prolongé en rameau feuillé, plus ou moins poilu.

Les fleurs sont d'un jaune d'or verdissant souvent par dessiccation. Le calice est bilabié, glabre et jaune verdâtre de 4,5-6 mm de long. L'étendard est glabre à peu pubescent sur le dos, ovale ou ovale-oblong, aigu et un peu émarginé au sommet de 8-10 mm de long. Les ailes sont oblongues-cultriformes, obtuses et égalant à peu près l'étendard. La carène dépassant beaucoup les ailes et l'étendard, elle est oblongue, obtuse et étroite de 10-13 mm de long. Son nom commun "Guendoul" et "Chebrak" espèces poly-morphe:

- *Ssp eutricuspidata* (Maire) : Mont zaghouan, Mont Ghorra, commun dans le tell constantinois et algérois.
- *Ssp.Duriaei* (Spach) Batt : Rare dans le tell algérois, commun dans le tell oranais.

2.7. Aire de répartition des trois genêts:

2.7.1. *Genista numidica ssp numidica*, est une plante endémique au Nord- Est algérien. Elle fait partie de l'association à chêne-liège ; on la rencontre dans les forêts claires, broussailles, les roches des plaines, dans les collines et les basses montagnes dans les régions bien arrosées et semi arides.

L'espèce existe en formation quasi-monospécifique sur les pentes de basse et moyenne altitude, que ce soit sur le versant nord ou sur le versant Sud ; elle peut aller jusqu'à 400 m d'altitude (Toubal, 1998). Elle est répartie sur les collines du littoral

.depuis le Cap Aokas dans la région de Bejaia jusqu'à Bône (Annaba), (**Maire, 1987**). Elle a été localisée dans l'Edough (Cap de Garde, Seraidi, Cap de Fer, Bellelieta, O.El-Aneb, Bou Khanta...) (**Toubal, et al, 2011**).

2.7.2. *Genista ferox* Poiret est une endémique de l'Algérie, du Maroc et de la Tunisie ; on la rencontre sur les falaises maritimes, les forêts claires et broussailles des littorales et sublittorales, plus rarement de l'intérieur, jusque dans les basses montagnes, dans les régions bien arrosées et semi arides et arides. Elle fait partie de l'association à chêne-liège.

2.7.3. *Genista tricuspida* Desf est endémique de l'Algérie, du Maroc et de la Tunisie; on la rencontre dans les forêts et broussailles des plaines et des basses et moyennes montagnes ; dans les régions bien arrosées et semi arides. Elle fait partie de la végétation des pelouses à thérophytes et les forêts de chênes sempervirents (subéraies).

2.8. Caractères chimiques des espèces étudiées:

D'après les recherches bibliographiques effectuées sur *Genista ferox* ; les travaux phytochimiques ont permis d'isoler des flavones et des flavols telque le Apigénine, lutéoline et 7-O Glucoside apigénine (**Harbonne 1969**) et des isoflavones, Génistéine de phytol et B-sitosterol (**Mekkioun et al, 2012**).

Pour *Genista tricuspida* les travaux phytochimiques ont permis d'isoler des flavones et des flavols tel que la Quercétine (**Boumaza 2006**), 3-o-B-glucoside isorhamnétine, 4'-5,7-trihydroxy-3',8-diméthoxy-3-Oglucosylflavone (**Boumaza 2011**) plus des isoflavones Génistéine et isoprunétine (**Harbone 1969**), 7-methoxy-4-hydroxyflavane, 3- 28-dihydroxyolean-12-ene (erythrodiol) et de phytol (**Boumaza 2011**).

D'après les recherches bibliographiques ; *Genista numidica* Spach n'a fait l'objet d'aucune étude phytochimique ; seul **Lograda (2009)** a étudié son huile essentielle, mais la variété *Genista numidica* ssp numidica n'a fait l'objet d'aucune étude phytochimique à notre connaissance.

Chapitre II: Les métabolites secondaires

1. Introduction:

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de principes actifs les plus divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante: la plante doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit: prédateurs, microorganismes pathogènes, etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre: les métabolites secondaires (**Kansole, 2009**).

2. Définition et fonctions des métabolites secondaires:

Chez les plantes, il existe un métabolisme secondaire, c'est une exclusivité du monde végétal. Ces produits, à structure chimique souvent complexe, sont très dispersés et très différents selon les espèces (**Cuendet, 1999**).

Le métabolisme secondaire, désignant un métabolisme dont la distribution taxonomique serait restreinte et dont la contribution au fonctionnement cellulaire ou au développement des plantes serait insignifiante (**Gravot, 2008**).

Les métabolites secondaires ne sont pas vitaux pour l'organisme mais jouent nécessairement un rôle important de part la machinerie enzymatique complexe nécessaire à leur production. Ils ont des rôles écologiques (allomone, phéromone...). Ces molécules furent sélectionnées au cours de l'évolution pour l'interaction qu'elles ont avec un récepteur d'un autre organisme. Elles représentent donc une grande source potentielle d'agents thérapeutiques (**Thomas, 2009**).

Ils pourraient jouer un rôle dans la défense contre les herbivores, et dans les relations entre les plantes et leur environnement: plusieurs composés phénoliques participent à la filtration des UV, les pigments floraux sont essentiels aux processus de pollinisation (**Gravot, 2008**).

3. Classification des métabolites secondaires:

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires, et les composés phénoliques (**Cuendet, 1999; Vermerris, 2006**). On distingue trois classes principales:

3.1. Les composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires. (**Lebham, 2005**). Ils constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué des substances dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante. Ils résultent bio génétiquement de deux voies synthétiques principales: la voie shikimate et acétate (**Lugasi *et al*, 2003**).

L'élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (**Bruneton, 1993**).

Les composés phénoliques sont des molécules hydrosolubles présentes dans tous les végétaux. Ils ont divers effets sur la physiologie végétale de part leurs actions antibactériennes et anti-fongiques. Ils participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits (raisins, agrumes, *etc...*). Certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence (**Adrian et Frangne, 1991; Milane, 2004**). Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Dans ce cas, ils agissent par effet d'écran et par effet antioxydant (**Lebham, 2005**).

3.1.1. Classification des composés phénoliques

3.1.1.1. Les acides phénoliques

Ils ne possèdent pas de squelette flavane. Ils sont solubles dans l'éther. Ils peuvent être associés à la lignine, présents sous forme d'ester, ou bien localisés dans la partie de la feuille insoluble dans l'alcool (**Barboni, 2006 ; Bruneton, 1999**). On distingue :

- *Les dérivés de l'acide benzoïque (constitués d'un squelette à sept carbones).
 - *Les dérivés d'esters hydroxycinnamiques (constitués d'une structure de type C6-C3).
- (**Barboni, 2006**).

◆ Les acides benzoïques

Les acides benzoïques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbones. Ils sont principalement représentés par les acides p-hydroxybenzoïques, protocatéchiques, vanilliques, galliques, syringiques, salicyliques, o-hydroxybenzoïques et gentisiques. Les acides protocatéchiques et galliques ont probablement une origine et des fonctions différentes dans la plante. Le premier est très largement répandu, le second

est plus rare, on l'encontre dans la nature surtout sous forme de dimère (**Ribereau, 1968**).

◆ Les acides cinnamiques

Ces acides possèdent une structure du type C6-C3. Les composés les plus fréquents sont l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide fertarique et l'acide cinnamique (**Ribereau, 1968**).

3.1.1.2. Les coumarines :

Les coumarines sont parmi les composés phénoliques les plus connus. Elles sont substituées en C-7 par un hydroxyle. La 7-hydroxycoumarine, connue sous le nom d'ombelliférone, est le précurseur des coumarines 6,7-di- et 6,7,8-trihydroxylées. Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Igor, 2002**).

3.1.1.3. Les quinones

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang.

3.1.1.4. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation (**Hemingway, 1992**).

Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (**Cavin, 1999**). Les tanins sont divisés en deux groupes :

- * Les tanins condensés, formés de proanthocyanidines (sous forme d'oligomères)
- * Les tanins hydrolysables, esters des acides phénols et de glucose.

◆ Les tanins condensés (flavan-3-ols)

Les tanins condensés, appelés aussi polyphénols ou proanthocyanidine, sont largement répandus dans l'alimentation humaine. Ces tanins sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique (**Guignard, 1996**).

◆ Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des esters de glucides ou d'acide phénols, ou de dérivés d'acides phénols ; la molécule glucidique est en général du glucose, mais dans certains cas des polysaccharides. Ce groupe de tanins est caractéristique des Dicotylédones. Ces tanins en raison de leurs nombreux groupements OH se dissolvent plus ou moins (en fonction de leur poids moléculaire) dans l'eau, en formant des solutions colloïdales (**Guignard, 1996**).

3.1.1.5. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ils font partie de la classe des polyphénols, principaux métabolites secondaires des plantes. Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, présentent le même élément structural de base (sauf exceptions : chalcones, aurones, isoflavones), à savoir quinze atomes de carbone constitués de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (noyau 2-phényl-1-benzopyrane) (**Bruneton, 1999**).

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune dérivant de la voie de l'acide shikimique. Le précurseur de ces molécules est le 4-hydroxycinnamate-coenzyme A synthétisé à partir de la phénylalanine (**Bruneton, 1999**).

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (**Medic Sanic et al, 2004**).

3.1.1.6. Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet), terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'œil nu. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplies d'eau.

On trouve également les anthocyanes dans les racines, tiges, feuilles et graines. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux

anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle (**Bassas et al, 2007**).

3.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés et faiblement basiques issus principalement des végétaux. Ils présentent des réactions communes de précipitation. Après extraction, ils sont détectés par des réactions générales de précipitation fondées sur leur capacité de se combiner avec des métaux. La caractérisation de la présence d'alcaloïde peut se faire par précipitation à l'aide de : Réactif silicotungstique : réactif de Bertrand, Réactif Tétraiodomercure de potassium : réactif de Valser-Mayer, Iodobismuthate de potassium : réactif de Dragendorff (**Kansole, 2009**).

3.3. Les isoprénoides (Terpénoides)

Les isoprénoides sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène. On parle également de composés terpéniques ou terpenoïdes, l'unité monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes.

De façon analogue à la famille des composés phénoliques, les isoprénoides regroupent à la fois des molécules de faibles poids moléculaires, volatiles et composants principaux d'huiles essentielles, et des molécules hautement polymérisées comme par exemple le caoutchouc. Cette voie de biosynthèse donne naissance à de très nombreux métabolites secondaires, mais participe également à la synthèse de composés comme le β -carotène, les chlorophylles, l'ubiquinone ou la plastoquinone, qu'on ne positionne généralement pas dans le métabolisme secondaire (**Bruneton, 1999 ; Harbone, 1998**).

4. Propriétés pharmacologiques des métabolites secondaires:

Les métabolites secondaires sont reconnus par leurs activités biologiques nombreuses qui comprennent des activités antibactériennes, anticancéreuses, antifongiques, analgésiques, anti-inflammatoires, diurétiques gastro-intestinales, antioxydantes.... (**Harborne, 1998 ; Bruneton, 1999**). Parmi les principaux métabolites secondaires, on peut citer les flavonoïdes qui sont des composés qui possèdent de fortes propriétés anti-oxydantes (**Rice-Evans, 1995**). Ils sont synthétisés par les plantes lors de l'invasion microbienne (**Dixon et al, 1983**), il est par conséquent logique, qu'ils agissent comme substances antimicrobiennes efficaces *in vitro* contre les microorganismes (**Cowan, 1999 ; Recio et al, 1989**).

Les flavonones et les flavonols représentent environ 80% des flavonoïdes connus. La principale activité attribuée à ces composés est une propriété vitaminique P veinoactive. Ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance. Souvent anti-inflammatoires, ils peuvent être antiallergiques, hépatoprotecteurs, antispasmodiques, diurétiques, antibactériens, antiviraux (**Bruneton, 1999**).

Les isoflavones sont des flavonoïdes dont la distribution est restreinte, ce sont des phytoalexines (substances produites par la plante en réponse à une infection par un agent pathogène ; champignon par exemple). Ce sont donc des produits de défense naturelle, de puissants oestrogènes, insecticides, antitumoraux, réducteurs des manifestations de la ménopause (bouffée de chaleur) (**Kansole, 2009**).

Les flavones et les anthocyanes augmentent la réponse à la lumière visible de forte intensité. Ils sont probablement synthétisés par les végétaux dans le but d'atténuer l'intensité de la lumière qui atteint les cellules photosynthétiques. Ce sont néanmoins les radiations UV qui induisent la synthèse des flavonoïdes (**Lois, 1994**).

Les anthocyanes ont des propriétés pharmacologiques très proches de celle des flavonoides vu leurs structures très semblables. L'effet antioxydant des anthocyanes est expliqué en partie par piégeage des radicaux libres et la chélation des métaux. Les anthocyanes inhibent les enzymes protéolytiques de dégradation du collagène (élastase, collagénase), ce qui explique leurs propriétés vasoprotectrice et anti-oedémateuse. Il s'agit, en outre, de composés veino-actifs doués d'une propriété vitaminique P (**Bruneton, 1999**).

Les acides phénols sont des dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Ils sont anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, antiradicalaires, cholagogues, hépatoprotecteurs, cholérétiques, immunostimulants (**Bruneton, 1999**).

Les coumarines connues pour leurs propriétés anti-oedémateuses, ont fait l'objet d'études cliniques chez les patients atteints de cancers avancés car elles sont rapidement métabolisées au niveau du foie en 7-hydroxycoumarine (**Fujioka et al, 1999**). Il n'est pas exclu que les propriétés anti inflammatoires et analgésiques attribuées au frêne soient dues aux coumarines (**Chen et al, 1995 ; Garcia-Agarez et al, 2000**). L'action commune des coumarines de différentes origines est celle contre les différents types de troubles gastriques (**Resch et al, 1998**) antivirale (**Yoshikawa et al, 1994**) antimicrobienne (**Kayser et Kolodziej, 1997**).

Les tanins ont la propriété de précipiter les protéines (fongiques ou virales) et les métaux lourds. Ils favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse, tonifient la peau dans le cas des rides (**Kansole, 2009**). Les effets thérapeutiques des alcaloïdes sont nombreux et peuvent être aussi des poisons mortels. Au niveau du système nerveux central ils agissent comme dépresseurs (morphine, scopolamine) ou comme stimulants (caféine, strychnine,...). Au niveau du système nerveux autonome comme sympathomimétiques (éphédrine), anticholinergiques (atropine). Certains jouent le rôle d'anesthésiques locaux (cocaïne), d'antipaludiques (quinine) (**Kansole, 2009**).

Les corps terpéniques (le terpène se trouve dans le menthol, le camphre etc....) eux même forment la base des stéroïdes qu'on retrouve dans de nombreuses vitamines. Ils sont connus par leurs activités cytostatiques, insecticides, anti-inflammatoires, molluscicides et analgésiques (**Bruneton, 1999**).

Chapitre III: Activitésantioxydante, anti-hémolytique et antibactérienne

1. Activité antioxydante:

1.1. Introduction:

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) ou les radicaux ABTS• (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), la méthode de décoloration du bêta-carotène (β -carotene bleaching method): ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH• (diphenyl-picrylhydrazyle).....*etc.*

La plupart des méthodes sont basées sur l'utilisation de systèmes générant des radicaux très variés. Ce sont principalement des méthodes dites "d'inhibition " dans lesquelles une espèce chimique capable de générer des radicaux libres est utilisée avec une substance capable de détecter ces espèces. L'échantillon dont on souhaite mesurer le pouvoir antioxydant est capable d'inhiber la génération des radicaux. Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation, il n'existe pas de méthode unique qui permettrait de refléter le profil antioxydant d'un échantillon. C'est pourquoi, on effectue différents tests de mesure de pouvoir antioxydant (**Belkheiri, 2010**).

Les antioxydants peuvent réagir à différentes étapes du procédé d'oxydation et ils peuvent avoir plus d'un mécanisme d'action, ce qui ne facilite pas leur classification (**Frankel et Meyer, 2000**). Selon **Huang et al, (2005)**, les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante *invitro* peuvent être divisées en deux grandes catégories suivant les réactions mises en jeu : Les tests basés sur le transfert d'un atome d'hydrogène (HAT, Hydrogen Atom Transfer), dans lequel l'antioxydant et le substrat sont en compétition pour les radicaux peroxydes ROO● :



Les tests basés sur le transfert d'un électron (SET, Single Electron Transfer), dans le cadre desquels on mesure la capacité d'un antioxydant à réduire un oxydant, qui change de couleur quand il est réduit :



Il existe de nombreuses méthodes de mesure de l'activité antioxydante (**Diouf et al, 2006**).

1. 2. Quelques Méthodes de piégeage des radicaux libres :

1.2.1. Piégeage du radical superoxyde (O₂⁻):

Cet essai évalue la capacité d'un produit à capturer un radical libre, l'anion superoxyde O₂⁻. Ce radical est généré *in vitro* par le système hypoxanthine/xanthine oxydase. Dans cette méthode, le radical réduit le NBT²⁺ (Nitro-Blue Tétrazolium) de couleur jaune, en bleu de formazan de couleur pourpre qui absorbe à 560 nm.

Ainsi un composé anti-oxydant capable de capturer l'anion superoxyde empêchera la formation du bleu de formazan et la solution restera jaune. Les absorbances obtenues permettent de calculer un pourcentage d'inhibition de la réduction du NBT²⁺ par rapport à un témoin constitué du milieu réactionnel dépourvu de composé anti-oxydant. On peut ensuite tracer une courbe représentant le logarithme du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en composé testé, et déterminer la CI₅₀ (concentration inhibant 50% de l'activité) du composé (**Parejo et al, 2002**).

1.2.2. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ scavenging activity):

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV. Comme la concentration de H₂O₂ diminue par les composés piègeurs la valeur d'absorbance de ce dernier à 230nm diminue également. Néanmoins il est tout à fait normal que les échantillons absorbent également à cette longueur d'onde, exigeant ainsi l'exécution d'une mesure blanche (**Malgalhaes et al, 2008**).

1.2.3. Activité antioxydante par la méthode de décoloration du bêta-carotène (β -carotene bleaching method):

Cette technique de spectrophotométrie dans l'ultraviolet a initialement été développée par **Marco (1968)**, puis légèrement modifiée par **Miller (1971)**. Elle consiste à mesurer à 470 nm, la décoloration du β -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. La dispersion de l'acide linoléique et du β -carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50 °C) de manière non spécifique. L'addition d'antioxydants purs (**Von Gadow et al, 1997**) ou sous forme d'extraits végétaux (**Moure et al, 2000 ; Koleva et al, 2001**) induit un retard de la cinétique de décoloration du β -carotène. Cette méthode est sensible, rapide et simple s'agissant d'une mesure spectrophotométrique dans le visible. Elle présente également l'avantage de pouvoir être couplée à la chromatographie sur couche mince (**Pratt et Miller, 1984**). Après séparation chromatographique, un mélange de β -carotène et d'acide linoléique est pulvérisé sur la plaque, celle-ci étant alors exposée plusieurs heures à la lumière du jour ou aux UV jusqu'à décoloration du fond jaune. Les bandes où la couleur jaune persiste, indiquent la présence de substances antioxydantes.

2. Activité anti-hémolytique

2.1-Les globules rouges

Les érythrocytes sont des cellules matures ayant une forme biconcave avec un diamètre variant de 6.8 à 7.5 μ m. La durée de vie moyenne des hématies est de 120 jours (Figure 6). La forme discoïde du GR favorise l'ancrage du cytosquelette, l'organisation des lipides et les échanges avec le milieu externe. Dans ce type de cellules simplifiées (anucléées) la membrane est le seul composant structural, mais malgré cela son interaction avec le cytosquelette est complexe, (**Mohandas et Gallagher, 2008**).

La membrane plasmique des globules rouges est composée principalement (en poids) de 52% de protéines, 40% de lipides et 8% de glucides. Les lipides

membranaires comportent : les phospholipides (63%), les cholestérols non estérifiés (25%) et les glycosphingolipides qui forment une double couche où les groupements polaires sont orientés vers l'extérieur tandis que les groupements apolaires sont orientés vers l'intérieur (Figure 7), **(Dodge et al.,1963)**.

La cohésion des lipides et des protéines est due à des interactions non covalentes telles que les interactions des Van Der Waals, les liaisons hydrogène, les forces électrostatiques et les liaisons hydrophobes, **(Dodge et al, 1963)**.

La membrane érythrocytaire contient aussi des protéines membranaires qui jouent des rôles importants dans les échanges avec le milieu extérieur telles que les pompes d'ATPase Na^+/K^+ et Ca^{2+} , les protéines de transport des anions, de l'eau et du glucose. Elles jouent aussi un rôle dans la stabilité et l'ancrage des hématies avec le cytosquelette cellulaire grâce à : la protéine bande 3, la Glycophorine A et la Glycophorine C qui forment des interactions avec les protéines intrinsèques, **(Elgsaeter et al, 1986)**.

2.2-Définition d'hémolyse

L'hémolyse (hemo : sang, lyse : perturbation) c'est un phénomène physiologique irréversible due à une libération des composants intracellulaires des érythrocytes notamment l'hémoglobine, suite à une perturbation de la membrane cellulaire des globules rouges après une durée de vie de 120 jours qui est un laps de temps normal, **(Thomas, 2013)**. Cependant, dans certains cas l'hémolyse est exagérée, réduisant la durée de vie des hématies on parle alors d'une hyper hémolyse, **(Ucar, 2002)**.

2.3-Les signes biologiques de l'hémolyse

Généralement, l'hémolyse provoque une augmentation du taux d'hémoglobine, de la lactate déshydrogénase (LDH) et une diminution du taux d'haptoglobine et de l'hémoglobine glycosylé. L'hémoglobine libérée est dégradée en bilirubine, non conjuguée représentant 80% de la bilirubine totale, ou bien forme un complexe avec l'haptoglobine. Ce complexe est éliminé rapidement par le foie, ce qui entraîne des niveaux d'haptoglobine faibles, **(Marchand et al, 1980)**.

L'hémolyse est définie par une couleur rose-rouge détectable lorsque les taux plasmatiques d'hémoglobine dépassent la capacité de liaison à l'haptoglobine (0,3 g / L) et provoque une augmentation de fer dans les urines, **(Wiltink et al, 1972)**.

Cette hémolyse est la cause de pathophysiologies spécifiques telles que les maladies vasculaires aiguës et chroniques, l'inflammation, la thrombose et l'insuffisance rénale. Elle joue un rôle important dans la translocation de l'hémoglobine dans l'espace

extravasculaire, les réactions oxydatives, la libération de l'hémine dans la signalisation moléculaire (Dominik et al, 2013).

3 - Activité antibactérienne:

3.1.Introduction

Ces dernières années, il y a eu un grand intérêt pour la découverte de nouveaux agents antimicrobiens, dû à une augmentation alarmante du taux des infections causées par des bactéries qui résistent de plus en plus aux antibiotiques.

3.2. Principales bactéries en cause dans différents syndromes cliniques:

➤ Infections des voies respiratoires :

- Angine: Angine érythémateuse ou érythémato-pultacée: *Streptococcus pyogenes*; et l'angine à fausses membranes: *Corynebacterium diphtheriae*.
- Otite moyenne: *Streptococcus pneumoniae*; *Haemophilus influenzae*; *Moraxella catarrhalis*.
- Sinusite: *Streptococcus pneumoniae*; *Haemophilus influenzae*; *Moraxella catarrhalis*; plus rarement: *Streptococcus pyogenes* ou streptocoques on hémolytiques, Anaérobies de la flore endogène, *Traphylococcus aureus*, Bacilles à Gram négatif.

➤ Infection urinaire (communautaire)

- *Echerichia coli*.
- Urerite aigue: *Neisseria gonorrhoeae*; *Chlamydia trachomatis*.
- Intoxication alimentaire: *Salmonella non typhi*; *Staphylococcus aureus*; *Clostridium perfringens*.
- Diarrhée aigue: *Campylobacter*; *Shigella*; *Yersinia*; *Clostridium difficile*; *Vibrio cholerae*.

➤ Infections cutanées

- Folliculite, furoncle, anthrax : *Staphylococcus aureus* ;
- Impétigo : *Streptococcus pyogenes* ou *Staphylococcus aureus* ;
- Erysipèle : *Streptococcus pyogenes*
- Panaris : *Staphylococcus aureus* ;
- Syndrome de la peau ébouillantée : *Staphylococcus aureus* ;
- Syndrome de Ritter : *Staphylococcus aureus* ;

- Circonstances étiologiques particulières : *Pasteurella multocida*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Mycobacterium marinum*.

➤ **Infections nosocomiales**

- Entérobactéries (*Echerichia coli* et surtout autres espèces appartenant aux genres Proteus, Providencia, Morganella, Enterobacter, Klebsiella, Serratia, Citrobacter) ; *Staphylococcus aureus* ; *Staphylococcus epidermidis* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; Acinetobacter; *Burkholderia cepacia* ; *Stenotrophomonas maltophilia* ; *Legionellapneumophila* (pneumopathies).(Avril, et Carlet, 1998).

➤ **Infection des parties molles:**

- Cellulite : *Streptococcus pyogenes* ;
- Gangrène gazeuse avec myosite: *Clostridium perfringens*.

Matériels et méthodes

Chapitre IV: Matériels et méthodes

1- Description des zones d'étude

1. 1. Présentation de la région d'Annaba

❖ Situation géographique et administrative

La wilaya d'Annaba, située à l'Est de l'Algérie entre les latitudes 36°30N et 37°03N et les longitudes 07°20E et 08°40E, couvre une superficie de 1.411,98 km². Du point de vue administratif, elle rayonne sur douze communes et ce, par l'intermédiaire de deux points de jonction qui sont les daïra d'El-Hadjar et de Berrahal. Elle est limitée géographiquement par la mer Méditerranée au Nord, par la wilaya de Skikda à l'Ouest, par la wilaya d'El-Tarf à l'Est et par celle de Guelma au Sud (Figure 04).

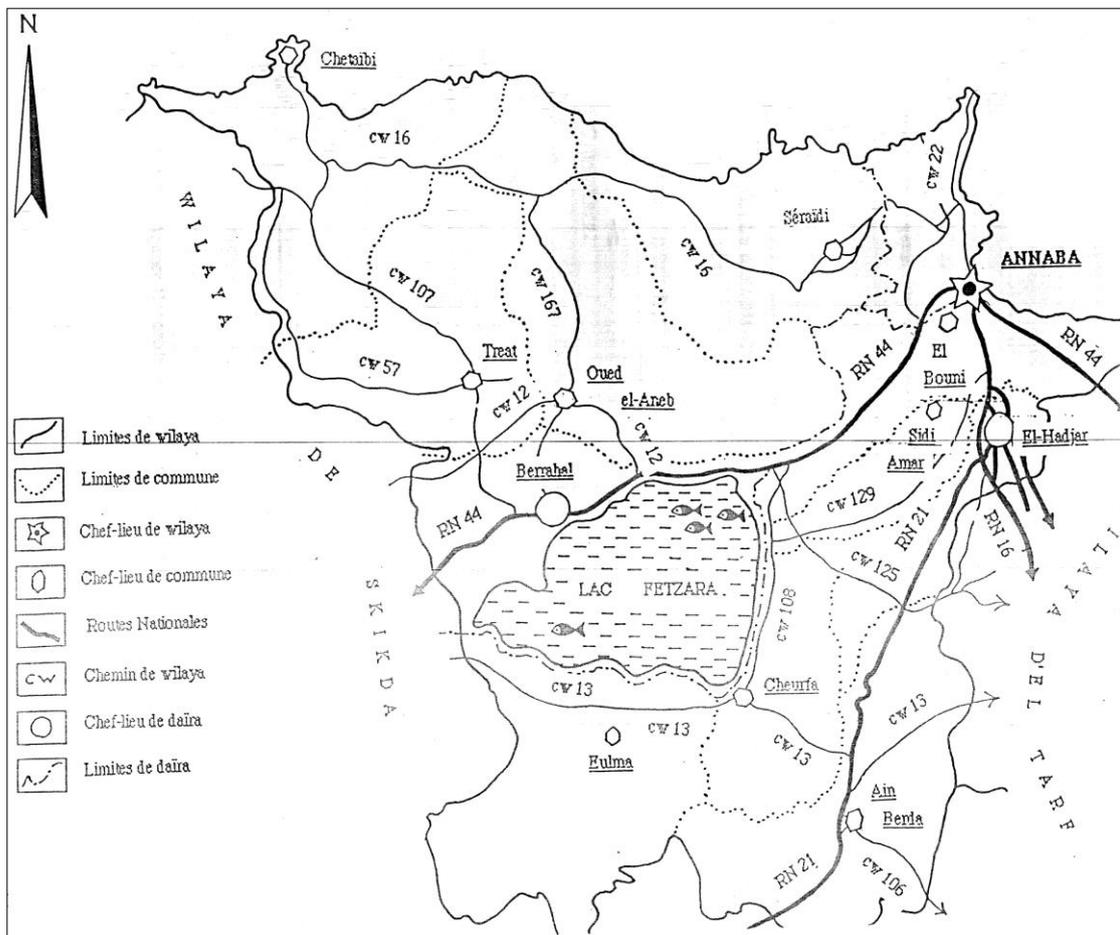


Figure 04: Limite de la région d'Annaba (D.P.A.T-S/D.A.T.,1990)
(Echelle : 1/250 000 ème)

❖ Relief

La topographie de la wilaya d'Annaba est caractérisée essentiellement par 02 types d'unités physiques :

- **La plaine** : (18,08% de la superficie totale de la wilaya) une large bande parallèle à la côte située dans la partie centrale de la wilaya et coupée en deux par le Lac Fetzara (120km²). Elle déborde à l'Ouest sur la wilaya de Skikda (plaine de Guerbès) et à l'Est celle d'El-Tarf (plaine de Bouteldja). L'altitude est de l'ordre de 12 à 15m aux alentours du lac Fetzara et de 02 à 04m à proximité du cordon dunaire.
- **La montagne** : Couvre 52,16% de la superficie totale de la wilaya. Au nord ; la plaine est bordée par le massif de l'Edough qui fait de la plaine de Annaba une plaine sublittoral, son point culminant est Kef-Sebâa Bouziziavec 1008m d'altitude (**Toubal,1986**). Au Sud, par le versant septentrional de la chaîne numidique (795m au Djebel Menchoura).

Le dernier secteur du relief est le cordon dunaire, rempart d'une trentaine de mètres d'altitude et orienté d'Ouest en l'Est ; il sépare la plaine d'Annaba-Ouest de la mer. A cela, il faut rajouter les collines et les piémonts qui représentent 25,82% de la superficie totale de la wilaya, tandis que 03,94% sont considérés comme étant non-différenciés encore.

❖ Hydrographie

Le réseau hydrographique est constitué au Nord (massif de l'Edough) par les Oueds Boudjenane et El-Aneb qui se déversent dans le golf de Guerbès.

La partie centrale de la wilaya de Annaba est drainée par l'Oued Erssoul et plus en aval par l'oued Meboudja, lequel canalise les eaux du lac Fetzara (étendue d'eau percée par un canal d'assainissement drainant 13.500ha) en période des hautes eaux, surtout par l'oued Seybouse (cours d'eau avoisinant 255km de long, prenant sa source à Medjaz Ammar dans la wilaya de Guelma) qui représente le deuxième appareil fluvial de l'Algérie.

❖ Géologie, géomorphologie et pédologies

Du point de vue géologique(Figure 05), on rencontre 03 principales catégories de formations de terrains cristallins dont le massif de l'Edough, constitué de :

- Terrain éruptifs et métamorphiques (granites, micachistes, etc...) ;
- Terrain sédimentaires de l'oligocène qui forme la chaîne numidique (principalement des grès et des argiles numidiennes) ;
- Terrains sédimentaires quaternaires constituant le remplissage de la plaine : alluvions, graviers, sables, etc .

Quant à l'aspect structural, la plaine de Annaba correspond à une zone de subsidence qui, au début du quaternaire formait un bras de mer (l'Edough étant massif insulaire) que bordent les anticlinaux de l'Edough et de la chaîne numidique.

- Le massif de l'Edough est peu pourvu (mis à part les secteurs de cipolins) en eaux souterraines (imperméabilités des formations et présences de pentes abruptes) ; la chaîne numidique est insuffisamment pourvue en eau (les sources qui émergent des grès sont peu abondantes et tarissent pendant la saison estivale)
- Le seul secteur important de ce point de vue, est la plaine (fosse de comblement) sur toute la plaine d'Annaba, la basse terrasse constitue des formations alluvionnaires qui emplissent les marais et la basse terrasse de l'oued Seybouse.

La région d'Annaba est caractérisée par la présence de différents types de sols

- Les sols podzoliques insaturés qui ont une vocation forestière à chêne (*Quercus suber*).
- Les sols dunaires qui se trouvent en bordure du littoral
- Les sols alluviaux qui sont les sols riches des plaines.
- Les solonetz et solontchaks qui sont des sols très humides et bourbeux (marécages) de mauvaise qualité (**Hilly, 1962**).

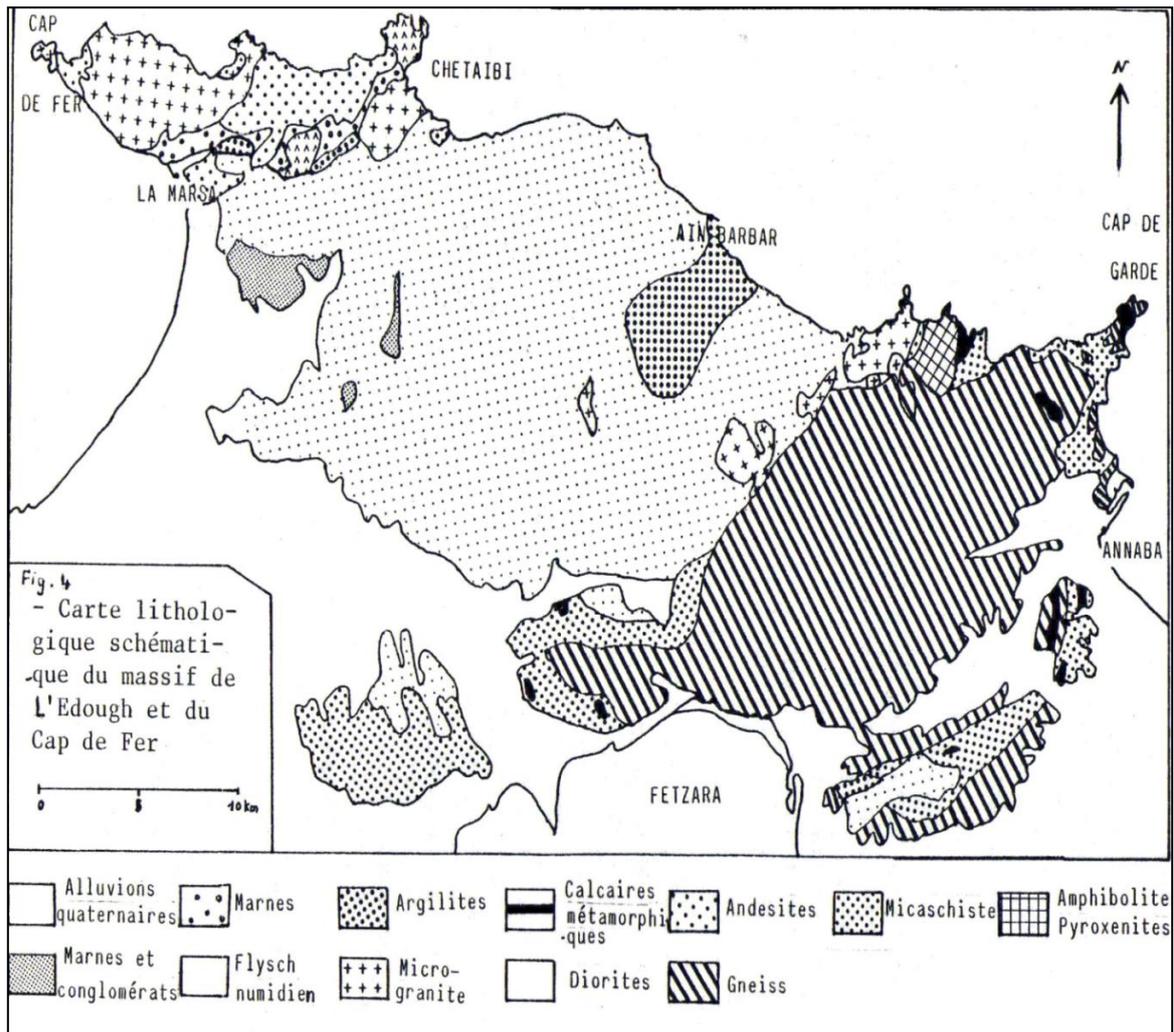


Figure 05: Carte géologique du massif de l'Edough et de Cap de Fer (Echelle 1/200.000) d'après Hilly (1962) tramée in Toubal (1986)

❖ **Climatologie:**

Le climat est de type méditerranéen, caractérisée par une saison pluvieuse allant en moyenne de Septembre à Mai et par un été sec et ensoleillé.

• **La Température**

Le régime thermique varie d'un point à l'autre en fonction de l'altitude, de l'éloignement de la mer et de la situation topographique de la station.

Tableau 01: Températures moyennes mensuelles de la période (1985-2015)

Mois	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUN	JUL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC	Moy
T_{max}(°C)	13.17	13.2	15.13	17.34	20.74	24.31	34.35	28	25.63	22.53	17.95	14.44	20.56
T_{min}(°C)	6.88	6.8	8.25	10.1	13.07	16.61	19.28	20.24	18.25	15.35	11.28	8.01	12.84

Le tableau (01) regroupe les moyennes M et m, respectivement moyenne annuelle des maxima du mois le plus chaud (M) qui est de 34°C et moyenne annuelle des minima du mois le plus froid (m) qui est le mois de février 6,8°C.

- **La pluviométrie**

La répartition de la pluviométrie est influencée par, l'éloignement de la mer ; la topographie et l'altitude ; la carte pluviométrique de Labord & ANRH (1993) (Figure 06) montre une diminution des précipitations en s'éloignant de la mer et une augmentation sur les reliefs ainsi la pluviosité augmente avec l'altitude : elle est plus importante sur les versants exposés aux vents du Nord (froids et humidifiant).

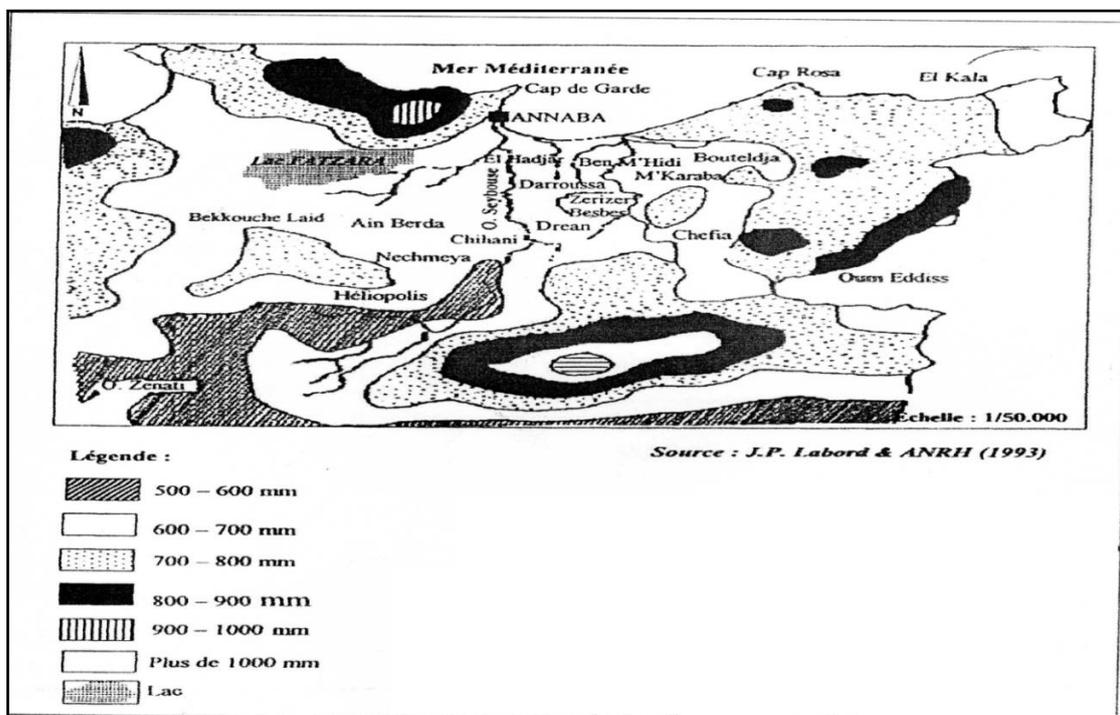


Figure 06 : Carte Pluviométrique de l'extrême Nord-Est Algérien (1/50.000) (Toubal 1986)

Il faut noter aussi que la neige fait, pendant une semaine, une courte apparition au sommet du massif de l'Edough, à partir de 800 m. Le brouillard constitue la part des précipitations occultes. La grêle s'observe presque exclusivement en hiver.

- **Humidité relative**

Concernant l'humidité relative relevée à la station d'Annaba (Tableau 02), le mois le plus humide est le mois de janvier avec 77,7%. Alors que le mois le moins humide coïncide avec le mois de juillet avec 70,58%.

Tableau 02: Humidité moyenne mensuelle de la période (1895-2015)

Mois	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUN	JUL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC	Moy
Humidité %	77.7	77.07	75.42	74.68	74.5	71.94	70.58	71.06	72.85	74.04	75.36	77.56	74.39

- **Le diagramme pluviométrique de Gaussen (1954):**

Il est construit à partir des courbes des moyennes mensuelles des températures et celles des précipitations, sachant que l'échelle de ces dernières est le double des températures ($P \geq 2T$).

Tableau 03 : Précipitation et température moyennes mensuelles de la région d'Annaba (1985-2015)

Mois	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUN	JUL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC
P(mm)	100.15	75.87	64.68	51.84	36.99	12.76	6.17	9.52	39.71	51.4	82.5	103.21
T (°c)	11.2	11.3	13.2	15.3	16.6	22.3	25.1	26	23.6	20.3	15.8	12.5

Le diagramme pluviométrique une fois établi, nous permet de définir :

- **La période sèche:** phase durant laquelle la courbe des précipitations se situe sous celle des températures ($P < 2T$).
- **Sa durée :** est délimitée par les points d'interaction des deux courbes.

- **Son intensité** : qui est proportionnelle à l'aire comprise entre les deux courbes.

Pour la station de Annaba la durée de la période sèche est de 04mois (Juin, Juillet, Août et Septembre).

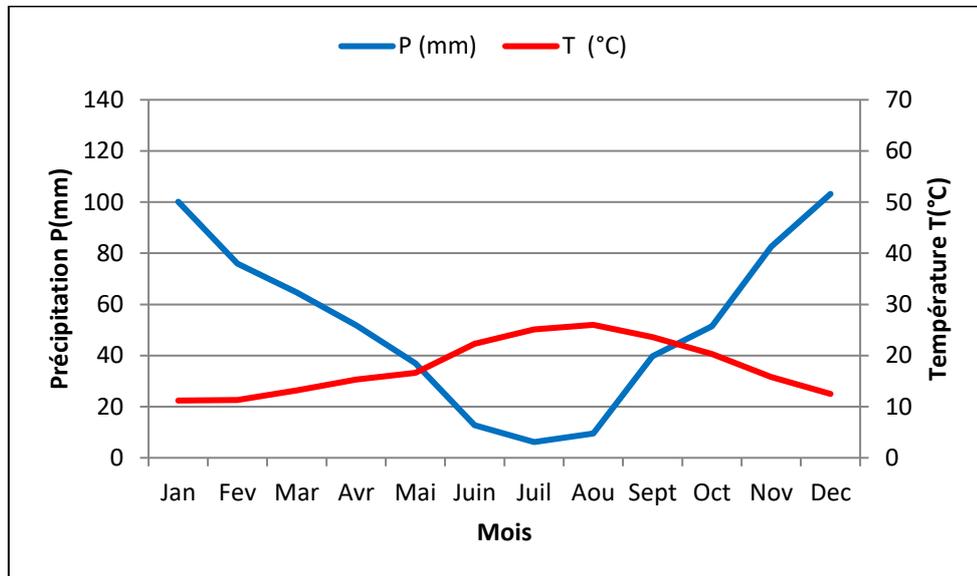


Figure 07 : Diagramme pluviométrique de Gaussen (Annaba) (1985-2015)

1.2. Présentation de la région de Tipaza:

❖ Situation géographique et administrative:

La wilaya de Tipazase situe au nord du tell central à une latitude de $36^{\circ} 58' 33''$ N et une longitude de $2^{\circ} 41' 667''$. Elle est limitée par la mer méditerranée au nord, la wilaya de Chlef à l'ouest, la wilaya de Ain Defla au sud ouest, la wilaya de Blida au sud et la wilaya d'Alger à l'Est(Figure 08).

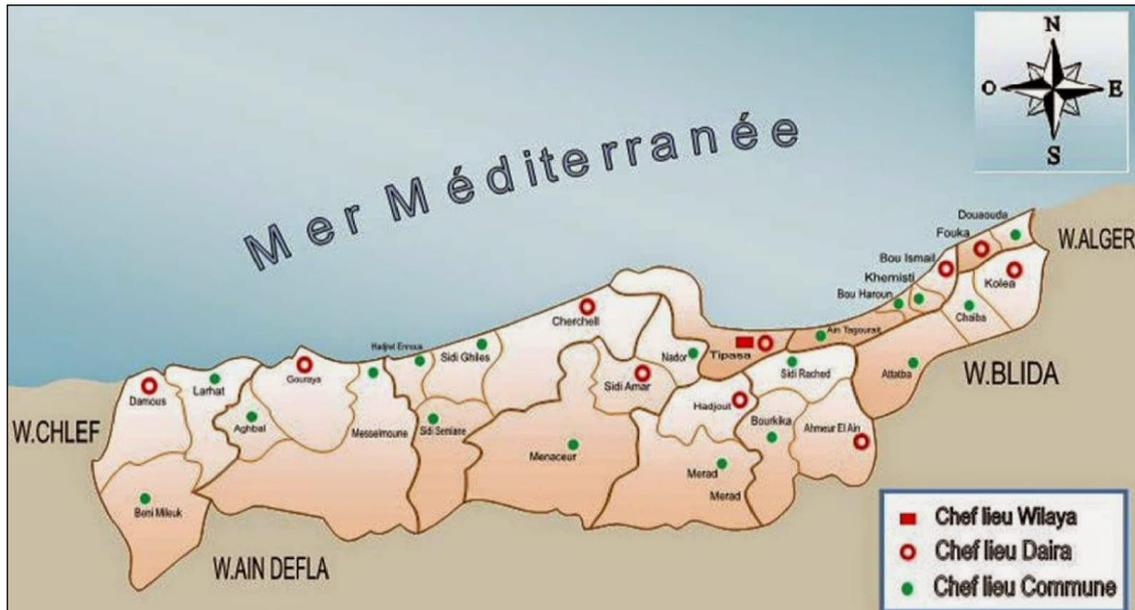


Figure 08: Situation géographique de la wilaya de Tipaza

❖ **Relief:**

Au Nord-Ouest de la wilaya, la chaîne de montagnes comprenant l'Atlas Blidéen laissant la place à deux importants ensembles: les Monts du Dahra et du Zaccar, et le Mont du Chenoua.

Au Nord Est, la Mitidja qui s'étend essentiellement sur la wilaya de Blida se trouve limitée au niveau de Tipaza par le bourrelet constitué par le sahel. Un cordon littoral présentant un rétrécissement et une élévation graduelle d'est en ouest jusqu'à déperdition par endroits à la ville de Tipaza et de Cherchell.

La wilaya de Tipaza en tant qu'entité géographique se compose de 2 grands ensembles naturels, homogènes :

* zone de montagne à l'Ouest, fortement boisée, peu peuplée pour une superficie de 122 100 ha soit 70% du territoire,

* zone de plaine à l'Est fortement exploitée par une agriculture intensive mais, contenant aussi les plus fortes concentrations de population ; d'une superficie de 48600 ha constituée de 3 sous ensembles : plaine, plateau et littoral (soit 30 % du territoire de la wilaya).

❖ Hydrographie:

La wilaya de Tipaza dispose d'un réseau hydraulique relativement important, d'Est en Ouest, nous rencontrons les cours d'eau suivants : Oued Mazafran, Oued El hachem, Oued Djer, Oued Damous.

❖ Climatologie:

Compte tenu de sa position sur le littoral algérien, la wilaya de Tipaza est sous climat méditerranéen avec des nuances littorale, intérieure et montagnard. On considère qu'elle est située dans un seul étage bioclimatique, le sub-humide subdivisé en 2 variantes : l'un caractérisé par un hiver doux et pluvieux, dans la partie Nord, le second par un hiver frais dans la partie Sud.

• Température:

La température varie entre 33°C pour les mois les plus chauds de l'été (Juillet, Août), et à 5,7°C pour les mois les plus froids (Décembre à Février), données de la station de Dar El Beida (Tableau 04).

Tableau 04: Températures moyennes mensuelles de la période (1985-2015)

Mois	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUN	JUL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC	Moy
T max (°C)	16.8	17	19.1	21.3	24.5	28.4	31.5	32.4	29.5	26.1	20.8	17.7	23.75
T min (°C)	5.5	5.6	7.2	8.82	12.5	16.2	19.2	20.5	17.9	14.5	9.97	6.88	12.06
T moy (°C)	11	11.3	13.31	15.42	18.72	22.6	25.53	26.43	23.7	20.41	15.58	12.4	18.03

• Pluviométrie:

Les pluies sont souvent irrégulières d'une année à l'autre et pour un même mois, elles se caractérisent par un gradient décroissant de l'Est (625 mm à Sidi Rached) à Ouest (510 mm à Sidi Ghiles), et d'un gradient croissant du littoral vers le Sud, où les stations des régions comme Menacer, Ahmeur el Ain situées aux limites de l'Atlas Blidéen enregistrent des pluies moyennes supérieures à 580 mm. Alors que la région de la plaine la moins arrosée demeure Hadjout, confrontée au Chenoua et le Mont

Zaccar qui forment un écran aux pluies, on n'enregistre que 436 mm. Ainsi, les précipitations moyennes (d'une série de 31 ans) enregistrée par la station de Dar El Beida font sortir une moyenne annuelle de 628 mm.

- **Humidité relative:**

Concernent l'humidité relative relevée à la station de Dar elbaida (Tableau 05), le mois le plus humide est le mois de Avril avec 78,35%. Alors que le mois le moins humide coïncide avec le mois de Août avec 66,88%.

Tableau 05: Humidités moyennes mensuelles de la période (1985-2015)

Mois	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUN	JUL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC	Moy
Humidité %	77.12	76.58	75.01	78.35	72.75	68	67.33	66.98	69.88	71.7	75.76	77.86	72.69

- **Le diagramme pluviothermique de Gaussen (1954):**

Il est nécessaire de caractériser la période sèche relative à la région, pour cela nous avons dressé le diagramme ombrothermique de Gaussen, en utilisant les températures moyennes mensuelles et les précipitations moyennes annuelles (Tableau 06).

Tableau 06 : Précipitation et températures moyenne mensuelle (1985-2015)

Mois	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUN	JUL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC
P(mm)	75.88	70.61	63.15	50.97	49.06	16.09	4.31	9.81	37.54	47.83	113.28	89.82
T moy (°C)	11	11.3	13.31	15.42	18.72	22.6	25.53	26.43	23.7	20.41	15.58	12.4

D'après ce diagramme (Figure 09), la saison sèche s'étale sur une période de 4 mois, elle s'étale du mois de Juin jusqu'à Septembre.

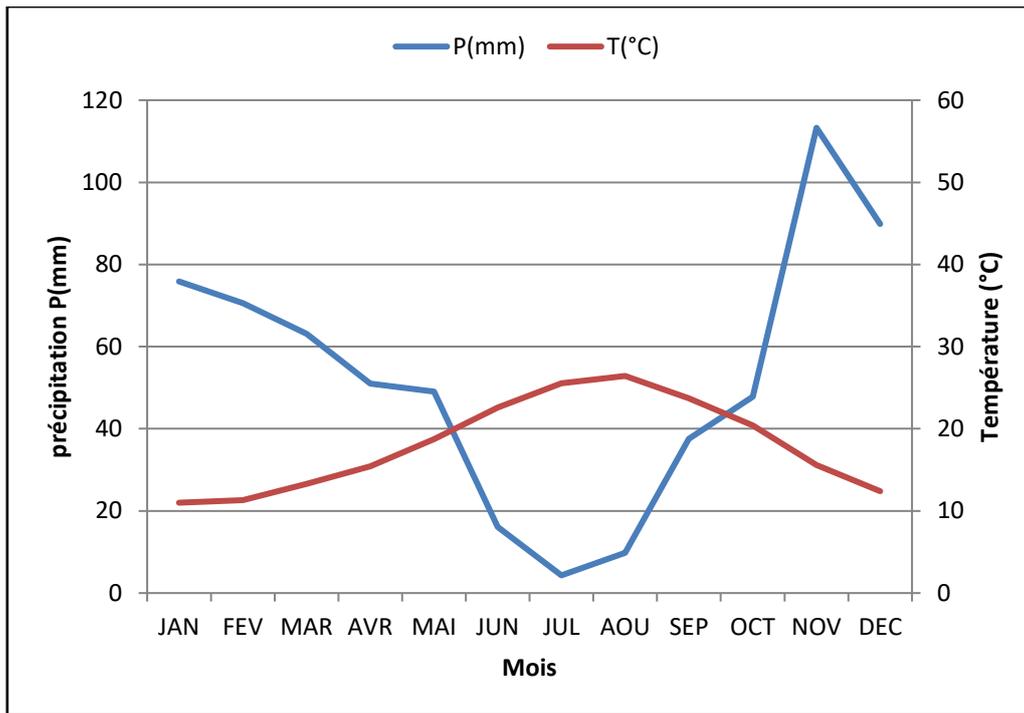


Figure 09 : Diagramme pluviothermique de Gaussen (Tipaza) (1985-2015)

1.3.Sites de récolte des plantes et des sols

G. numidica et *G. ferox* ont été récoltées au mois d'Avril de l'année 2014, au Cap de garde dans la wilaya d'Annaba située à une latitude de $36^{\circ}57'$ et une longitude de $7^{\circ}46'$ et à 171 m d'altitude (Photo 01 et 02).



Photo 01 : Substrat de *Genista numidica* ssp *numidica* (Cliché ATLS)



Photo 02 : Substrat de *Genista ferox* Poiret (Cliché ATLS)

G. tricuspidata a été récoltée dans la région de (Berbessa) dans la wilaya de Tipaza située à une latitude de $36^{\circ}37'$ et à une longitude de $2^{\circ}45'$ et à une altitude de 392 m (**Photo 03**).

Les trois espèces ont été identifiées au laboratoire de Biologie végétale de la Faculté de Médecine d'Annaba.



Photo 03 : Site de récolte de *Genista tricuspidata* (Cliché ATLS)

2 -Exigences pédologiques

Le sol est le substrat qui abrite les plantes dont elles puisent l'eau et les minéraux essentiels à leur développement. Pour connaître la qualité des sols où croissent les trois genres, des échantillons prélevés des sols de la région d'Annaba et de Tipaza ont fait l'objet d'une analyse physico-chimique au niveau du laboratoire d'étude des sols, portant sur les paramètres suivants:

2.1. La granulométrie

L'analyse granulométrique réalisée s'est focalisée sur la détermination de trois fractions : sables, limons et argiles à partir des données fournies par l'analyse des échantillons. Ces fractions déterminent la grosseur des pores ou espaces entre les particules de sol et d'air et dans une large mesure, la capacité à retenir l'humidité et les éléments nutritifs. La classe texturale de l'échantillon analysé y est déterminée en fonction du positionnement des valeurs en argiles, sables et limons totaux, le point d'intersection des trois droites correspondantes aux trois classes détermine alors la classe texturale (**voir le triangle texturale en Annexe01**). De plus et en fonction de la teneur en argile, le sol est dit lourd ($A > 30\%$), moyen ($15 < A < 25$) ou léger ($A < 10\%$) (**Spring et al, 2003**).

Dans la présente étude, pour déterminer ce paramètre, a été effectuée selon le protocole standardisé des fractionnements granulométriques en utilisant la technique de la pipette de Robinson.

2.2. Détermination du pH

Le pH du sol indique l'acidité d'une solution du sol, il est considéré comme étant une analyse de routine standard. Le pH du sol affecte la solubilité et la disponibilité d'un grand nombre d'éléments minéraux, ainsi que l'activité microbienne. Le pH cible, qui représente la valeur de pH du sol associée à une croissance optimale de la plante, varie selon les espèces de cultures et peut être influencée par le type et la nature de sols. En général, un pH de 6,0 à 7,0 est idéal pour la plupart des cultures (**Ziadi et Sen Tran, 2006**). Le pH des sols a été également mesuré dans une solution de KCl à 1M ; grâce à cette solution, les cations adsorbés (H^+ et Al^{3+} inclus) sont échangés contre les ions K^+ , ce qui induit un pH plus bas dans la suspension. Cependant, cette valeur correspond d'une manière générale mieux au pH du sol dans un champ donné. Ces deux déterminations conjointes (pH eau et pH KCl) sont d'un grand intérêt pour la

majorité des sols hormis les sols neutres et surtout carbonatés, puisque $\Delta\text{pH} = \text{pH eau} - \text{pH KCl}$ révèle l'acidité potentielle ou l'acidité d'échange.

Le pH KCl est en effet toujours inférieur au pH eau et l'écart entre les deux valeurs d'un même échantillon traduit l'acidité de réserve du sol.

*Un écart < 0.5 indique une acidité de réserve faible.

* $0.6 < \text{écart} < 1$ indique une acidité de réserve moyenne.

*Un écart > 1 indique une acidité de réserve élevée.

Afin de déterminer cette valeur, une mesure électrométrique dans une suspension de terre (1/5) dans l'eau distillée et dans une solution normale de KCl après une agitation pendant 1 heure. Le pH est mesuré par un pH-mètre de paillasse (Hanna 209). La valeur ainsi obtenue a été comparée à des valeurs de référence (Tableau 07)

Tableau 07: Classification des sols selon leur pH (Soltner, 1981)

pH	Désignation des sols
3-4,5	Extrêmement acide
4,5-5	Fortement acide
5-5,5	Très acide
5,5-6	Acide
6-6,75	Faiblement acide
6,75-7,25	Neutre
7,25-8,5	Basique
$>8,5$	Très basique

2.3. Détermination de la conductivité

La conductivité représente le degré de salinité d'un sol, elle traduit la capacité d'une solution aqueuse à conduire le courant électrique. Dans la présente étude, une suspension de sol a été préparée en ajoutant 5g de sol à 25 ml d'eau distillée stérile (rapport sol/eau=1/5). La suspension a été filtrée, puis 50 ml du filtrat clair ont été récupérés pour analyse. La conductivité a été mesurée à l'aide d'un conductimètre (Hanna HI, 8733), elle a été lue à 25°C et les valeurs obtenues (en ms/cm) ont été comparées à des valeurs de référence (Tableau 08).

Tableau 08 : Echelle de la conductivité électrique des sols (U.S.S.L.S, 1954)

Salinité (mS /cm)	Salure
0-0,6	Non salé
0,6-1,4	Peu salé
1,4-2,4	Salé
2,4-6	Très salé

2.4. La porosité:

La porosité du sol exprime le volume des vides qui peuvent être occupés par l'eau ou l'air afin de constituer un habitat favorable pour la faune du sol.

La porosité (P%) d'un échantillon est égale au rapport exprimé en pourcent, du volume des vides au volume total. A partir des résultats des deux densités, on calcule la porosité totale par la formule suivante :

$$P \% = \frac{D_r - D_a}{D_r} \times 100$$

Tableau 09 : Echelle d'interprétation du pourcentage de la porosité des sols d'après (Cadet, 2005)

Porosité (%)	Appréciation agronomique
5% < Porosité < 2%	Sol peu poreux
15% < Porosité < 5%	Sol moyennement poreux
40% < Porosité < 15%	Sol poreux
Porosité > 40%	Sol très poreux

2.5. Mesure de la matière organique et le carbone total :

La matière organique joue un rôle important dans les fonctionnements physique, chimique et biologique du sol. Elle améliore la cohérence des éléments structuraux, favorise la rétention en eau utile, participe au stockage réversible des éléments nutritionnels, limite le développement de certains parasites, augmente l'aération du sol.

Le dosage du carbone permet de déterminer d'une part la teneur en carbone dans le sol et d'autre part la teneur en matière organique. La détermination du carbone organique se fait par la méthode de « Walkley et Black » qui est une oxydation par voie humide de la MO par le mélange de dichromate de potassium sur acide sulfurique. La teneur en matière organique dans le sol est estimée à partir du taux de carbone organique (C) en utilisant la relation suivant:

$$\text{MO} = \% \text{ C} \times 1,724$$

Tableau 10 : Classification des sols selon leur teneur en matière organique (Soltner, 1981)

Matière organique (%)	Appréciation
<1	Extrêmement faible
1-1.5	Très faible
1.5-2.5	Faible
2.5-3.5	Moyen
3.5-4.5	Moyennement élevé
4.5-5	Elevé
>5	Très élevé

2.6. Le calcaire total:

Le calcaire total groupe les carbonates insolubles des sols, ceux des carbonates de calcium et de magnésium. Plus le taux de CaCO_3 total est abondant dans le sol, plus il y a un risque de blocage des éléments traces et du phosphore. Le dosage du calcaire total est réalisé par la méthode du calcimètre de Bernard.

Tableau 11 : Classification des sols selon leur teneur en calcaire total (%) wiki.aurea.eu/index.php/Le_calcaire_total_et_le_calcaire_actif

Calcaire total (%)	Appréciation
<1%	Horizon non calcaire
1 à 5%	Horizon peu calcaire
5 à 25%	Horizon modérément calcaire
25 à 50%	Horizon fortement calcaire.
50 à 80%	Horizon très fortement calcaire.
>80%	Horizon excessivement calcaire

2.7. L'azote:

L'azote joue un rôle essentiel dans la synthèse de la matière vivante (protéines, chlorophylle, enzymes...) à partir de la matière minérale. Il est un des constituants de la chlorophylle qui commande l'opération fondamentale de la photosynthèse (UNIFA, 2005). L'azote est prélevé dans le sol sous forme d'ions ammonium NH_4^+ et préférentiellement de nitrate NO_3^- . Nous l'avons déterminé avec la méthode de Kjeldahl,

2.8. Le phosphore:

Le phosphore constitue également un élément essentiel dans la nutrition des plantes. Il agit comme transporteur d'énergie aussi bien dans la photosynthèse que dans la dégradation des carbohydrates. Il favorise notamment le développement racinaire et intervient dans d'autres processus comme la maturation, la mobilisation des réserves nutritives et la transmission des caractères héréditaires (UNIFA, 2005).

Le phosphore total (P) est dosé selon un dosage spectrophotométrique.

2.9. Le fer

Parmi tous les oligo-éléments, le fer est celui dont les plantes ont le besoin quantitativement le plus élevé. Il entre dans la composition de plusieurs enzymes. Le fer joue un rôle essentiel dans la respiration, la synthèse de chlorophylle et la photosynthèse. Les racines absorbent le fer sous forme Fe^{2+} et sous forme chélatée. Son absorption résulte de la capacité des racines à baisser le pH et à réduire

Fe³⁺ en Fe²⁺. Les autres cations en présence, K, Ca, Mg Mn, Zn et Cu influencent l'absorption du fer (UNIFA, 2005). Le fer (Fe) est dosé par spectrophotométrie selon la méthode de Triazine.

2.10. Les bases échangeables

Les bases échangeables sont la somme des quantités de cations basiques échangeables, fixés sur le complexe adsorbant à un moment donné. Elles jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'activité biologique générale, et de la structure du sol. Les cations (Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺ et K⁺) sont des nutriments de base, absorbés souvent en quantité élevée par la plante sous la forme de sels solubles (Douaoui et al, 2004).

- **Calcium (Ca²⁺)**

Le calcium a un rôle extrêmement important dans la constitution des tissus végétaux et permet aux plantes de mieux se développer. Il augmente la résistance des tissus végétaux, permet une meilleure tenue de la tige. Il permet un développement normal du système racinaire et une meilleure résistance aux agressions extérieures (UNIFA, 2005).

- **Magnésium (Mg²⁺):**

Le magnésium est un élément nutritif indispensable à la croissance des plantes car il joue un rôle majeur dans la constitution de la chlorophylle, Synthèse des acides aminés et protéines cellulaires, Assimilation et migration du phosphore dans la plante, Teneur en vitamines A et C, Résistance aux facteurs défavorables (sécheresse, maladies cryptogamiques) (UNIFA, 2005).

Le calcium (Ca²⁺) et le magnésium (Mg²⁺) sont dosés par complexométrie.

- **Sodium (Na⁺)**

Il est absorbé sous forme de cation Na⁺. Son rôle est mineur chez les plantes en comparaison de ceux des autres cations (potassium et magnésium). Il contribue avec le potassium à maintenir la turgescence des cellules mais ne peut pas le remplacer dans d'autres fonctions métaboliques plus spécifiques. Il active aussi certaines enzymes (UNIFA, 2005).

- **Potassium (K⁺):**

Cet élément n'entre dans la composition d'aucune composante de la plante, mais il joue un rôle primordial comme activateur de plusieurs enzymes .Il intervient dans des métabolismes comme la synthèse des glucoses et des protéines et dans leur transport aux organes de réserves. Le potassium est connu également par son implication dans l'augmentation de la résistance à la sécheresse,aux maladies et aux ravageurs(UNIFA, 2005).

Le sodium (Na⁺) et le potassium (K⁺) sont dosés par spectrophotométrie à flamme après saturation à l'acétate d'ammonium et extraction au KCl.

3 - Estimation de la qualité trophique du sol

Vu la rareté des travaux effectués sur les trois espèces endémiques, et en absence de données sur les exigences écologiques de ces espèces. Nous avons été contraints de calculer quelques indices qui peuvent estimer la qualité trophique des substrats abritant les 03 genêts. Il s'agit de « la surface foliaire spécifique » ou SLA (Specific Leaf Area) ; le « rapport de masse de matière sèche par unité de matière fraîche » ou la LDMC (Leaf Dry Matter Content) (Hodgson et al, 2011).

3.1. La surface foliaire:

La surface foliaire de la plante représente la somme des surfaces de chacune de ses feuilles (Ruget et al, 1996; Maillard et Bonhomme, 1998), son estimation a été réalisée sur 30 échantillons de feuilles prises au hasard, dont les longueurs et les largeurs maximales ont été mesurées (Annexe 01). Pour les plantes dont les feuilles ne possèdent pas de ligules comme le cas des trois genêts, la surface foliaire est exprimée selon la formule suivante:

$$SF = L \text{ max (mm)} \times l \text{ max (mm)} \times 0,5$$

3.2. Détermination de Leaf Dry Matter Content **LDMC** et Specific leaf area **SLA**

- La SLA représente la surface spécifique foliaire, elle est définie par la formule suivante:

$$\text{SLA} = \text{Surface Foliaire (mm}^2\text{)} / \text{masse de la matière sèche (mg)}$$

- La LDMC représente le rapport de la masse foliaire sèche sur la masse foliaire fraîche, elle est exprimée selon la formule suivante:

$$\text{LDMC} = \text{Masse de la matière sèche (mg)} / \text{masse de la matière fraîche (mg)}$$

La SLA et la LDMC sont des traits importants de l'écologie végétale, car elles sont associées à de nombreux aspects essentiels de la croissance des plantes et de leur survie (**Garnier et al, 2001**). La SLA définit "l'épaisseur" des feuilles et revêt une signification écologique, physiologique et agronomique particulière. Selon certaines théories, toutes les réponses des plantes aux variations internes ou externes sont intégrées dans la SLA (**Charles-Edward, 1981**). Les plantes des milieux oligotrophes ont des feuilles de petite taille mais assez épaisses, elles ont une faible SLA et une LDMC élevée, ces deux paramètres sont donc inversement proportionnels.

4 - Caractères morpho-anatomiques des trois genres

4.1. Phénologie

«La phénologie végétale est l'étude scientifique des variations saisonnières, de la croissance et du développement des plantes» (**Schnelle, 1955**). Celle-ci étudie les cycles biologiques et leurs liens avec les conditions climatiques. Ces événements se produisent chaque année à la même époque, mais leur date exacte varie d'année en année. Depuis 2011 nous avons noté le début et la fin de chacune des phases: végétative et reproductrice.

4.2. Morphologie

L'observation des différentes parties de la plante à l'œil nu et sous binoculaire (Zeiss), nous a permis de déterminer les caractères morphologiques des feuilles et des tiges des trois espèces de *Genista*.

4.3. Structure anatomique

Cette étude a un double intérêt:

*Mettre en évidence les différents types tissulaires des plantes étudiées.

*Etudier l'expression anatomique de *Genista* en rapport avec son biotope naturel.

L'étude histologique a porté sur la feuille et la tige jeune des 03 espèces. Les échantillons ont été récupérés dans l'éthanol dilué immédiatement après la récolte.

➤ **Mode opératoire**

Pour pouvoir étudier la structure anatomique des organes végétaux, il est nécessaire de savoir effectuer des coupes minces et parfaitement orientées et de pratiquer différentes colorations (**Deysson, 1965**).

La double coloration au vert de méthyle-rouge Congo (**Langeron, 1934**) comprend les différentes étapes suivantes:

1. Traitement par une solution d'hypochlorite de sodium à 12° pendant 15 minutes qui détruira le contenu des cellules à l'exception des parois et des membranes cellulaires.
2. Lavage soigné et répété à l'eau distillée.
3. Traitement par l'acide acétique pendant trois minutes; cet acide détruira les traces d'hypochlorite pouvant rester encore et facilitera la fixation ultérieure des colorants sur les membranes (**Deysson, 1965**).
4. Lavage soigné et répété à l'eau distillée
5. Traitement par le vert de méthyle à 1 %, pendant 03 minutes; ce réactif colore en vert les tissus sclérifiés et en jaune verdâtre ou brun verdâtre la cutine et les parois subérisées.
6. Lavage rapide et répété à l'eau distillée pour éliminer l'excès de colorant.
7. Traitement par le rouge Congo à 1% pendant 03 minutes; ce réactif colore en rose les tissus celluloseux, en se fixant sur les glucanes (cellulose = polymère de glucane).
8. Lavage rapide et répété à l'eau distillée pour éliminer l'excès de colorant.
9. Montage entre lame et lamelle dans une goutte d'eau distillée pour observation immédiate au microscope.
10. Observation des coupes sous microscope photonique pour prise de photos aux grossissements x10 et x40.

5 - Etude analytique

5.1. Détermination de la matière sèche, matière minérale et la teneur en eau:

➤ Détermination de la matière sèche:

La matière sèche (MS) constitue la partie d'un produit végétal qui reste une fois que l'eau en a été totalement extraite. Elle est déterminée par séchage à l'étuve ventilée de l'échantillon.

- Dans un creuset en porcelaine préalablement séché, peser une masse (m) d'échantillon.
- Mettre dans l'étuve à 105°C jusqu'à obtenir une masse d'échantillon constante.
- Refroidir dans un dessiccateur et peser l'ensemble de masse (m_0).
- Déterminer le pourcentage en matière sèche:

$$\%MS = m_0 / m \times 100$$

➤ Détermination de la matière minérale

La matière minérale (MM) représente la partie d'un produit végétal qui reste une fois que la matière organique en a été totalement extraite. Elle est déterminée par calcination de l'échantillon.

- Placer l'échantillon (m) sec dans un four à moufle porté à 550°C pendant 4-5 heures.
- Refroidir dans un dessiccateur et peser l'ensemble de masse MM.
- Déterminer le pourcentage de matière minérale :

$$\%MM = MM / m \times 100$$

➤ Détermination de la teneur en eau des feuilles.

Le taux d'humidité des feuilles de nos échantillons, a été déterminé par le procédé de dessiccation à une température de 105° C dans une étuve isotherme ventilée à la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'un poids constant (**Linden et Lorient ,1994**).

$$T\% = \frac{X-Y}{Y} * 100$$

Considérons :

X- Poids de l'échantillon ;

Y-Poids de l'échantillon après déshydratation ;

T% Taux d'humidité exprimé en pourcentage ;

5.2. Analyse quantitative des éléments minéraux des plantes étudiées

Les éléments minéraux étudiés ont été dosés dans les cendres des feuilles et des fleurs des 03genêts. Le dosage des éléments étudiés (N, Ca⁺², K⁺², Na⁺, Mg⁺, P, Fe) a été réalisé par les mêmes méthodes utilisées dans les analyses des sols.

5.3. Screening phytochimique

Très peu d'études ont été consacrées à ces trois taxons, c'est pourquoi un screening phytochimique s'est imposé. Ce screening a concerné les feuilles et les fleurs.

➤ Recherche des Tanins :

Nous avons pris 5 ml de l'infusé (10g de drogue en petites fragments dans 100 ml d'eau bouillante), nous avons ajouté goutte à goutte 1ml d'une solution de chlorure ferrique (Fe Cl₃) à 1%. L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des Tanins catéchiques, bleu-noirâtre, des Tanins galliques(Solfo, 1973).

➤ Recherche des Anthocyanes :

La recherche des Anthocyanes repose sur le changement de couleur de l'infusé à 10% avec le changement de pH. Nous avons ajouté à 5ml de l'infusé quelques gouttes de HCl pur et nous avons observé le changement de couleur, ensuite nous avons rajouté quelques gouttes de NH₄OH Le changement de couleur indique la présence d'Anthocyanes (Solfo, 1973).

➤ Recherche des Leuco-anthocyanes :

Nous avons pris 5 ml de l'infusé, mélangé à 4 ml d'alcool chlorhydrique (éthanol / HCl pur 3/1 v/v) après chauffage au bain-marie à 50°C pendant quelques minutes. L'apparition d'une couleur rouge-cerise indique la présence des Leuco-anthocyanes(Solfo, 1973).

➤ **Recherche des Alcaloïdes**

5 g de la plante séchée et broyée sont mélangés avec 50 ml d'HCl dans un récipient; après macération nous avons filtré le mélange et additionné au filtrat quelques gouttes de réactif de Mayer. L'apparition d'un précipité blanc indique la présence d'alcaloïdes(**Bouquet, 1972**).

➤ **Recherche des Flavonoïdes :**

10g de drogue pulvérisée sont macérés dans 150 ml d'HCl à 1% pendant 24 heures ; après avoir filtré le mélange, nous avons procédé au test suivant : nous avons prit 10 ml du filtrat, après l'avoir rendu basique en ajoutant du NH₄OH ; après 3 heures. L'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube indique la présence des Flavonoïdes(**Mellouk, 2007**).

➤ **Recherche des Terpènes et des Stérols :**

Elle se fait sur une macération de 24 h à 5 % dans l'éther. L'extrait éthérique est ensuite évaporé à sec et repris avec de l'anhydride acétique puis du chloroforme. Déposer au fond du tube contenant l'extrait de l'acide sulfurique. En cas de réaction positive il se forme un anneau rouge-brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides, la couche surnageante était verte ou violette (**Trease et Evans, 1987**).

➤ **Recherche des composés réducteurs:**

Leur détection consiste à traiter 1 ml de l'extrait éthanolique avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique (**Trease et Evans, 1987**).

➤ **Recherche des saponosides:**

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait aqueux, puis la solution est fortement agitée. Ensuite, le mélange est laissé pendant 20 minutes et la teneur en saponosides est évaluée par une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indiquant la présence de saponosides (**Trease et Evans, 1987**).

➤ **Recherche des coumarines:**

1 g d'échantillon de la poudre végétale est placé dans un tube à essai en présence de quelques gouttes d'eau distillée. Le tube est recouvert avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et porté dans un bain Marie pendant quelques minutes. Puis on ajoute 0,5 ml de NH₄OH dilué (10%) et on va mettre deux taches sur un papier filtre qui sont examinées sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (**Rizk ,1982**).

6/ Etude thérapeutique

6.1. Extraction et calcul du rendement des métabolites secondaires:

➤ **Les flavonoïdes:**

Les flavonoïdes ont été extraits selon la méthode de (**Charaux-Paris, 1954**). 10g de drogue séchée, sont stabilisés pendant une heure dans 200 ml d'éthanol bouillant ; après filtration et séchage, la drogue est pulvérisée grossièrement et épuisée à l'appareil de Soxhlet par 200 ml d'éthanol à 96° C pendant 4 heures ; après une nuit de macération, les deux solutions éthanoliques sont mélangées et évaporées sous pression réduite. Le résidu est repris par 20ml d'eau bouillante, la solution aqueuse est laissée au repos pendant 24 heures et la liqueur est épuisée dans une ampoule à décantation, plusieurs fois, successivement par : (4x10ml) d'éther; puis (4x10ml) d'acétate d'éthyle et à la fin avec (5x10ml) du n-butanol.

➤ **Tanins:**

L'extraction des tanins a été effectuée selon la méthode adaptée par (**Zhang et al, 2008**) 2,5g de poudre de matériel végétal (feuille, fleur) a été extraite par 50 ml du mélange acétone/eau distillée (35/15, V/V) durant trois jours à une température ambiante. La solution est filtrée et évaporée à 40° C par un rotavapeur type buchi 200 pour éliminer l'acétone puis, la phase aqueuse est lavée par 15 ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides. Après la séparation de la phase organique, la phase aqueuse a été extraite deux fois avec 15 ml d'acétate d'éthyle. Le mélange des deux phases est évaporé à sec à 40° C par un rotavapeur type Buchi R-200 puis pesé et repris par 3 ml de méthanol.

➤ **Les saponines :**

Les saponines ont été extraits selon la méthode élaborée (Applebraun et al, 1969), légèrement modifiée ; Le broyat de la plante à été delipidé durant 2heures par 50 ml du n-hexane pur pour analyse. Après élimination de la phase organique, le précipité obtenu à été macéré dans 60 ml d'éthanol absolu sous agitation magnétique à la température ambiante pendant 24 h. La phase éthanolique à été évaporée à sec sous vide à 40°C par le rota-vapeur ; le résidu sec à été extrait 03 fois par 20 ml du mélange eau distillée 10 ml / éther de pétrole 10 ml et chauffé à 50°C dans un bain Marie pendant 30 mn, les phases aqueuses ont été mélangées puis reprises par 30ml du n-butanol pendant 30mn , la phase organique est évaporée à sec à 40°C par le rota-vapeur. Les saponosides seront testées sur quelques bactéries.

➤ **Préparation des extraits méthanoliques**

Les fleurs, les feuilles et les plantes entières des espèces *G. numidica*, *G. ferox* et *G. tricuspidata* préalablement nettoyées et broyées ont été mises à macérer dans le méthanol (2g dans 200 ml) sous agitation douce pendant 24 heures à température ambiante. Les extraits alcooliques ont été récupérés après filtration des mélanges à l'aide d'un papier filtre, le méthanol est éliminé des filtrats par évaporation sous pression réduite dans un rota-évapeur (BÜCHI). Permettant ainsi d'obtenir des extraits qui sont considérés comme étant les extraits bruts.

Le rendement de l'extraction est calculé par la formule donnée (Falleh et al, 2008):

$$R (\%) = 100 M_{\text{ext}}/M_{\text{éch.}}$$

Où : R est le rendement en % ;

M_{ext} est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg et

$M_{\text{éch}}$ est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

6.2. Analyse quantitative des composés phénoliques des flavonoïdes et des tannins :

➤ Dosage des phénols totaux :

• Principe :

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins. Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit par (Singleton et Rossi, 1965).

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968). La coloration produite, dont l'absorption maximum est de 765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux où l'acide gallique est utilisé comme standard. (Boizot et Charpentier, 2006).

• Mise en œuvre pratique:

- ✓ Une courbe d'étalonnage a été préparée en utilisant une série de dilutions d'acide gallique de différentes concentrations (5, 10, 50, 100, 150 $\mu\text{g/ml}$) à partir d'une solution mère d'acide gallique de concentration de 1 mg/ml.
- ✓ 100 μl de chaque dilution a été introduit dans des tubes à essai, suivi de l'addition de 250 μl de réactif de Folin-Ciocalteu (1N) et de 400 μl d'eau distillée.
- ✓ Après un repos de 2 minutes à l'obscurité, 1250 μl de carbonate de sodium (Na_2CO_3 à 20 %) ont été additionnés suivis de repos de 40 minutes dans une chambre noire à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 765 nm.

L'analyse quantitative des phénols totaux des différents extraits méthanoliques, a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en remplaçant l'acide gallique par des dilutions des extraits jusqu'à une concentration appropriée. Chaque concentration est répétée trois fois et la lecture a été effectuée à 765 nm. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme de d'extrait (mg GAE/g). Cette procédure est résumée dans le schéma ci-dessous:

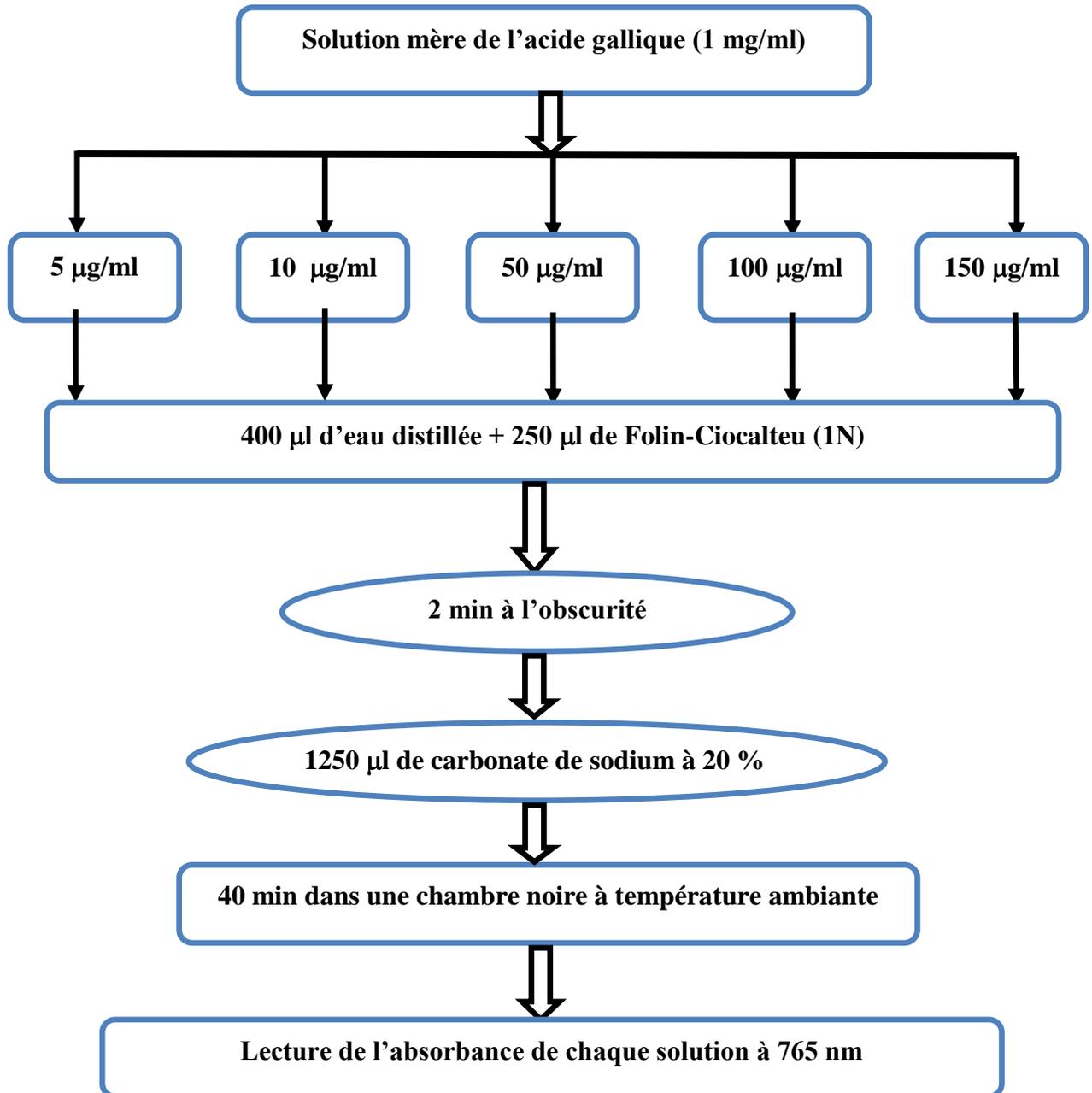


Figure 10: Schéma illustratif de la méthode de dosage des polyphénols totaux.

➤ **Dosage des flavonoïdes:**

Les flavonoïdes constituent la classe la plus importante des polyphénols, leur quantification a été effectuée par une méthode adaptée par (Zhishen *et al*, 1999) avec le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) qui forme un complexe jaune très stable avec les groupements hydroxydes des flavonoïdes qui absorbe dans le visible à 420 nm. Une courbe d'étalonnage réalisée par la quercétine à différentes concentrations dans les

mêmes conditions opératoires que les extraits de la plante étudiée, servira à cette quantification.

❖ **Mise en œuvre pratique:**

- ✓ Une courbe d'étalonnage a été préparée en utilisant une série de dilutions de la quercétine de différentes concentrations (5, 10, 50, 100, 150 µg/ml) à partir d'une solution mère de quercétine de concentration de 1 mg/ml (préparée dans le méthanol).
- ✓ 1 ml de trichlorure d'aluminium à 2% a été ajouté à chaque dilution, puis laissé une heure à l'obscurité.

L'analyse quantitative des flavonoïdes totaux des différents extraits étudiés a été réalisée en adaptant la même procédure pour l'établissement de la courbe d'étalonnage, en remplaçant la quercétine par des dilutions des extraits jusqu'à une concentration appropriée. Le dosage a été effectué en triplicata et l'absorbance de chaque solution a été déterminée à 420nm. La teneur en flavonoïdes totaux des extraits de la plante étudiée est exprimée en milligramme (mg) équivalent de la quercétine par gramme de la matière végétale sèche (mg EQ/g). Cette procédure est résumée dans le schéma ci-dessous:

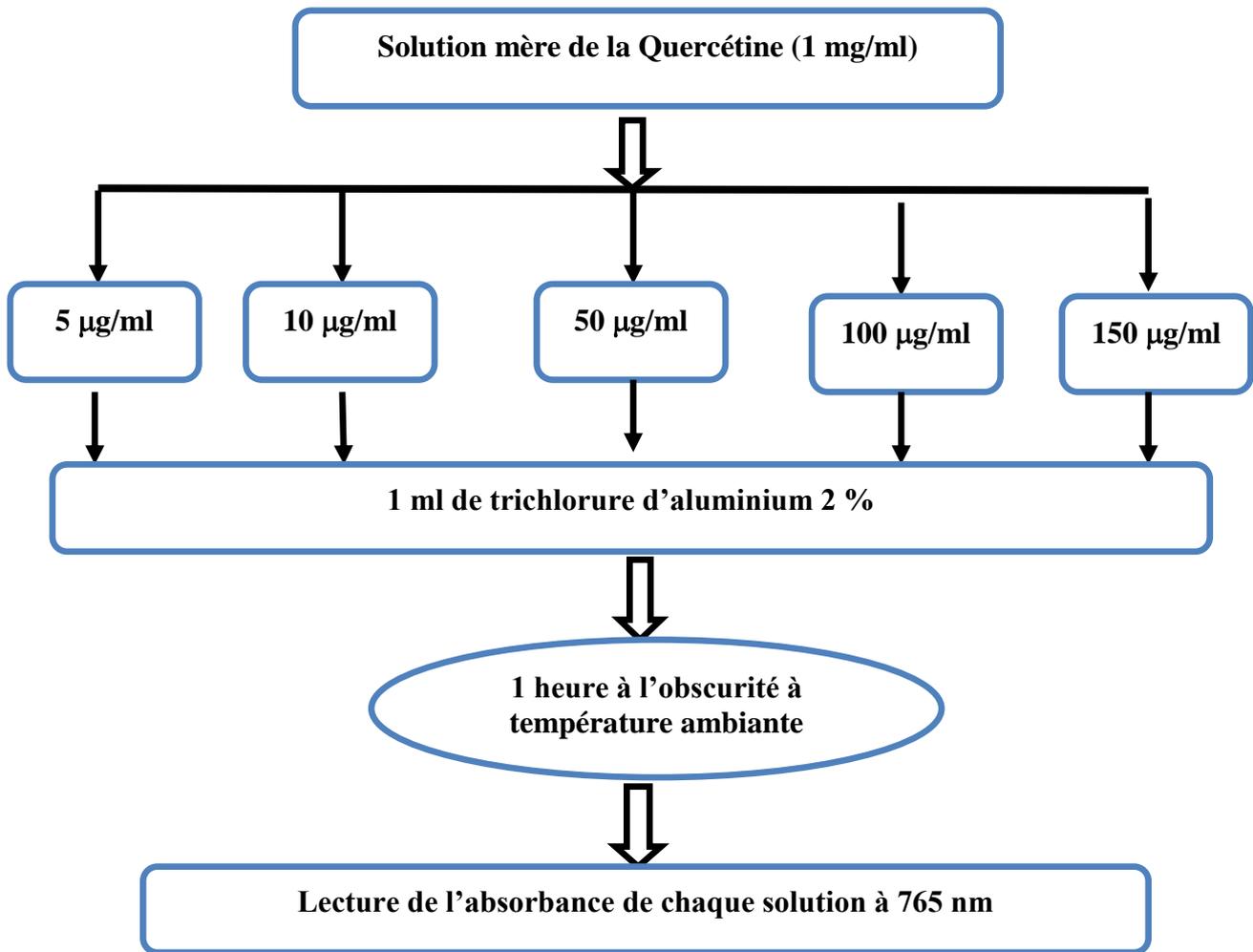


Figure 11 : Schéma illustratif de la méthode de dosage des flavonoïdes.

➤ **Dosage des tanins :**

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide (Price *et al*, 1978). Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère. Les quantités de tanins sont estimées en utilisant la méthode de vanilline décrite par (Julkunen-Titto, 1985).

❖ **Mise en oeuvre pratique:**

Un volume de 50 µl de l'extrait brut est ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/methanol (4%, m/v) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné. Le mélange obtenu est laissé

réagir à la température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre Jenway 6504 UV/VIS.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de l'acatéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg EC/g). Cette procédure est résumée dans le schéma ci-dessous :

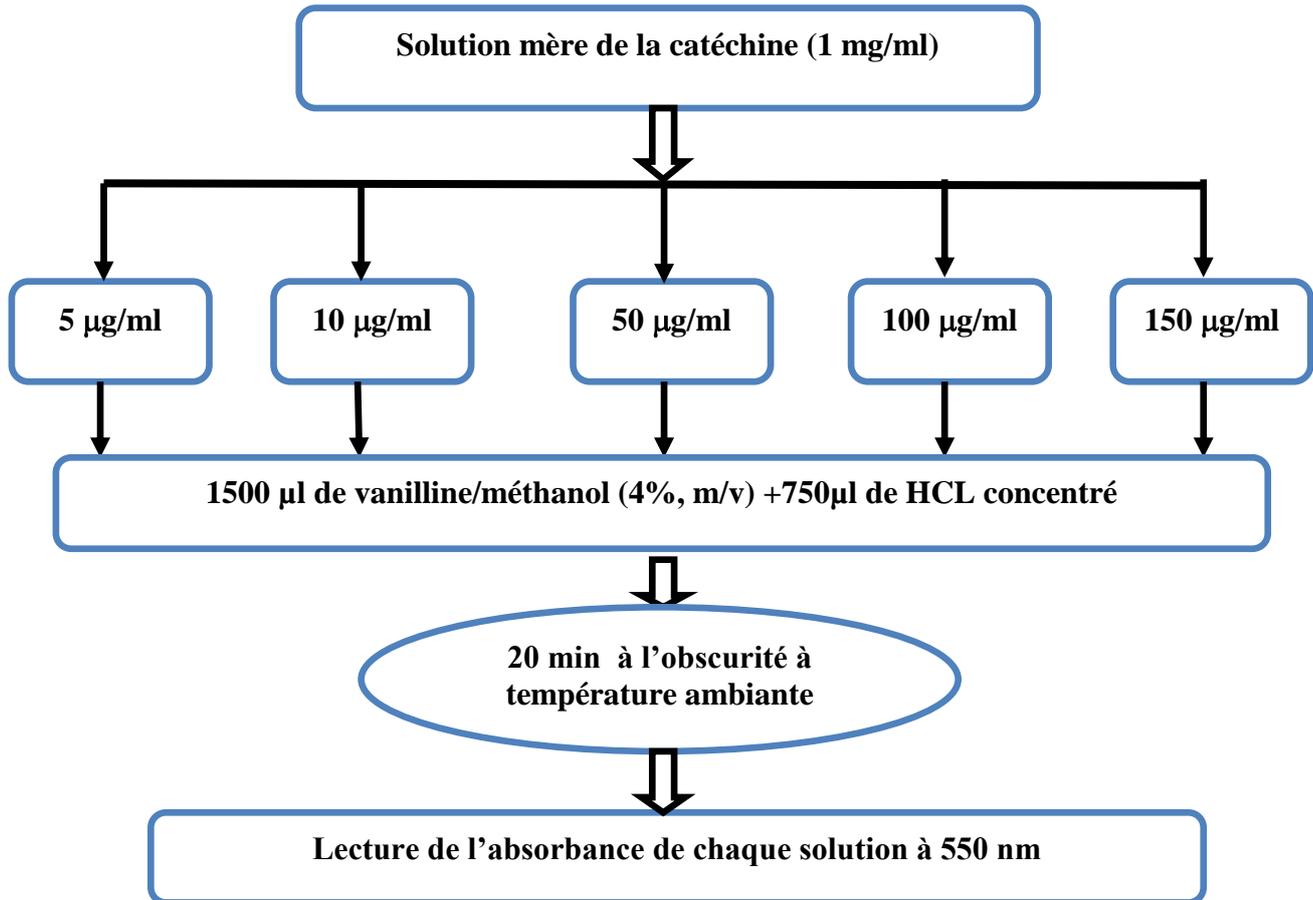


Figure 12: Schéma illustratif de la méthode de dosage des tannins.

6.3. Activité antioxydante:

❖ Evaluation de l'activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique des 03 espèces (Effet scavenger du radical DPPH):

➤ Principe

Le DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) est l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante (**Brand-williams, 1995**). C'est un radical libre stable possédant un électron d'azote non apparié, ce qui empêche la polymérisation du composé, qui reste sous une forme monomérique relativement stable à température ambiante. Cet état induit l'apparition d'une couleur

violet foncée qui disparaît lorsque le DPPH est réduit en présence d'un antioxydant, passant du violet au jaune pâle (Maataoui *et al*, 2006 ; Villano *et al*, 2007).

L'activité antioxydante d'un extrait de plante est déterminée par suivi spectrophotométrique (à 517nm) du virage coloré de la solution (Gulcin *et al*, 2003 ; Molyneux, 2004 ; Roginsky *et Lissi*, 2005). L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité de l'antioxydant à donner des protons (Sanchez-Moreno *et al*, 2002).

➤ **Mode opératoire:**

La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol (elle ne se conserve pas plus de 4-5 jours à l'obscurité). Un volume de 100 µl des extraits méthanoliques (à différentes concentrations) a été ajouté à 2 ml de la solution de DPPH. Le mélange réactionnel a été agité vigoureusement puis incubé pendant 30 min à l'obscurité. Les absorbances ont été mesurées à 517 nm contre le blanc (DPPH/méthanol).

L'inhibition du radical libre DPPH par des antioxydants synthétiques de référence (BHT, acide ascorbique) a également été réalisée dans les mêmes conditions.

• **Expression des résultats:**

L'activité antiradicalaire exprime la capacité de l'antioxydant à piéger le radical libre, elle a été estimée en pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le méthanol. Le pourcentage d'activité antioxydante a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}] \times 100.$$

Sachant que Abs contrôle représente l'absorbance du blanc (DPPH/méthanol).

La réalisation d'une cinétique de l'activité antiradicalaire a permis la détermination du paramètre IC50, défini comme étant la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration initiale de DPPH de 50%, elle est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante.

❖ **Réduction du fer : FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*) :**

➤ **Principe**

Comme son nom l'indique, cette technique a été développée pour mesurer la capacité du plasma à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet, le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. Le Fe^{2+} à un pH faible forme un complexe avec la 2, 4,6-tris (2-pyridyl)-1, 3,5-s-triazine (TPTZ) de couleur bleue qui a une absorption maximale à 594 nm. Ainsi, la formation de ce complexe indiquera un pouvoir réducteur et déterminera la capacité d'un composé à se comporter comme un anti-oxydant. Les valeurs sont obtenues par comparaison de l'absorbance à 594 nm du mélange réactionnel contenant l'échantillon à tester avec celle d'un mélange réactionnel contenant une concentration connue en Fe^{2+} (**Benzie et Strain, 1996 ; Pulido et al, 2000**). Ce test nous servira à évaluer l'activité anti-oxydante des composés purs uniquement.

➤ **Mode opératoire**

Le pouvoir réducteur a été déterminé suivant la méthode préconisée par **Oyaizu, 1986**). En effet, 1 ml de différentes concentrations de chaque extrait (0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 mg) dilué dans l' eau distillée est mélangé avec 2,5 ml de la solution tampon phosphate (0,2 M ; pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1%. Les mélanges sont incubés à 50° C pendant 30 min. après, 2,5 ml de l' acide trichloracétique (10%) est additionné.

Le tout est centrifugé à 3000 tours pendant 10 min. 2,5 ml du surnageant de chaque concentration est mélangé avec 2,5 ml d' eau distillée et 0,5 ml FeCl_3 (0,1%) l'absorbance est mesurée à 700 nm à l' aide d' un spectrophotomètre.

L' acide ascorbique, acide gallique et BHT sont utilisés comme contrôles positif dans cette expérience dans les mêmes conditions opératoires.

NB : On a effectué 3 répétitions pour chaque concentration de l'extrait méthanolique.

➤ **Expression des résultats**

Pour explorer les résultats obtenus, la manière la plus commune utilisée par la majorité des auteurs est de tracer les graphes des absorbances obtenues en fonctions des différentes concentrations utilisées pour les différentes fractions des trois parties de la plante étudiée.

❖ Piégeage du radical hydroxyle

➤ Principe

Le OH^\cdot est le radical libre extrêmement réactif formé dans les systèmes biologiques à partir d'anion superoxydé et le peroxyde d'hydrogène en présence des ions métalliques comme le fer et le cuivre suivant la réaction de Haber Weiss (**Castro et Freeman, 2001**). Ce radical possède un électron libre, avec un potentiel de réduction plus élevé (2310 mV), lui permet de réagir avec les lipides, les protéines les polypeptides et l'ADN particulièrement la thiamine et la guanine (**Siddhuraju et Becker, 2007**).

In vitro, la capacité à piéger le radical hydroxyle par les extraits des plantes est basée sur la réaction de Fenton en mesurant la génération du radical OH^\cdot et son effet sur l'oxydation et la dégradation de molécules biologiques telles que le désoxyribose de l'ADN. Pour détecter ce radical, le sodium salicylate est ajouté au milieu et une couleur rose apparait, mais en présence des extraits cette couleur va changer vers la couleur jaune.

➤ Mode opératoire

La méthode de Piégeage du radical hydroxyle adoptée dans cette étude est celle de (**Zhong et al, 2010**) avec peu de modifications. Le mélange réactionnel contient les réactifs suivants : 1 ml de (9 mM FeSO_4) et 1 ml de 0.3% H_2O_2 , 0.5 ml de 9 mM Acide salicylique (ethanol-acide solution), 1 ml de l'extrait à différentes concentrations. Après incubation durant 60 min à 37 °C, la lecture est effectuée à une longueur d'onde de 510 nm. L'effet scavenger du radical hydroxyl est calculé selon l'équation suivant :

$$\% \text{ d'inhibition } \text{OH}^\cdot = (\text{Abs control} - \text{Abs extrait}) / \text{Abs control} \times 100$$

La concentration inhibitrice de OH^\cdot de chaque extrait a été par la suite calculée à partir de l'équation qui détermine le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'inhibiteur. Elle a été exprimée en mg / ml et comparée avec celle de l'acide ascorbique.

6.4. Recherche de l'activité anti-hémolytique

➤ Principe

Les globules rouges sont parmi les cellules les plus utilisées dans l'évaluation de la toxicité à cause de leur disponibilité, et la facilité de leur surveillance au cours de la lyse cellulaire grâce à la libération de l'hémoglobine (**Situ et Bobek, 2000**).

En outre, la présence d'une concentration très élevée d'acides gras polyinsaturés, sur la membrane et le rôle de transport d'oxygène joué par les molécules d'hémoglobine, rend les érythrocytes une cible privilégiée des radicaux libres, (**Situ et Bobek, 2000**).

L'interaction d'un composé cytotoxique avec la membrane des globules rouges provoque la perte de leur intégrité ce qui conduit à leur lyse. (**Tiwari et al., 2011**).

Le peroxyde d'hydrogène est un composant oxygéné réactive très utilisée dans les tests d'évaluation de l'activité anti-hémolytique. Il provoque la dégradation de la membrane cellulaire des hématies en libérant le contenu cytoplasmique et particulièrement l'hémoglobine.

Le H₂O₂ stimule la production du radical hydroxyle en mobilisant le Fe²⁺ grâce à la réaction de Fenton. (**KupierGoodman et Scott, 1989**).

➤ Préparation des Globules rouges

Cinq millilitres de sang d'une personne saine ont été recueillis dans des tubes traités à l'EDTA (Éthylène Diamine Tétra-Acétique), puis centrifugés pendant 5 min à 1000 tour/min. Le surnageant a été éliminé et le culot a été lavé trois fois avec du PBS (0,2 M, pH 7,4) puis remis en suspension dans une solution saline (4%).

L'opération de lavage a consisté en une série de centrifugations à 1000 tour/min(5min) et la suspension du culot dans le PBS (phosphate buffered saline).

➤ Mode opératoire

Le test permettant de rechercher un effet anti-hémolytique des extraits de plantes étudiées est réalisé selon la méthode de (**Yang et al, 2005**).

- Mettre dans des tubes 1 ml de la suspension érythrocytaire préparée avec 0.5 ml de l'extrait méthanolique(dilué avec le PBS) à différentes concentrations initiales.
- Incuber les tubes à 37°C durant 20 min.
- Ajouter 0,5 ml de solution de H₂O₂ (30%) dilué avec PBS au mélange réactionnel.

- Centrifuger les tubes à 1000 tour / minute durant 10min.
- Récupérer le surnageant.
- Lire l'absorbance du surnageant (la fuite d'hémoglobine) de chaque tube à 540nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV- Visible.

L'hémolyse relative a été évaluée en comparaison avec l'hémolyse induite par le H₂O₂ en absence d'extrait (contrôle négatif). Les globules rouges, en présence de tampon phosphate a été utilisé comme contrôle positif.

NB : On a effectué 3 répétitions pour chaque concentration de l'extrait méthanolique pour chaque technique.

6.5. Etude de la composition chimique des extraits méthanolique et Dichlorométhane par (GC-SM)

Pour connaître les substances bioactives ayant été extarités par le méthanol, nous avons opté pour une GC-SM (Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse) est une technique d'analyse qui permet d'une part de séparer des composés d'un échantillon en phase gaz puis de les détecter et de les identifier en fonction de leur rapport m/z . Pour réaliser l'étude de la composition chimique des extraits nous avons utilisé un GC/SM de type Perkin Elmer-MS Clarus 500. La phase stationnaire est formée de 5% de diphenyle et 95% de diméthyle polysiloxane. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium dont le débit est de 0,75 ml/min. Le gradient de température du four varie de 150 °C à 300 °C avec une augmentation de 5 °C par minute. Le détecteur utilisé pour l'enregistrement des spectres est couplé à un spectromètre de masse quadripôle avec une gamme qui varie entre 40 et 600 m/z avec 0,1 scan/s et une énergie d'ionisation d'électrons de 70 eV. La température de la source, de la ligne de transfert et du détecteur est de 200 °C.

➤ Paramètres de séparation

La GC-MS Shimadzu utilisée est de modèle GC-2010 Plus constitué d'un détecteur de type quadripôle.

La colonne HP 5MS apolaire utilisée a les caractéristiques suivantes : 30 mètres de longueur, 0,25 mm de diamètre interne et 0,25 mm d'épaisseur de la phase stationnaire. Les conditions d'analyse GC-MS sont les suivantes:

- volume injecté : 1 μ L
- injection en mode autosampler

- température de l'injecteur : 250 °C
- gradient de température : 60 °C pendant 2 min ; rampe de 5 °C/min jusqu'à 240 °C maintenue pendant 20 min
- ionisation par impact électronique (IE) à 70 eV
- Temps d'analyse: 42 mn

Les composés détectés au sein des extraits ont été identifiés grâce à une bibliothèque de spectres de masse basée sur la fragmentation de composés de référence (base de données NIST 11 et Wiley 9). Pour les hypothèses d'identification des pics, les spectres avec les taux de similitude les plus élevés sont retenus puis comparés avec les données disponibles dans la littérature pour les plantes étudiées.

6.6. Activité Antibactérienne:

Dans notre étude des extraits des 03 genres (flavonoïdes, saponines, tannins, décoction et infusion, selon les espèces) ont été testés sur plusieurs souches bactériennes, des souches de référence ATTC (American Type Culture Collection) et des souches obtenues à partir de produits pathologiques divers, responsables d'infections chez l'homme.

➤ Mode opératoire

Il consiste à faire des aromagrammes; C'est une méthode de recherche de l'activité antibactérienne en milieu solide ou liquide similaire à l'antibiogramme; la substance testée est mise en contact de souches bactériennes selon les recommandations de l'OMS par le procédé du CLSI.

- Réactivation des souches est faite sur milieu approprié 24 heures avant le test, afin de les rendre physiologiquement actives.
- Ensemencement à partir de colonies similaires obtenues sur milieu d'isolement on prépare les suspensions bactériennes à raison de 10^6 - 10^8 CFU/ml équivalent au standard 0,5 Mac Farland. L'ensemencement a été fait sur la surface de la Gélose Muller Hinton, selon la méthode CLSI.
- Application des disques de papier buvard stériles imprégnés par les produits testés, dilués de 1/2 avec DMSO. Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

- La lecture consiste à la mesure des diamètres de la zone d'inhibition autour du disque, à l'aide d'un pied à coulisse ; on classe les bactéries dans des catégories selon leur sensibilité à l'extrait (Tableau 12).

Tableau 12 : Signification des diamètres d'inhibition
(Duraffourd, 1987)

Diamètre d'inhibition	< 8mm	8à14mm	14à20mm	> 20mm
Signification	Résistante	Sensibilité limitée	Sensibilité moyenne	Très sensible
	(-)	(+)	(++)	(+++)

Résultats et discussion

1- Etude pédologique des sols recueillis sous les trois genêts :

Les résultats des analyses physico-chimiques des sols ayant abrité les trois genêts sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 13:Caractéristiques physiques et chimiques des sols abritant les 03 genêts

Paramètres	Substrat GN	Substrat GT	Substrat GF
pH eau	7,53	7,5	7,6
pH KCl	6,90	6,42	6,92
Conductivité (µs/cm)	140,5	180	145
Sodium (méq/100g)	3,73	1,73	2,39
Magnésium (méq/100g)	0,96	1,14	1,08
Potassium (méq/100g)	1,15	1,01	0,99
Calcium (méq/100g)	1,61	1,52	1,78
Carbonates de Calcium (CaCO ₃ ⁻) %	23,75	21,7	22,5
Phosphore total(P) (ppm)	20,8	20,2	20,4
Azote total(N) %	0,003	0,015	0,01
Fer(Fe) (ppm)	270	192	189
Carbone organique(C%)	2,46	1,84	0,91
C/N	820	122,66	91
Matière organique (MO%)	4,23	3,17	1,61
Porosité(%)	15	36,1	36,15
Sable(%)	63,34	65,50	66,72
Limon (%)	20,80	23,54	26,96
Argile(%)	15,86	10,96	6,32
Texture	Limono-sableuse	Limono-sableuse	Limono-sableuse

❖ La granulométrie

L'analyse granulométrique nous a permis de définir les sols de *G. tricuspidata*, *G.ferox* et *G. numidica* comme étant des sols limono-sableux.

❖ Le pH:

L'écart entre les deux valeurs d'un même échantillon (Tab.08) varie entre 0.6 et 1.14 témoignant d'une acidité de réserve moyenne pour les sols de *G.ferox* et *G.numidica*

et élevée pour le sol de *G.tricuspidata*. Les valeurs du pH eau varient entre 7,53 et 7,6. Le pH des sols entre dans la classe des sols alcalins (basiques).

❖ **La conductivité:**

Les sols de la région de récolte sont non salés ce qui suggère que les trois genres sont non tolérants à la salinité.

❖ **La porosité:**

La porosité est importante dans les sols de *G.tricuspidata* et *G. ferox* avec une porosité de plus de 36% ; par contre dans le sol de *G. numidica*, la porosité est seulement de 15%, peut être parce que dans ce sol la fraction argile est plus importante que dans les deux autres sols

❖ **La matière organique**

L'analyse de la matière organique donne des valeurs importantes pour les sols sous *G.numidica* et *G.tricuspidata* (4,06% et 3,17%); par contre le sol sous *G.ferox* est faiblement enrichi en matière organique (1,61 %).

❖ **Le calcaire total:**

Le calcaire total est présent en des proportions variables avec des valeurs comprises entre 15% et 36,5 %. Se sont des sols modérément calcaires.

Les résultats des teneurs en azote, calcium, magnésium, sodium, potassium et en phosphore, sont comparés à l'échelle d'interprétation de Duchaufour (1995), en **annexe 02**.

❖ **L'azote total**

L'analyse de l'azote total varie entre 0,01 et 0,003% ce qui constitue une faible teneur dans tous les sols. Cependant de nombreuses espèces du groupe des Fabaceae ont la capacité de fixer l'azote de l'air N₂ et de le transformer en azote ammoniacal puis en azote protéique. On observe sur leurs racines la présence de nodules qui sont le résultat d'une symbiose avec des bactéries fixatrices d'azote, les rhizobiums, et ces différentes espèces de légumineuses grâce à cette propriété, peuvent survivre et concurrencer efficacement en cas de carence en azote.

Le rapport C/N est un bon indicateur de l'activité biologique du sol (**Crespy, 2003**), plus le rapport C/N est élevé, moins l'azote est rapidement disponible (**Annexe 03**). Ce rapport est supérieur à 100 dans les sols de *G.numidica* et *G.tricuspidata* et égal à 91 dans le sol de *G.ferox*, ce qui suggère une mauvaise activité biologique dans les trois sols.

❖ **Le phosphore**

L'analyse de phosphore montre des teneurs élevées dans les 03 sols avec des valeurs proches (20,2 et 20,8 ppm).

❖ **Le fer**

Pour une meilleure analyse, la valeur de la teneur en fer est supérieure à 200 ppm. D'après les résultats on observe une teneur élevée pour le sol de *G.numidica* (270 ppm) et des teneurs faibles pour les sols de *G.ferox* et *G.tricuspidata* (189 ppm et 192 ppm) respectivement.

❖ **Les bases échangeables**

• **Le calcium (Ca²⁺)**

D'après les résultats la plupart des concentrations en calcium oscillent entre 1,5 et 1,7 meq/100g sont des teneurs très faibles.

• **Le magnésium (Mg⁺):**

D'après les résultats, les sols de *G.ferox* et *G.tricuspidata* possèdent une teneur en magnésium modérée (1,14 et 1,08 meq/100g) respectivement par contre le sol de *G.numidica* possède une teneur faible 0,96 meq/100g.

• **Le sodium (Na⁺)**

La majorité des sols présentent des teneurs en sodium échangeable très élevées comprises entre 1,73 et 3,73 meq/100g. Peut être ceci est dû à la proximité des biotopes des trois genêts de la mer.

• **Le potassium (K⁺):**

Les résultats des analyses obtenues montrent des teneurs élevées en potassium oscillent entre 0,99 à 1,15 meq/100g.

Conclusion partielle:

Les résultats obtenus au niveau des différents paramètres effectués sur les sols des 03 genêts, nous ont permis de dégager ce qui suit :

-Les 03 sols sont poreux avec des texture limono-sableuses, Sols modérément calcaires et légers ($A < 10\%$) avec un pH alcalin, permettant une bonne biodisponibilité des éléments minéraux avec une très faible salinité.

- Le sol de *G.feroxest* caractérisé par une faible teneur en matière organique et une faible immobilisation d'azote, une faible activité biologique et une disponibilité de l'azote faible, par contre les deux autres sols sont riches en matière organique avec une forte immobilisation où la disponibilité de l'azote est négative.

- Les 03 sols sont dominés par le sodium, le potassium et le magnésium échangeable, riches en phosphore et en fer mais; pauvres en azote et en calcium.

En absence de données sur les exigences pédologiques des trois genêts, nous ne pouvons savoir si ces sols répondent aux besoins des trois genêts. Pour cela, nous essaierons d'exploiter quelques indices qui nous permettront d'estimer la qualité trophique des trois sols.

2. Qualité trophique des sols:

Afin de déterminer les stratégies de gestion des ressources hydriques, nous avons calculé ; la surface foliaire de la feuille (SF) (Tableau 14), la surface foliaire spécifique (SLA) et le LDMC (Leaf Dry Matter Content).

2.1. Surface foliaire

Tableau 14: Surface foliaire des 03genêts

	M₁(mm)	M₂(mm)	E₁	E₂	SF(mm²)
GT	11.43	3.83	1.40	0.53	22.11
GF	12.96	4.36	2.73	0.76	28.66
GN	10.93	2.86	2.39	1.008	15.41

M₁ : moyenne des longueurs ; M₂ : moyenne des largeurs ; E₁ : écartype des longueurs E₂ : écartype des largeurs ; SF : surface foliaire.

2.2. Détermination de la SLA et la LDMC

Tableau 15: Détermination de la SLA et de la LDMC

	P ₁ (mg)	P ₂ (mg)	SF(mm ²)	SLA(mm ² /mg)	LDMC
GT	7.25.	2.6	22.11	8.50	0.35
GF	8.91	3	28.66	9.55	0.33
GN	9.2	2.2	15.41	7.00	0.23

P₁ : poids moyen d'une feuille fraîche ; P₂ : poids d'une feuille après dessiccation pendant 2h à 105°C ; SF : surface foliaire ; SLA : surface spécifique de la feuille ; LDMC : rapport de la masse de matière sèche par unité de matière fraîche.

Les indices dénotent une faible LDMC et une forte SLA pour les trois genêts (Tableau 15). Il est admis que les plantes à fort LDMC et à faible SLA sont des plantes à feuilles coriaces. A l'opposé, on trouve que les plantes de type herbacé sont à fort SLA et à faible LDMC. C'est le cas des genêts dont les feuilles sont assez tendres et pauvres en matière sèche. Ceci prouve que le niveau trophique du substrat n'est pas un facteur limitant. En plus, une forte SLA indique une plus grande proportion de mésophylle comparée à celle de tissus de soutien (sclérenchyme) à forte teneur en lignine, hémicellulose...etc (Van Arendonk et Poorter, 1994). La masse de matière sèche par unité de matière fraîche (LDMC) représente la masse de composés structuraux de la feuille obtenue après déshydratation (Garnier *et al*, 2001). Une LDMC élevée signifie que les composés organiques sont préférentiellement investis dans la structure de soutien et protection (sclérenchyme, cuticule, cire,...). Ceci sera confirmé par l'étude anatomique des feuilles des trois genêts.

3. Caractères morpho-anatomiques des trois genêts

3.1 Caractères morphologiques

3.1.1. *Genista numidica* sp. *numidica*

G. numidica est un arbrisseau à tige sillonnée-côtelée (Photo 6). Les feuilles inférieures sont trifoliolées et les supérieures unifoliées, elles sont minuscules, avec une longueur moyenne de 11,43 mm et une largeur moyenne de 3,83 mm enroulées sur la face inférieure. (Photos 9 et 10). Les folioles sont spatulées, obtuses, entières, pubescentes surtout sur la face supérieure. Inflorescences en grappes terminales (Photos 4 et 5). La fleur est zygomorphe de couleur jaune doré avec un périanthe

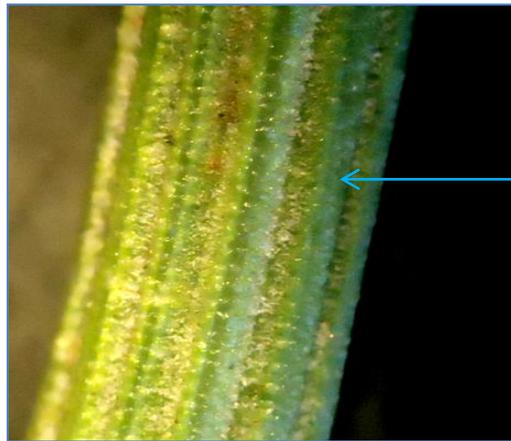
hétérochlamyde (**Photo 7**) comportant un calice gamopétale persistant bilabié (**Photo 8**), la corolle est du type papilionacé. L'androcée est monadelphes, le fruit est une petite gousse brunâtre. Le pollen est de type tricolpé (**Photo 11**). Le système racinaire est pivotant (**Photo 12**).



Photo 04 : Rameau florifère de *Genista numidica* en herbier (Cliché ATLS)



Photo 05 : Inflorescence en grappe (Cliché ATLS)



Sillon abritant des cryptes

Photo06 : Aspect côtelé de la tige de *G. numidica* vue sous binoculaire
(Cliché ATLS)



Photo 07: La fleur, la foliole et le fruit (gousse) de *Genista numidica ssp numidica*
(Cliché ATLS)



Photo 08 : Calice bilabié (Cliché ATLS)



Photo 09 : Morphologie de la feuille de *G. numidica* (face supérieure) vue sous binoculaire (Cliché ATLS)



Photo 10 : Morphologie de la feuille de *G. numidica* (face inférieure) vue sous binoculaire (Cliché ATLS)

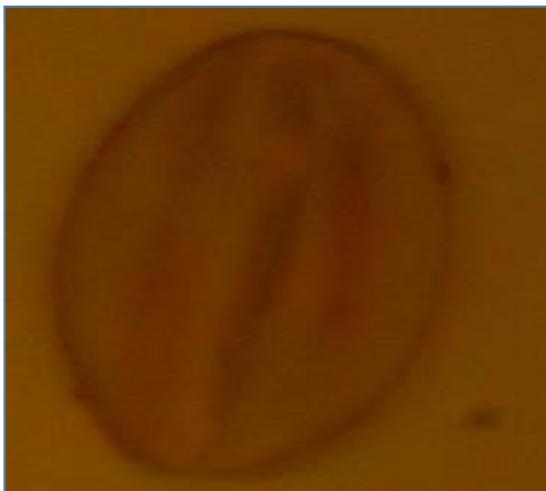


Photo 11: Pollen tricolpé de *G. numidica* (Cliché ATLS)



Photo 12: Système racinaire pivotant de *G. numidica* (Cliché ATLS)

3.1.2 *Genista ferox* Poiret

C'est un arbuste (**Photo 13**), dont les rameaux jeunes sont sillonnés-côtelés pubescents (**Photo 14**). Les feuilles de *G. ferox* sont minuscules, unifoliées, lancéolées et velues, avec une extrémité acuminée. Elles ont une longueur moyenne de 12,96 mm et une largeur maximale moyenne de 4,36 mm (**Photos 18 et 19**), celles sur les vieux rameaux se transforment en énormes épines (**Photo 15**). La fleur est de couleur jaune doré bilabée (un étendard, deux ailes et une carène), l'androcée est à 10 étamines monadelphes, 5 longues et 5 courtes. Le pistil est à stigmate bifide (**Photo**

16). La gousse est linéaire, lomentacée, aplatie et multiséminée avec le calice persistant (**Photo 17**)



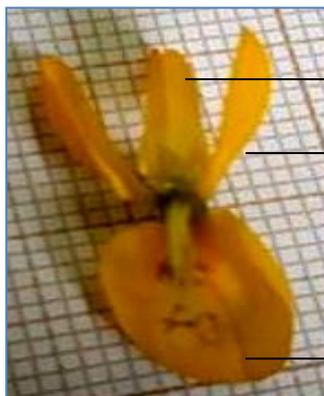
Photo 13 : *G. ferox* en fleurs (Cap de garde) (Cliché ATLS)



Photo 14 : Aspect sillonné de la tige de *G. ferox* (Cliché ATLS)



Photo 15 : Rameau de *G. ferox* (Cliché ATLS)



Carène
Aile
Etendard



Pistil
Etamine
Calice

Photos 16 : Pièces florales de *G. ferox* (Cliché ATLS)



Photo 17: La fleur, la feuille et le fruit (gousse) de *G. ferox* (Cliché ATLS)

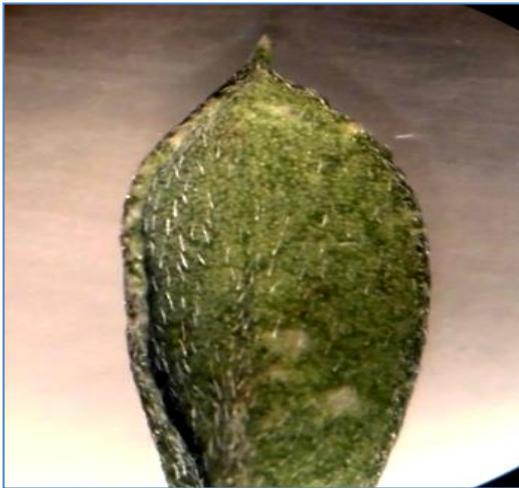


Photo 18 : Morphologie de la feuille de *G. ferox* (face supérieure) vue sous binoculaire (Cliché ATLS)



Photo 19: Morphologie de la feuille de *G. ferox* (face inférieure) vue sous binoculaire (Cliché ATLS)

L'inflorescence est en grappe condensée (**Photo 20**), le système racinaire est pivotant (**Photo 21**). Le pollen est du type tricolpé, c'est-à-dire que le grain de pollen possède comme ouvertures trois *colpus* ou sillons (**Photo 22**).



Photo 20 : Inflorescence en grappe de *Genista ferox* vue sous binoculaire (Cliché ATLS)



Photo21 : Système racinaire pivotant d'un jeune plant de *Genista ferox* (Cliché ATLS)



Aperture= sillon

Photo 22 : Pollen tricolpé de *Genista ferox*
(Vues polaire et équatoriale)(Cliché ATLS)

3.1.3 *Genista tricuspidata*

C'est un arbrisseau épineux(**Photo 23**). Les feuilles sont unifoliolées, lancéolées, entières, aiguës et minuscules avec une longueur moyenne de 11,43 mm et une largeur moyenne de 3,83 mm, elles sont très velues sur les deux faces (**Photos 25 et 26**). Inflorescence en grappe. La fleur est de couleur jaune, corolle papilionacée, l'androcée est monadelphé, le pollen est tricolpé. La gousse est ovoïde de couleur brune entourée à la base par le calice et la corolle marcescents uni ou biséminée(**Photo 24**).



Photo 23: *Genista tricuspidata* Desf (Cliché Ati S)



Photo 24 : La fleur, la feuille et la gousse de *Genista tricuspidata* (Cliché ATLS)



Photo 25: Morphologie de la feuille de *G.tricuspidata* (face supérieure) vue sous binoculaire (Cliché ATLS)



Photo 26 : Morphologie de la feuille *G. tricuspidata* (face inférieure) vue sous binoculaire (Cliché ATLS)

3.2. Phénologie des trois genêts

Le stade végétatif de *Genista numidica* s'installe au mois de mars alors que la plante commence à fleurir à partir du mois d'avril et se poursuit jusqu'à juin. Le stade végétatif de *Genista ferox* s'installe au mois de Février alors que la plante commence à fleurir à partir du mois de mars et se poursuit jusqu'à mai. Dans les conditions climatiques de Tipaza, l'appareil végétatif de *G. tricuspidata* s'installe au mois de Février alors que la plante commence à fleurir à partir du mois de mars et se poursuit

jusqu'à mai. On remarque que les trois genêts bouclent leurs cycles biologiques dès l'installation des grandes chaleurs et contournent ainsi la longue saison sèche qui dure près de 04 mois.

3.3. Caractères anatomiques des trois genêts

3.3.1. *Genista numidica*

Tige : l'aspect crevassé de la tige révèle l'existence de cryptes stomatifères et Pilifères (**Photo 27**)

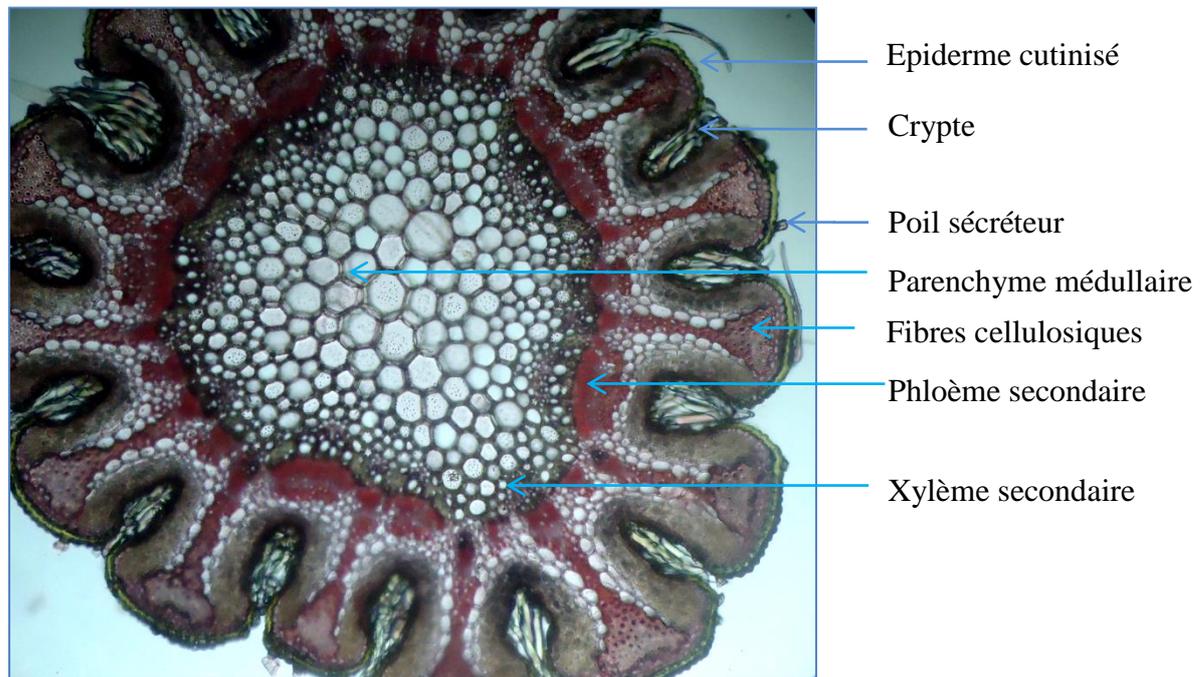


Photo27 : Coupe transversale de la tige, vue au microscope optique (GX10)
(Cliché ATLS)

La tige présente des invaginations très profondes grâce à des replis de l'épiderme soutenus par des fibres cellulosiques (**Photo 28**). Au niveau des invaginations se localisent des cryptes abritant des stomates et des poils tecteurs unicellulaires transparents (**Photo 29**).

Cette structure anatomique, de par la présence de poils insérés dans l'épiderme, la localisation des stomates dans les cryptes stomatifères et pilifères ralentit la transpiration, en effet, l'eau rejetée à l'état de gaz se condense à l'état liquide sur les poils ce qui crée une micro-atmosphère plus humide que le milieu extérieur. L'appareil conducteur est peu développé, le bois est hétéroxylé et le parenchyme

médullaire est formé de cellules de taille décroissante en partant du centre de la coupe (Photo 30).

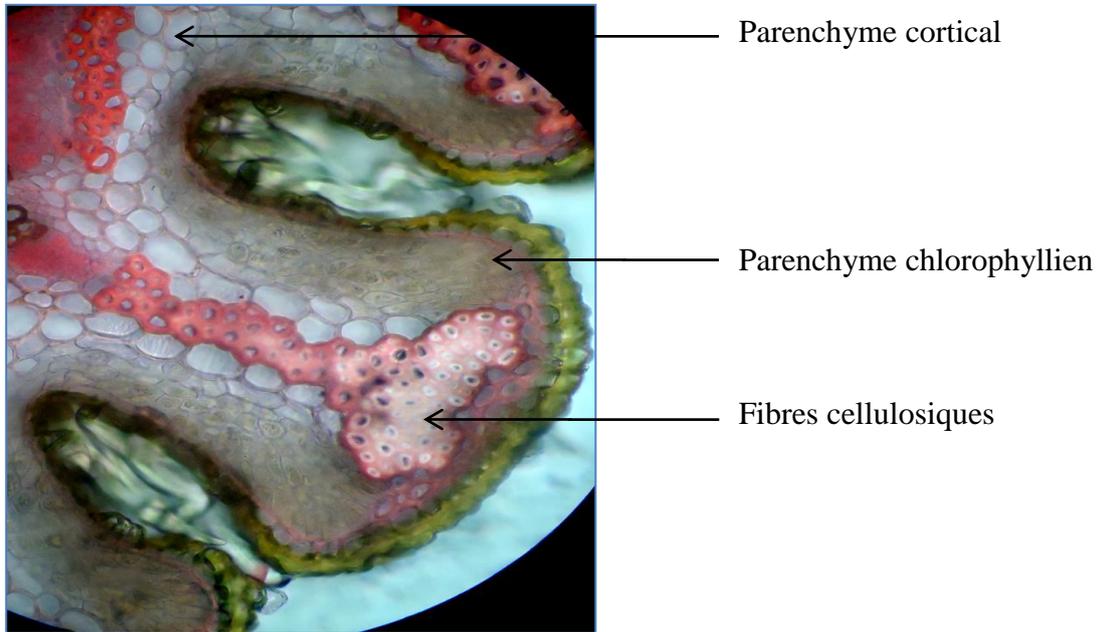


Photo 28 : Détail des fibres cellulosiques vues sous microscope optique (Grx40)(Cliché ATLS)

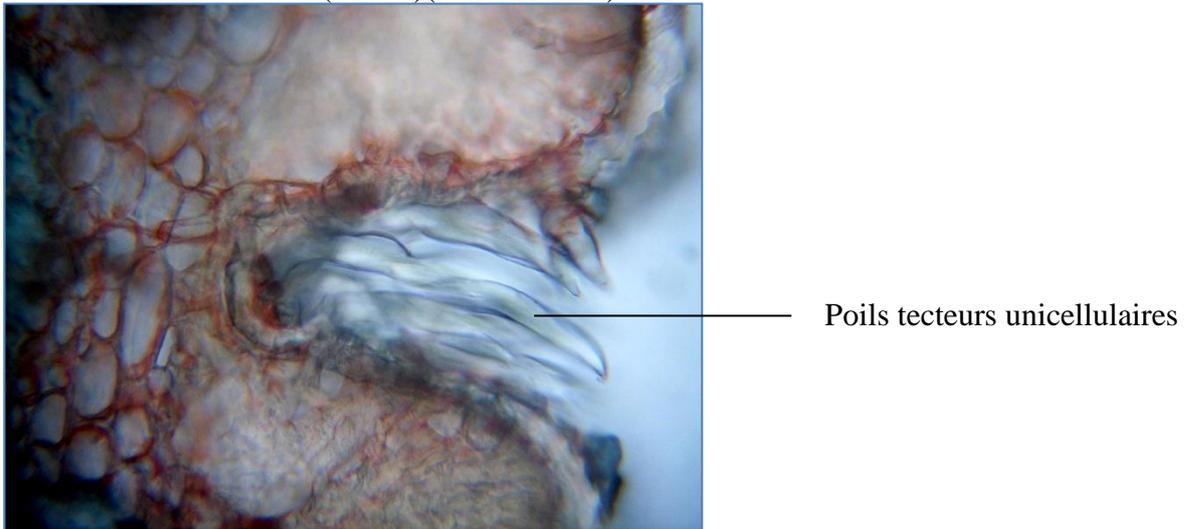


Photo 29 : Détail d'un crypte stomatifère et pilifère de *G. numidica* vu sous microscope optique (Grx40) (Cliché ATLS)

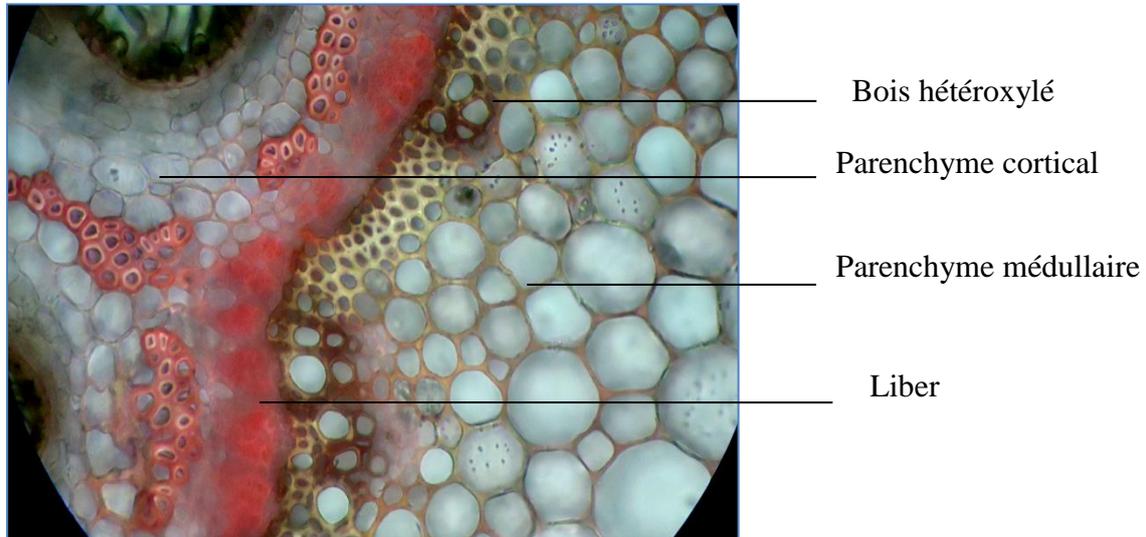


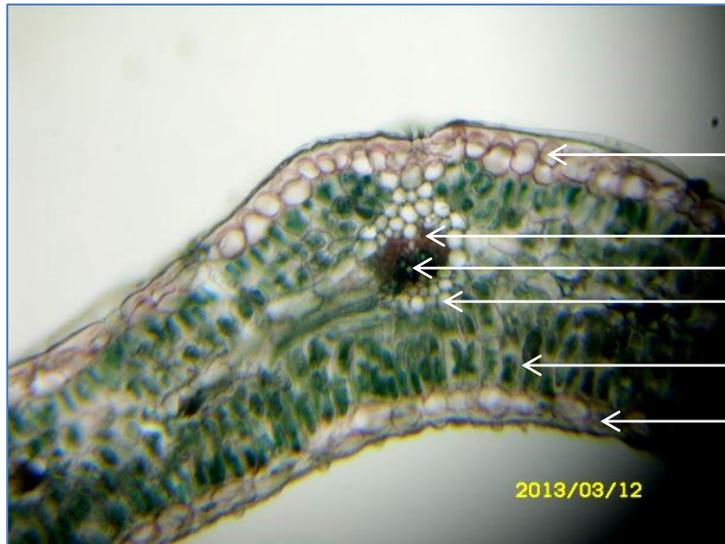
Photo30 : Pachyte (Tissu conducteur secondaire) chez la tige de *G. numidica* vu sous microscope optique (Grx40) (Cliché ATIS)

Feuille:

La feuille est de structure très simple, Le limbe étant vertical (à orthophototropisme positif), elle présente un parenchyme chlorophyllien sur les deux faces. Ceci a entraîné un très faible développement du parenchyme lacuneux qui prend une position centrale. On remarque la présence de poils tecteurs unicellulaires et des poils sécrétieurs glandulaires en nombre réduit (**Photo 34**).

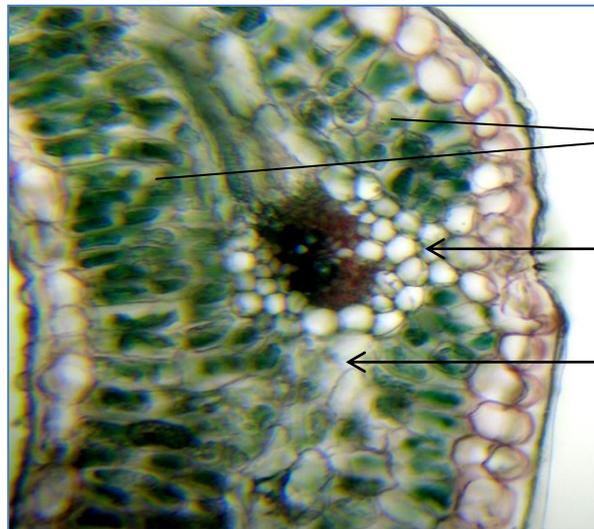
L'épiderme est fortement cutinisé. Les stomates enfoncés échappent à l'action du vent, limitant ainsi les pertes en eau, le même rôle est joué par les poils qui empêchent en plus, la feuille de surchauffer.

Dans les nervures, le xylème est toujours du côté de la face supérieure de la feuille tandis que le phloème est sur la face inférieure. En plus de leur rôle dans la conduction, les nervures apportent un soutien mécanique à la feuille, d'autant qu'elles sont entourées par une gaine périvasculaire, elle-même soutenue par un lot de cellules collenchymateuses sous l'épiderme inférieur (**Photo 31**). Les stomates sont, répartis sur les deux faces (**Photos 32 et 33**). On remarque la présence de quelques poils sécrétieurs (**Photo 34**)



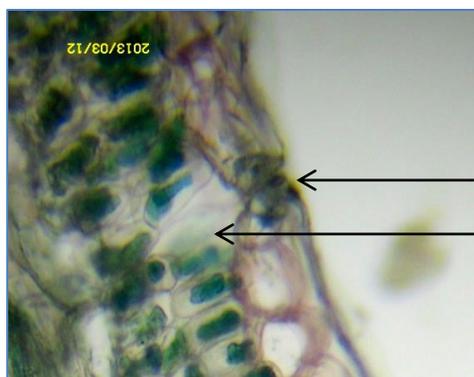
- ← Epiderme inférieur
- ← Phloème secondaire
- ← Xylème secondaire
- ← Gaine périvasculaire
- ← Parenchyme palissadique
- ← Epiderme supérieur

Photo 31: Coupe transversale de la feuille, vue au microscope optique (GX10)
(Cliché ATLS)



- ← Parenchymes chlorophylliens
- ← Collenchyme
- ← Parenchyme lacuneux

Photo 32 : Coupe transversale de la feuille de *G. numidica* vue au microscope optique
(GX40) (Cliché ATLS)



- ← Cellule stomatique
- ← Chambre sous stomatique

Photo 33 : Détail du stomate, vu au microscope optique GX40 (Cliché ATLS)

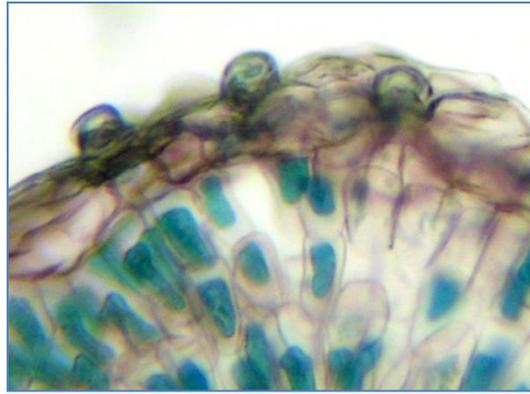


Photo34 : Détail du poil sécréteur glandulaire, vu au microscope optique (GX40)
(Cliché ATLS)

3.3.2 .*Genista ferox*

Tige : La coupe histologique d'une tige jeune dévoile une section polygonale et des invaginations de l'épiderme ce qui crée des cryptes pilifères moins denses que chez *G. numidica*. La structure est secondaire. L'organe est riche en tissus de soutiens, des fibres cellulósiques au niveau de l'écorce et des fibres sclérifiées qui s'alternent avec le xylème secondaire hétéroxylé dans le cylindre central (**Photo 35**). L'épiderme est cutinisé couvert de poils tecteurs unicellulaires et de poils sécréteurs, le parenchyme cortical est très réduit (**Photo 36**).

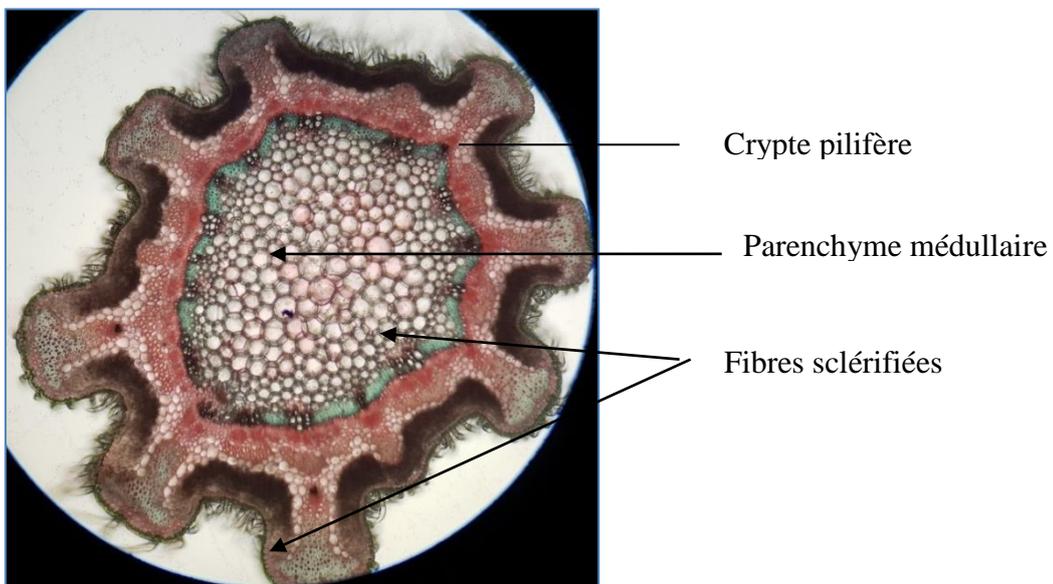


Photo 35 : Allure générale de la tige de *G. ferox* sous microscope optique
(Gr x 10) (Cliché ATLS)

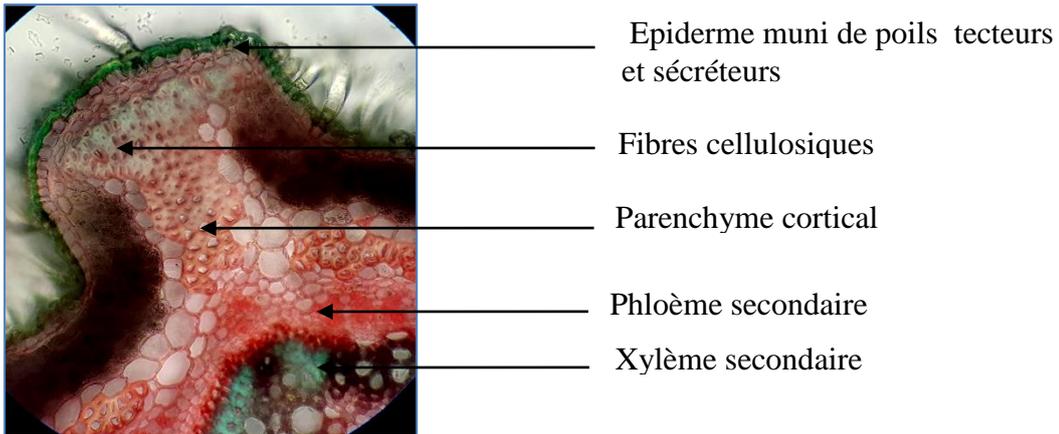


Photo 36: Structure anatomique de la tige de *G. ferox* vue au microscope optique (Gr x 40) (Cliché ATLS)

Feuille : La feuille présente un parenchyme palissadique sur les deux faces (**Photo 37**). Elle est dotée de poils sécréteurs glandulaires (**Photo 38**) et elle est très riche en poils tecteurs unicellulaires (**Photo 39**).

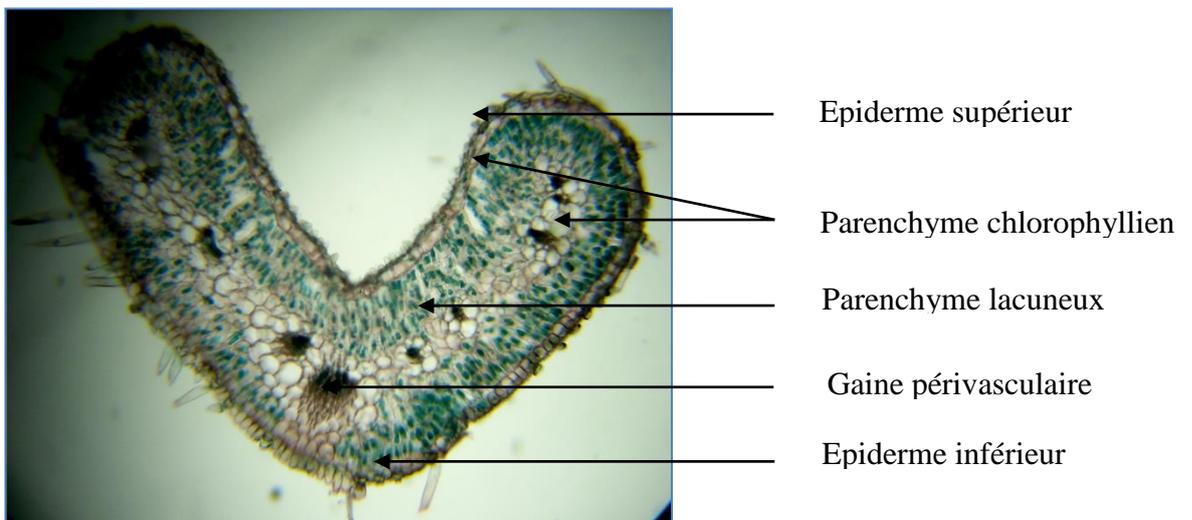
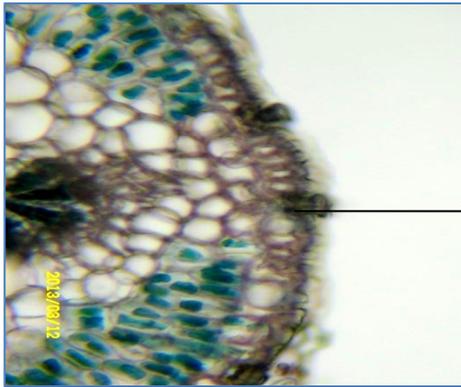
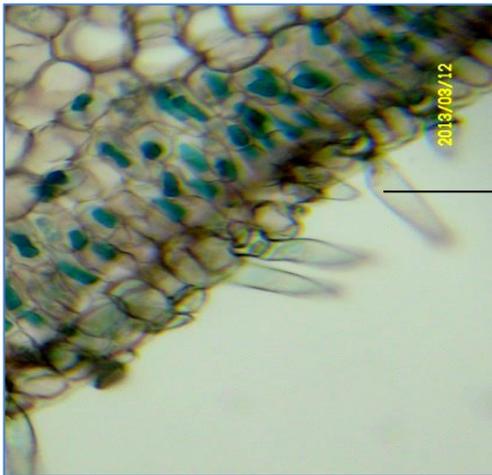


Photo 37 : Coupe transversale de la feuille, vue au microscope optique GX10 (Cliché ATLS)



Poil sécréteur glandulaire

Photo 38: Epiderme avec des poils sécréteurs glandulaires, vus au microscope optique GX40 (Cliché ATIS)



Poil tecteur unicellulaire

Photo 39 : Détail des poils tecteurs unicellulaires, vus au microscope optique (GX40) (Cliché ATIS)

3.3.3. *Genista tricuspidata*

Tige: Sous le microscope optique au grossissement x 10, la tige présente une section polygonale grâce à des dépôts de collenchymes angulaires (**Photo 40**).

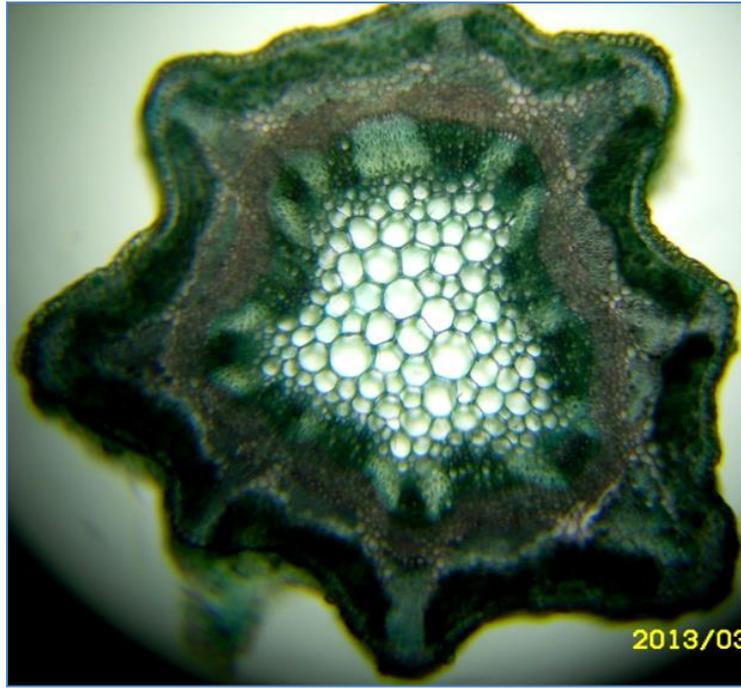


Photo 40 : Allure générale de la coupe transversale de la tige de *G. tricuspidata* vue au microscope optique (Gr x10) (Cliché ATLS)

L'observation microscopique de la coupe histologique de la tige (**Photo 41**) fait ressortir les caractères anatomiques suivants :

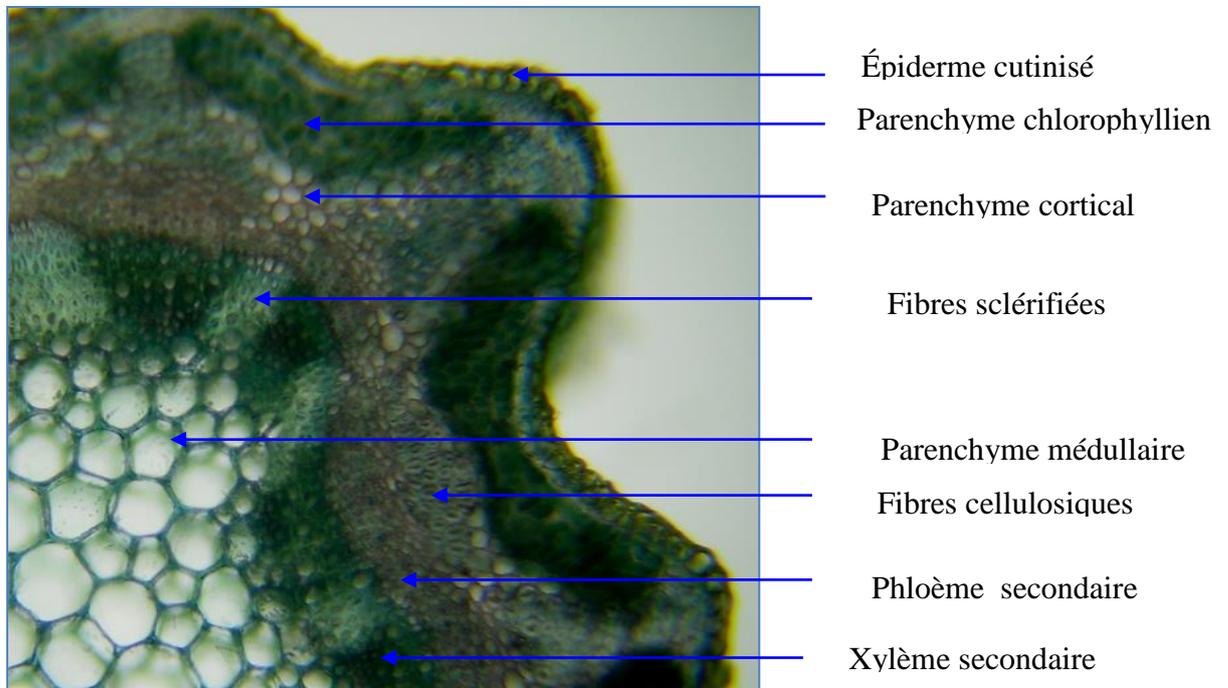


Photo 41 : Structure de la coupe transversale de la tige de *G. tricuspidata* vue au microscope optique (Gr x10) (Cliché ATLS)

La tige est très riche en tissus de soutien tels les fibres cellulosiques, les fibres sclérifiées et un collenchyme. Le parenchyme chlorophyllien est interrompu au niveau des angles par des collenchymes angulaires. L'épiderme est cutinisé

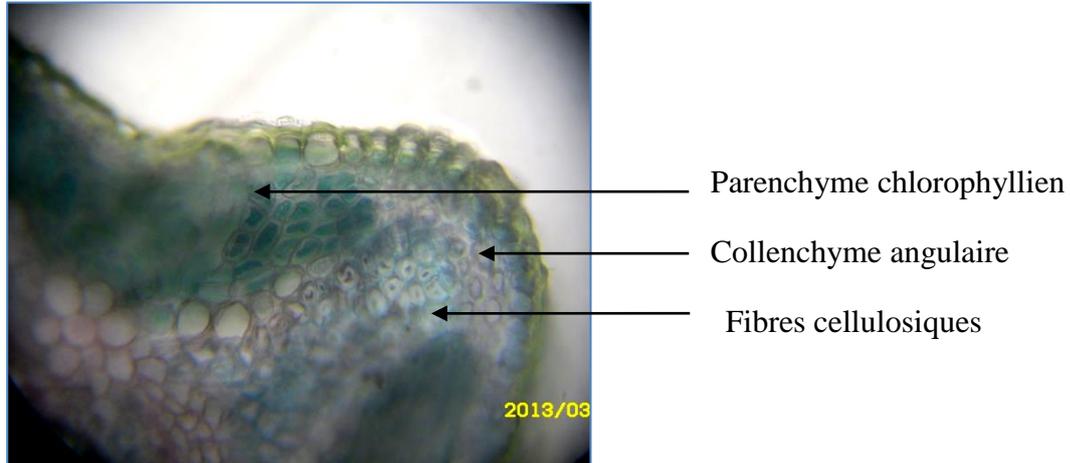


Photo42 : Détail du collenchyme angulaire, vu au microscope optique GX40 (Cliché ATLS)

Feuille:

La coupe histologique de la feuille révèle l'existence d'un parenchyme palissadique (chlorophyllien) sur les deux faces, contrairement aux feuilles des espèces dicotylédones (**Photo 43**). Ceci est dû à la petitesse des feuilles, ce qui entraîne leur orthophototropisme positif ce qui engendre, à son tour, une exposition similaire des deux faces du limbe au soleil. Les faisceaux cribro-vasculaires apparaissent alignés le long du limbe soutenus par une gaine périvasculaire. L'épiderme est cutinisé (**Photo 45**). Les stomates sont répartis sur les deux faces de la feuille (**Photos 44 et 45**).



Photo 43 : Coupe transversale de la feuille, vue au microscope optique GX10
(Cliché ATLS)



Photo44: Stomate au niveau de l'épiderme inférieur vu au microscope optique
(Gr x 40) (Cliché ATLS)

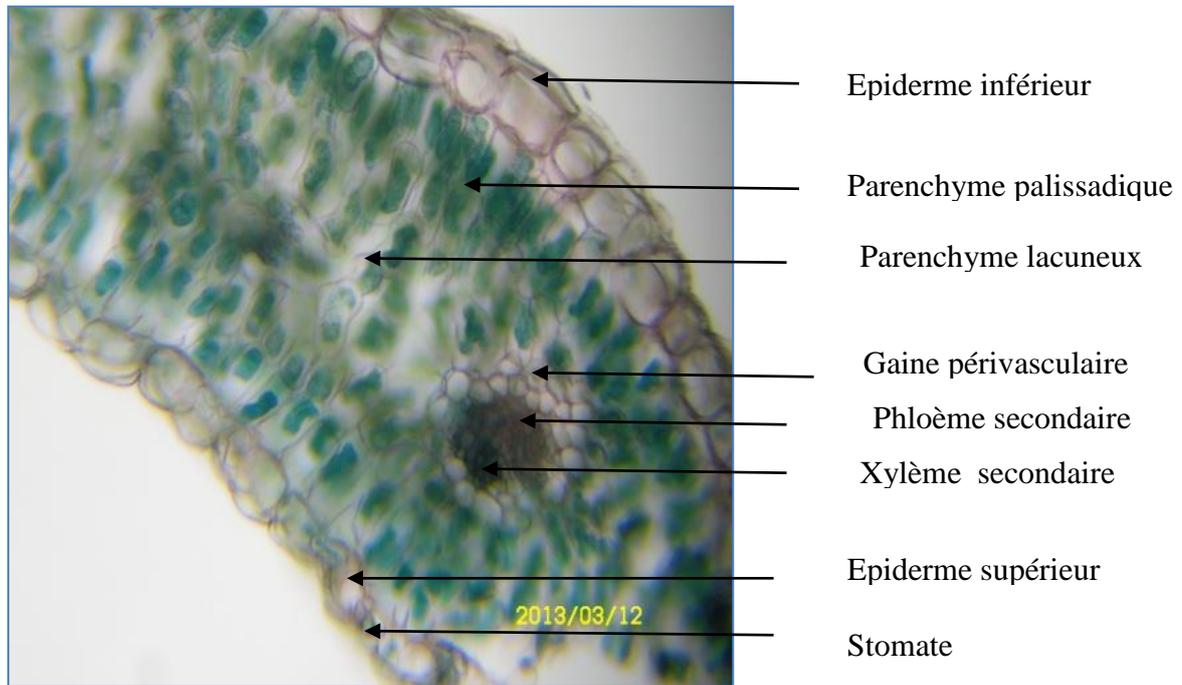


Photo45: Coupe transversale de la feuille, vue au microscope optique GX40 (Cliché ATLS)

Conclusion partielle

Les tiges de *G. numidica* et de *G. ferox* sont riches en cryptes stomatifères et pilifères (notamment *G. numidica*).

Les feuilles des trois genêts sont riches en tissus cellulosiques hydrophiles, ce qui explique leur richesse en eau (Cfteneur en eau dans l'étude analytique). La présence de deux parenchymes palissadiques, situées sur les deux faces supérieure et inférieure, pourrait fortement diminuer l'évapotranspiration foliaire car l'eau reste stockée au niveau du parenchyme lacuneux qui est réduit et prend une position centrale et profonde.

La morphologie et l'anatomie des feuilles dépendent de leur niveau d'éclairement et par conséquent de leur position et de leur orientation par rapport au soleil (**Smith et al, 1997**).

L'épiderme des feuilles est recouvert d'une cuticule épaisse, couche cireuse imperméable qui diminue l'évaporation foliaire; il est doté aussi de poils sur les deux faces. Ces derniers non seulement ralentissent le renouvellement de l'air au voisinage des stomates, maintenant ainsi une humidité relativement élevée, et par conséquent aident à la baisse de la transpiration (**Ehleringer, 1982**) mais également peuvent réfléchir les rayons solaires entraînant une baisse de la température au niveau de la

feuille(Ehleringer, 1980). Cette anatomie concorde avec les résultats des valeurs de la LDMC obtenus qui étaient très faibles parce que les structures de feuilles sont exemptes de tissus sclérifiés et lignifiés mis à part le tissu xylémien qui occupe une faible surface dans le mésophille des trois genêts.

4. Etude analytique

4.1 Teneur en eau et en minéraux des trois genêts

Tableau16: Teneur en eau et composition minérale des 03 genêts

Espèces	<i>G.numidica</i>		<i>G.ferox</i>		<i>G.tricuspidata</i>	
Organes	Fleurs	Feuilles	Fleurs	Feuilles	Fleurs	Feuilles
Eau (%)	/	76,08	/	66,32	/	64.13
MS (%)	/	23.91	/	33.67	/	35.86
MM (%)	17.4	15.1	15.6	15.7	17	15.6
Ca ⁺⁺ (%)	0.14	0.21	0.12	0.17	0.17	0.28
Mg ⁺⁺ (%)	0.052	0.078	0.046	0.064	0.065	0.10
K ⁺ (%)	0.36	0.35	0.44	0.36	0.40	0.40
Na ⁺ (%)	0,55	0,54	0,66	0,55	0,62	0,62
P (%)	0.097	0.117	0.121	0.039	0.114	0.064
N (%)	0.05	0.011	0.029	0.06	0.016	0.021
Fe (%)	0.085	0.0325	0.096	0.063	0.053	0.109

4.1.1 Teneur en eau:

Nous constatons que les feuilles des plantes sont riches en eau, notamment les feuilles de *G.numidica* (76,08 % contre 66,32% et 64.13% pour respectivement *G.ferox* et *G. tricuspidata*).

4.1.2 Teneur en éléments minéraux

La composition des végétaux en éléments minéraux varie en fonction de l'espèce, de l'âge et de la nature des organes et de la composition du sol.

D'après les résultats (Tableau 16), nous remarquons qu'à ce stade de développement (floraison), les trois espèces possèdent sensiblement, le même taux de matière minérale (15%) les fleurs sont légèrement plus riches en minéraux que les feuilles chez *G.numidica* et *G.tricuspidata*, peut être ceci est dû à la préparation de la phase de nouaison (transformation de l'ovaire de la fleur fécondée en fruit).

Le sodium (Na^+) semble être le composant le plus dominant avec des taux situés entre 0,54% et 0,66% de la MS aussi bien dans les fleurs que dans les feuilles, suivi par le potassium (K^+) avec des valeurs comprises entre 0,35% et 0,44% de la MS puis vient le calcium (Ca^{++}) avec des taux compris entre 0,14% et 0,28%, notamment dans les feuilles. Les taux en phosphore et en fer sont faibles et ils sont compris entre 0.0325 % et 0.121%. En dernier lieu, les taux qui sont les plus faibles sont celles de l'azote et du magnésium (Mg^{++}) avec des valeurs allant de 0.01% à 0.10%. Le faible taux en azote chez les trois espèces pourrait être expliqué par son utilisation dans la synthèse des protéines. En effet, les fabacées sont connues par leur richesse en protéines.

Les taux en minéraux des plantes sont corrélés avec ceux des sols avec un coefficient de corrélation positif de $r^2 = 0,594$ (**Annexe 04**).

4.2. Screening phytochimique :

La méthode du screening phytochimique utilisée a permis de mettre en évidence la présence, des flavonoïdes, des tanins, des saponines, Coumarines, sucres réducteurs et les stéroles et les terpènes dans les deux organes des 03 espèces et la présence des alcaloïdes uniquement dans les feuilles, la présence des anthocyanes chez *G.numidica* uniquement et l'absence, des leuco-anthocyanes dans les 03 espèces (Tableau 17 et les photos 47 à 51).

Tableau 17 : Screening phytochimique des 03 plantes

Espèces Composant	<i>G. numidica</i>		<i>G. tricuspidata</i>		<i>G. ferox</i>	
	Feuilles	Fleurs	Feuilles	Fleurs	Feuilles	Fleurs
Tanins	+	+	+	+	+	+
Anthocyanes	+	+	-	-	-	-
Leuco-anthocyanes	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	+	+	+	+	+	+
Saponines	+	+	+	+	+	+
Alcaloïdes	+	-	+	-	+	-
Stérols et Tèrpènes	+	+	+	+	+	+
Sucres réducteurs	+	+	+	+	+	+
Coumarines	+	+	+	+	+	+

(-) absence

(+) présence

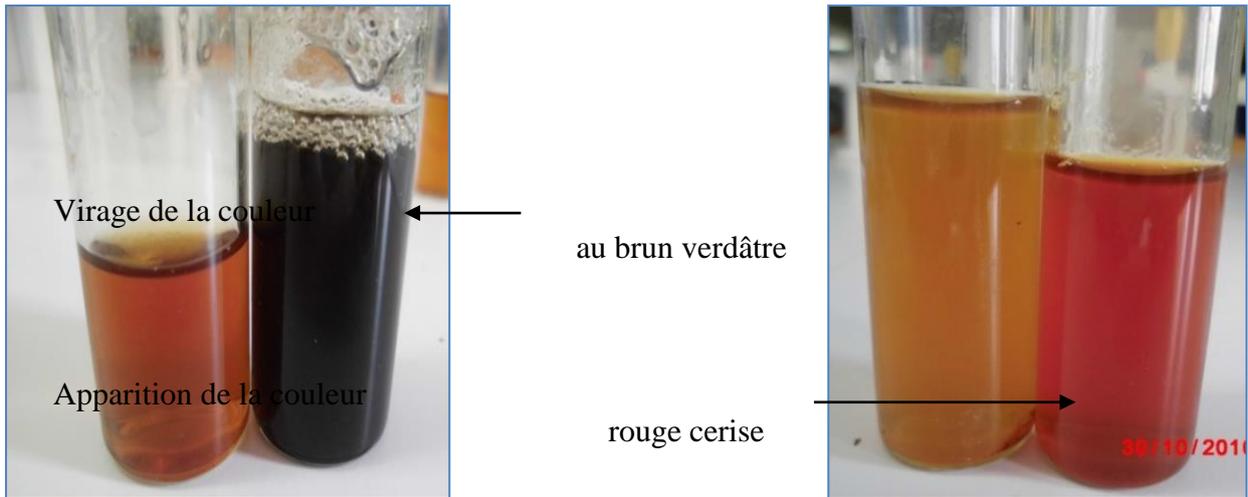


Photo 46: Screening des tannins **Photo 47:** Screening des anthocyanes
(Cliché ATLS) (Cliché ATLS)

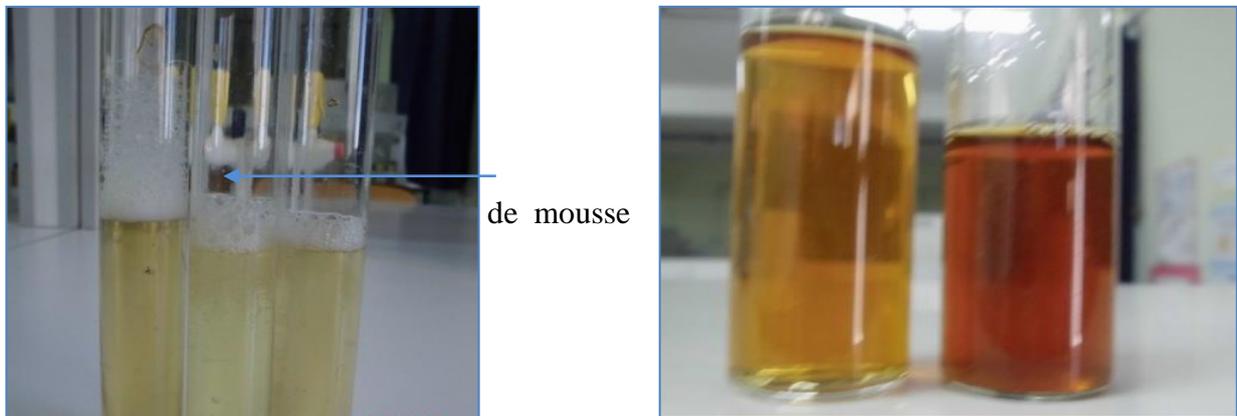


Photo 48: Screening des saponines **Photo 49:** Screening des flavonoïdes
(Cliché ATLS) (Cliché ATLS)



(Cliché ATLS) (Cliché ATLS)

5 - Etude thérapeutique

Ayant constaté que les trois genêts contenaient sensiblement les mêmes classes bioactives, nous avons voulu comparer leurs compositions quantitatives en flavonoïdes, tannins et en polyphénols totaux ainsi que leur activité antioxydante.

5.1. Rendement des extractions:

Les extraits méthanoliques obtenus ont généré des rendements variables (Tableau 18) le meilleur rendement a été enregistré chez *G. numidica* (20% feuilles) suivi par *G. ferox* 17% (feuilles et fleurs) les fleurs de *G. numidica* et *G. tricuspidata* génèrent le même rendement (10%). Les feuilles de cette dernière espèce donnent le rendement le plus faible (5%).

Tableau 18: Les rendements d'extraction (%) des 03 plantes

Espèce	<i>G. numidica</i>		<i>G. ferox</i>		<i>G. tricuspidata</i>	
Organe	Feuilles	Fleurs	Feuilles	Fleurs	Feuilles	Fleurs
Rendement (%)	20	10	17	17	5	10

5.2. Dosage des phénols totaux:

Le dosage des phénols totaux effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée de **Singleton et Ross (1965)** avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (**Annexe 05**)

La quantité en polyphénols est variable entre les 03 plantes (Figure 13). On remarque que *G. numidica* est la plus riche en polyphénols pour les fleurs et les feuilles ($113 \pm 3,87$ mg GAE/g et $79,6 \pm 3,49$ mg GAE/g respectivement) par rapport à *G. ferox* ($86,66 \pm 4,10$ mg GAE/g et $65 \pm 1,74$ mg GAE/g) et *G. tricuspidata* ($53,06 \pm 0,64$ mg GAE/g et $51 \pm 0,72$ mg GAE/g).

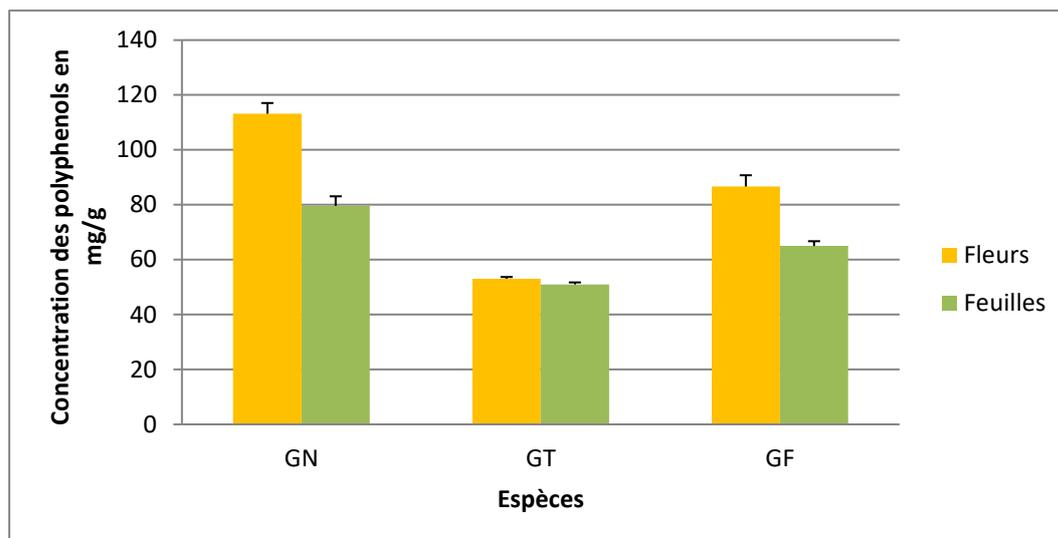


Figure 13: Teneur en polyphénols totaux des 03 espèces (en mg GAE/g)

5.3. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique décrite par (Zhishen *et al*, 1999). La quercétine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, à partir de laquelle on a calculé la teneur en flavonoïdes des feuilles et des fleurs de chacune des espèces de *Genista* exprimée en mg équivalent de quercétine (QE) par gramme de matière végétale sèche. (Annexe06).

D'après les résultats de l'analyse quantitative des flavonoïdes (Figure 14), on constate que *G.numidica* renferme la plus forte teneur en flavonoïdes que ce soit dans les fleurs que dans les feuilles avec respectivement $85,47 \pm 1,51$ mg QE/G et $87,31$ mg QE/g. *G. ferox* présente une teneur moins importante comparée à *G. numidica* avec respectivement $61,90 \pm 1,46$ mg QE/g et $56,06 \pm 1,45$ mg QE/g. *G.tricuspidata* avec les teneurs $44,91 \pm 0,32$ mg QE/g et $44,70 \pm 1,14$ mg QE/g, représente l'espèce la moins riche en flavonoïdes.

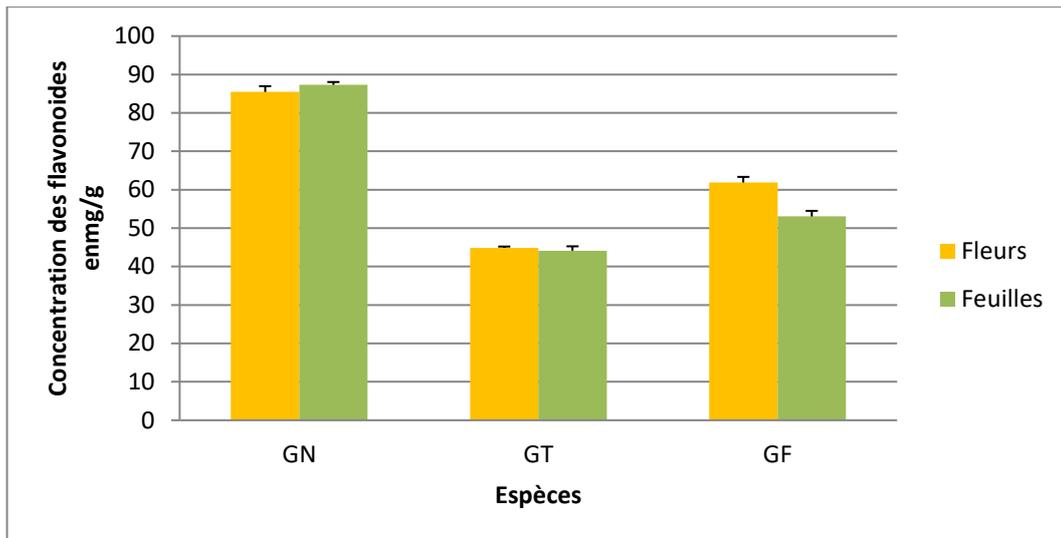


Figure 14: Teneur en Flavonoïdes des 03 espèces (en mg QE/g)

5.4. Dosage des tannins:

La quantification des tanins a été effectuée par une méthode adaptée par (Zhang et al, 2008). Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant de la catéchine comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg EC/g)(Annexe 07).

L'analyse quantitative des Tanins des 03 espèces (Figure 15) a montré les teneurs les plus importantes dans les feuilles et les fleurs de *G.ferox* (44,36mgCE/g et 39,81±0,32mg CE/g) respectivement suivies par les fleurs de *G.tricuspidata* (39,36±0.32mg CE/g) et les feuilles de *G.numidica* (37,77±0.64mg CE/g). Enfin les fleurs de *G.numidica*(30,27mg CE/g) et les feuilles de *G.tricuspidata* (30,18±0.83mg CE/g) ont généré les teneurs les plus faibles.

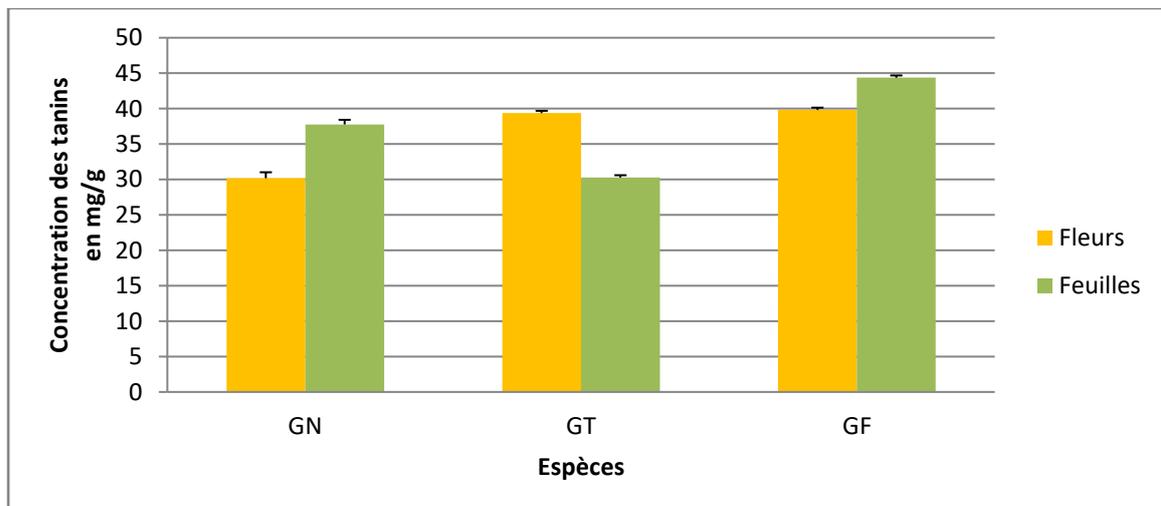


Figure15: Teneur en Tanins des 03 espèces (en mg CE/g)

Selon les travaux de (Bencherchar et al, 2017) la teneur en polyphénols obtenue dans deux extraits de tiges et de feuilles de *Genista ferox* récoltée dans la région d'El Kala a été comprise entre 105.2 ± 0.6 à 308.5 ± 5.7 mg GAE/g et celle des flavonoïdes a été comprise entre 8.1 ± 0.1 à 124.0 ± 0.7 mg QE/g.

Des études sur d'autres espèces de *Genista* ont montré des teneurs très variables. Ainsi, pour *Genista cephalantha* les teneurs étaient de l'ordre de 124.64 ± 20.22 et 156 ± 42.98 mg GAE/g pour les polyphénols et 65.83 ± 4.35 à 125.03 ± 18.42 mg QE/g pour les flavonoïdes dans les extraits n-butanol et acétate d'éthyle (Chebbah et al, 2014). *Genista ulicina* a généré des teneurs de l'ordre de 50.45 ± 0.83 à 62.84 ± 1.66 mg GAE/g pour les polyphénols et de 53.06 ± 0.93 à 48.39 ± 1.56 mg QE/g pour les flavonoïdes (Chabbah et al, 2016). Ces différences sont probablement dûes à la méthode d'extraction notamment le temps, la température et le solvant et/ou à la sensibilité de la méthode de dosage, à l'espèce botanique, son origine géographique, le stade de développement etc...

5.5. Activité antioxydante:

5.5.1. Piégeage du radical libre DPPH• (2, 2-diphényle-1-picrylhydrazyl):

L'activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique a été évaluée par le test du piégeage du DPPH, elle a été exprimée par le calcul de l'IC 50. Une fois obtenue, cette valeur a été comparée à celle du BHT et de l'acide ascorbique qui sont des antioxydants synthétiques de référence. Les figures 16, 17 et 18 représentent respectivement le suivi de la réduction du DPPH en solution par le BHT, par l'acide ascorbique et par l'extrait méthanolique des 03 plantes.

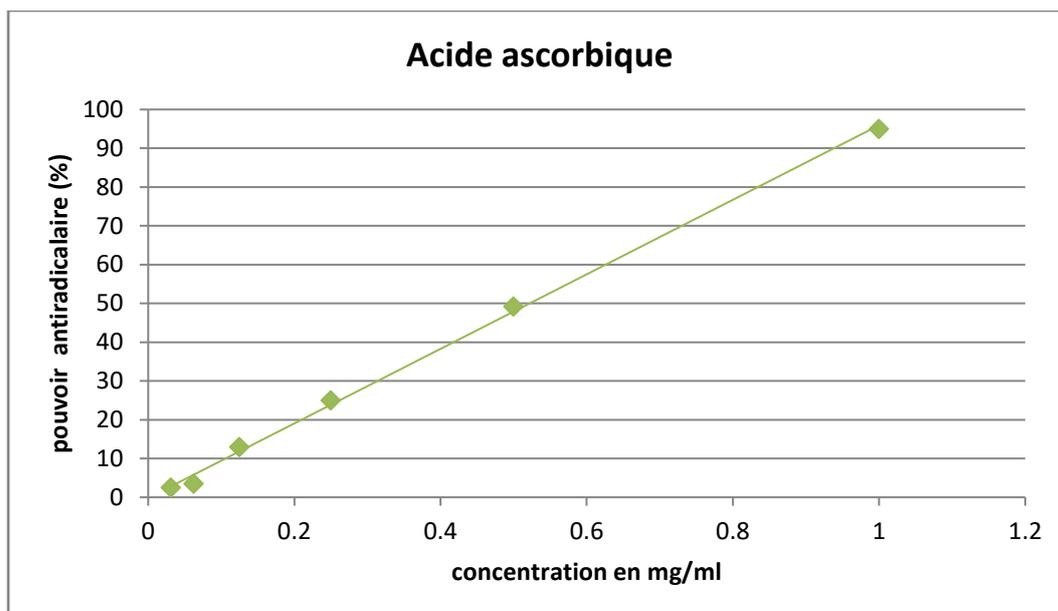


Figure 16 : Activité antiradicalaire de l'acide ascorbique
(Chaque valeur représente la moyenne de trois essais \pm SD)

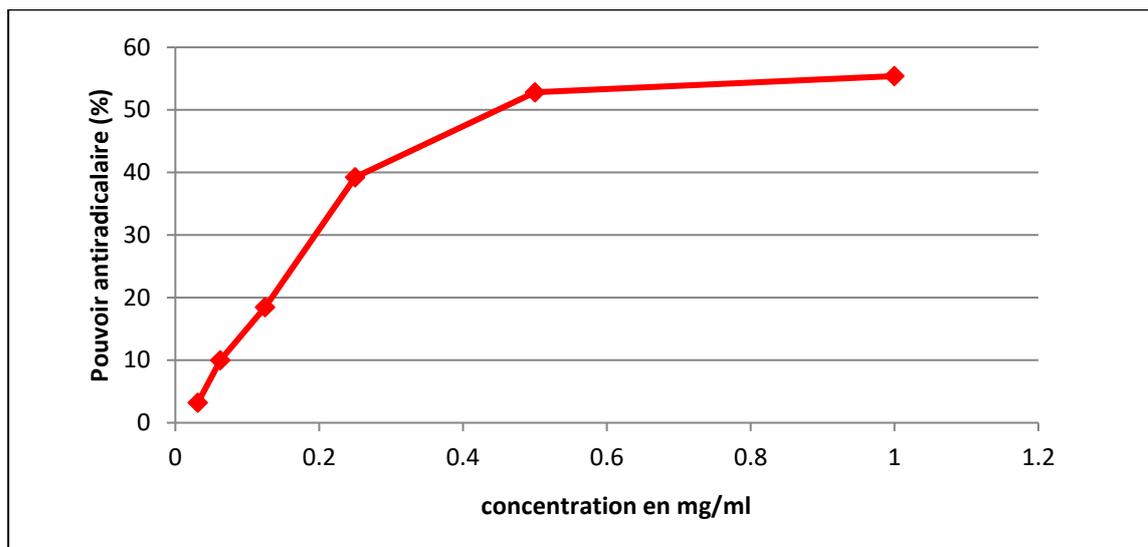


Figure 17 : Activité antiradicalaire de BHT
(Chaque valeur représente la moyenne de trois essais \pm SD)

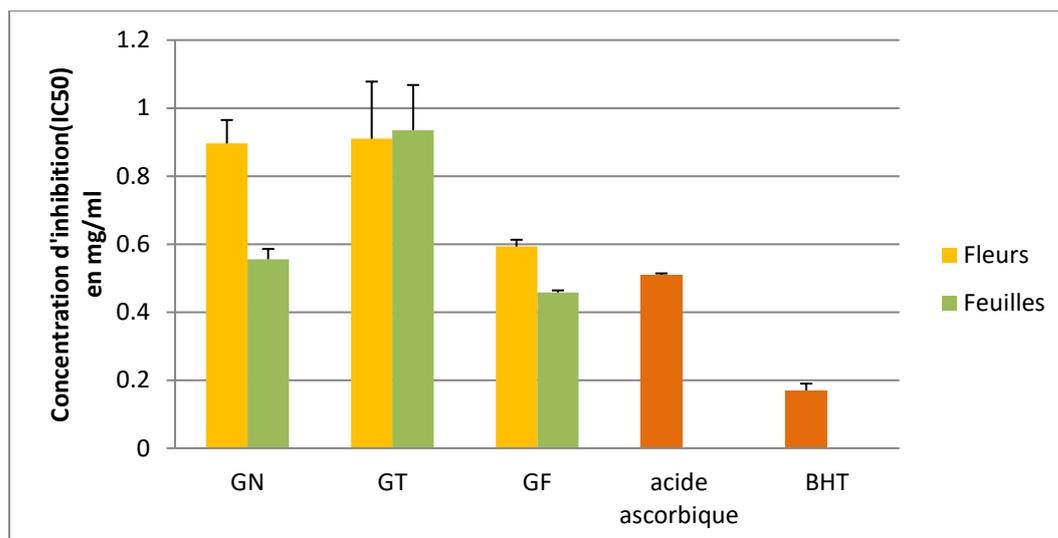


Figure 18: Concentration d'inhibition (IC₅₀) des 03 espèces et des antioxydants référentiels

Selon la figure 18, L'étude de l'activité antioxydante des extraits d'espèces *Genista* selon la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH montre que la valeur IC₅₀ de l'acide ascorbique est égale à $0,51 \pm 0,004$ mg / ml et la valeur de l'IC₅₀ du BHT était de $0,17 \pm 0,02$ mg / ml. En comparant les IC₅₀ de nos extraits avec ceux de ces deux antioxydants standards, nous avons noté une activité antioxydante très importante des extraits de feuilles et des fleurs chez *G. ferox* (IC₅₀ = $0,50 \pm 0,006$ mg / ml et $0,59 \pm 0,02$ mg / ml) ainsi que l'extrait de feuille de *G. numidica* ($0,55 \pm 0,03$ mg / ml). En revanche, les extraits de feuilles et de fleurs de *G. tricuspidata* ($0,95 \pm 0,13$ et $0,93 \pm 0,16$ mg / ml) et de fleurs de *G.numidica* ($0,89 \pm 0,06$ mg / ml) ont montré une activité antioxydante très modeste.

Bencherchar et al, 2017a constaté que les extraits d'acétate d'éthyle des feuilles et des tiges de *G. ferox* récoltée dans la region d'El Kala ont montré une activité antioxydante très importante avec un IC₅₀ (14.2 ± 0.02 et 14.9 ± 0.1) µg/ml, respectivement. D'autre part, l'extrait n-butanol a généré l'activité antioxydante la plus basse avec un IC₅₀ de 55.5 ± 0.2 et 52.5 ± 1.0 µg/ml, respectivement. Ces résultats sont très différents des nôtres.

Peu d'études ont été consacrées au pouvoir antioxydant de *G.numidica* et *G. tricuspidata*, mais on peut noter que *G. ferox* et *G. numidica* ont montré une bonne activité antioxydante. Cela est dû à leur richesse en polyphénols et en flavonoïdes.

5.5.2. Réduction du fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power) :

Dans notre travail nous avons testé cette activité dans l'extrait méthanolique de chaque partie des plantes étudiées. Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes pour chaque extrait. Les résultats représentés dans les figures nous ont montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos échantillons.

- **Extrait méthanolique des fleurs:**

Nous remarquons que les fleurs de *G.ferox* a présenté le plus d'activité pour réduire le fer avec une densité optique maximale de $0,502 \pm 0,012$ à une concentration de 0,6 mg/ml. Elle est plus élevée à celle de BHT qui présente une densité optique de $0,207 \pm 0,06$ en même concentration. Nous observons aussi que la capacité à réduire le fer est très faible pour les fleurs de *G.tricuspidata* (Figure 19).

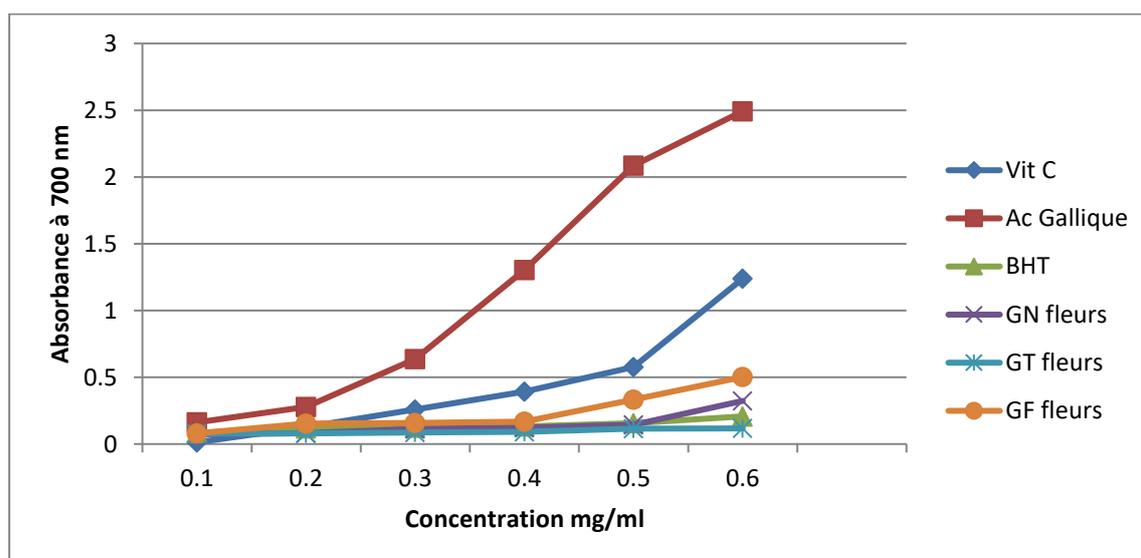


Figure 19 : Pouvoir réducteur des extraits méthanolique des fleurs, de Vitamine C, d'acide gallique et de BHT par la méthode FRAP

• **Extrait méthanolique des feuilles:**

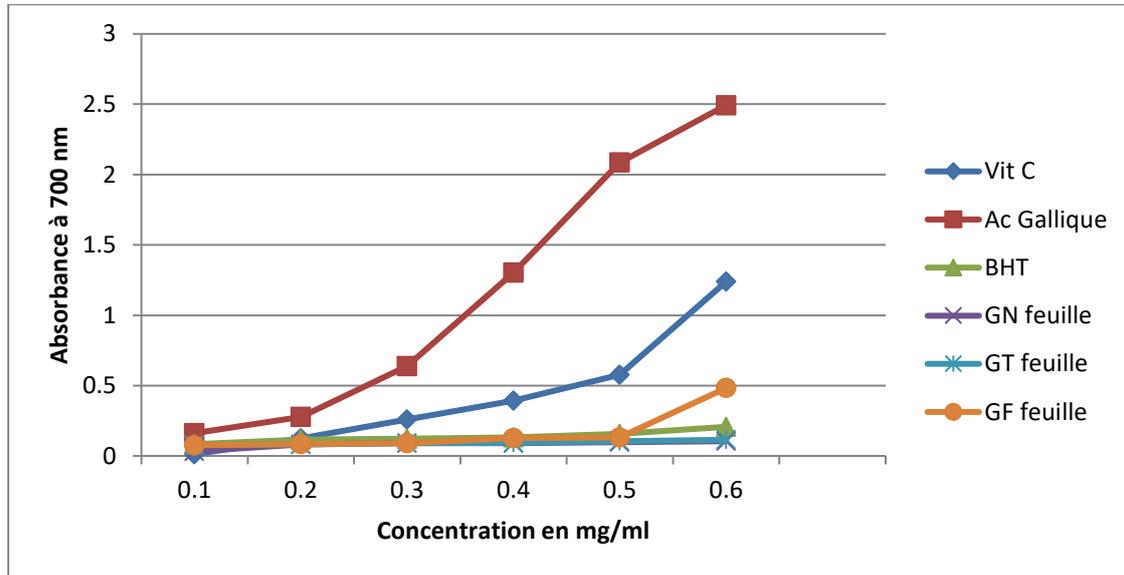


Figure 20 : Pouvoir réducteur des extraits méthanolique des Feuilles, de Vitamine C, d'acide gallique et de BHT par la méthode FRAP

Les résultats obtenus dans la (figure 20) montrent que les feuilles de *G. ferox* représente l'activité la plus élevée pour réduire le fer avec une densité optique maximale de $0,483 \pm 0,009$ à la concentration 0,6 mg/ml par rapport aux autres qui ont présenté une très faible activité, mais cette capacité est notamment supérieure à celle de BHT est inférieure à celle de l'acide ascorbique et l'acide gallique.

5.5.3 .Piégeage du radical hydroxyle:

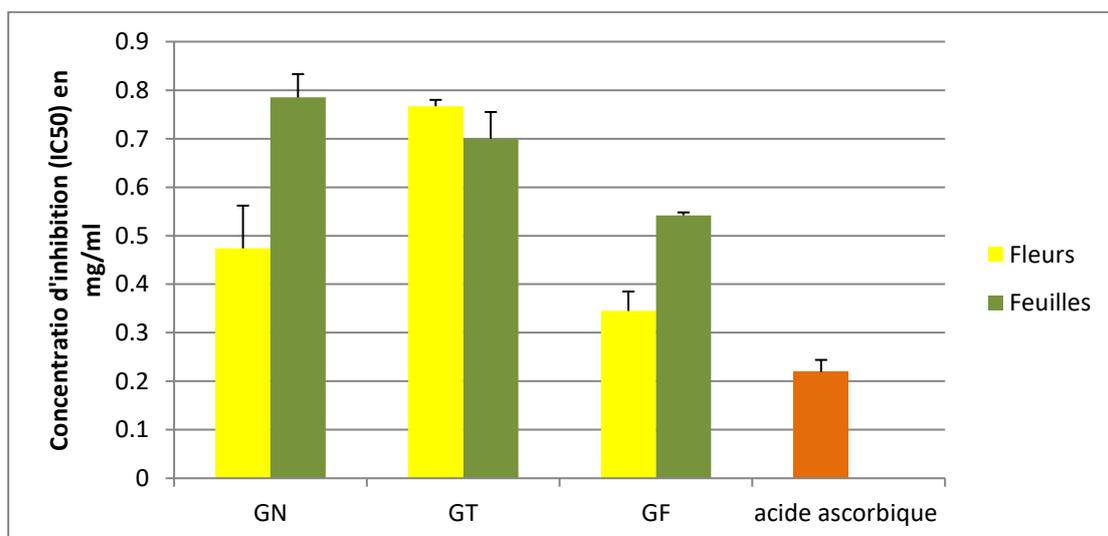


Figure 21 : Concentration d'inhibition IC50 des 03 espèces et de l'acide ascorbique

Les activités de piégeage des trois échantillons augmentent avec l'augmentation des concentrations. Les extraits méthanoliques des deux organes de *G.ferox* ont donné des IC50 ($0,345 \pm 0,04$ et $0,542 \pm 0,006$ mg/ml) faibles par rapport à ceux de *G. numidica* ($0,474 \pm 0,088$ et $0,785 \pm 0,048$ mg/ml) et *G.tricuspidata* ($0,767 \pm 0,013$ et $0,70 \pm 0,055$ mg/ml) (Figure 21). D'une façon générale, on peut dire que les extraits des trois genres peuvent être considérés comme de bons piègeurs de radicaux hydroxyles.

5.5.4. Recherche de l'effet anti-hémolytique:

- **Effet de l'extrait méthanolique des fleurs sur les globules rouges**

La figure 22 représente l'évolution de l'effet hémolytique en présence de différentes concentrations de l'extrait méthanolique des fleurs comparée à un tube témoin négatif contenant des globules rouges en présence de H₂O₂, puissant oxydant provoquant la perturbation de la structure membranaire cellulaire, et un témoin positif contenant des hématies intactes (en présence de PBS).

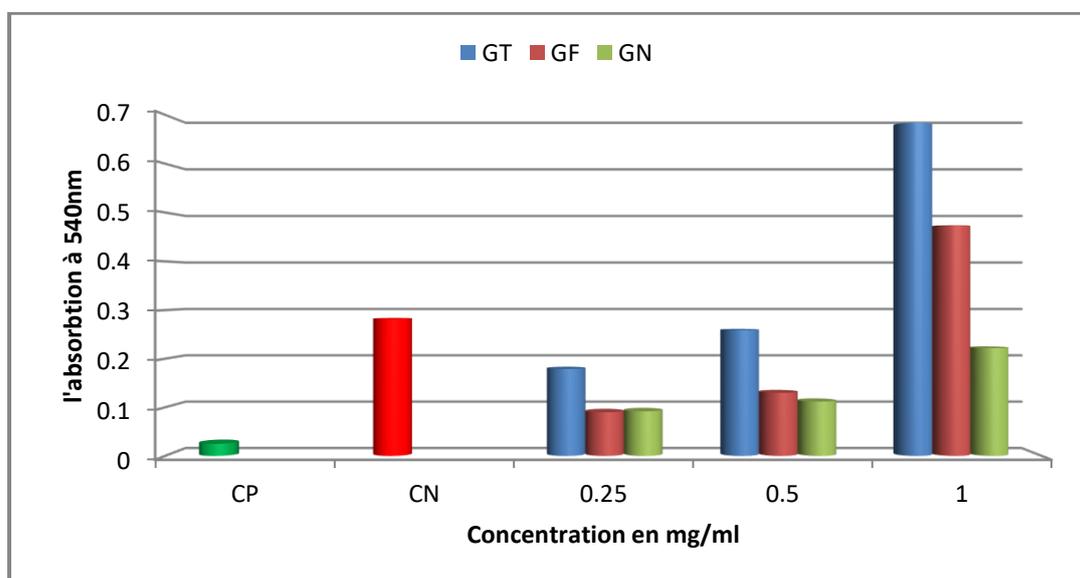


Figure 22: Evolution du taux d'hémolyse en présence de différentes concentrations des extraits méthanoliques des fleurs des 03 genres

Les résultats obtenus montrent que les taux d'hémolyse sont directement proportionnels à l'augmentation des concentrations des extraits.

Nous avons remarqués que les fleurs de *G.numidica* a une activité inhibitrice importante contre l'hémolyse provoqué par H₂O₂ allant de 21,27 ± 0,089 % à 68,08 ± 0.025% suivi par l'extrait de *G.ferox* , puis *G.tricuspidata*.

- Effet de l'extrait méthanolique des feuilles sur les globules rouges:

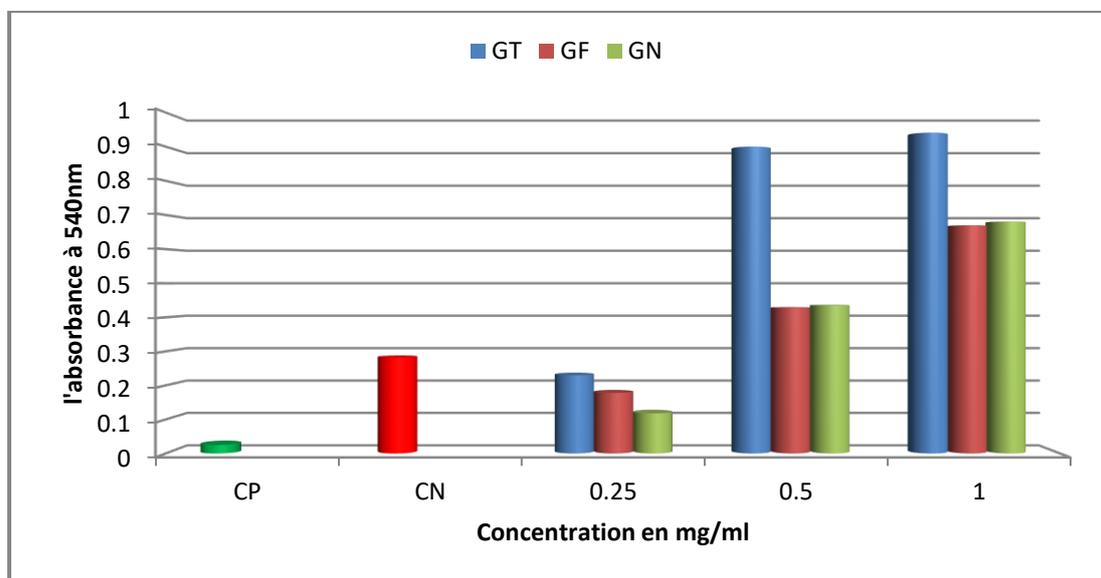


Figure 23: Evolution du taux d'hémolyse en présence de différentes concentrations des extraits méthanolique des feuilles des 03 genêts

Il est intéressant de remarquer que l'absorbance est directement proportionnelle à la concentration. Ainsi ces absorbances sont beaucoup plus élevées à l'absorbance du contrôle négatif ($0,282 \pm 0,012$) pour les concentrations 0,5 et 1 mg/ml (Figure 23).

D'après les résultats obtenus, l'extrait méthanolique des feuilles des 03 genêts a induit une hémolyse intense comparée au peroxyde d'hydrogène. Celle-ci a été proportionnelle à la concentration des extraits utilisés au cours du test.

En termes de comparaison, on constate que l'extrait de fleurs présente de moindres effets hémolytiques par rapport à l'extrait des feuilles aux mêmes concentrations testées. Cependant on a constate que l'espèce *G.numidica* a un effet anti hémolytique moindre par rapport à *G. tricuspidata* qui a donné une activité hémolytique intense. Cette activité a été testée pour la première fois pour les 03 plantes.

Conclusion:

L'activité antioxydante des extraits méthanoliques des fleurs et des feuilles de 03 genêts ont montré une inhibition variable où *G. feroxa* donné un pouvoir antioxydant important suivi par *G. numidica* et en dernière position, *G. tricuspidata*.

Le pouvoir antioxydant ne présente pas de tendance claire en termes de capacité antioxydante et le contenu phénolique.

Pour l'activité anti-hémolytique, *G.numidica* a montré une inhibition de l'hémolyse par contre *G. tricuspidata* a provoqué une hémolyse importante, en comparaison avec le contrôle négatif. L'activité anti-hemolytique des extraits méthanoliques des fleurs et des feuilles présente de bonnes corrélations linéaires avec les teneurs en composés phénoliques, en flavonoïdes, avec des coefficients de corrélations "r²" respectifs de 0.79 et 0.63 (Tableau 19).

Tableau 19: Les valeurs des coefficients de corrélation "r²"

	Polyphénols	Flavonoïdes	Tanins
Polyphénols	1		
Flavonoïdes	0.697	1	
Tanins	0.079	0.210	1
IC50 DPPH	0.022	0.090	0.533
IC50 OH	0.355	0.019	0.007
Hémolyse % à 0.25mg/ml	0.790	0.634	0.001

5.6. Etude de la composition chimique Par GC-SM des extraits méthanoliques

Les extraits méthanoliques de *G.ferox*, *G.tricuspidata*, *G.numidica* et l'extrait de dichloromethane de *G.numidica* ont été soumis à l'analyse par GC-MS. Les résultats obtenus sont représentés dans les figures 24 à 27 ainsi que dans les tableaux 21et 22.

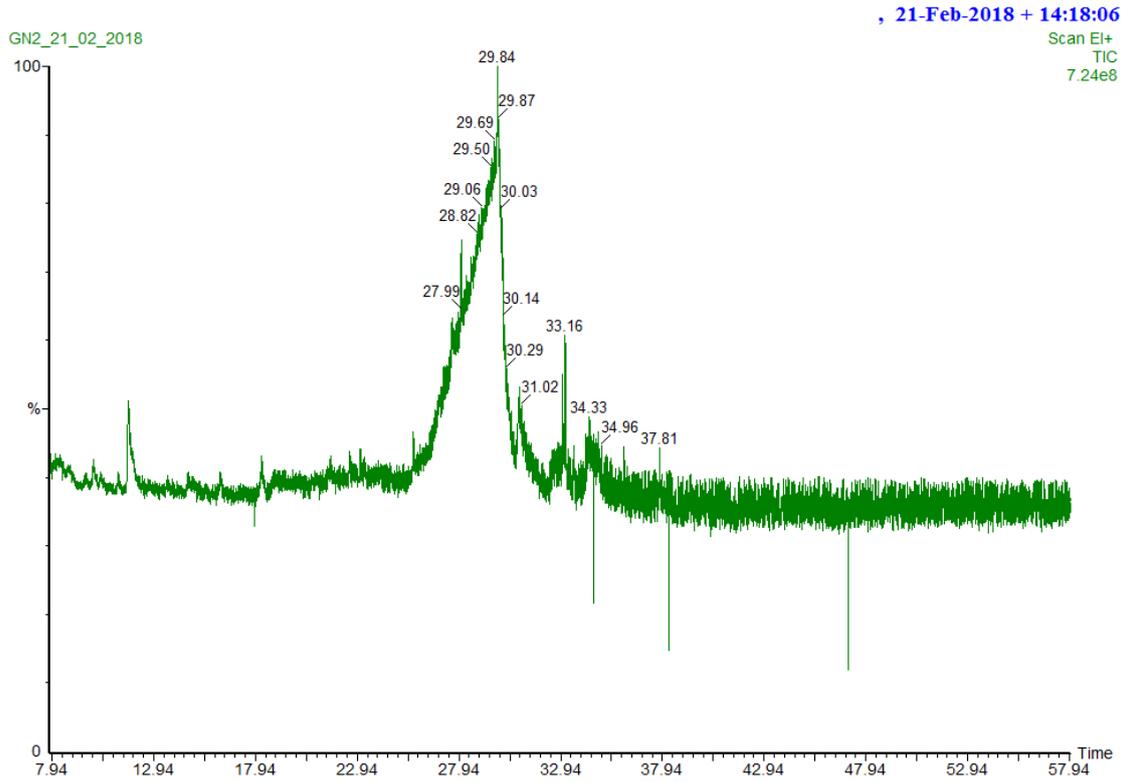


Figure 24: Chromatogramme GC-SM d'analyse d'extraits méthanolique de *G.numidica*

Le chromatogramme de l'extrait méthanolique de *Genista numidica*, n'a pas pu être identifié par le spectrogramme, alors on a analysé son extrait dichlorométhane.

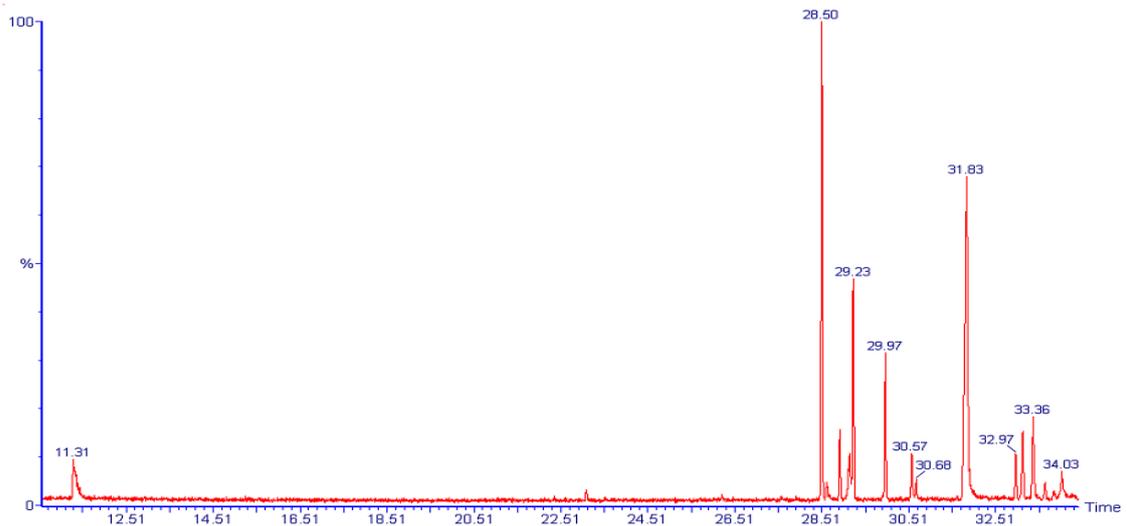
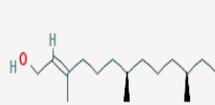
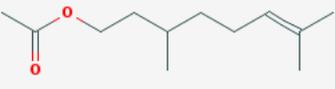


Figure 25: Chromatogramme d'analyse GC-SM l'extrait dichlorométhane de *G.numidica*

Pour *G.numidicala* CG/SM a pu identifier un alcool **phytol** et un **Citronellylacetate** (**Annexe 08**) pour la première fois, en plus la présence des acides gras : linolélaïdate méthyle, linolenate méthyle et l'acide hexadecanoïque (Tableau 20).

D'après **Lograda (2010)** *G. numidica* Spach qui est caractérisée par l'abondance des acides gras tels que les acides, palmitique, laurique, myristique et linoléique.

Tableau 20: Composés identifiés dans l'extrait dichlorométhane de *G.numidica*

N°	Nom	Masse molaire	Formule
01	Hexadecanoic acid, methyl ester	270	
02	Phytol	296	
03	9,12-Octadecadienoic acid, methyl Ester (E-E)	294	
04	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester (Z-Z-Z)	292	
05	Citronellyl acetate	198	

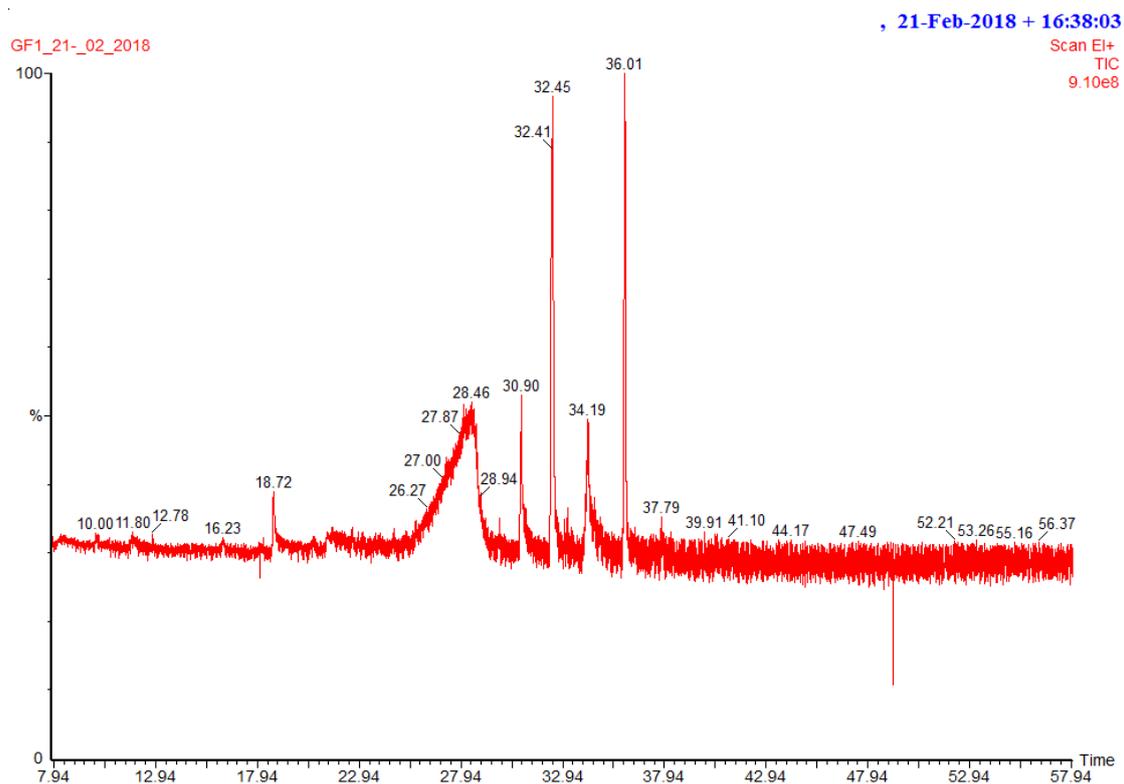


Figure 26: Chromatogramme GC-SM d'analyse des extraits méthanolique de *G.ferox*

Tableau 21: Composés identifiés dans l'extrait méthanolique de *G.ferox*

N°	Nom	Masse molaire	Formule
01	Caulophylline (Alcaloïde)	204	
02	9,12,15- Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)	278	
03	N-But-3- Enylcytisine (Alcaloïde)	244	/

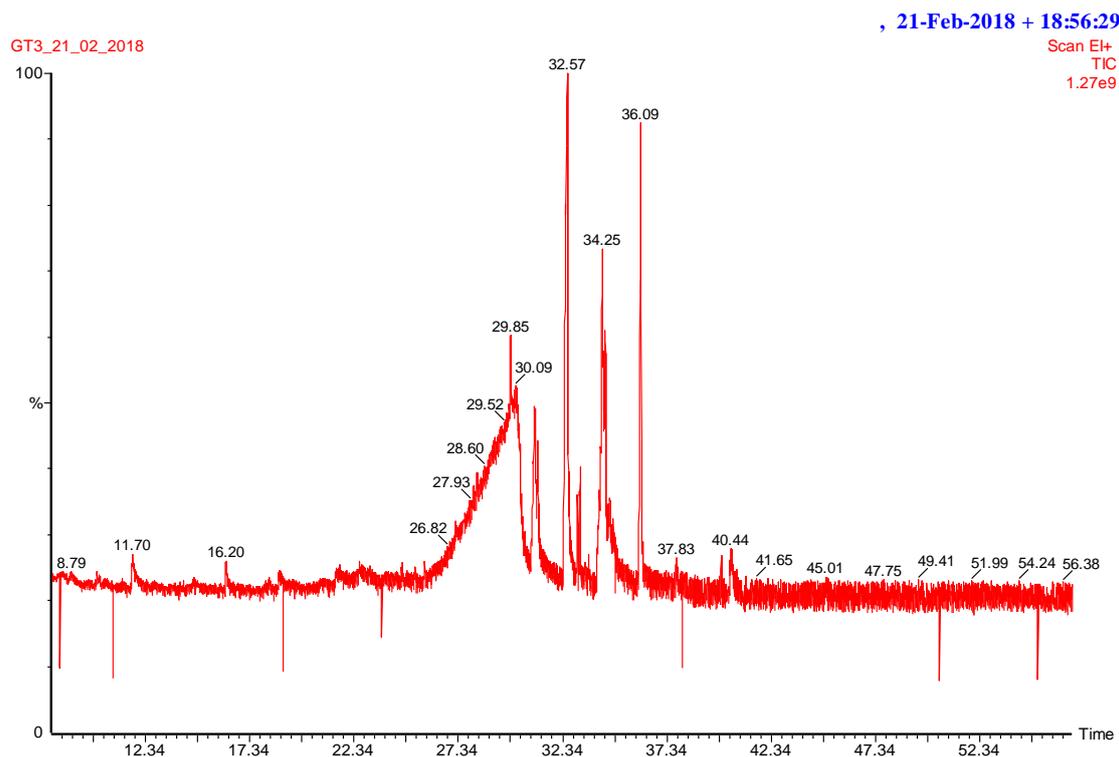


Figure 27: Chromatogramme GC-SM d'analyse des extraits méthanoliques de *G.tricuspidata*

Tableau 22: Composés identifiés dans l'extrait méthanoliques de *G.tricuspidata*.

N°	Nom	Masse molaire	Formule
01	Caulophylline (Alcaloïde)	204	
03	N-But-3-Enylcytisine (Alcaloïde)	244	/
04	9,12,15-Octadécatriénoïque acid, methyl ester (Z-Z-Z)	292	

On peut remarquer que le profil de GC/SM des extraits méthanoliques de *G.ferox* et *G.tricuspidata* a pu identifier deux pics correspondant aux mêmes composés qui sont : le **Caulophylline**, et **N-But-3-Enylcytisine** (Annexe 09 et 10) qui sont des alcaloïdes et qui sont identifiés pour la première fois dans le genre *Genista*, l'acide octadécatriénoïque pour *G.ferox* et linoléate méthyle pour *G.tricuspidata* (Tableau 21 et 22).

5.7. Recherche d'une activité antibactérienne des extraits des trois genêts

5.7.1. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de *G. numidica*:

Les tests antibactériens ont été réalisés d'une part, à partir des extraits des flavonoïdes et des saponines obtenus, et d'autre part, à partir d'une infusion des parties aériennes de la plante. L'analyse des résultats obtenus relatifs aux tests sur les différentes souches soumises à l'action des extraits, nous permet de constater que ces derniers renferment un pouvoir antimicrobien. D'une façon générale, tous les diamètres sont largement supérieurs à ceux des disques (6mm) ce qui confirme que les 03 extraits sont actifs sur les différentes souches bactériennes testées ; les résultats obtenus sont mentionnés dans la figure 28.

- Les trois extraits ont montré une activité sensiblement similaire sur toutes les bactéries testées. Les diamètres des zones d'inhibition sont compris entre 8 et 10.9 mm. Selon l'échelle de Duraffourd (1987) ces résultats sont considérés comme modérés.

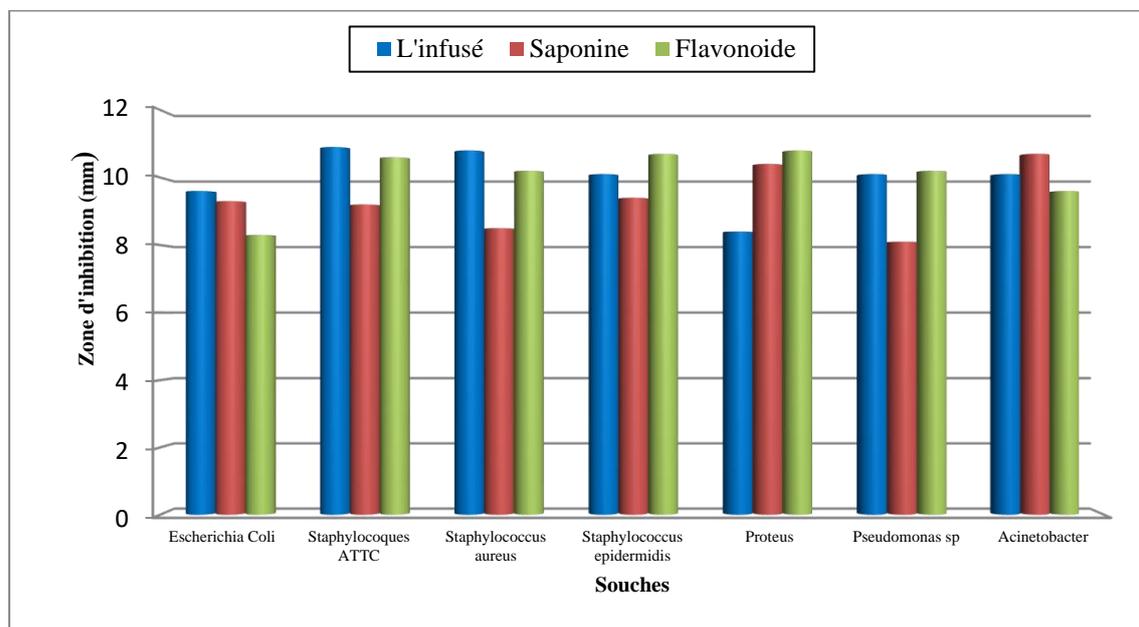


Figure 28: Histogramme représentant les zones d'inhibition des 03 extraits de *G. numidica* sur la croissance bactérienne

5.7.2. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de *G. ferox*

Les tests antimicrobiens ont été réalisés à partir des extraits des flavonoïdes, des tannins, extrait méthanolique, infusion et décoction des parties aériennes de la plante. Les diamètres d'inhibition obtenus montrent que la décoction et l'infusion sont sans

effet sur toutes les souches bactériennes sauf *Salmonella* sur laquelle ces deux extraits exercent un effet très modéré (9 mm). Les flavonoïdes et les tannins sont inactifs sur les différentes souches bactériennes testées sauf sur *Klebsiella pneumoniae* qui a exprimé une sensibilité modérée à ces deux extraits avec respectivement 12 mm et 14 mm (Figure 29)

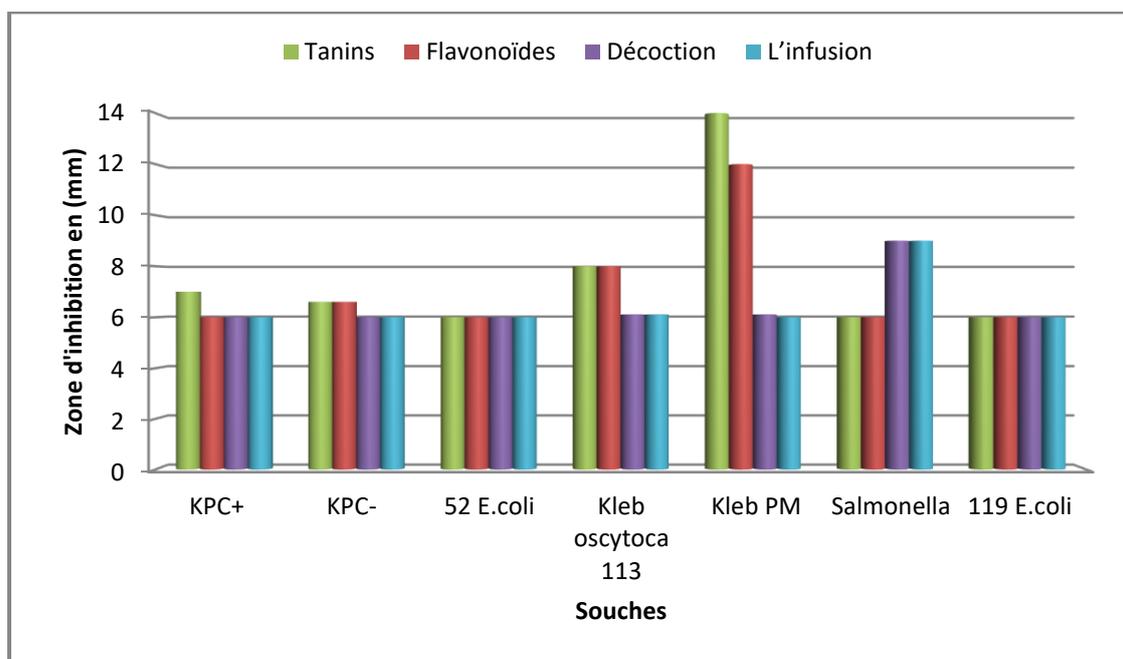


Figure 29: Histogramme représentant les zones d'inhibition des 04 extraits de *G. ferox* sur la croissance bactérienne

5.7.3. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de *G.tricuspidata*

Les tests antibactériens ont été réalisés à partir des extraits des saponines, l'infusion et la décoction des parties aériennes de la plante. D'une façon générale, tous les diamètres sont largement supérieurs à ceux des disques (6mm) ce qui confirme que les 03 extraits sont actifs sur les différentes souches bactériennes testées sauf *Pseudomonas sp* qui résiste aux trois extraits. Les résultats obtenus sont mentionnés dans la figure 30.

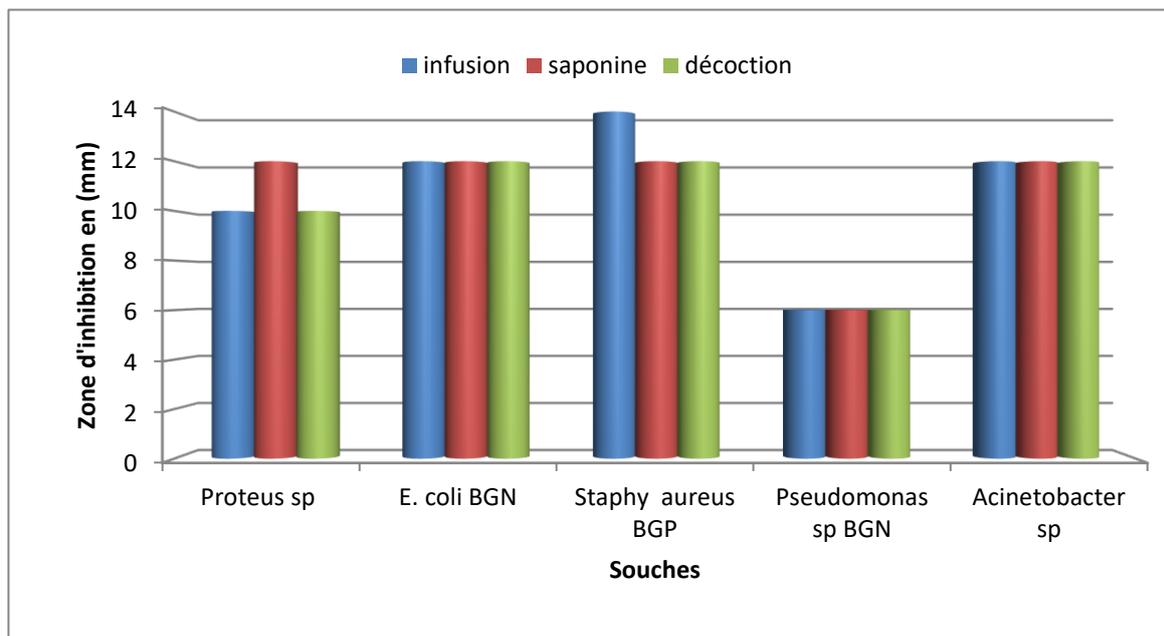


Figure 30: histogramme représentant les zones d'inhibition des 03 extraits de *G. tricuspidata* sur la croissance bactérienne

Une étude antibactérienne de l'huile essentielle de *G. tricuspidata* sur trois souches réalisée par **Lograda et al, (2011)**, a montré une inhibition modérée pour les dilutions 1/2 et 1/4, alors qu'elle était nulle pour la concentration 1/8.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Genista numidica ssp numidica, *Genista ferox* Poiret et *Genista tricuspidata* Desf sont trois fabacées endémiques de la flore algérienne. Elles ont fait l'objet de peu d'investigations tant sur le plan botanique, phytochimique que sur le plan pharmacognosique. La valorisation de ces espèces a constitué le principal but de ce travail, qui englobe plusieurs volets : botanique, écologique, analytique et biologique.

En premier lieu, nous avons fait la description botanique des trois taxons appuyée par des photos illustratives ainsi que l'environnement dans lequel ils se développent grâce à une étude pédoclimatique et la description des sites de récolte.

En deuxième lieu, nous avons effectué une étude anatomique de la tige et de la feuille des trois taxons en utilisant la technique de la double coloration (rouge Congo et vert de méthyle).

Puis nous avons réalisé une étude pédologique des sols ayant abrité les trois genêts tout en estimant la composition minérale de leurs feuilles et fleurs.

On a exploré, par un screening chimique, les principales substances bioactives contenues dans les fleurs et les feuilles des trois genêts. On a quantifié les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins des feuilles et des fleurs des trois genets.

Enfin, nous avons préparé des extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs des trois espèces pour lesquelles nous avons évalué, respectivement :

- les rendements en extraits bruts,
- l'activité antioxydante en utilisant plusieurs antioxydants standards (BHT, acide ascorbique, acide gallique, H₂O₂).
- l'activité antihémolytique
- les principaux composants des extraits par CPG-SM.

L'activité antibactérienne de différents extraits et substances bioactives ont été testés vis-à-vis de quelques souches bactériennes.

De cette étude, il ressort que:

Les sols de *G. tricuspidata*, *G.ferox* et *G. numidica* sont des sols de texture limono-sableuse, relativement riches en sodium, potassium, magnésium échangeable et en fer

mais pauvres en azote et en phosphore. A pH alcalin, permettant une bonne biodisponibilité des éléments minéraux avec une très faible salinité

Les 03 espèces possèdent des traits morphologiques et anatomiques qui leur permettent de s'adapter au climat méditerranéen à longue saison sèche (près de 04 mois). En effet, les feuilles de *G. numidica*, *G. ferox* et *G. tricuspidata* sont minuscules (respectivement 22.11mm², 28.66mm² et 15.41 mm²) et où le parenchyme palissadique est présent sur les deux faces de la feuille et le parenchyme lacuneux est limité à la zone centrale.

La tige chez les trois espèces présente des invaginations très profondes grâce à des replis de l'épiderme soutenus par des fibres celluloseuses. Au niveau des invaginations se localisent des cryptes abritant des stomates et des poils tecteurs unicellulaires (chez *G. numidica* et *G. ferox*). L'épiderme est fortement cutinisé.

Le screening phytochimique des 03 espèces a révélé la présence de plusieurs métabolites secondaires dans les fleurs et les feuilles tels des flavonoïdes, des tanins, des saponines, des coumarines, des alcaloïdes, des sucres réducteurs, des Stérols et des Terpènes dans les 03 espèces et la présence des anthocyanes chez *G. numidica* uniquement et l'absence des leuco-anthocyanes dans les 03 espèces.

L'analyse minérale des feuilles et des fleurs des trois taxons, effectuée au stade floraison, a montré que Na⁺ était dominant suivi par K⁺ et Ca⁺². Les éléments P, Fe, N et Mg⁺² sont en faibles proportions.

L'extrait méthanolique a généré le meilleur rendement chez *G. numidica* (20% feuilles) suivi par *G. ferox* (17%, feuilles et fleurs) les fleurs de *G. numidica* et *G. tricuspidata* (10%) et enfin 5% (feuilles de *G. tricuspidata*)

Le dosage des flavonoïdes réalisé par la méthode colorimétrique a révélé que *G. numidica* était la plus riche avec respectivement 85,47±1.51mg QE/G et 87,31mg QE/g. dans les fleurs et dans les feuilles contre 61,90±1,46mg QE/g et 56,06±1.45mg QE/g. chez *G. ferox* et 44.91±0,32mg QE/g et 44,70±1,14mg QE/g, chez *G. tricuspidata*.

L'analyse quantitative des Tanins des 03 espèces a montré les teneurs les plus importantes dans les feuilles et les fleurs de *G. ferox* (44,36mg CE/g et 39,81±0,32mg CE/g) respectivement suivies par les fleurs de *G. tricuspidata* (39,36±0.32mg CE/g) et les feuilles de *G. numidica* (37,77±0.64mg CE/g). Enfin les fleurs de *G. numidica*

(30,27mg CE/g) et les feuilles de *G.tricuspidata* (30,18±0.83mg CE/g) ont généré les teneurs les plus faibles.

G. numidica été la plus riche en polyphénols pour les fleurs et les feuilles (113±3,87mg GAE/g et 79,6±3.49mg GAE/g respectivement) par rapport à *G. ferox* (86,66±4,10mg GAE/g et 65±1,74mg GAE/g) et *G.tricuspidata* (53,06±0,64mg GAE/g et 51±0,72mg GAE/g).

L'étude de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des fleurs et des feuilles de 03 genêts selon les méthodes de piégeage du radical libre DPPH, le piégeage de radical hydroxyle, la réduction du fer ont montré, en général, une activité antioxydante modérée chez les trois genêts où *G. ferox* donne un pouvoir antioxydant relativement plus important que chez *G. numidica* et *G. tricuspidata*. Concernant l'activité anti-hémolytique, *G.numidica* a montré une inhibition de l'hémolyse par contre *G. tricuspidata* a provoqué une hémolyse importante, en comparaison avec le contrôle négatif.

L'étude de la composition chimique des extraits méthanolique et dichlorométhane par (GC-MS) des trois genêts a montré la présence des alcaloïdes : Caulophylline, et N-But-3-Enylcytisine chez *G.ferox* et *G.tricuspidata*; l'acide octadecatriénoïque chez *G.ferox* et linolénate méthyle chez *G.tricuspidata*. Chez *G.numidica* on a trouvé un phytol et un Citronellylacetate pour la première fois, en plus de la présence des acides gras: linolélaïdate méthyle, linolénate méthyle et l'acide hexadécanoïque.

L'étude du pouvoir antibactérien des substances actives et des extraits des trois genêts testés, a montré une efficacité très modeste vis-à-vis des souches bactériennes étudiées.

Notre étude constitue une base de données non négligeable sur l'écologie, l'anatomie et la composition chimique de ces trois espèces mais nécessite, néanmoins d'autres études plus approfondies qui serviront à mieux connaître nos espèces endémiques et les valoriser davantage.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Adrian J., Frangne R., 1991. La science Alimentaire de A à Z. Ed. *Lavoisier. Paris.*

Angiosperm Phylogeny Group.,2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161.

Applebaum SW., Marco S., Birk Y., 1969. Saponins as possible factors of resistance of legume seeds to the attack of insects. *Journal of Agronomic . Food Chemical . 17 (3): 618–622.*

ArnoneA., Camarda L., Merlini L., Nasini G.,Taylor D.A.H., 1977. Colouring matters of the West Africa red woods *Pterocarpus osun* and *P. santallinus*. *Journal of Chemical Society*.19: 2116-2118.

Avril J., Carlet J., 1998 . Les infections nosocomiales. Ellipses. Paris:697

B

Barboni T., 2006. Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Corse: 26.

Belkheiri N., 2010. Dérivés phénoliques et activités antiathérogènes. Thèse en vue de l'obtention du Doctorat de l'université de Toulouse: 113.

Bencherchar I., Demirtas I., Altun M., Gül F., Sarri D., Benayache F., Benayache S and MekkiouR., 2017. HPLC analysis, anti-oxidant activity of *Genista ferox* and its antiproliferative effect in HeLa cell line, *Journal of the Bangladesh Pharmacological Society (BDPS)*, 12 : 260-267.

Benzieet I.F.F., Strain J.J., 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxydant Power” . The FRAP Assay. *Anal Biochem.* 239: 70- 6.

Bertani S., Bourdy G., Landau I., Robinson J.C., Esterre P., Deharo E., 2005. Evaluation of French Guiana traditional antimalarial remedies. *Journal Ethnopharmacol.* 98: 45-54.

Bassas A., Benmoussa L., Kerarma M., 2007. Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie.

Bézanger-beauquesne L., Pinkas M., Torck M., 1986. Les plantes dans la thérapeutique modern: 469.

Boizot N., Charpentier J.P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers. prairiaux et aquatiques, *INRA*.79-82.

Bouquet., 1972 . Plantes médicinales du Congo Brazzaville.Edition O.R.S.

Boumaza O., Mekkiou R., Seghiri R., Benayache S., Garcia V. P., Bermejo J and Benayache S., 2006. Flavonoïds and isoflavonoids from *Genista tricuspidata* *Chemistry of Natural Compounds*, 42, 6:730-731.

Boumaza O., Mekkiou R., Seghiri R., Benayache S., Garcia V. P., Bermejo J and Benayache S 2011: secondary metabolites from chloroform extract of *genista tricuspidata* *Chemistry of Natural Compounds*, 47, 2: 277-278

Brand-Willims W., Cuvelier ME., Berset C.,1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 28: 25-30.

Bruneton J., 1993. Pharmiognosie et phytochimie. plantes médicinales. *Tec et Doc Lavoisier*. Paris: 915-278-279.

Bruneton J., 1999. Pharmiognosie. Phytochimie. plantes médicinales. 2eme edition. Paris. Editions médicales internationales. *Tec et Doc Lavoisier*: 1120.

Bruneton J.,2001. Plantes toxiques végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2ème edition. éditeur *Technique et Documentation*. Paris.

C

Cadet, A. (2005): Le cépage *Vitis vinifera* L. cv. fer servadou : étude de la nutrition minérale et des relations cépage, terroir, qualité du vin. *Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse*: 316 .

Cavin A., 1999. Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires: *Tinos poracispa* (Menispermacées), *Merremia emarginata* (Convolvulacées) et *Oropea enneanda* (Annonacées). Thèse de doctorat .Lausanne: 241 .

Castro L., Freeman B.A., 2001. Reactive oxygen species in human health and disease. *Nutrition*, 170: 161-165.

Charles-Edwards DA., 1981. The mathematics of photosynthesis and productivity, Experimental Botany Monograph vol. 17, Academic Press, London: 127

Chen, Y.F., Tsai, H.Y., Wu T.S., 1995. Anti-Inflammatory and analgesic activities from the roots of *Angelica pubescens*, *Planta Med.*, 61: 2-8.

Cirad-forêt., Doat J., 1993. Bois des Dom-Tom, Cirad-forêt.

Cowan M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents, *Clin. Microbiol. Rev.*, 12 : 564- 582.

Crespy A., 2003. Fonctionnement des terroirs et savoir-faire viticole : les clés de la qualité. Avenir .enologie, Oenoplurimédia ed., 191p.

Cuendet M., 1999. Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d' une plante d' Indonésie : «*Fagraea blumei* »(Loganiaceae) et de trois plantes d' altitude : «*Bartsia alpina* »(Scrophulariaceae), «*Loiseleuria procumbens* » (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat: 24.

Chebbah k., Marchioni E., Sarri Dj., Menad A., Mekkiou R., Seghiri R., Boumaza O., Benayache Sand Benayache F., 2014. Preliminary phytochemical screening, analysis of phenolic compounds and antioxidant activity of *Genista cephalantha* Spach (Fabaceae). Inter.Journal of phytomedecine 6:360-368.

Chebbah k., Marchioni E., Sarri Dj., Menad A., Mekkiou R., Seghiri R., Boumaza O., Benayache S., and Benayache F., 2016: HPLC-UV profile of *Genista ulicina* Spach (Fabaceae) extracts and in vitro antioxidant activity. Inter.Journal of phytomedecine 8:398-403.

D

Debelmas A.M., Delaveau P., 1983. Guide des plantes dangereuses, II^{ème} édition Paris. p 200.

Dewit H., 1963. Les plantes du monde. Ed° Hachette Paris. 308-323.

Deysson G., 1965. Eléments d'anatomie des plantes vasculaires. Société d' Edition d'Enseignement Supérieur (SEDES), Paris, p266.

Deyson G., 1979. Cours de botanique générale, Organisation et classification des plantes vasculaires 2^{ème} partie systématique, tome II.p 347.

Diouf P.N., Merlin A., Perrin D., 2006. Antioxidant properties of wood extracts and colour stability of woods. Annals of Forest Science. 63: 525-534.

Dixon R.A., Dey P.M., Lamb C. J., 1983. Phytoalexins: Enzymology and molecular biology. *Adv. Enzymol* ,55 : 1-136.

Dixon R.A.,2004.*Annual Review of Plant Biology*. 55: 225-261

Dodge J. T., Mitchell C., and Hanahan D. J., 1963. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Archives of biochemistry and biophysics*, 100(1): 119-130.

Dominik J., Schaer Paul W., BuehlerAbdu I., Alayash John D., Belcher, and Gregory M. Vercellotti., 2013. Hemolysis and free hemoglobin revisited exploring hemoglobin and hemin scavengers as a novel class of therapeutic proteins. *BloodJournal*, vol(8): 121.

Dupont F., Guignard J.L., 2007. Abrégé de Botanique 14^{ème} édition. Editions Masson Paris. p 285.

Duchaufour Ph. 1995. Pédologie .sol, végétation et environnement. *Ed Masson 309p*.

Duraffourd L.,1987 .Traité de phytothérapie chimique .Edition .Masson.

Douaoui A., Gascuel-Odoux C & Walter C., 2004. Infiltrabilité et érodibilité de sols salinisés de la plaine du Bas Chéiff (Algérie). *Étude et Gestion des Sols*, 11(4): 379-392.

E

Echevin R., 1964. Angiospermes I éditeur Doin. p 496.

Ehleringer J., 1980. Leaf morphology and reflectance in relation to water and temperature stress. In : Turner N, Kamer P, eds. *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. New York : Wiley Interscience.

Ehleringer J., May-June., 1982. The influence of water stress and temperature of leaf pubescence development in *Encelia farinose*. *American Journal of Botany* 69 : 670-5.

Elgsaeter A., Stokke B. T., Mikkelsen A., & Branton D., 1986. The molecular basis of erythrocyte shape. *Science*, 234(4781): 1217-1223.

Etienne-Pascal J., Véronique C., Jérôme G., Philippe T., Charles R. G., David B., Thierry H., Jean D., Pascal G., 2001. La légumineuse modèle *Medicago truncatula*: approches génomiques et perspectives. *Ecole thématique .Biologie végétale*.

F

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdely C., 2008. Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities. *Compt. Rend. Biol.* Vol. 331: 372-379.

Familia Fabaceae Lindl., 1836. *Systematic Botany*, Editions 2. p 148.

Frankel E. N., Meyer A. S., 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multidimensional food and biological antioxidants. *Journal of Science and Food Agriculture*. 80: 1925-1941

Fujioka T., Furumi K., Fujii H., Okabe H., Mihashi K., Nakano Y., Mastunga H., Katano M., Mori M., 1999. Antiproliferative constituents from umbelliferae plants. V.A. New furanocoumarin and faltarindiol furanocoumarin ether from the root of *Angelica japonica*. *Chem. Pharm. Bull.* 47: 96-100.

G

Garcia-Agaez A. N., Apan T. O. R., Delgado H. P., Velazquez G et Maetinez-Vazquez M., 2000. Anti-Inflammatory activity of coumarins from *Decatropis bicolor* on TPA ear mice model, *Planta Med*, 66: 279-281.

Garnier E., Shipley B., Roumet C., Laurent G., 2001. A standardized protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content. *Funct. Ecol.* 15: 688-695.

Gordon H.M., 1996. *Journal of Natural Products Rep*, 13(4): 265-273.

Gravot A., 2008. Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV. Université de Rennes ..

Grenand P., Moretti C., Jacquemin H., 1987. Pharmacopées traditionnelles en Guyane, Créoles, *Palikur, Wayapi*, ORSTOM, Paris.

Guignard J.I., 1994. Abrégé de botanique, 9^{ème} édition, éditeur Masson. p 276.

Guignard J.L., 2004. Botanique systématique moléculaire 13^{ème} édition, éditeur Masson. p 284.

Guignard J.L., 1996. Biochimie végétale, Ed. Lavoisier, Paris, p 175-192.

Gulcin I., Mshvildadze V., Gepdiremen A. and Elias R., 2003. Antioxidant activity of saponins isolated from ivy: alpha-hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside-F. *Planta Med.* 70: 561-563.

H

Haieb I., Harzallah-Skhiri F., Chemli R.,1999. Contribution à une étude ethnobotanique de la flore en Tunisie (cas de la région de Sfax); travaux de fin d'études E.S.H.E,

Hostettmann K.,1997. Tout savoir sur le pouvoir des plantes sources de médicaments., Editions Favre SA. Lausanne. p 240.

Harborne J.B.,1969. Chemosystematics of the Leguminosae flavonoid and isoflavonoid patterns in the tribe *Genisteae*. *Phytochemistry*, 8: 1449-1456.

Harborne J.B., 1998. *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis.* Third Edition. ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB).

Hemingway R.W., 1992. Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: *Plant polyphenols: synthesis, properties, significance.* Laks P.E, Hemingway R.W. New York.

Huang Dekker D., Ou B., Prior R.L., 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (6): 1841-1856.

Hodgson J.G., Montserrat-Martí G., Charles M., Jones G., Wilson P., Shipley B., Sharafi M., Cerabolini B.E.L., Cornelissen J.H.C., Band S.R., Bogard H., Castro-Díez P., Guerrero-Campo J., Palmer C., Pérez-Rontome M.C., Carter G., Hynd A., Romo-Díez A., De Torres Espuny L and Royo Pla F., 2011. Is leaf dry matter content a better predictor of soil fertility than specific leaf area? *Annals of Botany*. 108: 1337–1345.

Hilly J., 1962. Etude géologique du Massif de l'Edough et du Cap de Fer (Est Constantinois). Publication du Service de Carte Géologique de l'Algérie (nouvelle série) : 19-408.

I

Igor Passi L.B., 2002. Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides*, lam (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, p 133.

J

Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P.,2002. Botanique systématique : une perspective phylogénétique. Bruxelles : De Boeck Université.

Julkunen-Titto R.,1985. Phenolic constituents in the leaves of northern willows : methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 33 : 213-217.

K

Kansole M.M.R., 2009. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* vahl et *Orthosiphon pallidus* royle ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.

Kayser O., Kolodziej H., 1997. Antibacterial activity of extracts and constituents of *Pelargonium sidoides* and *Plelargonium reniforme*, *Planta Med*, 63: 509-510.

Koleva I.I ., Van Beek T.A., Linssen J.P.H., De Groot A., Evstatieva L.N., 2001. Screening of plant extracts for antioxidant activity : a comparative study on three testing methods. *Phytochem Anal.* 13 : 8-17.

Konoshima T., Okamoto E., Kozuka M., Nishino H., Tokuda H., Tanabe M., 1988. Studies on inhibitors of skin tumor promotion III. Inhibitory effects of isoflavonoids from *Wisteria brachybotrys* on Epstein-Barr virus activation. *Journal of Natural Products.* 51: 1266-1270.

Korpachov V.V., Lifvinenko O.O., Paster I. P., 1995. Effect of *Genista tinctoria* extracts on the function of thyroid gland of intact rats and rats with experimental hypothyroidism Ukraine, *farmatsevtichnii zhurnal* (Kiev) 5 : 82-86.

Kraft C., Jenett-Siems K., Siems K., Solis P.N., Gupta M.P., Bienzle U., Eich E., Andinermals A.C., 1987. Antiplasmodial constituents from *Andira inermis*. *Phytochem* 58: 769-774.

Kuiper-Goodman, T., & Scott, P., 1989. Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A. *Biomedical and environmental sciences: BES*, 2(3), 179-248.

L

Lebham ., 2005. Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).

Linden G., Lorient D., 1994. Biochimie agro-industrielle. *Ed. Masson, Paris.* 360 p.

Lograda T., Chaker A.N., Chalard P., Ramdani M., Chalchat J.C., Silini H., & Figueredo G., 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Genista numidica* Spach. and *G.saharae* Coss et Dur. *Asian Journal of Plant Sciences*, 8(7): 495-499.

Lograda T., Chaker A.N., Chalchat J.C., Ramdani M., & Figueredo G., 2011. Composition of the essential oil of *Genista tricuspidata*. *Chemistry of Natural Compounds*, 46(6): 992-994.

Lois R., 1994. Accumulation of UV-absorbing flavonoids induced by UV-B radiation in *Arabidopsis thaliana* L. I. Mechanisms of UV resistance in *Arabidopsis*, *Planta*. 194: 498-503.

Lugasi A., Hovari J., Sagi K.V., Biro L., 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta. Biologica Szegedensis* 1-4: 119-125.

M

Maataoui B.S., Hmyene A., Hilali S., 2006. Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*. 7(1): 3-8.

Mekkiou R., Seghiri R., Boumaza O., Sarri D., Chebbah K., Benayache S., Bermejo J., & Benayache F., 2012. Secondary metabolites from *Genista ferox*. *Chemistry of Natural Compounds*, 48(4), 710-711.

Mahmoudi Y., 1980. La thérapeutique par les plantes communes en Algérie. Palais de livre Blida.

Maillard P., Bonhomme R., 1998. Fonctionnement des peuplements végétaux sous contraintes environnementales. INRA éditions, les colloques n°93.p309.

Maire R., 1987. La flore de l'Afrique du nord. Les légumineuses, Lechevalier Ed. Paris XVI .pp 123-193.

Malgalhae L.M., Segundo M.A., Reis S., Lima J., 2008. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties, *Analytica Chemical Acta*, 613: 1-19.

Marchand A., Galen R. S., & Van Lente F., 1980. The predictive value of serum haptoglobin in hemolytic disease. *Jama*, 243(19): 1909-1911.

Marston A., Msonthi J. D., Hostettman K., 1984. On the reported molluscicidal activity from *Tephrosia vogelii* leaves. *Phytochemistry*, ; 23(8): 1824-1825.

Martins A., Wink M., Tei A., Brum-bousquet M., Tillequin F Rauter A.P., 2005. Phytochemical Study of the Quinolizidine Alkaloids from *Genista tenera* by Gas Chromatography-Mass Spectrometry, *Phytochemical Analysis*.16: 264- 266.

Medic Sanic M., Jasprica I., Smolcic Bubalo A., Mornar A., 2004. Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids, *Croatica Chemica Acta*, p 361-366 .

Mellouk K., 2007. Etude ethnobotanique et phytochimique d'une plante médicinale *Chrysanthemum fuscatum*, Mémoire Magister Dept de chimie .Univ Annaba.

Milane H., 2004 . La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres, études et applications thérapeutiques. Thèse en vue de l'obtention du grade de docteur en science. Université Louis Pasteur. Strasbourg.

Miller H.E., 1971. A simplified method for the evaluation of antioxidants, *J Am Oil Chem Soc*, 48 : 91.

Miller R.B., Wiedenhoeft A.C., Williams R.S., Stockman W., Green F., 2003. Characteristics of ten tropical hard woods from certified forests in Bolivia. Part II. *Natural durability to decay fungi*, *Wood and Fiber Science*. 35: 429-433.

Mohandas N., & Gallagher P. G., 2008. Red cell membrane: past, present, and future. *Blood*, 112(10): 3939-3948.

Molyneux P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Song Klama Karin J.Sci. Technol*, 26 (2): 211-219.

Moure A ., Franco D., Sineiro J ., Dom.inguez H ., Nez M.J, Lema, J.M., 2000. Evaluation of extracts from *Gevuina avellana* hulls as antioxidants, *J Agric Food Chem*, 48 :3890-7.

Mylona P., Pawlowski K., Bisseling T., 1995. *Plant. Cell* ; 7: 869-885.

Q

Oyaizu M., 1986. Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine, *Japanese Journal of Nutrition*, 44: 307-315.

P

Parejo I., Viladomat F., Bastida J., Rosas-Romero A., Flerlage N., Burillo J., Codina C., 2002. Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *J Agric Food Chem*; 50:6882-90.

Paris, R. 1954. *B rill Suc. B Dt*, 457 p.

Pistelli L., Bertoli A., Giachi I., Morselli I., Rubiolo P., Bicchi C., 2001. Quinolizidine alkaloids from *Genista ephedroides*. *Biochemical systematics and ecology*. 29(2): 137-141.

Pistelli L., Bertoli A., Giachi I., Manumata A., 1998. Flavonoids from *Genista ephedroides*. *Journal of Natural Products*.61 (11) : 1404-1406.

Pistelli L., Giachi I., Potenzs D., Morselli I., 2000. A New Isoflavone from *Genista corcica*. *Journal of Natural Products*.63: 504-506.

Pousset J.L.,1992. Plantes médicinales Africaines. Tome II, Edition marketing.; p159.

Pratt D., MillerE., 1984. A flavonoid antioxidant in spanish peanuts (*Arachia hypogoea*), *J Am Oil Chem Soc*.61: 1064-7.

Price M.L., Van scoyoc S., Butler L.G., 1978 . A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain, *J. Agric. Food Chem*, 26: 1214-1218.

PulidoR., BravoL., Saura-CalixtoF., 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay, *J Agric Food Chem*, 48 (8): 3396 -3402.

Q

Quezel P., Santa.,1962 et 1963 . Nouvelle flore de l'Algérie et des région désertiques méridionales.Tome I .C.N.P.S.Paris.

R

Recio M.C., RiosJ. L., Villar A., 1989. A review of some antimicrobial compounds isolated from medicinal plants reported in the literature 1978-1988, *Phototherapy. Res*.3: 117-125.

ReschM., SteigelA., ChemZ . L., Bauer R., 1998. 5-Lipoxygenase andcyclooxygenase- 1 inhibitory active compounds from *Atratyloides lancea*, *J. Nat. Prod.*, 61 : 347- 350.

Ribereau G.P., 1968. Les composés phénoliques des végétaux, Dunod, Paris, p254.

Rizk A.M., 1982. Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterrapia*, 52 (2) : 35-42.

Ruget F., Bonhomme R., Chartier M., 1996. Estimation simple de la surface foliaire de plantes de maïs en croissance. *Agronomie*. 16 : 553-562.

Roginsky V., Lissi EA., 2005. Review of method to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food chemistry*. 92: 235-254.

S

Sanchez-Moreno C., 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Inter. J. Food Sci. and Technol*.8 : 121-137.

- Sauvain M., 1989.** Etudes de plantes anti-parasitaires du plateau des Guyanes en Amazonie : antipaludiques et antileishmaniens,
- Schnelle F., 1955.** Plante - Phenologie. Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Porting K.-G., Leipzig
- Siddhuraju P., Becker K., 2007 .** The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) seed extracts. *Food Chem*, 101: 10-19.
- Singleton V.L., Rossi J.A., 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158
- Situ, H., & Bobek L. A., 2000.** In vitro assessment of antifungal therapeutic potential of salivary histatin-5, two variants of histatin-5, and salivary mucin (MUC7) domain 1. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 44(6): 1485-1493.
- Smith W.K., Vogellmann T.C., Delucia E.H., Bell D.T., Shepherd K.A., 1997.** Leaf form and photosynthesis : Do leaf structure and orientation interact to regulate internal light and carbon dioxide, *Bioscience* 47 : 785-93
- Solfo R.R., 1973.** Etude d'une plante médicinale Malgache *Bascus madaga* et ses variétés ,Ed. O.R.S.T.O.M .
- Soltner., 1981.** Les bases de la production végétale. Tome 1, le sol. Collection sciences et techniques agricoles. 456p
- Spichiger R.E., Savolainen V.V., Figeat M., Jeanmonod D.,2004.** Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. Lausanne, Suisse : Presses Polytechniques et Universitaires Romandes.
- Spring J.L., Ryser J.P., Schwarz J.J., Basler P., Bertschinger L and Häseli A., 2003.** Données de base pour la fumure en viticulture. *Revue Suisse Vitic. Arboric. Hortic.* 35:3-24
- T**
- Takano S. and Ogasawara K.,1989.** The Alkaloids, Edited .by Brossi, New York, *Academic press*. 36.
- Tiwari P., Kumar B., Kaur M., Kaur G., & Kaur H., 2011.** Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale pharmaceutica scientia*, 1(1): 98- 106.
- Thomas O.P., 2009.** Métabolisme secondaire et Biosynthèse. Master 2 VEM. Université Nice Sophia Antipolis.

Thomas L., 2013. Haemolysis as influence and interference factor. eJIFCC vol 13no 4.

Toubal B.O., 1986. Phytoécologie, biogéographie et dynamique des principaux groupements végétaux du massif de l'Edough (Algérie Nord orientale). Thèse de 3^{ème} cycle. Univ de Grenoble-110 p + Carte.

Toubal O., Djahoudi A. B and Bouzabata A., 2011. Preliminary Studies and Antimicrobial Evaluation of the Aerial Parts of *Genista numidica* ssp. *Numidica*. Journal of Life Sciences 5: 954-959.

Trease E., Evans W.C., 1987. Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 13 th Edition. p 61-62.

U

Ucar K., 2002. Clinical presentation and management of hemolytic anemias. *Oncology*, 16(9 suppl 10):163-70.

UNIFA Edition., 2005. Parlons fertilisation, Principaux éléments fertilisants, 1-6.

UNIFA Edition 2005. Parlons fertilisation, Oligo-éléments, 1-6.

USSL., 1954. Diagnostique and improvement of saline and alkali soils hand book n°60. USA, 160p.

V

Van Arendonk, JJCM & Poorter H., 1994, The chemical-composition and anatomical structure of leaves of grasses species differing in relative growth rates', *Plant cell and environment* 17: 963-970.

Van Rensen I., Wrey V., Witte L., Canto P., Grenwald R., Veen G., Veit M., and Czygan F.C., 1994. Ester alkaloids of *Genista cinerea* subspecies *cinerea*. *Phytochem.*; 95(2): 421-424.

Vermerris W., 2006. Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1-4020-5163-8 (HB).

Villano D., Fernandez-Pachon MS., Moya ML., Troncoso AM., Garcia-Paria MC., 2007. Radical scavenging ability of phenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*. 71: 230-235.

Von Gadow A., Joubert E., Hansmann C.F., 1997. Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea (*Aspalathus linearis*), α -tocopherol, BHT, and BHA. *J Agric Food Chem*, 45 : 632-8.

W

Wiltink W., Van Eijk H., Bobeck-Rutsaert M., Gerbrandy J., & Leijnse B., 1972. Urinary iron excretion in nephrotic syndrome. *Acta haematologica*, 47(5): 269-276.

Wojciechowski M.F., Lavin M., Sanderson M.J., 2004. A phylogeny of Legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid *MATK* gene resolves many well supported subclades within the family. *American Journal of Botany*, 11:1846-2004.

Y

Yoshikawa M., Harada E., Naitoh Y., Inoue K., Matsuda H., Shimoda H., Yamahara J., et Murakami N., 1994. Development of bioactive function in *Hydrangeae dulcis folium*. III. On the anti-allergic and antimicrobial principles of *Hydrangeae dulcis folium*, *Chem. Pharm. Bull*, 42: 2225-2230.

Yang Z.-G., Sun H.-X., & Fang W.-H., 2005. Haemolytic activities and adjuvant effect of *Astragalus membranaceus* saponins (AMS) on the immune responses to ovalbumin in mice. *Vaccine*, 23(44): 5196-5203.

Z

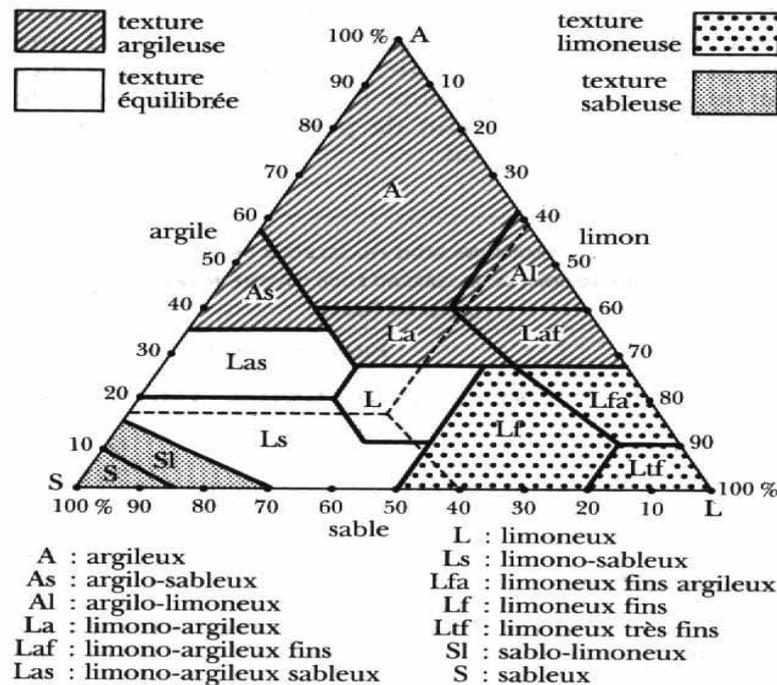
Ziadi N., & Sen Tran, T., 2006. Lime Requirement. *In* soil sampling and methods of analysis, pp 155 – 160. Deuxième édition, Taylor & Francis Group, LLC.

Zhang S.Y., Zheng C.G., Yan X.Y., Tian W.X., 2008. Low concentration of condensed tannins from catechu significantly inhibits fatty acid synthase and growth of MCF-7 cells, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 371: 654-658.

Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food chemistry*, 64 (4): 555-559.

Annexes

ANNEXE 01 : Triangle textural



TRIANGLE DES TEXTURES
(d'après U.S. département of agriculture)

ANNEXE 02 : Pour une meilleure analyse, la valeur de la teneur en Calcium, Magnésium, Sodium et Potassium a été divisée en 5 principales classes selon

Duchaufour (1995):

➤ **Calcium**

- 1- $0 \text{ Meq}/100\text{g} < \text{Ca}^{2+} \leq 2 \text{ Meq}/100\text{g}$ (très faible)
- 2- $2 \text{ Meq}/100\text{g} < \text{Ca}^{2+} \leq 5 \text{ Meq}/100\text{g}$ (faible)
- 3- $5 \text{ Meq}/100\text{g} < \text{Ca}^{2+} \leq 10 \text{ Meq}/100\text{g}$ (modéré)
- 4- $10 \text{ Meq}/100\text{g} < \text{Ca}^{2+} \leq 20 \text{ Meq}/100\text{g}$ (élevé)
- 5- $\text{Ca}^{2+} > 20 \text{ Meq}/100\text{g}$ (très élevé)

➤ **Magnésium**

- 1- $0 \text{ Meq}/100\text{g} < \text{Mg}^{2+} \leq 0,3 \text{ Meq}/100\text{g}$ (très faible)
- 2- $0,3 \text{ Meq}/100\text{g} < \text{Mg}^{2+} \leq 1 \text{ Meq}/100\text{g}$ (faible)
- 3- $1 \text{ Meq}/100\text{g} < \text{Mg}^{2+} \leq 3 \text{ Meq}/100\text{g}$ (modéré)
- 4- $3 \text{ Meq}/100\text{g} < \text{Mg}^{2+} \leq 8 \text{ Meq}/100\text{g}$ (élevé)
- 5- $\text{Mg}^{2+} > 8 \text{ Meq}/100\text{g}$ (très élevé)

➤ **Sodium**

- 1- $0 < \text{Na}^{+} \leq 0,1 \text{ Meq}/100\text{g}$ (très faible)
- 2- $0,1 \text{ Meq}/100\text{g} < \text{Na}^{+} \leq 0,3 \text{ Meq}/100\text{g}$ (faible)
- 3- $0,3 \text{ Meq}/100\text{g} < \text{Na}^{+} \leq 0,7 \text{ Meq}/100\text{g}$ (modéré)
- 4- $0,7 \text{ Meq}/100\text{g} < \text{Na}^{+} \leq 2 \text{ Meq}/100\text{g}$ (élevé)

5- $\text{Na}^+ \geq 2 \text{ Meq}/100\text{g}$ (très élevé)

➤ **Potassium**

1- $0 \text{ Meq}/100\text{g} < \text{K}^+ \leq 0,2 \text{ Meq}/100\text{g}$ (très faible)

2- $0,2 \text{ Meq}/100\text{g} < \text{K}^+ \leq 0,3 \text{ Meq}/100\text{g}$ (faible)

3- $0,3 \text{ Meq}/100\text{g} < \text{K}^+ \leq 0,7 \text{ Meq}/100\text{g}$ (modéré)

4- $0,7 \text{ Meq}/100\text{g} < \text{K}^+ \leq 2 \text{ Meq}/100\text{g}$ (élevé)

5- $\text{K}^+ \geq 2 \text{ Meq}/100\text{g}$ (très élevé)

➤ **Azote**

1- $\text{N} \leq 0,05\%$ (très faible)

2- $0,05\% < \text{N} \leq 0,1\%$ (faible)

3- $0,1\% < \text{N} \leq 0,15\%$ (modéré)

4- $0,15\% < \text{N} \leq 0,25\%$ (élevé)

5- $\text{N} \geq 0,25\%$ (très élevé)

➤ **Phosphore**

1- $\text{P} \leq 2,5\text{ppm}$ (très faible)

2- $2,5\text{ppm} < \text{P} \leq 5\text{ppm}$ (faible)

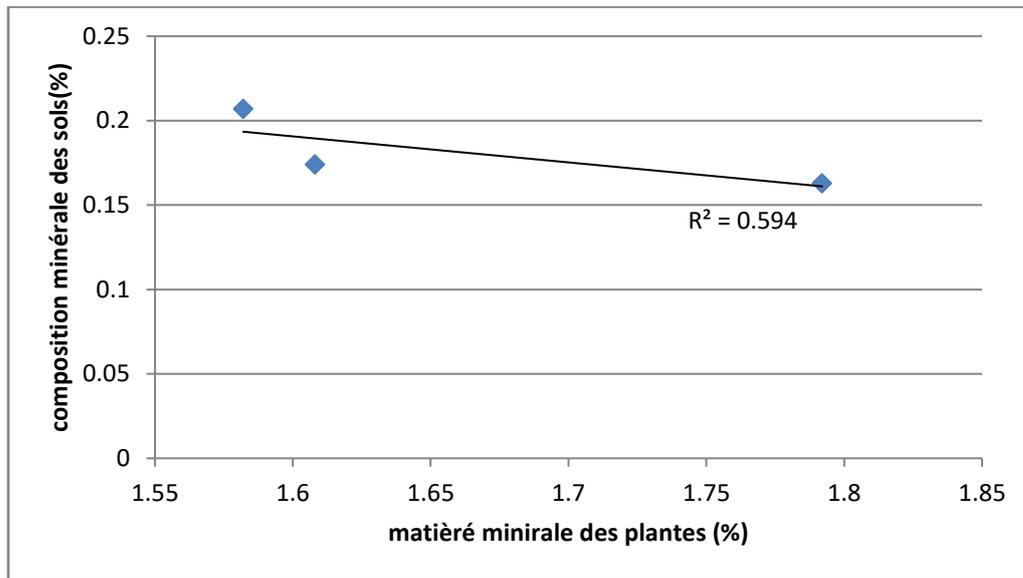
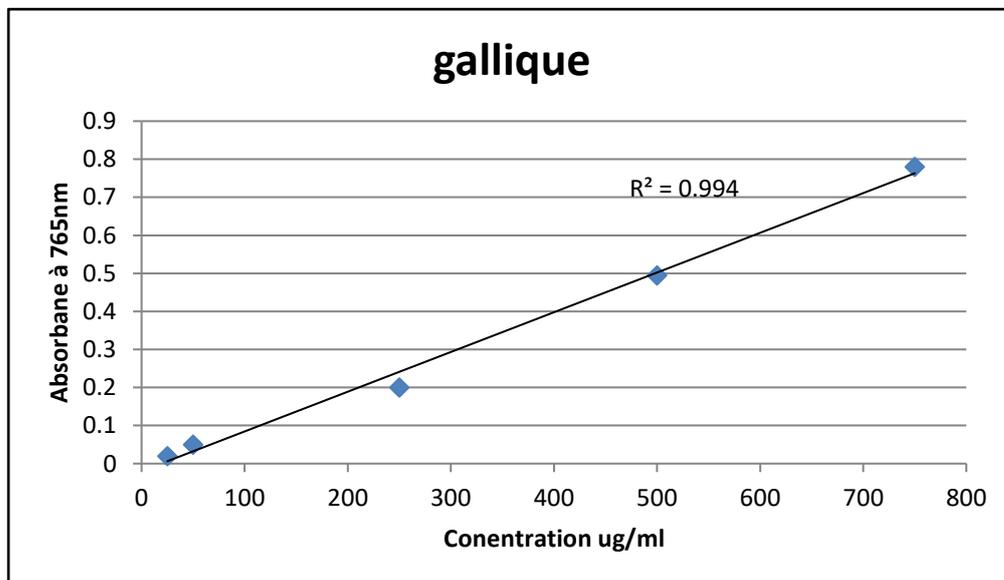
3- $5\text{ppm} < \text{P} \leq 10\text{ppm}$ (modéré)

4- $10\text{ppm} < \text{P} \leq 25\text{ppm}$ (élevé)

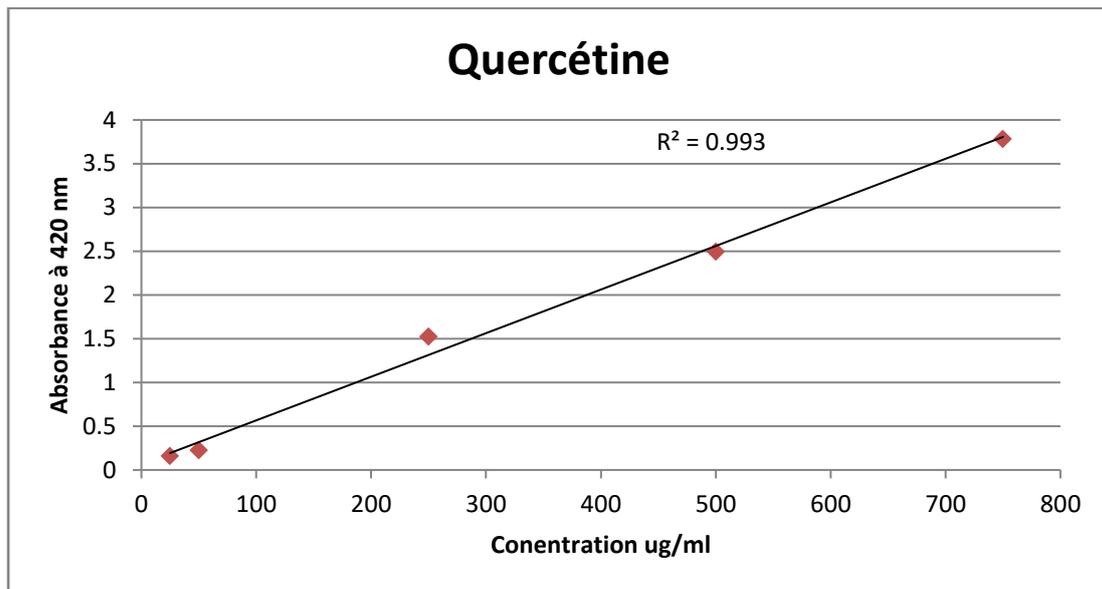
5- $\text{P} \geq 25\text{ppm}$ (très élevé)

ANNEXE 03: Echelle d'interprétation du C/N des résidus organiques, la minéralisation et la disponibilité de l'azote pour les plantes (Crepsy, 2003)

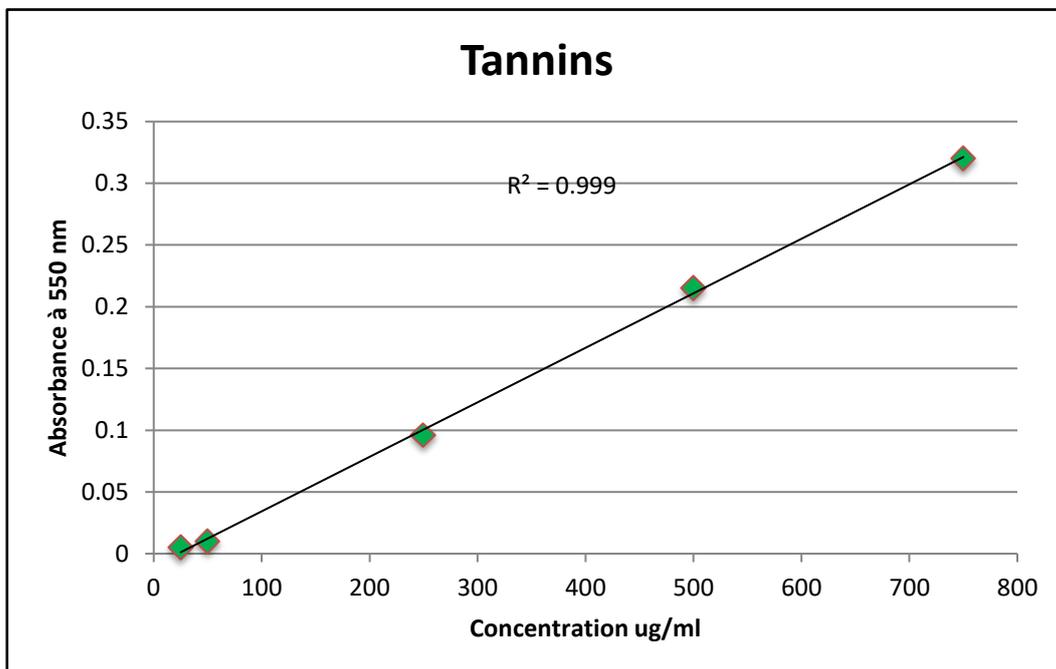
C/N	Niveau de minéralisation	Disponibilité de l'azote
< 10	Forte minéralisation	Elevée à très élevée
10 - 20	Bonne minéralisation	Bonne à élevée
20 - 60	Faible minéralisation	Faible à négative
60 – 100	Faible immobilisation	Faible à très négative
> 100	Forte immobilisation	négative

ANNEXE04: Corrélation entre teneurs des minéraux des plantes avec les teneurs des minéraux des sols**ANNEXE 05:** Droite d'étalonnage des polyphenols (moyenne \pm SD de trois mesures).

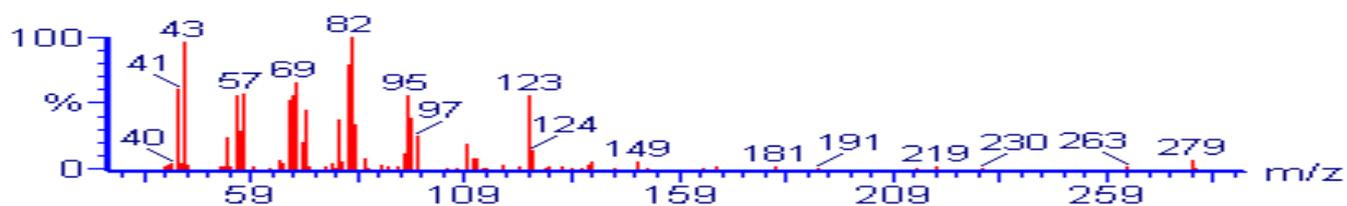
ANNEXE 06: Droite d'étalonnage des flavonoïdes (moyenne \pm SD de trois mesures).



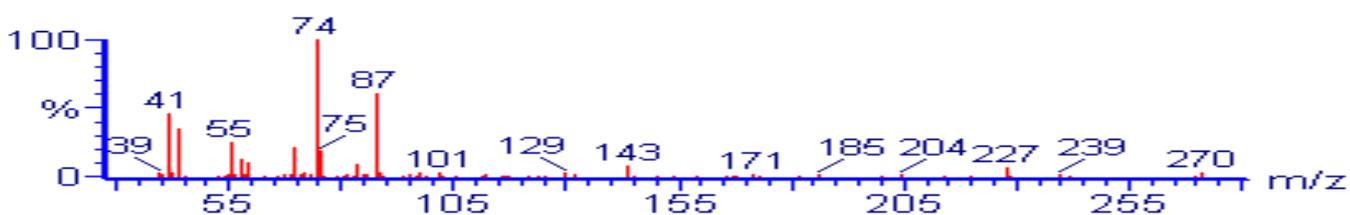
ANNEXE 07: Droite d'étalonnage des tannins (moyenne \pm SD de trois mesures).



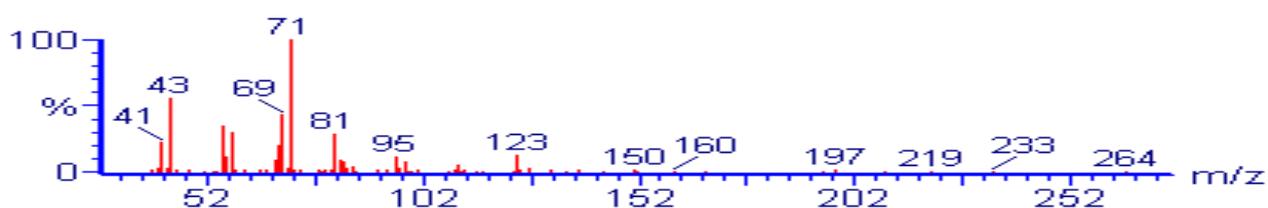
ANNEXE 08: Spectres des masses des composants identifiés dans l'extrait dichlorométhane de *G. numidica ssp numidica* ; spectre 01 : Citronellylacetate ; Spectre 02 : acide hexadécanoïque ; Spectre 03 : phytol ; Spectre 04 : Linolélaïdatéméthyle ; Spectre 05 : linolenatéméthyle



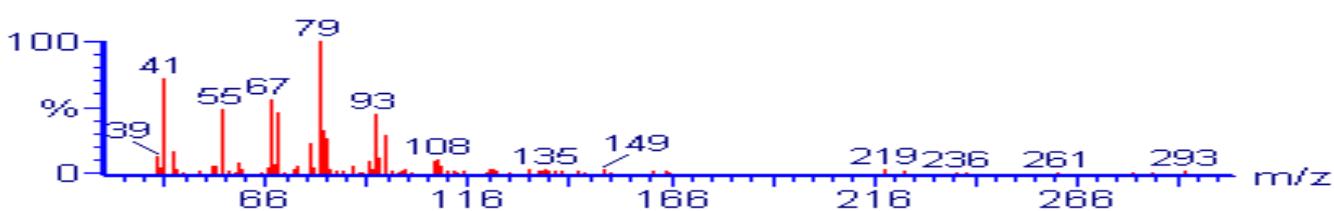
Spectre 01



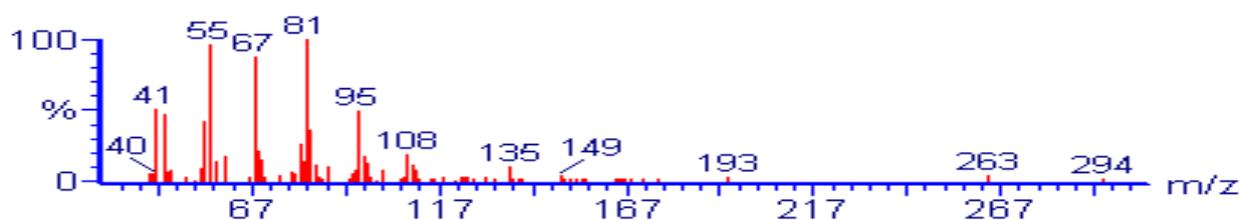
Spectre 02



Spectre 03



Spectre 04



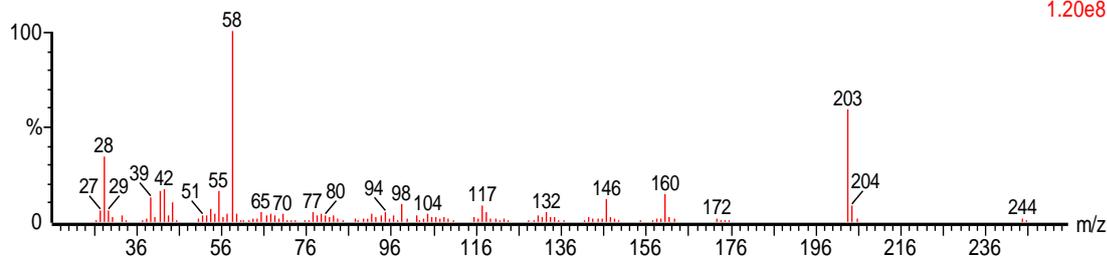
Spectre 05

ANNEXE 09: Spectres des masses des composants identifiés dans l'extrait méthanolique de *G.ferox* ; spectre 1 :N-but-3-enylcytisine; Spectre 2 :acide octadecatrenoïque; Spectre 3 :Caulophylline

, 21-Feb-2018 + 16:38:03

GF1_21-_02_2018 4176 (35.987) Cm (4176-(4152+4193))

Scan EI+
1.20e8

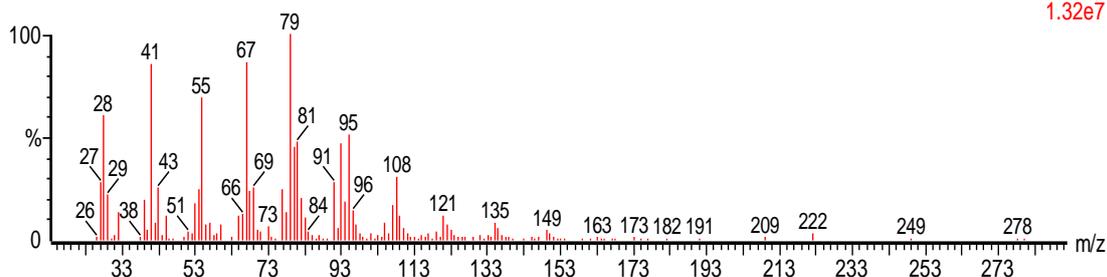


Spectre 01

, 21-Feb-2018 + 16:38:03

GF1_21-_02_2018 3910 (34.196) Cm (3910-(3868+3971))

Scan EI+
1.32e7

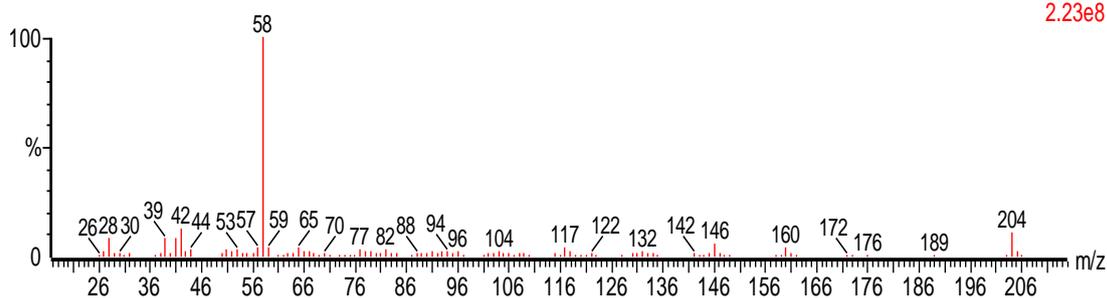


Spectre 02

, 21-Feb-2018 + 16:38:03

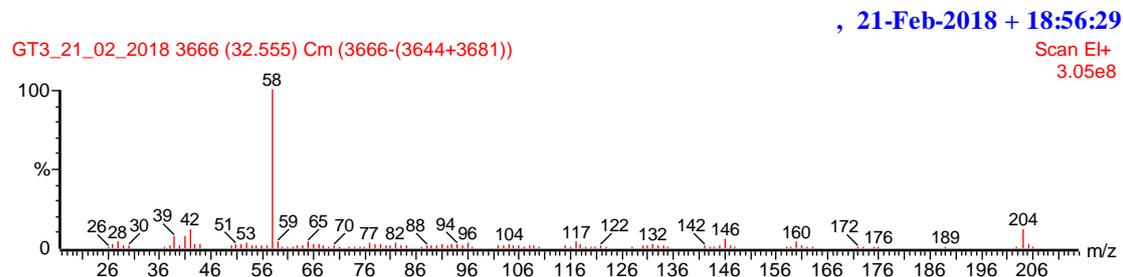
GF1_21-_02_2018 3649 (32.439) Cm (3649-(3623+3666))

Scan EI+
2.23e8

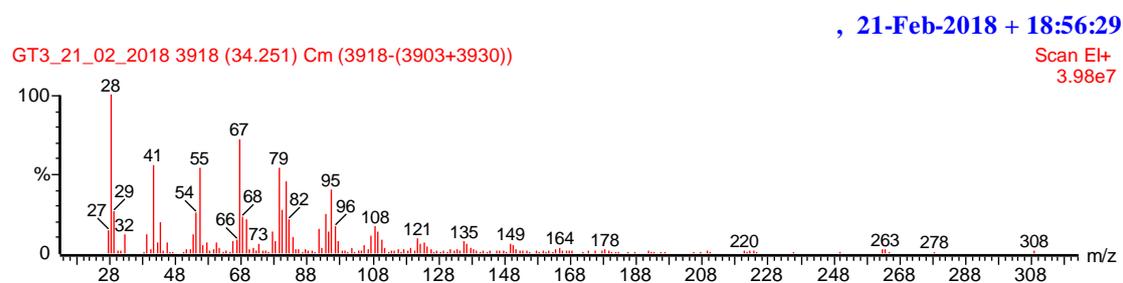


Spectre 03

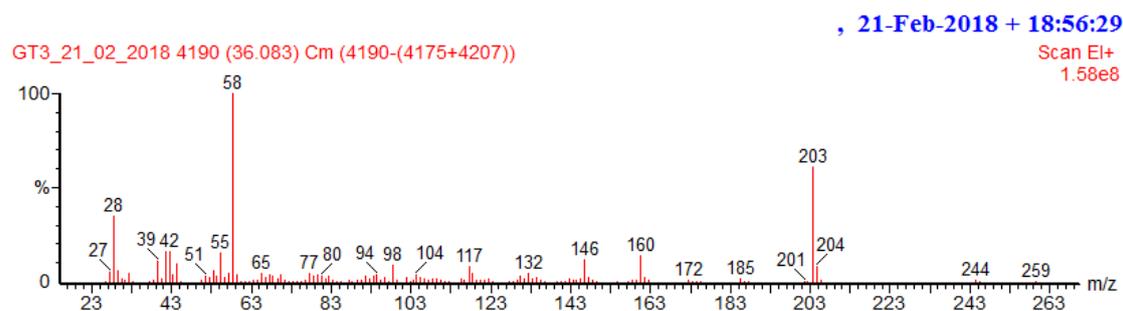
ANNEXE 10: Spectres des masses des composants identifiés dans l'extrait méthanolique de *G.tricuspidata* ; spectre 1 :Caulophylline; Spectre 2 : linolenate méthyle; Spectre 3 :N-but-3-enylcytisine



Spectre 01



Spectre 02



Spectre 03

Travaux en rapport avec la thèse

- Bennadja. S., **Ati Samira**. Quantitative analysis and antioxidant activity of three algerian endemic *Genista* species. IV international plant science conference (ipsc).112° congresso della società botanica italiana.Parma, 20 - 23 September 2017.
- **Ati Samira.**, Bennadja S., Ailane L., Aouadi G., Boumaraf W. Screening phytochimique et activité antioxydante de trois genres endemique "*Genista numidica* sp *numidica* ,*Genista ferox* Poiret et *Genista tricuspidata* Desf".7^{ème} Colloque international Sciences & Environnement (CISE). Bizerte, 20, 21 et 23 Mars 2018.
- **Ati Samira.**, Bennadja S., Boumaraf W. Phytochemical study of three endemic brooms in Algeria: *Genista numidica* Spach, *Genista ferox* Poiret and *Genista tricuspidata* Desf. *International Journal of Biosciences IJB*. 2017. Vol. 11, No. 3, p. 178-183.



Phytochemical study of three endemic brooms in Algeria: *Genista numidica* Spach, *Genista ferox* Poiret and *Genista tricuspida* Desf

Samira Ati^{*1}, Bennadja Salima¹, Boumaraf Warda²

¹Laboratory of Biochemistry and Environmental Toxicology, University Badji Mokhtar, Annaba, Algeria

²Department of Biology, Faculty of Sciences, Chadli Ben Djedid University, El-Tarf, Algeria.

Key words: *Genista numidica*, *Genista ferox*, *Genista tricuspida*, Secondary metabolite, Antioxydant activity.

<http://dx.doi.org/10.12692/ijb/11.3.178-183>

Article published on September 27, 2017

Abstract

Genista numidica, *Genista ferox* and *Genista tricuspida* are three endemic plants belonging to the family Fabaceae and which remain very little studied. The purpose of this work is to evaluate the antioxidant power of methanolic extracts of the flowers and the leaves of these species according to the DPPH free radical scavenging method while determining their total phenol, total flavonoids and tannin contents (the secondary metabolite), Flavonoids were estimated by the aluminum chloride (AlCl₃) method, the total phenols were determined with Folin-Ciocalteu reagent and the tannins were estimated by the vanillin in acid medium method. The investigations showed that *G. numidica* is the most rich in polyphenols (113 ± 3.87mg and 79.6 ± 3.49 mg) of gallic acid equivalent and it's the most flavonoid-rich with 85.47 ± 1.51mg/g and 87.31mg/g of quercetin equivalent in flowers and leaves respectively. However, *G. ferox* was the most-rich in tannins in both leaves and flowers with 39.81 ± 0.32 mg/g and 44.36 mg /g of catechin equivalent respectively. *G. tricuspida* showed a high level in the flowers extract (39.36 ± 0.32mg / g) and *G.numidica* gave 37.77 ± 0.64mg / g in the leaves extract. The antioxidant activity was the best in leaves and flowers extracts of *G. ferox* (IC₅₀ = 0.50 ± 0.006 mg/ml and 0.59 ± 0.02mg /ml) as well as *G.numidica* leaf extract (0.55 ± 0.03 mg /ml). These results showed that this species would be suggested as a promising alternative source of the natural anti-oxidative phenolic compounds .

* Corresponding Author: Samira Ati ✉ atisamira@yahoo.fr

Introduction

Algeria, because of the diversity of its bioclimates and the range of soils it contains, has a very interesting biodiversity. Algerian flora with its 3,000 species belonging to several botanical families, 15% of which are endemic, remains very little exploited phytochemically as well as pharmacologically. Among these plants, species belonging to the *Genista* genus, which alone contains 26 species and subspecies in Algeria, 11 of which are endemic (Quezel and Santa, 1962 and 1963).

Phytochemical studies carried out on the *Genista* genus have permitted to isolate alkaloids (Pistelli, 2001 and Kirch, 1995), as well as phenolic compounds, in particular flavonoids and isoflavonoids (Bolland, 1998 and Giachi, 2002). This work is a part of the research and the development of bioactive substances such as natural substances with antioxidant activity which are of interest in the field of bio-pharmacology.

The objective of this work is to determine the levels of polyphenols, flavonoids and tannins of the methanolic extracts of the leaves and flowers of 03 *Genista* endemic species: *Genista numidica*, *Genista ferox* and *Genista tricuspidata* and also to evaluate, *in vitro*, the antioxidant activity of the methanolic extracts in the three species according to the DPPH free radical scavenging

Materials and methods

Plant material

The aerial parts of *G. numidica* and *G. ferox* were harvested during the flowering period (April 2014) in the Cape of Guard zone (Annaba) and the aerial part of *G. tricuspidata* was harvested in the Berbessa area (Tipaza) in Algeria (Table 01).

Preparation of the methanol extract

The flowers and leaves of *G. numidica*, *G. ferox* and *G. tricuspidata* previously cleaned and crushed are macerated in methanol (2 g in 200 ml) with gentle stirring for 24 hours at room temperature. The alcohol extract is recovered after filtering the mixture with a filter paper; the methanol is removed from the

filtrate by evaporation under reduced pressure in a rotavapor (BÜCHI). A crude extract was thus obtained.

Extraction yield

The extraction yield was calculated by the formula (Falleh *et al.*, 2008):

$R (\%) = 100 \text{ Mext} / \text{Mech}$. Where: R is the yield in%; Mext is the mass of the extract after evaporation of the solvent in mg and Mech is the dry mass of the plant sample in mg.

Determination of total phenolic content (TPC)

The amount of total phenolic in all extracts, was determined with Folin-Ciocalteu reagent (Singleton *et al.*, 1999). 5 mg of samples or a standard solution of gallic acid were weighed and dissolved in 5 ml of ethanol. A volume of 0.5 ml of Folin-Ciocalteu reagent (previously diluted 2 fold with distilled water) was added into test tube containing samples and standard at room temperature for 5 min. 2.5 ml of sodium carbonate (20%) were added and left at room temperature around 90 minutes. The absorbance of mixture was evaluated at 765nm using a UV-Vis spectrophotometer. The TPC was expressed as gallic acid equivalent (GAE) in mg/g of extract (mg QE/g extract) based on the calibration curve.

Determination of total flavonoid content (TFC)

Total flavonoid content was estimated by the aluminum chloride (AlCl₃) method (Ordon *et al.*, 2006). 5 mg of samples or a standard solution of quercetin were weighed and dissolved in 5 ml of methanol. To 2 ml of sample, 2 ml of 2% AlCl₃ ethanol solution was added. After one hour, at room temperature, the absorbance was measured at 430 nm. TFC was calculated as quercetin equivalent in mg/g of extract (mg QE/g extract) based on the calibration curve.

Determination of tannin content

The condensed tannins are determined by the method to the vanillin in acid medium (Julkunen-Titto, 1985). A volume of 50 µl of the raw extract is added in 1500 µl of the solution vanillin/methanol (4 % m/v) then mixed by means of a whirlpool. Then, 750 µl some concentrated hydrochloric acid (HCl) is added.

The obtained mixture is let react to the hanging ambient temperature 20 min. The absorbance is measured in 550 nm against a white. A curve of calibration is realized in parallel in the same operating conditions by using of the catechin as the positive control. The results are expressed in equivalent (mg) of the catechin of the dry plant material (mg EC/g).

DPPH radical scavenging activity

To study the anti-radical activity of the various extracts, we opted for the method which uses the DPPH (diphényl picryl-hydrazyl) as a relatively stable free radical, according to the protocol described by (Brand-Williams,1995) .In this test antioxidants reduce the diphényl picryl-hydrazyl having a purple color in a yellow compound, the intensity of the color of which is inversely proportional to the capacity of the present antioxidants in the environment(middle) to give protons (Sanchez-Moreno ,2002). Briefly, 100 µl solutions of extracts were added to 2 ml DPPH (2,4mg prepared in 100ml methanol). At the same time (in parallel), a negative control is prepared by mixing 100 µl of methanol with 2ml of the méthanolic solution of DPPH. The reading of the absorbance is made against a white.

Table 1. Ecological characteristics of sampling site.

Site	Latitude	Longitude	Altitude	Texture of substrate
Annaba	36°57'	7°46'	171 m	Sandy loam
Tipaza	36°37'	2°45'	392m	Sandy loam

Table 2. Percentage yield of extractions in the 03 brooms.

Species	<i>G. numidica</i>		<i>G. ferox</i>		<i>G. tricuspidata</i>	
	Leaves	Flowers	Leaves	Flowers	Leaves	Flowers
yield %	20	10	17	17	5	10

Polyphenols content

The results in (Fig.1) show that *G. numidica* is the most rich in polyphenols for flowers and leaves (113 ± 3.87 mg GAE/g and 79.6 ± 3.49 mgGAE/g), respectively, compared with *G. ferox* (86.66 ± 4 , 10mg GAE/g and 65 ± 1.74 mg GAE/g) and *G. tricuspidata* (53.06 ± 0.64 mg GAE/g and 51 ± 0.72 mg GAE / g).

The reading of the absorbance is made against a white prepared for every concentration in 517nm after 30 min of incubation for the darkness and at room temperature. The positive control is represented by a solution of a standard antioxidant; the ascorbic acid and BHT the absorbance of which was measured in the same conditions as the samples and for every concentration, the test is repeated 3fois. The anti-radical activity is estimated according to the equation below:

$$\% \text{ radical activity} = [(Abs \text{ controls} - Abs \text{ sample} / Abs \text{ controls}] \times 100.$$

Where: Abs control is the absorbance of blank; Abs sample is the absorbance of the sample.

Results and discussions

Extraction yield

It is apparent from the observation of the extraction yields (Table 02) that the best yield was that of *G. numidica* (20% leaves) followed by that of *G. ferox* 17% (leaves and flowers) whereas *G. tricuspidata* gave the lowest yield 5% (leaves). The yield depends on the geographical origin of the plant, the season of harvest, method and conditions of the extraction. It is only relative (Benhamou, 2011).

Flavonoids content

Based on the results of the quantitative analysis of flavonoids (Fig 2); *G. numidica* was found to be the most flavonoid-rich with 85.47 ± 1.51 mg QE/G and 87.31 mg QE/g, respectively, in flowers and leaves, followed by *G. ferox* (61.90 ± 1 , 46mg QE/g and 56.06 ± 1.45 mg QE/g) and finally *G. tricuspidata* with the lowest content (44.91 ± 0.32 mg QE/g and 44.70 ± 1.14 mg QE/g), respectively.

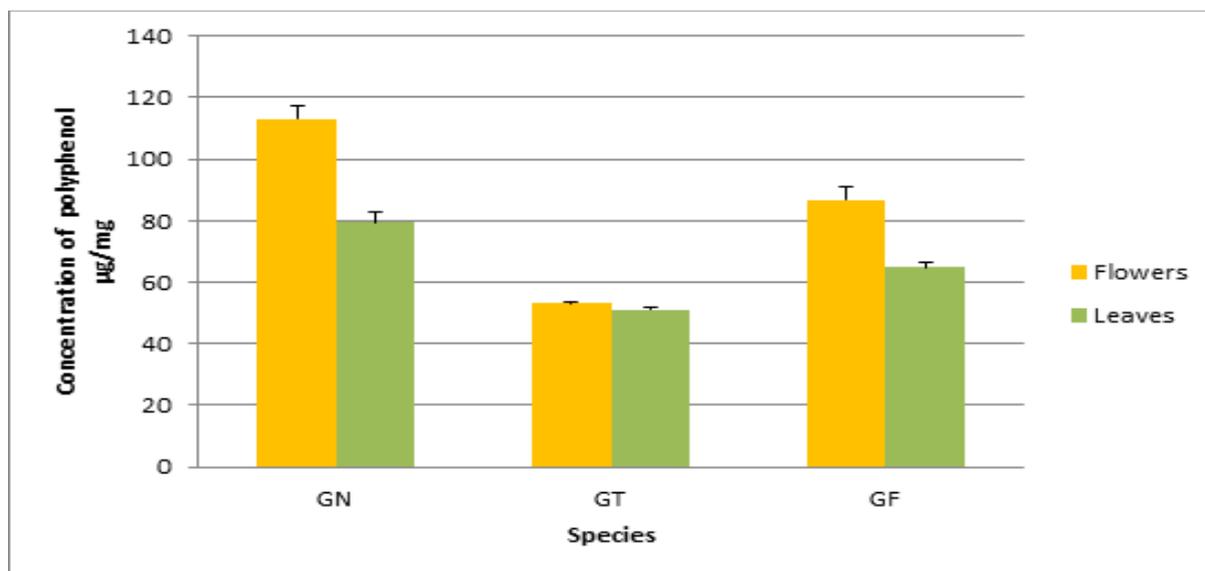


Fig. 1. Total polyphenol content in the o3 species (mg GAE/g).

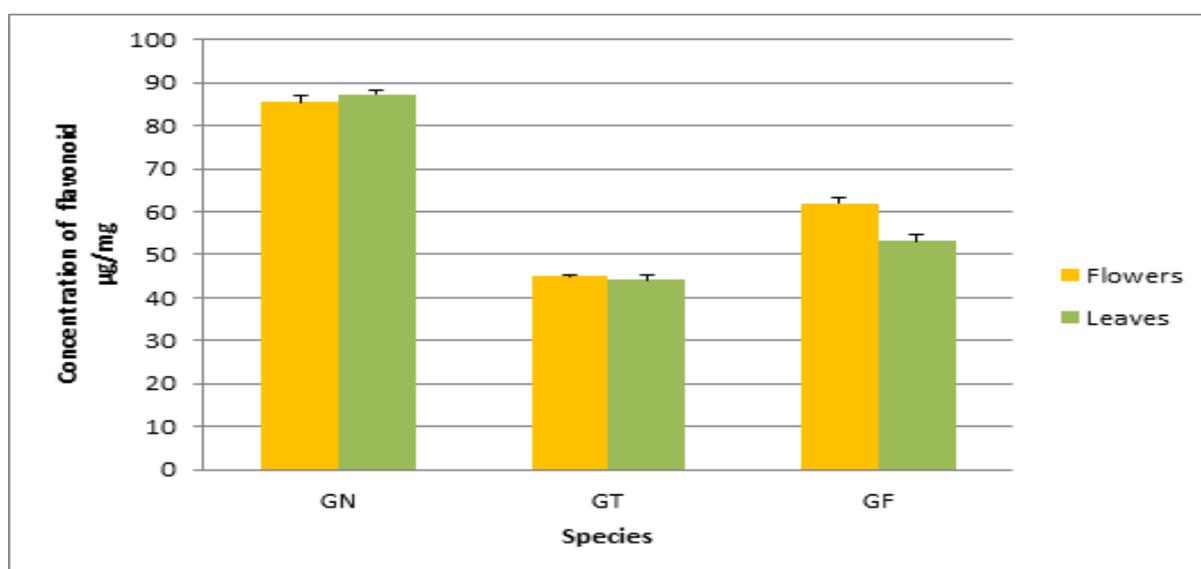


Fig. 2. Flavonoid content in the o3 species (mg QE / g).

Tannin content

The quantitative analysis of the tannins of the o3 species (Fig. 3) gave the highest levels in *G. ferox* both in leaves and in flowers with 39.81 ± 0.32 mg EC / g and 44.36 mg EC respectively / g. For *G. tricuspidata* the levels were respectively 30.27 mg CE / g and 39.36 ± 0.32 mg CE/g and finally, for *G. numidica* the tannin contents were 37.77 ± 0.64 mg CE / g and 30.18 ± 0.83 mg CE/g respectively.

Antioxidant activity

The study of the antioxidant activity of the extracts of Genista species according to the DPPH free radical

scavenging method (Fig. 4) showed that the IC 50 value of the ascorbic acid was equal to 0.51 ± 0.004 mg/ml and the IC₅₀ value of BHT was 0.17 ± 0.02 mg/ml. By comparing the IC₅₀ of our extracts with those of ascorbic acid and BHT, we observed a very important antioxidant activity of leaf extracts and flowers in *G. ferox* (IC₅₀ = 0.50 ± 0.006 mg/ml and 0.59 ± 0.02 mg/ml) as well as *G. numidica* leaf extract (0.55 ± 0.03 mg / ml).

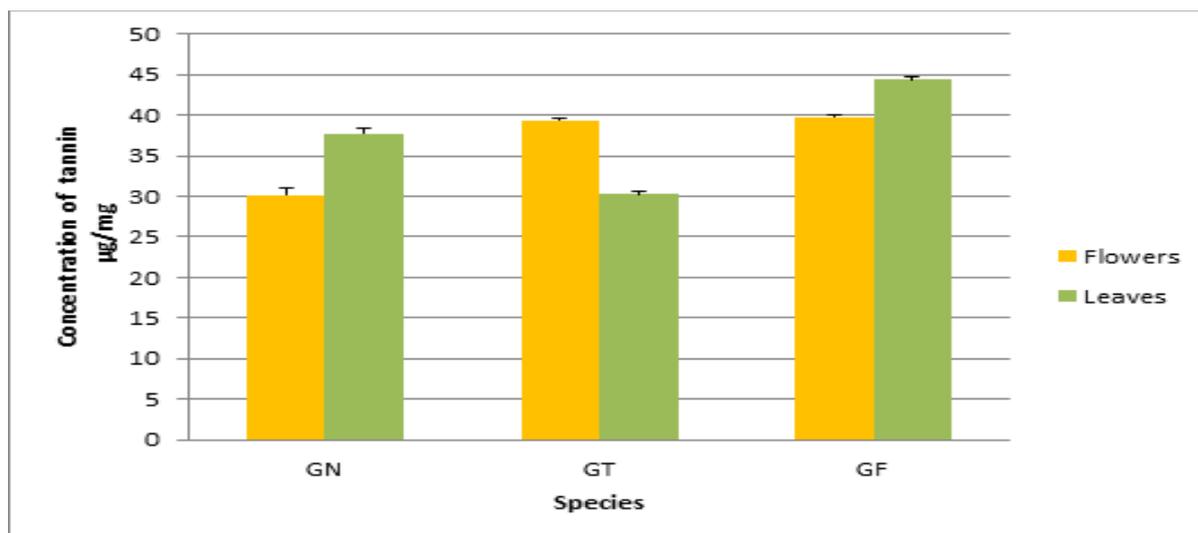


Fig. 3. Tannin content of the o3 species (mg CE / g).

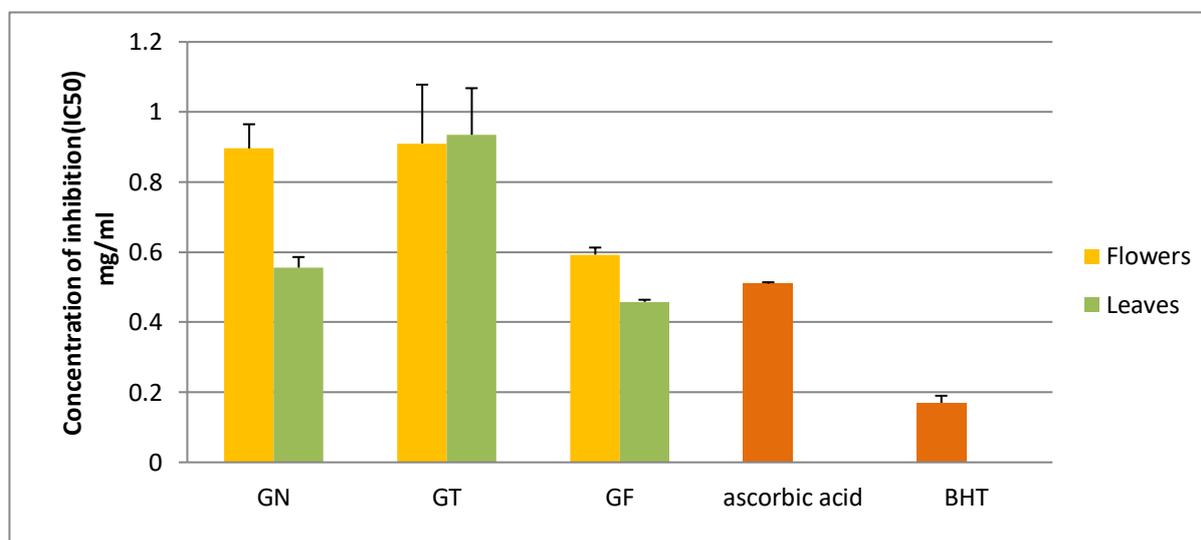


Fig. 4. Concentration of inhibition IC₅₀ of the o3 species and of the reference antioxidants.

In contrast, extracts of leaves and flowers of *G. tricuspidata* (0.95 ± 0.13 and 0.93 ± 0.16 mg/ml) and *G. numidica* flowers (0.89 ± 0.06 mg/ml) showed a very modest antioxidant activity. Few studies have been devoted to the antioxidant power of the o3 species of Genista, but we can note that *G. ferox* and *G. numidica* showed a good antioxidant activity. This is due to their richness in polyphenols and flavonoids. Many attempts to explain the structure activity relationship of some phenols have been reported in the literature (Ghasemzadeh A., *et al* 2011). (Halliwell, B and Guttridge, J 1999) reported that the power in the anti-oxidation process results first from the ability to prevent the anti-oxidation of free radical mediates oxidation of the substrates in low

concentration and second that the resulting radical after scavenging must be stable.

Conclusion

The results obtained showed that the methanolic extracts of the leaves and the flowers of *G. ferox* and *G. numidica* yielded the best levels of polyphenols and flavonoids, which generated a good antioxidant activity. The antioxidant effect could prevent several diseases, so it would be interesting to test them *in vivo* to correlate the results observed in both cases. This work can also complement the already existing database of these three endemic species, which are very little studied and which require further research.

Acknowledgments

Our thanks go to Me Guetari_Mouhamadi without whom, this work could not have been realized.

References

Benhamou N. 2011. Antioxidant activity of extracts of the phenolic compounds of ten medicinal plants in the West and Southwest of Algeria, PhD thesis in biology, Tlemcen, Algérie, P 54.

Bolland GM, Donnely DMX. 1998. Isoflavonoids and Related Compounds, journal Natural Product Reports **15**, 241-260.
<https://doi.org/10.1039/A815241Y>.

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm Wiss Technology **28**, 25-30.18.
[https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M and Abdelly C. 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. Comptes Rendus Biologies. **331**, 372-379.
<https://doi.org/10.1016/j.crv.2008.02.008>

Ghasemzadeh A, Jaafar Hawa ZE, Rahmat A. 2011. Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in two varieties of young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracts. Journal of Medicinal Plants Research.; **5(7)**: 1147-1154. ISSN 1996-0875 ©2010 Academic Journals.
<http://www.academicjournals.org/JMPR>

Giachi I, Manunta A., Morelli I, Pistelli L. 2002. Flavonoïds and isoflavonoïds from *Genista morisii*, Biochemical systematics and Ecology **30**, 801-803.
[https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(01\)00116-8](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(01)00116-8)

Halliwell B, Gutteridge J. 1999. The Free radicals in biology and medicine, Oxford Oxford University Press 2015.

Julkunen-Titto R. 1985. Phenolic constituents in the leaves of northern willows : methods for the analysis of certain phenolics. Journal of Agricultural and Food chemistry, **33**, 213-217.
<https://doi.org/10.1021/jf00062a013>.

Kirch J, Vert M, Watzingh H, Greinwald R, Grygan FC. 1995. Alkaloïdal variation in *Genista lobelii* S.I (Fabaceae), Biochemical systematic and Ecology vol **23** ,N°6, 635-643 p.
[https://doi.org/10.1016/0305-1978\(95\)00037-2](https://doi.org/10.1016/0305-1978(95)00037-2)

Ordon Ez AAL, Gomez JD, Vattuone MA, Isla MI. 2006. Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swart extracts. Food Chemistry **97**, 452-458
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.024>.

Pistelli L, Bertoli A, Giachi I, Morelli I, Rubiolo P, Bicchi C. 2001. Quinolizidine alkaloids from *Genista ephedroide*, biochemical and systematic and Ecology **29**. 137-141p.183
[https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(00\)00046-6](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(00)00046-6)

Quezel P, Santa. 1962 et 1963 .Nouvelle flore de l'Algérie et des région désertiques méridionales.Tome I .C.N.P.S.Paris.

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent **299**, 152-178.
[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

Sanchez-Moreno C. 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems International Journal of Food Science and Technology **8**, 121-137.
<https://doi.org/10.1106/108201302026770>