

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV
Filière Sciences Biologiques

Option :

Biodiversité et physiologie végétale

Thème

Caractérisation morpho-anatomique et biochimiques des feuilles
et des fruits de deux espèces d'aubépine : *Crataegus monogyna*
Jack. et *Crataegus pyracantha Medik.*

Présenté par :

- LETRECHE Hadjira
- HADJ-ALI Hiba

Date de soutenance :

14/07/2022

Devant le jury :

Nom	Grade/ Lieu	Qualité
Mme BRADEA M.S	Pr/USDB1	Présidente
Mme BENASSEL N	MAA/USDB1	Examinatrice
Mme TOUAIBIA M	MCA/ USDB1	Promotrice

Promotion : 2021-2022

Remerciements

- ❖ *Nous tiens à remercier tout d'abord DIEU le plus puissant qui nous a donné le courage et la persévérance dans l'accomplissement de ce travail et qui nous a soutenues dans les moments difficiles.*
- ❖ *Et en second lieu notre promotrice Mme FOUATIBA M, maitre de conférences à l'Université de BLIDA 1, pour avoir accepté de nous encadrer, orienter et donner les plus amples conseils précieux qui nous ont permis de s'affranchir des écueils rencontrés tout au long de la période de réalisation de ce travail et permettant ainsi son bon déroulement dans les bonnes conditions. Nous ne saurions jamais la remercier assez pour son aide, sa confiance, sa disponibilité, son soutien et sa sympathie et surtout pour sa patience.*
- ❖ *Nous exprimons nos vifs remerciements à Mme BRADJA M.S, professeur à l'Université de BLIDA 1 pour son aide précieuse dans l'identification des espèces que nous avons étudiées et ses conseils et pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*
- ❖ *Nos remerciements et reconnaissance vont également à Mme BENASSEL N, maitre assistante à l'Université de BLIDA 1, pour avoir accepté d'examiner ce travail.*
- ❖ *Nous sentiments de reconnaissance et nous remercions également à toute personne qui a participé des prés ou loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.*
- ❖ *Et enfin, nous remercions nos collègues et nos amies pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.*

Dédicace

A mon très cher papa Mohamed

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous.

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.
Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

Que Dieu vous apporte santé, bonheur et longue vie.

Je t'aime PAPA

A ma très chère mère Khalida

A la plus douce et la plus merveilleuse de toutes les mamans.

A une personne qui m'a tout donné sans compter.

Aucun hommage ne saurait transmettre à sa juste valeur ; l'amour, le dévouement et le respect que je porte pour toi.

*Je te dédie ce travail qui n'est que le fruit de tes conseils et de tes encouragements
Puisse Dieu tout puissant te protéger du mal, te procurer longue vie, santé et bonheur
afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois.*

Je t'aime MAMAN

A mon frère Amine et mes sœurs Aicha , Wafa et Manel

A mes neveux et nièces Houssem , Abderrahmene et Sara

*Qui m'ont toujours soutenues et encouragée même dans les périodes les plus difficiles
A ma famille, mes proches amies, et a tous ceux qui me sont chers.*

Et A mon binôme Hiba

*Je vous remercie pour votre soutien moral, ta patience et votre dévouement
à ce travail, Je vous dédie le fruit de nos efforts.*

Hadjira

Dédicace

*Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,
À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère
Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma
considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et
mon bien être.*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis de
mon enfance, j'espère que tu es fier de moi et votre bénédiction m'accompagne
toujours.*

Tout simplement, Merci d'être ma mère, Que dieu vous protège.

*À la couronne de ma tête mon père pour tous ce qu'il m'a fait, le meilleur des
pères, tu es ma vie papa je t'aime*

*À mes Adorables sœurs imene et selma qui sont présents dans tous les moments difficiles, je les
remercie pour leur soutien moral. Leur grande aide et leur générosité ont été pour
moi une source de courage,*

À mon cher et unique frère Muhammed

Aux anges de la famille, Racim et Amir

À mes meilleures amies Mimi, Ikram,

*À mon binôme Hadjira de m'avoir partagé ce travail, nous avons partagé
d'agréables moments inoubliables tout au long de notre cursus universitaire.*

À tout ma famille maternelle, paternelle et mes proches.

À tous ceux qui ont de près ou de loin, participé à la réalisation de ce travail

Hiba

Résumé

Peu nombreuses sont les études consacrées à mettre en évidence les particularités des espèces appartenant au genre *Crataegus*, communément appelées aubépines, malgré les divergences apparentes sur leurs formes, leurs tailles et leurs fruits. Ce travail a pour objectif d'apporter une contribution à l'étude de quelques caractéristiques morpho-anatomiques, phytochimiques et biochimiques de feuilles et des fruits de deux espèces d'aubépine : *Crataegus monogyna* et *Crataegus pyracantha*.

L'examen morphologique est basé sur l'étude de l'aspect, la couleur, la taille et la forme des feuilles, des fruits et des graines et l'examen microscopique est effectué par la technique de double coloration sur les feuilles et les tiges de ces deux espèces. Ces examens ont fait ressortir plusieurs points de similitudes et de divergence : l'organisation du parenchyme cortical et la structures tissulaires secondaires est semblable dans les tiges semi-ligneuses des deux espèces étudiées avec la présence d'une différence significative dans la nature de tissu médullaire observé dans les tiges . Pour ce qui est des feuilles, elles se caractérisent par la présence d'une symétrie bilatérale et un mésophile hétérogène chez les deux espèces.

Les rendements des extraits éthanoliques obtenus par macération des feuilles et des fruits étaient de 15.61% et 21.03% pour l'espèce *C. pyracantha* alors que des taux plus faibles ont été enregistrés pour les feuilles et les fruits de *C. monogyna* (14.91% et 10.96% respectivement).

Le screening phytochimiques des métabolites primaires et secondaires a permis de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques, parmi lesquels on peut citer : les glucosides , les lipides , les leuco- anthocyanes, les flavonoïdes et les tanins aussi bien au niveau des feuilles qu'au niveau des fruits, avec une absence d'amidon, des coumarines , des saponines , des drivées anthracéniques libres et combinés ainsi que des stéroïdes. . Les résultats de ces tests indiquent aussi la présence des sennosides au niveau des feuilles de *C. pyracantha* et *C. monogyna* contrairement aux fruits. Des réactions positives ont été également mises en évidence pour les mucilages, les composées réducteurs et les alcaloïdes au niveau des feuilles de *C. monogyna* ainsi que les fruits des deux espèces.

Les dosages biochimiques nous ont permis de mettre en évidence la presence notables des sucres totaux (0,939 et 1,620 µg/g), des phénols totaux (17.83 et 13.41 µg eq ac gal/ mg ES) , des flavonoïdes totaux (0,525 et 0, 0,614µg eq quer /mg ES), des flavonols (0,934 et 1,137 µg eq rut/mg ES) ,et des tanins (1.66 et 1.44 µg eq ac tan /mg ES). Au niveau des feuilles de *C. pyracantha* et *C. monogyna* respectivement.

Quant aux fruits, le paramétrage biochimique a validé la presence des sucres totaux (1,991 et 1,816 µg/g), des phenols totaux (0.58 et 3.03 µg eq ac gal/ mg ES), des flavonoides (0,539 et 0,557 µg eq quer /mg ES), des flavonols (0,847 et 1,386 µg eq rut/mg ES) ainsi que des tanins (0.1 et 0.3 µg eq ac tan /mg ES les feuilles et les tiges de *C. pyracantha* et *C. monogyna* ont présenté des teneurs variables en *chlorophylle a* (7.17 µg , 5.55 µg, 19,9 µg et 0,509 respectivement) et en *chlorophylle b* (31,568 µg, 2,338 µg, 1,917 µg respectivement).

Mots clés : *Crataegus monogyna*, *Crataegus pyracantha*, examen morphologique, microscopique, screening phytochimique, biochimique.

Abstract

Few studies have been devoted to highlighting the peculiarities of species belonging to the genus *Crataegus*, commonly known as hawthorns, despite the apparent differences in their shapes, sizes and fruits. This work aims to contribute to the study of some morpho-anatomical, phytochemical and biochemical characteristics of leaves and fruits of two species of hawthorn: *Crataegus monogyna* and *Crataegus pyracantha*.

The morphological examination is based on the study of the aspect, the color, the size and the shape of the leaves, the fruits and the seeds and the microscopic examination is carried out by the technique of double staining on the leaves and the stems of these two species. These examinations revealed several points of similarity and divergence: the organization of the cortical parenchyma and the secondary tissue structures is similar in the semi-linear stems of the two species studied with the presence of a significant difference in the nature of medullary tissue observed in the stems. As for the leaves, they are characterized by the presence of bilateral symmetry and heterogeneous mesophily in both species.

The yields of ethanolic extracts obtained by maceration of leaves and fruits were 15.61% and 21.03% for *C. pyracantha* species while lower rates were recorded for leaves and fruits of *C. monogyna* (14.91% and 10.96% respectively).

The phytochemical screening of the primary and secondary metabolites allowed to highlight the presence of some chemical groups, among which we can mention: glucosides, lipids, leucoanthocyanins, flavonoids and tannins as well at the level of the leaves as at the level of the fruits, with an absence of starch, coumarins, saponins, free and combined anthracene derivatives as well as steroids. The results of these tests also indicate the presence of sennosides in the leaves of *C. pyracantha* and *C. monogyna* contrary to the fruits. Positive reactions were also found for mucilages, reducing compounds and alkaloids in the leaves of *C. monogyna* as well as in the fruits of both species.

The biochemical assays allowed us to highlight the notable presence of total sugars (0.939 and 1.620 $\mu\text{g/g}$), total phenols (17.83 and 13.41 $\mu\text{g eq ac gal/ mg ES}$), total flavonoids (0.525 and 0.614 $\mu\text{g eq quer/ mg ES}$), flavonols (0.934 and 1.137 $\mu\text{g eq rut/ mg ES}$), and tannins (1.66 and 1.44 $\mu\text{g eq ac tan/ mg ES}$). In the leaves of *C. pyracantha* and *C. monogyna* respectively.

As for the fruits, the biochemical parameterization validated the presence of total sugars (1.991 and 1.816 $\mu\text{g/g}$), total phenols (0.58 and 3.03 $\mu\text{g eq ac gal/ mg ES}$), flavonoids (0.539 and 0.557 $\mu\text{g eq quer/ mg ES}$), flavonols (0.847 and 1.386 $\mu\text{g eq rut/ mg ES}$) as well as tannins (0.1 and 0.3 $\mu\text{g eq ac tan/ mg ES}$) leaves and stems of *C. pyracantha* and *C. monogyna* showed variable contents of chlorophyll a (7.17 μg , 5.55 μg , 19.9 μg and 0.509 respectively) and chlorophyll b (31.568 μg , 2.338 μg , 1.917 μg respectively).

Keywords: *Crataegus monogyna*, *Crataegus pyracantha*, morphological examination, microscopic, phytochemical screening, biochemical.

ملخص

هناك القليل من الدراسات التي قامت بتسليط الضوء على خصوصيات الأنواع التي تنتمي إلى جنس *Crataegus*، المعروف باسم الزعرور على الرغم من الاختلافات الواضحة في أشكالها وأحجامها وثمارها. يهدف هذا العمل إلى المساهمة في دراسة بعض الخصائص المورفولوجية-التشريحية، والكيميائية النباتية والكيميائية الحيوية لأوراق وثمار نوعين من الزعرور: *Crataegus pyracantha* و *Crataegus monogyna*.

يعتمد الفحص المورفولوجي على دراسة مظهر ولون وحجم وشكل كل من الأوراق والثمار والبذور ويتم بتقنية الصبغ المزدوج على أوراق وسيقان هذين النوعين. كشفت هذه الفحوصات عدة نقاط من التشابه والاختلاف: تنظيم الحمة القشرية وهياكل الأنسجة الثانوية متشابهة في السيقان الشبه الخشبية للنوعين اللذين تمت دراستهما مع وجود اختلاف كبير في طبيعة الأنسجة النخاعية في السيقان أما بالنسبة للأوراق فهي تتميز بوجود تناسق ثنائي ووسيط غير متجانس في كلا النوعين.

قدرت حصيلة المستخلصات الإيثانولية التي تم الحصول عليها عن طريق نقع الأوراق والثمار لنوع *C. pyracantha* بـ 15.61% و 21.03% بينما سجلت معدلات أقل لأوراق وثمار *C. monogyna* (14.91% و 10.96% على التوالي).

كشفت الفحص الكيميائي النباتي للمستقبلات الأولية والثانوية عن وجود عدد قليل من المجموعات الكيميائية، بما في ذلك الجلوكوسيدات والدهون والليوكو والأنثوسيانين والفلافونويد والعفص على مستوى الأوراق وعلى مستوى الفاكهة مع نقص النشا والكومارينات والصابونين ومشتقات الأنتراسين الحرة والمجمعة وكذلك المنشطات. تشير نتائج هذه الاختبارات أيضاً إلى وجود السنوسيدات في أوراق *C. pyracantha* و *C. monogyna* على عكس الفاكهة. كما ظهرت تفاعلات إيجابية مع الصمغ، و المركبات السكرية والاكليدات في أوراق *C. monogyna* وكذلك ثمار كلا النوعين.

سمحت لنا المقاسات البيوكيميائية بتسليط الضوء على الوجود الملحوظ للسكريات الاجمالية (0.939 و 1.620 ميكروغرام / غرام)، وإجمالي الفينولات (17.83 و 13.41 يكافئ ميكروغرام حمض الغاليك /ملغ من المستخلص الجاف) الفلافونويد الكلي (0.525 و 0.614 ميكروغرام روتين مكافئ / ملغ من المستخلص الجاف)، الفلافونول (0.934 و 1.137 ميكروغرام روتين / ملغ مستخلص جاف)، والعفص (1.66 و 1.44 ميكروغرام مكافئ حمض التانيك /ملغ من المستخلص الجاف) على مستوى الأوراق من *C. pyracantha* و *C. monogyna* على التوالي.

أما بالنسبة للثمار، فقد أثبتت الدراسة البيوكيميائية وجود السكريات الكلية (1.991 و 1.816 ميكروغرام / غرام) وإجمالي الفينولات (0.58 و 3.03 ميكروغرام يكافئ ميكروغرام حمض الغاليك /ملغ من المستخلص الجاف) والفلافونيدات (0.539 و 0.557 ميكروغرام روتين يكافئ /ملغ من المستخلص الجاف)، الفلافونول (0.847 و 1.386 ميكروغرام روتين / ملغ مستخلص جاف)، بالإضافة إلى العفص (0.1 و 0.3 ميكروغرام ميكروغرام مكافئ حمض التانيك /ملغ من المستخلص الجاف) كما قدمت أوراق وسيقان *C. pyracantha* و *C. monogyna* محتويات متغيرة من الكلوروفيل أ (7.17 ميكروغرام، 5.55 ميكروغرام، 19.9 ميكروغرام، 0.509 على التوالي) والكلوروفيل ب (31.568 ميكروغرام، 2.338 ميكروغرام، 1.917 ميكروغرام على التوالي).

الكلمات المفتاحية: *Crataegus monogyna*، *Crataegus pyracantha*، الفحص المورفولوجي، المجهر، الفحص الكيميائي النباتي، الكيميائي الحيوي.

Table de matière :

Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I.1. Généralités sur la famille des Rosaceae	3
I.2. Généralités sur le genre <i>Crataegus</i>	3
I.3. Aubépine monogyne (<i>Crataegus monogyna</i>)	3
I.3.1. Etymologie	3
I.3.2. Classification botanique.....	4
I.3.3. Description botanique.....	4
I.3.4. Origine et Aire de répartition :.....	5
I.3.4.1. Dans le monde.....	5
I.3.4.2. En Algérie	5
I.3.5. Exigences pédoclimatiques.....	6
I.3.6. Utilisations de l'espèce <i>Crataegus monogyna</i>	6
I.3.6.1. Utilisations médicinales	7
I.3.6.2. Utilisations alimentaires	7
I.3.6.3. Utilisations écologiques.....	7
I.3.7. Composition biochimique de l'espèce <i>Crataegus monogyna</i>	7
I.3.7.1. Les métabolites primaires	7
I.3.7.2. Les métabolites secondaires	8
I.4. Buisson ardent (<i>Crataegus pyracantha Medik</i>)	9
I.4.1. Etymologie	9
I.4.2. Classification botanique	10
I.4.3. Description botanique	10
I.4.4. Origine et aire de répartition	11
I.4.5. Exigences pédoclimatiques	12
I.4.6. Utilisations de l'espèce <i>Crataegus pyracantha Medik</i>	12
I.4.6.1. Utilisations médicinales	12
I.4.6.2. Utilisations alimentaires	13
I.4.6.3. Autres utilisations	13
I.4.7. Composition biochimique de l'espèce <i>Crataegus Pyracantha Medik</i>	13

I.4.7.1. Les métabolites primaires	13
I.4.7.2. Les métabolismes secondaires	14

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Matériel :	15
II.1.1. Matériel biologique	15
II.1.1.1. Collecte et identification du matériel végétal	15
II.1.1.3. Séchages et conservation du matériel végétal	16
II.1.2. Matériel non biologique.....	16
II.2. Méthodes :	16
II.2.1. Etude morphologique.....	17
II.2.2. Etude histo-anatomique	17
II.2.2.1. Préparation des échantillons.....	18
II.2.2.2. Réalisation des coupes histologiques.....	18
II.2.2.3. Coloration des coupes histologiques	19
II.2.2.1. Observation.....	19
II.2.3. Extraction par macération dans l'éthanol.....	21
II.2.4. Etude de quelques paramètres phytochimiques	21
II.2.4.1. Recherche des glucosides	22
II.2.4.2. Recherche de l'amidon.....	22
II.2.4.3. Recherche des composés réducteurs	22
II.2.4.4. Recherche des lipides	22
II.2.4.5. Recherche des alcaloïdes	22
II.2.4.6. Recherche de sennosides	22
II.2.4.7. Recherche des substances polyphénoliques	23
a) Les anthocyanes.....	23
b) Les leuco-anthocyanes (pro-anthocyanidols)	23
c) Les tanins	23
d) Les flavonoïdes.....	23
e) Recherche des coumarines	23
II.2.4.8. Recherche des Saponines	23

II.2.4.9. Recherche des mucilages	24
II.2.4.10. Recherche des anthraquinones.....	24
a) Dérivés anthracéniques libres	24
b) Dérivés anthracéniques combinés.....	24
II.2.4.11. Recherche des stérols et terpènes.....	24
II.2.4. Etude de quelques paramètres biochimiques	25
II.2.4.1. Dosage des métabolites primaires	25
II.2.4.1.1. Dosage des sucres solubles totaux	25
II.2.4.2. Recherche de quelques métabolites secondaires.....	25
II.2.4.2.1. Dosage des phénols totaux.....	25
II.2.4.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	26
II.2.4.2.3. Dosage des flavonols.....	26
II.2.4.2.4. Dosage des tanins.....	27
II.2.4.2.5. Dosage des pigments totaux.....	27

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Résultats de l'étude morphologique	29
III.1.1. Examen macroscopique des feuilles	29
III.1.2. Comparaison morphologique des feuilles des deux espèces étudiées	30.
III.1.3. Examen macroscopique des graines et des fruits	31
III.1.4. Comparaison macroscopique des fruits et des graines	33
III.2. Résultats de l'étude histo-anatomique	33
III.2.1. Comparaison histo-anatomique des tiges semi-ligneuses.....	33
III.2.2. Comparaison histo-anatomique des feuilles.....	36
III.3. Résultats du rendement des extraits secs obtenus	37
III.4. Résultats de l'étude phytochimique	37
III.4.1. Les glucosides	40
III.4.2. L'amidon.....	40
III.4.3. Les composés réducteurs	40
III.4.4. Les lipides	40
III.4.5. Les alcaloïdes.....	41

III.4.6. Les sennosides	41
III.4.7. Les anthocyanes et les leuco-anthocyanes	41
III.4.8. Les tanins cathéchiques et les tanins galliques	41
III.4.9. Les flavonoïdes	42
III.4.10. Les coumarines, les stérols et terpènes	42
III.4.11. Les saponines	43
III.4.12. Les mucilages	43
III.4.13. Les dérivés anthracéniques libres et combinés	43
III.5. Résultats de l'étude biochimique :	43
III.5.1. Dosage des sucres solubles totaux	44
III.5.2. Dosage des phénols totaux	44
III.5.3. Dosage des flavonoïdes	45
III.5.4. Dosage des flavonols	46
III.5.5. Dosage des tanins	47
III.5.6. Dosage des pigments totaux	48
Teneurs en chlorophylle a	48
Teneurs en chlorophylle b	49
Conclusion.....	51

Références bibliographiques

Annexe

Liste des figures

Figure 1 : Aspect des organes aériens de l'aubépine monogyne (<i>Crataegus monogyna</i>).....	3
Figure 2 : Distribution de l'espèce de <i>Crataegus monogyna</i> dans le monde.....	6
Figure 3 : Aspect des organes aériens du Buisson ardent (<i>Crataegus pyracantha</i>).....	11
Figure 4 : Distribution de l'espèce de <i>Crataegus pyracantha</i> Medik.....	12.
Figure 5 : Feuilles et fruits collectés de deux espèces d'aubépine.....	15
Figure 6 : Les poudres végétales des feuilles et des fruits.....	16
Figure 7 : Schéma récapitulatif des paramètres analysés.....	17
Figure 8 : Schéma récapitulatif des étapes de coloration des coupes réalisées au niveau des feuilles et des tiges des espèces étudiées.....	20
Figure 9 : Aspect des feuilles de l'espèce <i>C. pyracantha</i>	29
Figure 10 : Aspect des feuilles de l'espèce <i>C. monogyna</i>	30.
Figure 11 : Aspect des feuilles des deux espèces étudiées.....	30
Figure 12 : Aspect macroscopique des graines et des fruits de <i>C. pyracantha</i> et <i>C. monogyna</i>	32
Figure 13 : Anatomie des tiges de <i>C. pyracantha</i> et <i>C. monogyna</i> observés au microscope optique.....	35
Figure 14 : Anatomie des feuilles de <i>C. pyracantha</i> et <i>C. monogyna</i> observés au microscope optique.....	36
Figure 15 : Teneur des extraits des feuilles et des fruits en sucres solubles totaux.....	44
Figure 16 : Teneurs en polyphénols des extraits des feuilles et des fruits de <i>C. pyracantha</i> et <i>C. monogyna</i>	45
Figure 17 : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits des feuilles et des fruits de <i>C. pyracantha</i> et <i>C. monogyna</i>	46
Figure 18 : Teneurs en flavonols des extraits des feuilles et des fruits de <i>C. pyracantha</i> et <i>C. monogyna</i>	47
Figure 19 : Teneurs en tanins des extraits des feuilles et des fruits de <i>C. pyracantha</i> et <i>C. monogyna</i>	47

Figure 20 : Teneurs en chlorophylle a des extraits des feuilles et des fruits de <i>C. pyracantha</i> et <i>C. monogyna</i>	48
Figure 21 : Teneurs en chlorophylle b des extraits des feuilles et des fruits de <i>C. pyracantha</i> et <i>C. monogyna</i>	49
Figure 22 : La verrerie de laboratoire utilisée.....	Annexe A
Figure23 : Instruments utilisés au laboratoire.....	Annexe A
Figure 24 : Les appareils utilisés au laboratoire	Annexe A
Figure 25 : Résultat de la recherche du glucoside.....	Annexe C
Figure 26 : Résultat de la recherche des amidons.....	Annexe C
Figure 27 : Résultat de la recherche des composés réducteurs.....	Annexe C
Figure 28 : Résultat de la recherche des lipides.....	Annexe C
Figure 29 : Résultat de la recherche des alcaloïdes.....	Annexe C
Figure 30 : Résultat de la recherche des sennosides.....	Annexe C
Figure 31 : Résultat de la recherche des anthocyanes.....	Annexe C
Figure 32 : Résultat de la recherche des leuco-anthocyanes.....	Annexe C
Figure 33 : Résultat de la recherche des tanins cathéchiques.....	Annexe C
Figure 34 : Résultat de la recherche des tanins galliques.....	Annexe C
Figure 35 : Résultat de la recherche des flavonoïdes.....	Annexe C
Figure 36 : Résultat de la recherche des coumarines.....	Annexe C
Figure 37 : Résultat de la recherche des saponines.....	Annexe C
Figure 38 : Résultat de la recherche des mucilages.....	Annexe C
Figure 39 : Résultat de la recherche des anthracéniques libres.....	Annexe C
Figure 40 : Résultat de la recherche des dérivés anthracéniques combinés.....	Annexe C
Figure 41 : Résultat de la recherche des stérols et terpènes.....	Annexe C
Figure 42 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	Annexe D

Figure43: Courbe d'étalonnage de la quercetine Annexe D

Figure44: Courbe d'étalonnage de la rutine..... Annexe D

Figure45: Courbe d'étalonnage de l'acide tannique Annexe D

Figure46: Courbe d'étalonnage de glucose..... Annexe D

Liste des tableaux :

- ❖ **Tableau I** : Noms vernaculaires attribués à l'aubépine monogyne3
- ❖ **Tableau II** : Teneurs en minéraux de la partie charnue des fruits de *Crataegus monogyna*8
- ❖ **Tableau III** : Teneurs en métabolites secondaires de la partie charnue des fruits de *Crataegus monogyna*.9
- ❖ **Tableau IV** : Noms vernaculaires attribués au buisson ardent9
- ❖ **Tableau V** : Teneurs en minéraux de la partie charnue des fruits de *C.pyracantha*13
- ❖ **Tableau VI** : Teneurs en métabolites secondaires de la partie charnue des fruits de *C. pyracantha*14
- ❖ **Tableau VII** : Caractères morphologiques des fruits de *C. pyracantha* et *C. monogyna*.....31
- ❖ **Tableau VIII** : Rendement des extraits secs obtenus des feuilles et des fruits de deux espèces étudiées.....37
- ❖ **Tableau IX** : Résultats de screening photochimique des feuilles et des fruits des deux espèces d'aubépine.....39

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
<i>C.monogyna</i>	<i>Crataegus monogyna</i>
<i>C .pyracantha</i>	<i>Crataegus pyracantha</i>
Classification APG	Classification phylogénétique des angiospermes
LDL	Low Density Lipoprotein
FCR	Réactif de Folin-Ciocalteu
DO	La densité optique
Ca	Chlorophylle a
Cb	Chlorophylle b
ROS	Réactive oxygène species
µg eq ac tan/mg ES	microgramme équivalent acide tannique par milligramme d'extrait sec
µg eq ac gal/mg ES	microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait sec
µg eq quer/mg ES	microgramme équivalent quercétine par milligramme d'extrait sec
µg eq rut/mg ES	microgramme équivalent rutine par milligramme d'extrait sec
FeCP	feuilles de <i>C. pyracantha</i>
FeCM	feuilles de <i>C. monogyna</i>
FrCP	fruits de <i>C. pyracantha</i>
FrCM	fruits de <i>C. monogyna</i>

Glossaire

Anorexie : désigne une pathologie qui se caractérise par une perte de l'appétit. L'anorexie peut être d'origine médicale, c'est-à-dire liée à l'état général du patient, ou mentale, et elle relève alors de la psychiatrie.

Anxiété : État de trouble psychique causé par la crainte d'un danger.

L'artériosclérose : une **forme de sclérose** qui survient au niveau des artères. En d'autres termes, cela signifie qu'elle est caractérisée par **un durcissement, un épaissement et une perte d'élasticité de la paroi des artères.**

La **neurasthénie** (asthénie nerveuse) : un terme de psychopathologie qui définit un syndrome associant les symptômes suivants : fatigue (asthénie), anxiété, céphalées, névralgies, état dépressif. On parlait autrefois de mélancolie ou d'hypocondrie

La tachycardie : une maladie qui fait battre le cœur trop vite. Un cœur en bonne santé bat entre 50 et 80 fois par minute. L'exercice physique, le stress ou la peur peuvent faire accélérer le cœur, mais c'est une réaction normale.

Clade : Groupement de plusieurs embranchements de plantes ou d'animaux ayant une organisation et une origine communes.

Coriace : Très dur ; qui ne se laisse pas couper, mâcher, etc.

Luisant : Qui a des reflets lumineux ou qui brille sous l'effet de quelque agent.

Pennatiséquée : une feuille simple qui est découpée de façon symétrique, de chaque côté de la nervure centrale, dépassant la moitié de la largeur du limbe.

Les calculs biliaires : des dépôts solides (essentiellement des cristaux de cholestérol) qui se forment dans la vésicule.

L'insomnie : un manque ou une mauvaise qualité de sommeil qui retentit le lendemain sur les activités diurnes physiques, psychiques et sociales. Les principales causes de l'insomnie chez l'adulte sont le stress, l'anxiété et la dépression.

Stade phénologique : est l'étude de leurs phases de développements saisonniers : feuillaison, floraison, fructification, jaunissement automnal. Ces développements sont liés à certains paramètres climatiques.

Introduction

Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus, d'où l'Homme peut non seulement sa nourriture, mais aussi isoler des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme parfois affecté de troubles insidieux (**Amour, 2018**).

L'Algérie fait partie de la région méditerranéenne considérée comme étant un centre de grande variabilité génétique (**Abdelguerfi, 2003**). Elle possède une richesse floristique considérable, ce potentiel de plantes comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique, plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles (**Bouزيد, 2009**).

L'aubépine est un nom commun pour toutes les espèces appartenant au genre *Crataegus* (**Ferhad et al, 2019**), il appartient à la famille des **Rosaceae** et est présente dans de nombreux pays. Il existe environ 280 espèces d'aubépine connues (**Magdalena et al, 2019**).

Les espèces du genre *Crataegus* sont utilisées dans différents domaines comme : l'alimentation et la médecine traditionnelle, elles sont aussi utilisées pour l'ornementation (**Ferhad et al, 2019**).

Crataegus monogyna Jacq. (Aubépine monogyne) est une plante de la famille des Rosaceae qui pousse spontanément en Europe, en Afrique et en Asie, on le trouve généralement sous forme d'arbuste ou de petit arbre de 5 à 10 m de haut (**Seyed Fazel et al., 2015**). Elle se connue en Algérie sous le nom « zaârour el barri » (**Abdelgherfi, 2003**). Selon **Khelouf et al. (2021)**, les arbustes d'aubépine ont tendance à vivre longtemps leurs fruits sont de couleur rouge vermillon et parfaitement comestibles mais fades et farineux, ils sont particulièrement une bonne nourriture pour les oiseaux pendant les mois d'hiver.

Crataegus pyracantha Medik est un arbuste épineux à feuilles persistantes que l'on trouve dans le centre et le sud de l'Italie. Ses caractéristiques esthétiques et sa structure épineuse dense en font une alternative aux clôtures artificielles et une plante ornementale cultivée dans les jardins (**Javad Sharifi-Rad et al, 2021**). Cette plante est aussi utilisée en médecine traditionnelle pour les propriétés diurétiques, cardiaques et toniques de ses fruits (**Kowaleuki, Mrugasiewicz, 1971**).

L'objectif de ce travail consiste à réaliser une caractérisation morpho-anatomique et biochimiques des feuilles et des fruits de deux espèces d'aubépine : *Crataegus monogyna* et *Crataegus pyracantha*. Le choix de ces plantes est justifié, par le fait qu'il y a peu de travaux scientifiques qui se sont intéressés à la valorisation leurs caractéristiques morpho-anatomiques et biochimiques en Algérie. Cette étude vise à apporter également une contribution à l'étude de la biodiversité de la flore en vue de lui ouvrir les portes pour une éventuelle contribution au développement durable de notre pays

Notre travail est reparti en trois chapitres :

- ✓ Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique sur les deux espèces étudiées (*Crataegus monogyna* et *Crataegus pyracantha*), leurs différentes utilisations et leur composition biochimique.
- ✓ Le deuxième chapitre expose le matériel et les méthodes analytiques utilisées dans le travail expérimental qui est présenté en deux étapes :

- Etape 1 : Etude morphologique et histo-anatomiques des feuilles, des fruits et des tiges.
 - Etape 2 : Caractérisation des paramètres phytochimiques et biochimiques des fruits et des feuilles.
- ✓ Le troisième chapitre est consacré à la présentation et la discussion de l'ensemble des résultats obtenus.

Chapitre I :

Synthèse

bibliographique

I.1. Généralités sur la famille des Rosaceae :

La famille des rosaceae regroupe plus de 3000 à 3500 espèces classées en 4 sous familles : Rosoideae, Spiraeoideae, Amygdaloideae et Maloideae, ces dernières sont fréquentes dans les régions tempérées de l'hémisphère nord. Cette famille présente une grande variabilité morphologique et une tendance évolutive marquée (Berkane ,2017).

I.2. Généralités sur le genre *Crataegus* :

Le genre *Crataegus* est l'un des genres les plus importants de la famille des Rosacées qui comprend entre 150 et 1200 espèces. Il existe une grande variabilité interspécifique enregistrée chez les espèces appartenant à ce genre, affectant plus particulièrement : la morphologie spécifique des feuilles et des graines, le nombre de graines et la couleur des fruits. Ces auteurs ont également rapporté que de nombreuses espèces de ce genre sont polyploïdes : elles présentent un polymorphisme qui avec l'hybridation explique pourquoi elles ont différents synonymes Martinelli et al (2021).

I.3. Aubépine monogyne (*Crataegus monogyna*)

I.3.1. Etymologie et nom vernaculaire :

Selon Abdeddaim (2016), l'origine de la nomenclature de l'aubépine monogyne provient du mot "*Crataegus*", ce nom générique est attribué à toutes les Aubépines (Rosaceae), désignant en latin "*Crataegon*" ou "*Crataegos*", qui veut dire Fort résistant. Cependant, le nom de l'espèce *C. monogyna* souligne la particularité de sa fleur qui ne dispose que d'un seul pistil (un seul ovaire).

Selon Boudraa (2019), plusieurs noms vernaculaires ont été attribués à l'aubépine monogyne dans différents pays du monde et parfois même eu sein de la même région (tableau I)

Tableau I : Noms vernaculaires attribués à l'aubépine monogyne (Boudraa, 2019).

Langue	Nom vernaculaire
Arabe	Zaarour Berri (الزعرور البري), Admam(ادمم), Boumekhri(بومخري), baba aajina((بابا عجينة)
Berbère	Idhmim, atelmen, Zaarour,
Français	Épine blanche, Épine de mai, Valériane du cœur, Senellier
Indien	Vansaangli
Anglais	Hawthorn, Quickthor

I.3.2. Classification botanique :

La classification *APG IV (2016)* proposée pour l'espèce *Crataegus monogyna* est la suivante :

<i>Clade</i>	Spermatophyta
<i>Clade</i>	<i>Angiospermes</i>
<i>Clade</i>	<i>Dicotylédones vraies</i>
<i>Clade</i>	<i>Rosidées</i>
<i>Clade</i>	<i>Eurosidées I</i>
<i>Ordre</i>	<i>Rosales</i>
<i>Famille</i>	<i>Rosaceae</i>
<i>Genre</i>	<i>Crataegus</i>
<i>Espèce</i>	<i>Crataegus monogyna Jacq.</i>

I.3.3. Description botanique :

Selon **Bouزيد (2009)**, *Crataegus monogyna* est une plante herbacée généralement vivace, de 4 à 10 mètres de hauteur (figure 1a), à écorce lisse gris pâle, puis brune et écailleuse, elle comporte des épines droites et des inflorescences très diverses.

Les feuilles, plus ou moins profondément lobées, ont un bord légèrement denté ou presque entier, pennatiséquées et divisées en 3 ou 5 lobes acuminés, leur face adaxiale est vert foncé ou vert brun, leur face abaxiale est d'un vert-gris plus clair et présente une nervation réticulée dense et saillante (figure 1b) (**Hamdaoui, 2018**) .

Les fruits (cenelles) ovoïdes, de 8 à 10 mm, ont une chaire farineuse et douceâtre ; ils renferment une seule graine, lisse et luisante. Ils prennent une couleur rouge sombre à maturité au mois de septembre (**Boudraa, 2019**) (figure 1c).

Les fleurs sont très abondantes en Mai, blanches et ont une odeur vive plutôt désagréable (**Boudraa, 2019**) (figure 1d). Elles comportent un calice tubulaire vert-brun, composé de 5 sépales libres, réfléchies, une corolle formée de 5 pétales libres de couleur blanc jaune ou brunâtre, arrondis ou approximativement ovales (**Hamdaoui, 2018**).

Le tronc est érigé et arrondi, compact, à ramifications et pourvu d'épines, l'écorce est lisse de teinte grise puis brun foncé (**Boudraa, 2019**) (figure 1e).

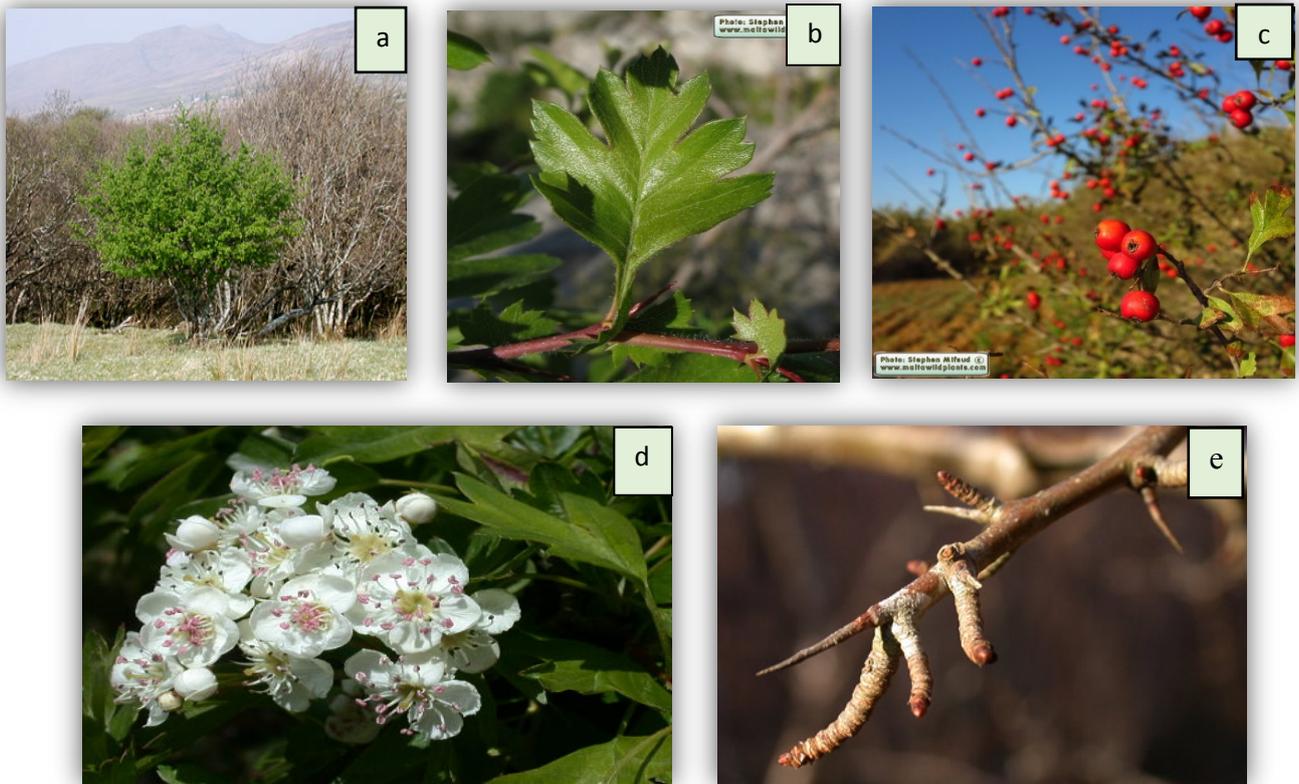


Figure 1 : Aspect des organes aériens de l'aubépine monogyne (*Crataegus monogyna*)

https://www.maltawildplants.com/ROSA/Crataegus_monogyna.php

(Consulté le 15/06/2022)

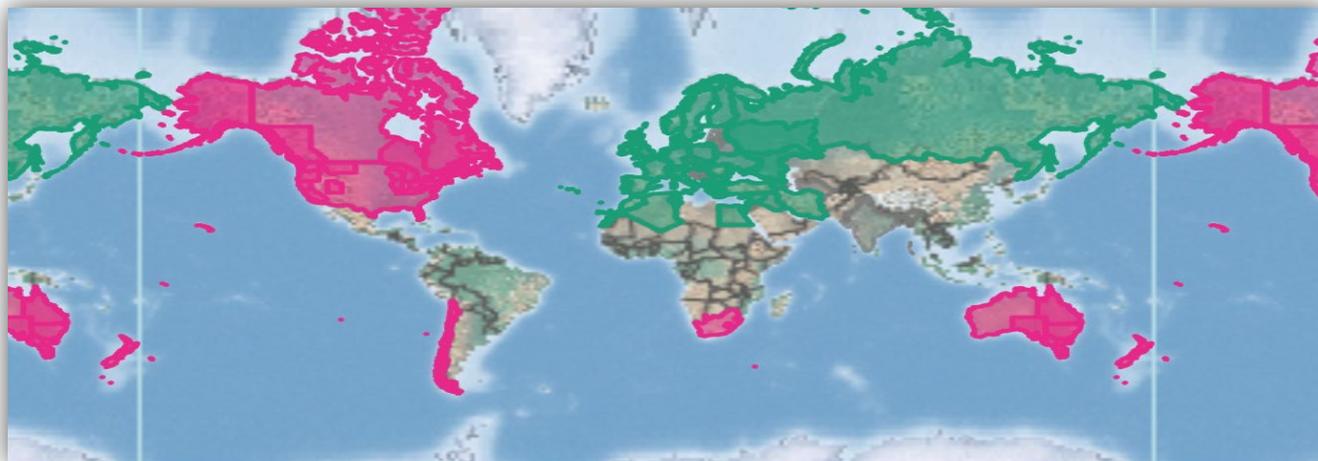
I.3.4. Origine et Aire de répartition :

I.3.4.1. Dans le monde :

L'aubépine monogyne est une espèce qui-pousse spontanément dans les bois clairs et les forêts de chênes dans les pays du Maghreb : en Algérie et au Maroc où elle est commune, en Tunisie ainsi que dans tous les pays d'Europe, notamment en France et en Asie occidentale ; elle est naturalisée en Amérique du nord. Elle est originaire de toute l'Europe jusqu'en Afghanistan et l'Inde, **Hamdaoui ,2018**).

I.3.4.2. En Algérie :

Crataegus monogyna Jacq est spontanée dans le Tell Méridionale Est, en particulier en zone de montagne (**Abdelgherfi, 2003**).



CABI, 2022. *Crataegus monogyna*. In: Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. <https://www.cabi.org/isc>

● Introduced
● Native
● Origin not recorded

Figurer 2 : Distribution de l'espèce de *Crataegus monogyna* dans le monde

<https://www.cabi.org/isc/datasheet/16496#toDistributionMaps>

(Consulté le 15/06/2022)

I.3.5. Exigences pédoclimatiques :

L'aubépine est très rustique et supporte toutes les rigueurs du climat : vent, froid, sécheresse, pluies torrentielles. Elle s'accommode à tous les terrains, mais elle préfère les sols calcaires et se satisfait des plus secs. Cette espèce préfère les emplacements ensoleillés, à terre légère qui ne contient pas beaucoup d'argile, elle peut se développer dans les sols acides, neutres et même alcalins (**Hamdaoui, 2018**).

I.3.6. Utilisations de l'espèce *Crataegus monogyna* :

I.3.6.1. Utilisations médicinales :

En médecine, l'aubépine monogyne est l'une des plantes utilisées en médecine traditionnelle en infusion ou décoction contre les fièvres, les spasmes nerveux, l'anxiété, l'insomnie, et les calculs biliaires (**Boudraa, 2019**).

Selon **Boudraa (2008)**, les fruits de *Crataegus monogyna* sont connus pour leur action diurétique et utilisés pour traiter les problèmes rénaux. Grâce à leurs propriétés tonocardiaques, ils favorisent aussi la circulation coronaire et régularisent la tension artérielle. Ils permettent également d'atténuer la diarrhée et sont utilisés pour traiter les maux de gorge et les arythmies cardiaques (**Boudraa, 2019**).

Des expériences réalisées in vivo par **Zhang et al (2004)**, ont démontré que l'administration de l'extrait obtenu à partir de la partie charnue des fruits de *Crataegus monogyna* inhibe l'oxydation des LDL (Low Density Lipoprotein) humains. Ils ont également rapporté que les acides phénoliques de l'aubépine augmentent et favorisent la fluidité du sang.

I.3.6.2. Utilisations alimentaires :

L'Homme consommait les baies de cette plante dont il faisait des produits fermentés et les graines torréfiées remplaçaient le café.

Ses cenelles sont juteuses, acidulées avec une saveur de prune, elles peuvent être consommées crues ou cuites sous différentes préparations : Confitures et conserves. La pulpe des cenelles était autrefois séchée, moulue et mélangée aux farines pour la fabrication de gâteaux. Cette farine additionnée, est utilisée comme toute autre farine, elle possède une odeur agréable **(Abdeddaim, 2016)**.

Les feuilles sont utilisées pour la préparation du thé ou des salades et les fleurs pour l'aromatisation des sirops et des desserts **(Abdeddaim , 2016)**.

I.3.6.3. Utilisations écologiques :

L'aubépine monogyne est cultivée pour la création de haies vives, par exemple pour l'aménagement de parcs et d'espaces verts. La haie vive exerce sur le sol cultivé des influences bénéfiques : elle protège, sur une grande distance, contre l'érosion éolienne et pluviale, contre les dégâts causés aux végétaux par les grands vents, elle réduit l'évaporation du sol et la transpiration des plantes, effets très importants par temps de sécheresse. L'aubépine monogyne par la densité de ses branches et de son feuillage, exerce une protection très efficace contre le vent, mais aussi contre l'intrusion des animaux, l'abondance de ses fruits retient les oiseaux, c'est un arbuste d'ornement mellifère très apprécié utilisé isolé, en groupe, en alignement massif et en haies naturelles ou taillées. **(Hamdaoui ,2018)**.

I.3.7. Composition biochimique de l'espèce *Crateagus monogyna* :

Des études réalisées par différents chercheurs montrent que l'aubépine monogyne est une source riche en plusieurs métabolites importants.

I.3.7.1. Les métabolites primaires :

Selon **Boudjerda (2012)**, dans toutes les cellules végétales, il existe des métabolites primaires qui sont nécessaires à la vie de la plante (la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme ou d'une cellule). Ils sont à la base de la machinerie moléculaire de la cellule. Les molécules les plus importants parmi les métabolites primaires sont : glucides, les lipides et les acides aminés.

Selon **Herrera (1984)**, la partie comestible du fruit de *Crataegus monogyna* contient une teneur en protéines de 2.5 (g/100g MS et environs 2.3g/100g MS de lipides.

Il a été également démontré que la partie comestible du fruit présente une valeur nutritionnelle très importante en raison de sa teneur élevée en substances minérales (tableau II).

Tableau II : Teneurs en minéraux de la partie charnue des fruits de *Crataegus monogyna*

Fraction		Teneur (g/100g MS)	
		Boudraa (2008)	Herrera (1984)
Eléments minéraux (mg/100g MS)	Calcium	414.18 ± 4.03	0.44
	Magnésium	156.52 ± 15.43	0.06
	Sodium	31.20	-
	Phosphore	20.09 ± 4.03	0.05
	Potassium	1694.8 ± 31.71	1.25
	Cuivre	0.31 ± 0.10	-
	Fer	4.09 ± 0.03	-
	Manganèse	1.52 ± 0.25	0.33
	Zinc	0.32 ± 0.01	-
	Cobalt	0.17 ± 0.02	-
	Plomb	0.79 ± 0.09	-

Boudraa (2008) a rapporté que l'analyse du contenu vitaminique des fruits séchés de *Crataegus monogyna* a révélé la présence de : l' α -Tocopherol (0.79±0.09) %, la vitamine C (4.07±0.69%) ainsi que la thiamine (0.05%).

I.3.7.2. Les métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires peuvent être définis comme étant des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal. Ces métabolites secondaires exercent cependant une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement (**Bibet et Naili, 2008**). Ils participent ainsi, de manière très efficace, à la tolérance des végétaux à des stress variés (attaques de pathogènes, prédateurs d'insectes, sécheresse, lumière UV ...)

Selon **Bouزيد (2009)**, la partie charnue des fruits de *Crataegus monogyna* comporte différents groupes de métabolites secondaires, dont les plus importants sont les composés phénoliques (tableau III).

Tableau III : Teneurs en métabolites secondaires de la partie charnue des fruits de *Crataegus monogyna*. (Bouزيد, 2009)

<i>Les constituants</i>		<i>Teneurs (%)</i>
Acides phénoliques	Acide chlorogénique	1-2
	Acide caféique	
Flavonoïdes	Vitexin	2-3
	Quercétine	
	Vitexine 2 rhamnoside	
Tanins	Coumarines.	2-3
	Triterpènes et acides triterpénique	
	Huile essentielle (trace).	

I.4. Buisson ardent (*Crataegus pyracantha* Medik) :

I.4.1. Etymologie et nom vernaculaire :

Crataegus Pyracantha est une plante qui appartient à la famille des Rosaceae. (Turu et al., 2020)

Pyracantha est un autre nom générique du buisson ardent (*Pyracantha coccinea*), il désignait en grec un arbuste épineux à fruit rouge vif et dérive de *pyr* : feu et *achantha* : épine. L'épithète *coccineus* signifie «écarlate» et dérive de *coccum*, cochenille qui servait à teindre les étoffes de cette couleur. Ces divers termes évoquent tous la fructification orange éclatante de cet arbrisseau. (Couplan, 2012)

Selon Steve et al. (2016), plusieurs noms vernaculaires ont été attribués au Buisson ardent dans différents pays du monde (Tableau VI).

Tableau IV : Noms vernaculaires attribués au buisson ardent (Csurhes et al., 2016)

Langue	Nom vernaculaire
Arabe	شوك النار القرمزي
Français	buisson ardent
Anglais	Scarlet firethorn
Allemand	buisson ardent
Espagne	Espino de fuego
Portugal	Sarca ardente

I.4.2. Classification botanique :

La classification APG IV (2016) proposée pour cette espèce est la suivante :

Clade :	Spermatophyta
Clade :	Angiospermes
Clade :	Dicotylédones vraies
Clade :	Rosidées
Clade :	Eurosidées I
Ordre :	<i>Rosales</i>
Famille :	<i>Rosaceae</i>
Genre :	<i>Pyracantha</i>
Espèce :	<i>Crataegus pyracantha Medik</i>
Synonymes :	<i>Pyracantha coccinea M. Roem</i> <i>Cotoneaster pyracanthus L. Spach</i> <i>Mespilus pyracantha L.</i> <i>Gymnopyrenium pyracantha (L.) Dulac</i>

I.4.3. Description botanique :

C. pyracantha est un arbuste épineux (Figure 2a), de port buissonnant, il se dresse sur un tronc ramifié dès sa base, il peut atteindre des hauteurs allant de 3 à 4 mètres. Les rameaux de cet arbuste se caractérisent par de longues épines noires (**Brahmi et Karrou 2016**)

De petites feuilles de 2 à 5 cm de longueur et de 1 à 2 cm de largeur, lancéolées, coriaces, brillantes, de couleur vert clair (jeunes feuilles) à vert foncé (Figure 2b), avec un bord finement denté, court pétiole et les jeunes pousses sont rougeâtres. (**Maaoui, 2014**)

Les petites fleurs blanches sont groupées en corymbes (Figure 2c), formées de 5 sépales, 5 pétales arrondies, 20 étamines et a calice pubescent. Elles sont odorantes et attirent les abeilles (**Maaoui, 2014**)

Les fruits sont des petites baies, charnues, rouge ou orange (Figure 2d), de forme ovoïde, contenant 5 noyaux (**Maaoui, 2014**), de 5 à 6 mm de diamètre, elles supportent les conditions climatiques sévères (froid et chaleur). Cette résistance lui attribue une longue durée de récolte qui s'étale jusqu'à la fin de l'hiver (**Brahmi et Karrou 2016**).

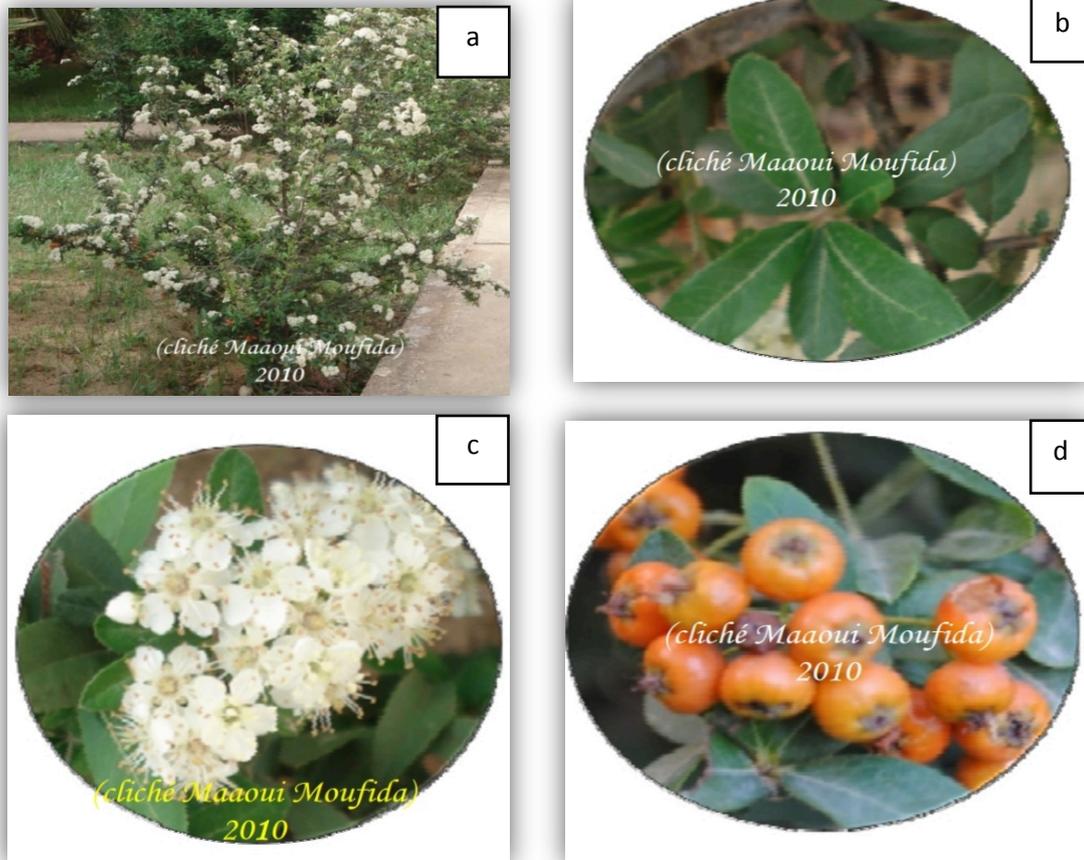


Figure 3 : Aspect des organes aériens du Buisson ardent (*Crataegus pyracantha*) (Maaoui, 2014)

a : Arbuste entier **b** : Feuilles **c** : Fleurs **d** : Fruit

I.4.4. Origine et aire de répartition :

Crataegus pyracantha Medik est une plante spontanée qui est distribuée dans la région de l'Asie tempérée et celle de l'Europe (Iran, Liban, Azerbaïdjan, Turquie, Arménie, Géorgie, Ukraine, Albanie, Bulgarie, Ex-Yougoslavie, Grèce, France et Espagne) (Kardi et Sekiou, 2020).

Selon Fico *et al.* (2000), cette plante se trouve dans le centre et le sud de l'Italie et également cultivée comme plante ornementale dans le nord de l'Italie.

Kardi et Sekiou (2020) ont rapporté que cette plante pousse spontanément en Algérie, plus précisément dans la région de Tipaza Brahami et karrour (2016) l'ont également recensés dans la région de Boumerdes.

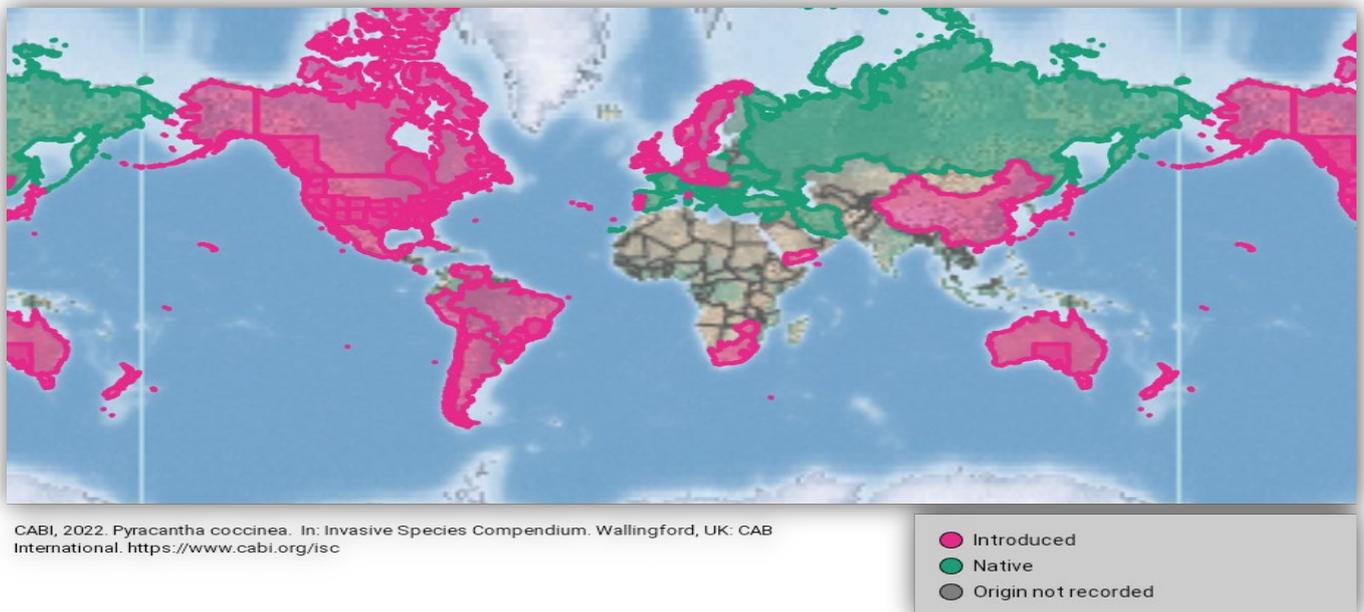


Figure 4 : Distribution de l'espèce de *Crataegus pyracantha* Medik

<https://www.cabi.org/isc/datasheet/45994#toDistributionMaps>

Consulté le 15/06/2022

I.4.5. Exigences pédoclimatiques :

L'espèce *C. pyracantha* pousse sur différents types de sol (humide, profond et drainé). Elle tolère également les terres pauvres de nature calcaïques et sèches. Selon **(Maaoui (2014))**, cette plante tolère parfaitement les basses températures pouvant aller jusqu'à -17°C.

Villabos et al. (2010) ont constaté que cette espèce avait échoué à devenir abondante dans les écosystèmes méditerranéens suite à des difficultés de germination rencontrées souvent au cours de la période estivale. Alors que les autres espèces ligneuses indigènes sont bien adaptées au climat chaud et sec grâce à leurs graines qui survivent en dormance durant l'été.

I.4.6. Utilisations de l'espèce *Crataegus pyracantha* Medik :

I.4.6.1. Utilisations médicinales :

D'après les travaux réalisés par **Sarikurkcu et Tepe (2015)**, *C. pyracantha* est considérée comme une plante médicinale suite à son utilisation comme agent multifonctionnelle pour le traitement du diabète type II, la maladie d'Alzheimer et les problèmes dermatologiques.

Cette plante est largement utilisée en Chine et dans l'Himalaya, ses fruits ont diverses propriétés curatives contre l'anorexie, l'anxiété, l'artériosclérose, les brûlures, l'insuffisance cardiaque, la dysenterie, l'insomnie, l'hypertension, les douleurs articulaires, la débilité myocardique, la neurasthénie et la tachycardie **(Popuviciu et al., 2020)**. C'est aussi un excellent diurétique **(Fico et al., 2000)**.

I.4.6.2. Utilisations alimentaires :

Dans le domaine de l'alimentation, le fruit peut être cuit pour faire des gelées, des confitures, des sauces et des marmelades (Popoviciu et al., 2020). Cependant, Lemoine (2016) a rapporté que les graines de cette plante peuvent être hautement toxiques en raison de leur richesse en hétérosides cyanogènes, aucun effet toxique n'a été signalé pour les autres parties de cette plante.

I.4.6.3. Autres utilisations :

L'espèce *C. pyracantha* est cultivée comme plantes ornementales, dans les jardins, les parcs ou les haies. (Popoviciu et al., 2020)

I.4.7. Composition biochimique de l'espèce *Crateagus Pyracantha* Medik:

I.4.7.1. Les métabolites primaires :

Selon Chaabani (2019), le métabolisme primaire regroupe toutes les voies de synthèse de composés indispensables à la croissance et au développement de la plante.

A travers les recherches menées par Brahami et karrour (2015), la partie charnue des fruits de *C. pyracantha* est riche en minéraux essentiels à l'organisme, plus particulièrement en : sodium, magnésium, Fer, Zinc, manganèse et en cuivre (tableau V). Ce même auteur avait rapporté que le contenu des fruits secs de cette espèce en vitamine C est 114 mg/l.

Tableau V : Teneurs en minéraux de la partie charnue des fruits de *C. pyracantha* (Brahami et Karrour, 2015)

Minéraux	Teneur (mg /g MS)
Na	26569,95
Mg	25486,37
Fe	5663,422
Zn	508,6550
Mn	292,294
Cu	228,949
Pb	183,57
Cr	6,887
Ni	5,178
Cd	0,136

I.4.7.2. Les métabolismes secondaires :

Le métabolisme secondaire regroupe les voies de synthèse de composés qui ne sont pas directement impliqués dans la croissance de la plante. Les métabolites secondaires interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement (soutien, protection contre les UV, défense, mise en place de symbiose, attraction d'insectes utiles pour la pollinisation...). Certains de ces composés participent à la défense contre les bioagresseurs (Chaabani, 2019).

Selon Sharifi-Rad et al. (2021), la partie charnue des fruits de *Crataegus pyracantha* comporte différents groupes de métabolites secondaires, plus particulièrement : les composés phénoliques dont les teneurs sont récapitulés au niveau du tableau VI.

Tableau VI : Teneurs en métabolites secondaires de la partie charnue des fruits de *C. pyracantha* (Sharifi-Rad et al., 2021).

Les constituants		Teneurs mg/g
Acides phénoliques	Acide chlorogénique	14,48±1,09
	Acide caféique	
	Acide gallique	
	protocate- acide chuique	
	acide p-hydroxybenzoïque	
Flavonoïdes	Quercétine	0,13±0,01
	Catechine	
	Kaempferol	
	Cépicatéchine	
	gallate d'épicatéchine	
Tanins		4,56±0,31

Chapitre II :

Matériel

et

Méthodes

Durant la période allant du premier Mars à la fin du mois de Mai, nous avons effectué un stage pratique au sein de du laboratoire de PFE de la faculté SNV, situé au sein de l'institut des sciences vétérinaires de l'université Blida-1.

Le travail expérimental qui été effectué au sein de ce laboratoire a été effectué en deux étapes :

- Dans la première étape, nous avons réalisé une étude morphologique et histo-anatomique des feuilles, des fruits et des tiges de deux espèces de deux espèces d'aubépine : "*Crataegus monogyna*" et "*Crataegus pyracantha*".

- Dans la seconde étape, nous nous sommes intéressées à la détermination des quelques paramètres phytochimiques et biochimiques des fruits et des feuilles de ces deux espèces.

II.1. Matériel :

II.1.1. Matériel biologique :

II.1.1.1. Collecte et identification du matériel végétal :

La collecte des feuilles et des fruits a été effectuée en décembre 2021, dans la région de Bouarfa-wilaya de Blida (Algérie) pour l'espèce de *Crataegus monogyna* et dans la région de Beni Mered- wilaya Blida (Algérie) pour l'espèce de *Crataegus pyracantha* (figure 3).

La quantité des fruits qui a été collecte est égale à 500g et 400g pour l'espèce de *Crataegus monogyna* et *Crataegus pyracantha* respectivement et 150g pour les feuilles de deux espèces. L'identification de ces espèces a été réalisée par *Pr Bradea* au niveau du département de Biologie de l'université Blida-1.



Figure 5 : Feuilles et fruits collectés des deux espèces d'aubépine

a : Fruits de *Crataegus monogyna*.

b : Fruits de *Crataegus pyracantha*

c : Feuilles de *Crataegus monogyna*

d : Feuilles de *Crataegus pyracantha*.

II.1.1.3. Séchages et conservation du matériel végétal :

Après la collecte, les fruits ont été immédiatement sélectionnés et conservés au congélateur pour les analyser ultérieurement, les feuilles ont été bien triées et séchées à l'ombre dans un endroit sec et aérée, puis réduits en poudre à l'aide d'un broyeur (**Figure 4**).

Les poudres végétales des feuilles obtenues ont été tamisées et conservées dans des bocaux en verre bien fermés et maintenues à température ambiante jusqu'à leur utilisation. Par contre, les fruits ont été séchés à 50°C et broyés juste avant la réalisation des tests pour éviter la désintégration de leurs métabolites ainsi que pour pallier aux problèmes de contaminations et de moisissures.



Figure 6 : Les poudres végétales des feuilles et des fruits.

a : la poudre des feuilles de *C.monogyna*.

b : la poudre des feuilles de *C.pyracantha*.

c : la poudre des fruits de *C.monogyna*.

d : la poudre des fruits de *C.pyracantha*.

II.1.2. Matériel non biologique

La verrerie, les appareillages utilisés pour la réalisation des différents essais sont tous listés en annexe A et Les réactifs utilisés listés en annexe B.

II.2. Méthodes :

L'ensemble des méthodes d'analyses effectuées sur les deux espèces *C. monogyna* et *C. pyracantha* sont récapitulées dans la figure 5.

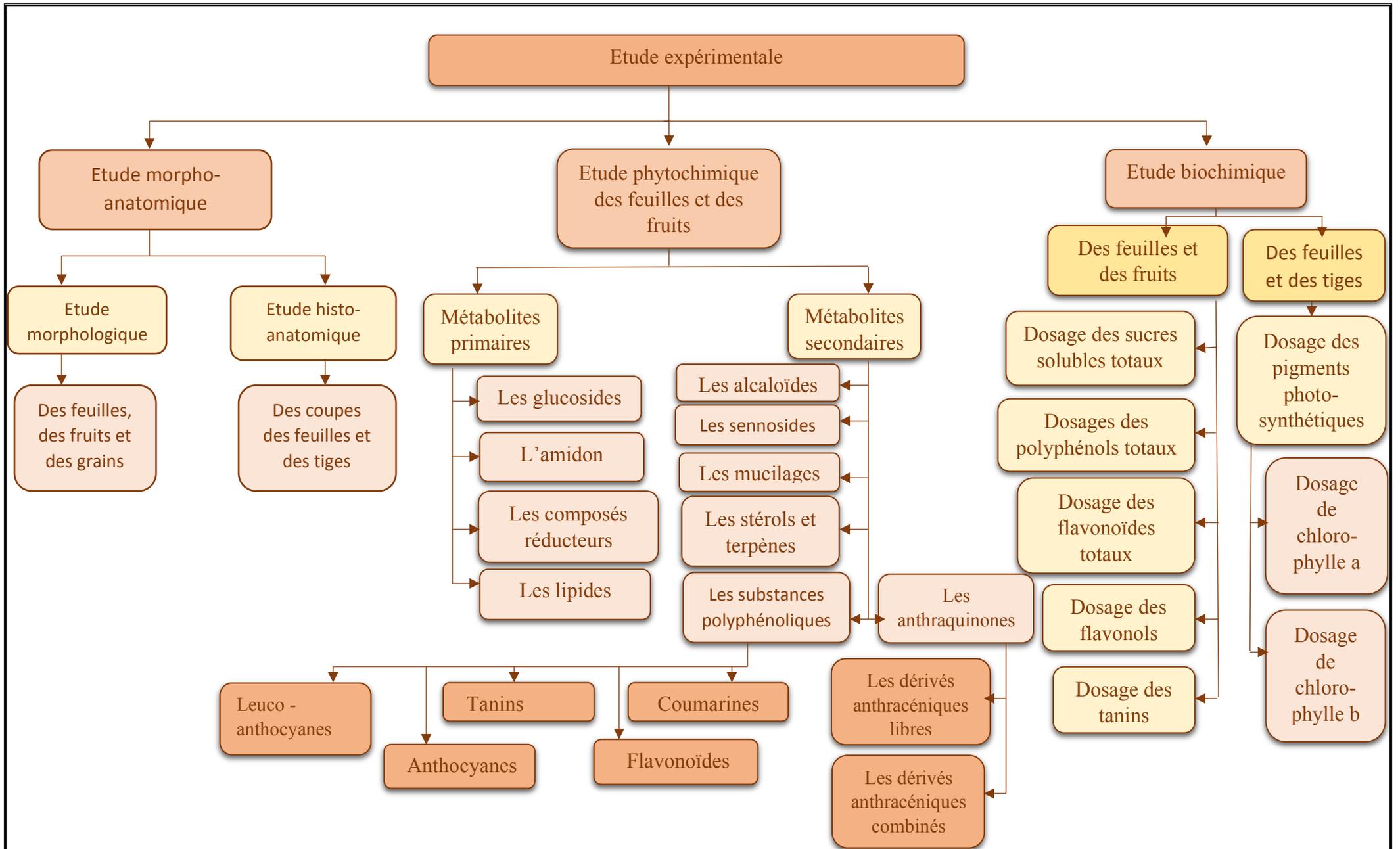


Figure 7 : Schéma récapitulatif des paramètres analysés.

II.2.1. Etude morphologique

L'étude morphologique a été réalisée dans le but d'étudier les similitudes et les divergences qui existent entre les deux espèces d'aubépine : *C. monogyna* et *C. pyracantha*.

L'examen morphologique est basé sur des observations à l'œil nu, puis à la loupe binoculaire, afin de chercher les spécificités morphologiques de chaque plante. Pour cela, nous avons effectué :

- Un examen macroscopique des feuilles : afin de décrire les caractéristiques foliaires de chaque espèce (type de nervation, taille et aspect des feuilles, phyllotaxie).
- Un examen macroscopique des fruits : Nous nous sommes basées sur la description de:
 - La forme, la taille et la couleur des graines.
 - La consistance et la texture du mésocarpe.

II.2.2. Etude histo-anatomique :

Une étude microscopique a été réalisée au niveau des feuilles et des tiges, afin de dévoiler leur structure anatomique et rechercher éventuellement les divergences et les similitudes qui existent sur le plan tissulaire chez ces deux espèces d'aubépine.

II.2.2.1. Préparation des échantillons :

Les rameaux feuillés fraîchement récoltés, des deux espèces d'aubépine, sont soigneusement nettoyés à l'eau courante.

II.2.2.2. Réalisation des coupes histologiques :

Une bonne réalisation des coupes mène à une bonne visualisation des différentes structures cellulaires étudiées. Les coupes ont été réalisées à l'aide d'une lame de rasoir neuve, les organes sélectionnés sont coupés à main levée. Le mouvement doit être rapide et le plan de la coupe doit être perpendiculaire au grand axe de l'organe, pour avoir des sections transversales. Les coupes doivent être aussi fines que possible et sont immédiatement recueillies dans l'eau pour éviter leur dessèchement.

II .2.2.3. Coloration des coupes histologiques :

Pour la différenciation des tissus, nous avons utilisé la technique classique de double coloration décrite par **Langeron (1949)**, qui se déroule selon les étapes suivantes (**figure 5**) :

1- Un traitement des coupes à l'hypochlorite de sodium pendant 15 min, qui vide le contenu cellulaire à l'exception des parois cellulaires qui persistent.

2-Un rinçage soigneux des coupes à l'eau de robinet pendant 5 minutes.

3-Un traitement à l'acide acétique à 0.1% pendant 1 min afin de neutraliser le pH et favoriser la fixation des colorants sur les parois.

4-Un traitement au vert de méthyle pendant 10 min pour colorer les parois lignifiées.

5-Un rinçage soigneux des coupes à l'eau de robinet pendant 5 min.

6-Un dernier traitement avec le rouge Congo, pendant 10 min pour colorer les parois pectocellulosiques.

7-Un dernier rinçage des coupes à l'eau de robinet.

II .2.2.1. Observation :

Après coloration, les coupes ont été placées entre lame et lamelle pour l'observation au microscope photonique de la marque **LIIOOA**.

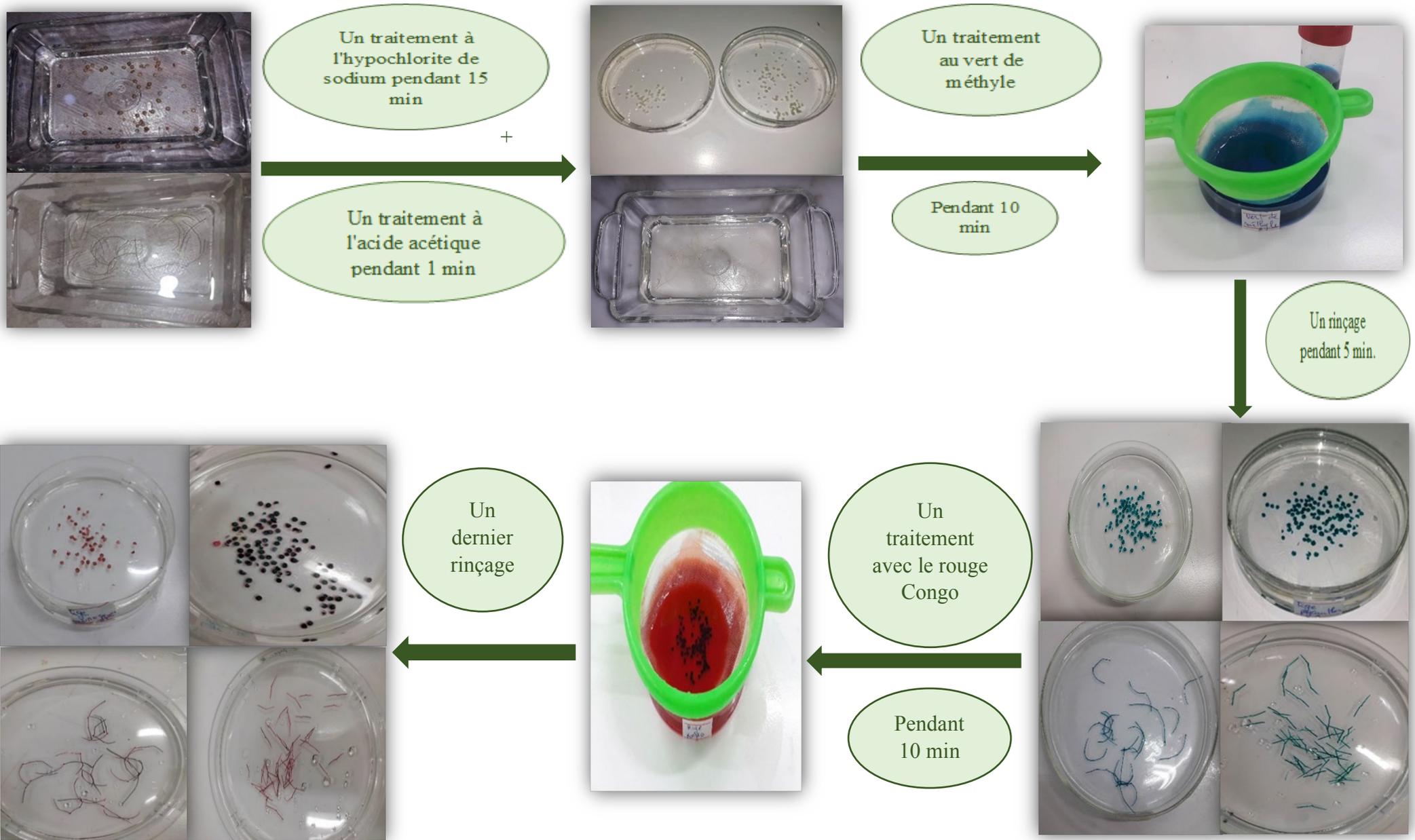


Figure 8: Schéma récapitulatif des étapes de coloration des coupes réalisées au niveau des feuilles et des tiges des espèces étudiées.

II.2.3. Extraction par macération dans l'éthanol :

Les quatre poudres végétales obtenus à partir des feuilles et des fruits de *C. monogyna* et *C. pyracantha* ont été soumises séparément à une extraction par macération dans l'éthanol, dans le but de déterminer le rendement d'extraction de leur fraction polaire. Cette méthode consiste à mettre en contact direct le solvant avec la poudre végétale, durant un temps déterminé et à température ambiante selon le protocole décrit par **Romani et al. (2006)**.

- **Mode opératoire :**

On verse 100 ml d'éthanol sur 10 g de poudre végétale contenue dans un bécher, ce mélange est maintenu sous agitation magnétique pendant 24 heures, ensuite filtré deux fois. Le filtrat obtenu est évaporé à sec dans une étuve de séchage (55°C) jusqu'à l'obtention d'un résidu sec.

- **Calcul du rendement des extraits secs obtenus :**

Les résidus secs des quatre extraits obtenus sont pesés pour déterminer leurs rendements, puis conservés au frais (+4°C), dans des flacons sombres bien fermés, afin d'éviter tout éventuel risque d'oxydation de leurs constituants. Le rendement est calculé par la formule :

$$R = (\text{Masse d'extrait sec} / \text{Masse de la prise d'essai}) \times 100$$

Remarque : les quatre résidus éthanoliques secs obtenus après macération et évaporation de l'éthanol ont été soigneusement conservés au frais (4°C) et à l'abri de la lumière, dans des petits flacons hermétiquement fermés, pour l'analyse biochimique de quelques métabolites secondaires.

II.2.4. Etude de quelques paramètres phytochimiques :

L'étude des caractéristiques phytochimiques de *C. monogyna* et *C. pyracantha*, a été réalisée dans le but de rechercher l'éventuelle présence de certaines familles de métabolites primaires/secondaires par des tests qualitatifs (tests de révélation colorimétrique). Ces tests sont indispensables pour orienter le choix des paramètres biochimiques à analyser.

Les tests phytochimiques ont été pratiqués sur l'infusé et/ou la poudre végétale pour les feuilles et les fruits de ces deux espèces.

Remarque : les protocoles utilisés pour la préparation du réactif de Valser-Mayer et réactif de Stiasny utilisés dans la caractérisation phytochimique, sont détaillés en annexe B.

- **Préparation de l'infusé :**

Elle consiste à introduire 1g de poudre végétale dans 20 ml d'eau bouillante qu'on laisse infuser pendant 15 minutes. Ensuite, on filtre et on rince avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 20 ml de filtrat (**EL-Haoud et al., 2018**).

II.2.4.1. Recherche des glucosides :

A deux grammes de poudre végétale, on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique (H_2SO_4 1M), la formation d'une coloration rouge brique, ensuite violette indique la présence des glucosides (**Pharmacopée URSS, 1991**).

II.2.4.2. Recherche de l'amidon :

A deux grammes de poudre végétale, on ajoute quelques gouttes d'iode, la formation d'une coloration bleu-violacée, indique la présence de l'amidon (**Pharmacopée URSS, 1991**).

II.2.4.3. Recherche des composés réducteurs :

On introduit 5 ml de l'infusé dans une capsule, puis on laisse évaporer au bain Marie jusqu'au séchage. Au résidu obtenu, on ajoute 1ml de réactif de Fehling.

L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs (**Diallo, 2005**).

II.2.4.4. Recherche des lipides :

Une quantité de 20g de poudre la poudre végétale est macérée dans 150ml d'éther du pétrole pendant 30 minutes dans un tube à essai. Ce mélange est filtré, puis le filtrat obtenu est évaporé sur une plaque chauffante à haute température afin d'obtenir un résidu huileux.

Au résidu huileux obtenu, on ajoute 3 gouttes de H_2SO_4 . Une forte coloration violette ou une coloration verte indique la présence des lipides (**Matenga, 1996**).

II.2.4.5. Recherche des alcaloïdes :

On fait humecter 5 g de poudre végétale avec 20 ml d'ammoniaque (NH_4OH 1M), qu'on laisse macérer pendant 24 h dans 50 ml d'un mélange éther/chloroforme (3v/1v), le filtrat est épuisé par de l'acide chlorhydrique (HCl 2N). A 1 ml du filtrat, on ajoute quelques gouttes du réactif de Valser-Mayer, l'apparition d'un précipité blanc jaunâtre, indique la présence d'alcaloïdes (**Pharmacopée URSS, 1991**).

II.2.4.6. Recherche de sennosides :

On introduit 2,5 g de poudre végétale dans une fiole conique, à laquelle on ajoute 50 ml d'eau distillée et 2 ml d'acide chlorhydrique concentré, ensuite on chauffe dans un bain Marie pendant 15 min. Après refroidissement, on lui ajoute 40 ml d'éther puis on filtre.

Le filtrat est placé dans une ampoule à décanter, on sépare la couche étherée, qu'on sèche sur du sulfate de sodium anhydre. Au résidu obtenu, on ajoute 5 ml d'ammoniaque (NH_4OH 1M), il se développe une coloration jaune-orangée, indiquant la présence des sennosides (**Pharmacopée URSS, 1991**).

II.2.4.7. Recherche des substances polyphénoliques :

a) Les anthocyanes :

On prend 5 ml d'infusé auquel on ajoute 5 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄ 1M), puis 5 ml d'ammoniaque (NH₄OH 1M). Si la coloration s'accroît par acidification, puis vire au bleu-violacé en milieu basique, on peut confirmer la présence d'anthocyanes (**Diallo, 2005**).

b) Les leuco-anthocyanes (pro-anthocyanidols) :

On additionne 2 g de poudre végétale à 20 ml d'un mélange propanol/acide chlorhydrique (v/v), qu'on porte à ébullition dans un bain Marie pendant 3 min. La réaction donne une coloration rouge en présence des leuco-anthocyanes (**Pharmacopée URSS, 1991**).

c) Les tanins :

Les tanins sont des polyphénols polaires, ils existent dans les écorces d'arbres, les feuilles, les fruits et les racines (**Berthod et al., 1999 ; Cowan, 1999**). Ils sont divisés en deux groupes, qui peuvent être révélés séparément :

- On ajoute 15 ml de réactif de Stiasny à 30 ml d'infusé. Ce mélange est chauffé au bain-marie à 90°C pendant 15 min. L'apparition d'un précipité confirme la présence de tanins catéchiques (**Judith, 2005**).
- Pour rechercher les tanins galliques, il faut saturer 10 ml de l'infusé avec l'acétate de sodium pulvérisé. On y ajoute goutte à goutte 1 ml d'une solution de FeCl₃ (1%). L'obtention d'une couleur bleu-noirâtre indique la présence de tanins galliques (**Judith, 2005; Diallo, 2005**).

d) Les flavonoïdes :

1ml de l'infusé a été traité par quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré HCl et quelques tournures de magnésium, l'apparition d'une coloration rouge-orange ou jaune indique la présence des flavonoïdes (**Safer, 2018**).

e) Recherche des coumarines :

On fait bouillir 2 g de poudre végétale dans 20 ml d'alcool éthylique pendant 15 min au bain Marie. Après refroidissement, on filtre ensuite on prend 5 ml de ce filtrat auquel on ajoute 10 gouttes de KOH (10%) et quelques gouttes d'HCl (10%), l'apparition d'un trouble indique la présence des coumarines (**Diallo, 2005**).

II.2.4.8. Recherche des saponines :

A 1 ml de l'extrait aqueux, on a ajouté quelques volumes d'eau distillée dans un tube à essai. La solution a été agitée vigoureusement et l'apparition d'une mousse persistante stable pendant 2 min témoigne la présence des saponines (**Boudjenna et al ,2020**).

II.2.4.9. Recherche des mucilages :

On introduit 1 ml de l'infusé dans un tube à essai, et on lui ajoute 5 ml d'éthanol absolu, après 10 min, la formation d'un précipité floconneux indique la présence des mucilages (**Diallo, 2005**).

II.2.4.10. Recherche des anthraquinones :

a) Dérivés anthracéniques libres :

A un gramme de poudre végétale, on ajoute 10 ml de chloroforme, ce mélange est chauffé au bain Marie à 80°, pendant 3 min puis filtré. On introduit 1ml de ce filtrat dans un tube à essai et on lui ajoute 1ml d'ammoniaque (NH₄OH 1M). L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des dérivés anthracéniques libres (**Togola, 2002 ; Diallo, 2005**).

b) Dérivés anthracéniques combinés

Deux grammes de poudre végétale sont additionnés à 5 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄ 2M), puis portés à reflux pendant 2 heures. Le produit d'extraction est filtré, puis épuisé par 20 ml de chloroforme. La solution chloroformique est évaporée à sec, puis reprise par le NH₄OH. L'apparition d'une couleur rouge foncée, indique la présence des quinones combinées (**Pharmacopée URSS, 1991**).

II.2.4.11. Recherche des stérols et terpènes

1g de matériel végétal est nécessaire pour préparer un macérât dans 20ml d'éther pendant 24h dans un flacon en verre fermé.

1ml de CHCl₃ (chloroforme) est ajouté au résidu de 10ml du macérât évaporé. La solution obtenue est placée dans un tube à essai. 2 ml de H₂SO₄ est ajouté à ce tube. La présence des stérols et polyterpènes est révélée par la formation d'un anneau rouge brun et /ou violet au niveau de la zone du contact entre les deux solutions (**Bouabid, 2016**).

II.2.4. Etude de quelques paramètres biochimiques :

La caractérisation biochimique consiste à réaliser une évaluation quantitative de certains métabolites primaires/secondaires au niveau des différents organes de *C. monogyna* et *C. pyracantha*. Dans le cadre de cette étude nous avons effectué le dosage biochimique des sucres, phénols totaux, flavonoïdes et tannins au niveau des feuilles et des fruits. Cependant la caractérisation biochimique des pigments totaux a été mise en évidence au niveau des feuilles et des tiges.

L'ensemble des dosages biochimiques ont été réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (*Type SHIMADZU UV-1601*).

II.2.4.1. Dosage des métabolites primaires

II.2.4.1.1. Dosage des sucres solubles totaux :

Nous avons procédé au dosage des sucres solubles totaux au niveau des feuilles, et des fruits des plantes, selon le protocole décrit par **Dubois et al. (1956)**.

- **Mode opératoire :**

On place 100 mg de matière végétale sèche des feuilles et des fruits dans un tube à essai, auquel on ajoute 3 ml d'éthanol à 80 % à l'aide d'une micropipette, pour l'extraction des sucres, et on laisse les tubes fermés à température ambiante pendant 48 h, ensuite les tubes sont placés dans une étuve à 80°C pour faire évaporer l'alcool, après refroidissement, on ajoute dans chaque tube 20 ml d'eau distillée : c'est la solution à analyser, on prend 1 ml de la solution à analyser, et on lui ajoute 1 ml d'une solution de phénol 5 %, les tubes sont soigneusement agités, on leur ajoute 5 ml d'acide sulfurique concentré à l'aide d'une burette, dont le jet tombe brutalement sur la surface du liquide, la température atteint alors environ 110°C, après on laisse les tubes au repos pendant 30 min à l'obscurité.

- **Lecture :**

- La densité optique (DO) est mesurée à 490 nm en utilisant le spectrophotomètre UV-visible.
- Le trajet optique de la cuve de mesure est de 1cm.
- Le blanc utilisé pour le réglage de l'appareil est composé par : 20ml d'eau distillée, 1ml de phénol à 5 % et 5ml d'acide sulfurique concentré.

- **Calcul :**

Le calcul de la teneur en sucres solubles totaux est réalisé selon la formule suivante :

$$[C] = DO \times 1.657$$

[C] : Concentration des sucres solubles totaux, ($\mu\text{g/g}$)

Remarque : l'analyse chromatographique des lipides et des protéines n'a pu être réalisée en raison de non-disponibilité des équipements et des produits au sein des laboratoires de la faculté.

II.2.4.2. Recherche de quelques métabolites secondaires

Les extraits éthanoliques des feuilles et des fruits des deux espèces d'aubépine étudiées, qui ont été obtenus après macération dans l'éthanol, ont servis pour la réalisation de quelques dosages concernant les métabolites secondaires.

II.2.4.2.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage des polyphénols contenus dans les extraits éthanoliques secs, est réalisé selon le protocole décrit par **Singleton et Rossi (1965)**.

Le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) est un acide de couleur jaune, 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'oxyde bleu de tungstène et de molybdène (**Ribereau, 1968**).

- **Mode opératoire**

Un volume de 200 μ l de chaque extrait (1mg/ml) est mélangé avec 1ml du réactif de Folin–Ciocalteu et 0,8ml de carbonate de sodium à 7,5%. L'ensemble est bien mélangé et incubé à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm.

Calcul :

On utilise une gamme-étalon établie dans les mêmes conditions avec de l'acide gallique. L'indice de Folin-Ciocalteu est exprimé en microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait sec (μ g eq ac gal/mg ES).

II.2.4.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits est déterminée par la méthode colorimétrique décrite par **Kim et al. (2003)**.

- **Mode opératoire**

Une quantité de 100 μ l de chaque extrait (1mg/ml) est mélangée avec 0,4ml d'eau distillée puis avec 0,03ml d'une solution de nitrite de sodium ($NaNO_2$ 5%). Après 5min, 0,02ml d'une solution de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$ 10%) est ajoutée. On additionne à ce mélange 0,2ml de solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3 1M) et 0,25ml d'eau distillée, ce mélange est maintenu sous agitation à l'aide d'un vortex, pendant 5 minutes, à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 510 nm.

- **Calcul**

Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant la quercétine à différentes concentrations, pratiquée dans les mêmes conditions opératoires. La concentration des flavonoïdes est exprimée en microgramme équivalent quercétine par milligramme d'extrait sec (μ g eq quer/mg ES).

II.2.4.2.3. Dosage des flavonols

La teneur en flavonols est déterminée par la méthode de **Yermakov et al. (2004)**.

- **Mode opératoire**

On mélange 2 ml de l'extrait ethanologique sec avec 2 ml d'une solution de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$ 20 g/l) et 6 ml d'une solution d'acétate de sodium (50 g/l). Après 2 heures et demi d'incubation à 20°C, la lecture de l'absorbance est réalisée à 440 nm.

- **Calcul :**

La courbe d'étalonnage est réalisée avec des concentrations allant de 120 à 500 µg/ml de solution méthanolique de rutine. Le taux des flavonols est déterminé en microgramme équivalent rutine par milligramme d'extrait sec (µg eq rut/mg ES).

II.2.4.2.4. Dosage des tanins

Les tanins sont dosés selon la méthode colorimétrique Folin-Denis, décrite par **Joslyn (1970)**. Son principe est basé sur la réduction de l'acide phosphomolybdique et tungstique en milieu alcalin, qui en présence des tanins donne une coloration bleue, dont l'intensité est mesurée à 760 nm.

- **Mode opératoire**

Dans une fiole de 100 ml, on introduit 75 ml d'eau distillée, 1 ml de l'extrait éthanolique (1mg/ml), 5 ml de réactif de Folin-Denis et 10 ml d'une solution saturée de Na₂CO₃ (10%). Après agitation mécanique, la préparation est incubée pendant 30 min, la mesure de la densité optique est faite à 760 nm.

- **Calcul :**

Une gamme étalon d'acide tannique est préparée dans les mêmes conditions avec des concentrations allant de 0.025 à 0.1 mg/l. Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent acide tannique par milligramme d'extrait sec (µg eq ac tan/mg ES).

II.2.4.2.5. Dosage des pigments totaux

Le dosage des pigments totaux (*chlorophylle a* + *chlorophylle b*) est réalisé conformément au protocole décrit par **Plassard et al. (1983)**. Ce protocole est réalisé en deux phases : la phase d'extraction des pigments photosynthétiques puis la phase de dosage des pigments totaux proprement dits.

- **Extraction des pigments photosynthétiques**

Selon **Plassard et al. (1983)**, Il est important de mener l'extraction rapidement et de conserver les extraits au frais et à l'abri de la lumière (en l'enveloppant avec du papier aluminium) afin de minimiser les risques de dégradation des pigments. Les étapes à suivre pour l'extraction sont :

- Laver, égoutter puis peser précisément 1.5g de matériel végétale (tiges/feuilles)
- Couper le matériel végétal en petits fragments.
- Ajouter 4ml d'acétone et broyer jusqu'à obtenir un mélange homogène.
- Ajouter 6 ml d'acétone à 80% et broyer de nouveau soigneusement.
- Laisser décanter quelques minutes (10min).
- Récupérer le surnageant dans un erlène (de préférence, filtrer sur papier filtre et recueillir la solution acétonique de chlorophylle) et compléter à 10 ml avec de l'acétone 80%

- Fermer le flacon contenant l'extrait pigmentaire avec du parafilm et agiter.

- **Mode opératoire :**

- Introduire 2ml d'extrait pigmentaire dans une fiole jaugée de 20 ml et compléter avec de l'acétone 80%;
- Fermer la fiole avec du parafilm et agiter manuellement.
- Placer une cuve en verre, qui contient le solvant d'extraction, et régler le zéro de l'appareil (spectrophotomètre UV-visible *Type SHIMADZU UV-1601*) à 460nm.
- Remplacer cette cuve par une autre qui est remplie au 2/3 par l'extrait pigmentaire dilué (1/4) et lire l'absorbance.
- Recommencer les opérations successivement à 645 et 663nm (régler le zéro de l'appareil pour chaque longueur d'onde utilisée).

- **Calcul :**

Les formules ci-dessous établies à partir de loi de **BEER-LAMBERT** permettent de calculer les concentrations en pigments, les résultats obtenus sont exprimé en µg/ml.

$$Ca = 12.7 (A_{663}) - 2.63 (A_{645})$$

$$Cb = 22.9 (A_{645}) - 4.68 (A_{663})$$

Chapitre III:

Résultats et discussion

III.1.Résultats de l'étude morphologique :

Les feuilles et les fruits des deux espèces d'aubépine (*C. monogyna* et *C. pyracantha*) ont été soumis à un examen morphologique afin de relever les critères phénotypiques qui les caractérisent. Cet examen est basé sur des observations faites à l'œil nu et/ou à la loupe binoculaire.

III.1.1.Examen macroscopique des feuilles :

- *C. pyracantha*

Les feuilles sont simples, glabres et elliptiques d'un vert brillant persistant, opposées décussées (figure 7a). Chaque feuille est caractérisée par un limbe simple et entier, à contour crénelé, avec une forme lancéolée (figure 7b), de 20 à 25 mm de long sur 8 à 12 mm de large, et présentant une nervation pennée (figure 7c). Chaque feuille est rattachée à la tige par un pétiole court de 2 à 5 mm.

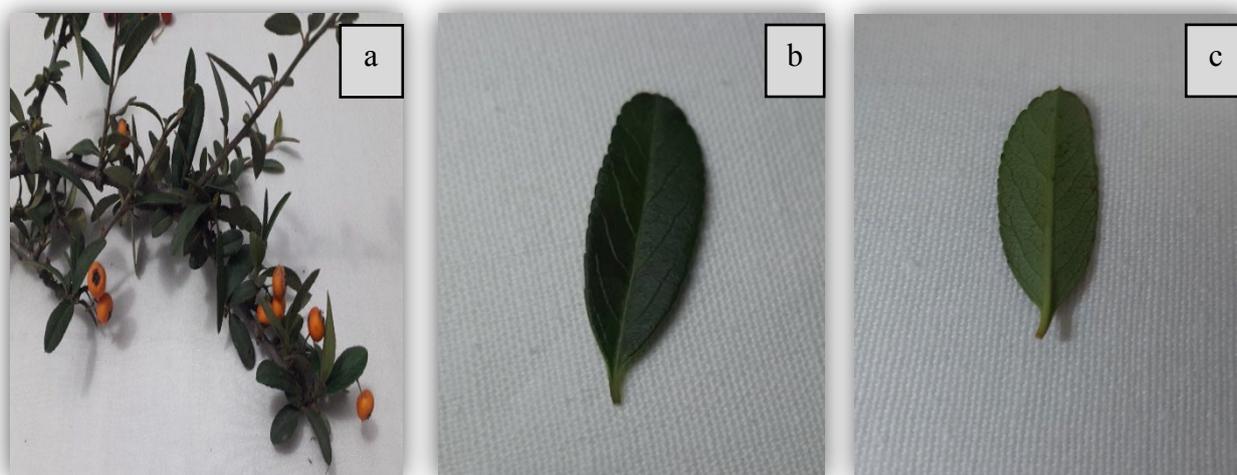


Figure 9 : Aspect des feuilles de l'espèce *C. pyracantha*

a : Rameaux feuillés **b : Face adaxiale de la feuille.** **c : Face abaxiale de la feuille**



(0.5cm sur la réalité 1cm sue la photo)

- *C. monogyna*

Les feuilles sont glabres d'un vert claire caduques et alternes (figure 8a). Chaque feuille est caractérisée par un limbe simple qui est formé de 3 à 5 lobes, à contour denté, avec une forme ovale (figure 8b), de 20 à 28mm de long sur 18 à 25 mm de large, et présentant une nervation pennée (figure 8c). Les feuilles se raccordent avec l'axe principal de la plante par un pétiole long de 1cm en moyenne.

III.1.3. Examen macroscopique des graines et des fruits :

Après la récolte, les fruits des plantes étudiées (*C. monogyna* et *C. pyracantha*) ont été décortiqués manuellement, afin d'isoler les graines et les séparer de la pulpe.

Le tableau VII et la figure 10 récapitulent l'ensemble des caractéristiques morphologiques que nous avons relevé sur les deux lots de fruits étudiés.

Tableau VII : Caractères morphologiques des fruits de *C. pyracantha* et *C. monogyna*.

	<i>C. pyracantha</i>	<i>C. monogyna</i>
Forme du fruit	Ovoïde	Ovoïde
Taille moyenne du fruit	5 à 6 mm	8 à 10 mm
Couleur du fruit	Orange	Rouge
Texture du mésocarpe	Farineux	Farineux
Type de fruit	Drupe	Drupe
Forme des graines	Triangulaire	Ovoïde
Taille moyenne de la graine	2 mm	5,5 mm
Couleur des graines	Jaune claire avec du marron au sommet	Marron
Nombre de graines/fruit	5 petits noyaux /fruit (polysperme)	un seul noyau/fruit (monosperme)

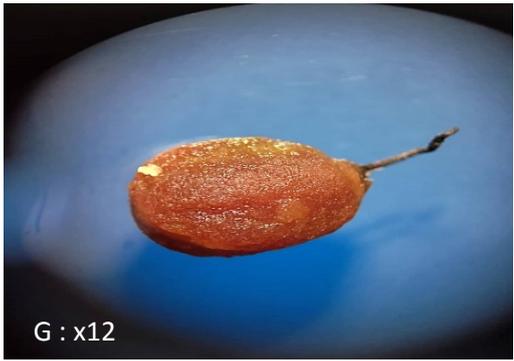
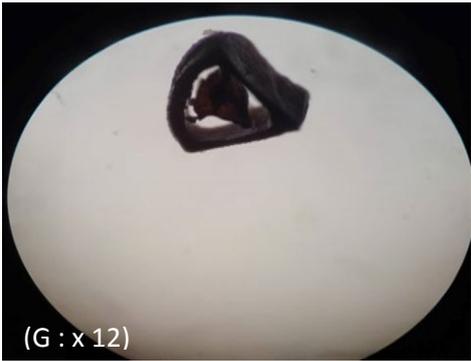
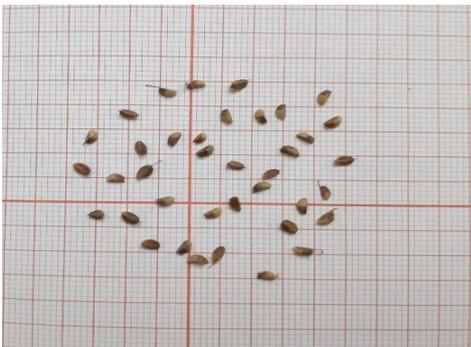
		<i>Crataegus pyracantha</i>	<i>Crataegus monogyna</i>
Observation a la loupe binoculaire	Aspect des graines en vue de face	 G : x12	 G : x12
	Coupe transversale de la graine	 (G : x 12)	 (G : x 12)
Observation a l' œil nu	Aspect des fruits		
	Aspect des graines		

Figure 12 : Aspect macroscopique des graines et des fruits de *C. pyracantha* et *C. monogyna*

III.1.4. Comparaison macroscopique des fruits et des graines :

L'examen morphologique des fruits et des graines a fait ressortir plusieurs critères de divergence dont les plus importants sont cités ci-dessous :

- Les fruits et les graines de *C. monogyna* sont plus grands que ceux de l'espèce *C. pyracantha*
- Les graines de *C. pyracantha* ont une forme triangulaire avec des facettes aplaties par contre les graines de *C. monogyna* sont de forme ovoïde.
- Le fruit de *C. monogyna* comporte une graine unique contrairement au fruit de l'espèce *C. pyracantha* qui comporte en moyenne 5 graines.

Les fruits de deux espèces ont la même forme et la même texture farineuse qui a été détectée par un simple examen sensoriel réalisé au laboratoire.

Khaloufi et al (2021) ont rapporté que les fruits de *C. monogyna* présentent une longueur allant de 0.73 à 14.9 mm, cependant, les graines avaient une taille moyenne allant de 0.43 à 8.29mm.

Guessoum (2021), a rapporté que le fruit poursuit sa croissance pendant plusieurs semaines et augmente de volume à la suite de deux phénomènes :

- Division des cellules contenues dans le fruit.
- Grossissement de ces mêmes cellules.

Beaucoup de facteurs influent sur le développement des fruits (l'ensoleillement, l'irrigation, la fertilisation), mais le nombre de fruits et leurs pépins, paraît exercer l'action la plus directe. **Adra (2017)** a rapporté que l'élévation de la température entraîne une diminution du potentiel hydrique des arbres, ce qui peut entraîner une réduction importante de la taille de ses fruits. La réduction du taux de photosynthèse des feuilles dans des conditions de forte température ou par carence des ressources minérales dans le sol ralentissent la croissance végétative et peuvent par conséquent limiter le développement des fruits et perturber la maturité des graines

III.2. Résultats de l'étude histo-anatomique :

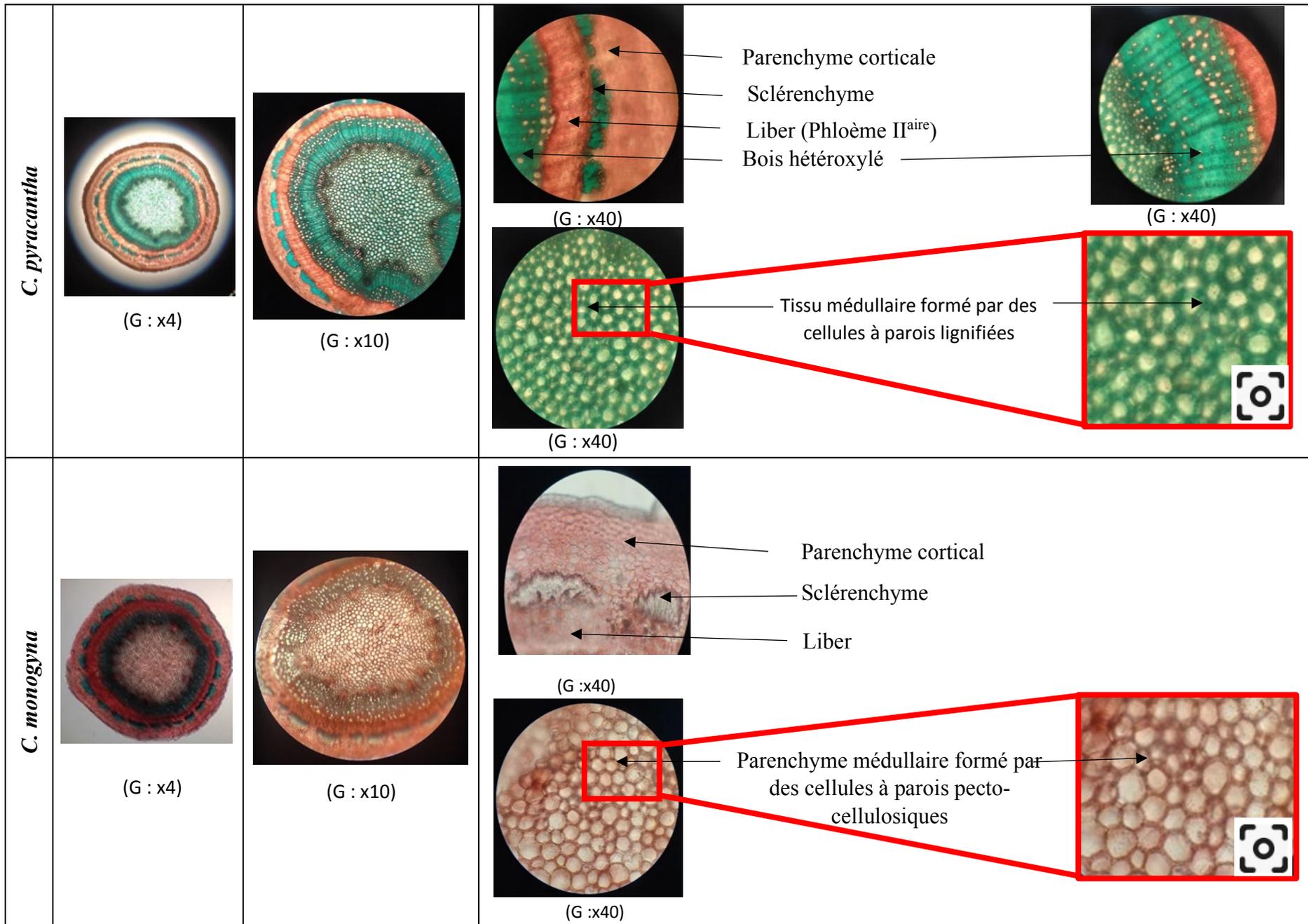
L'examen microscopique nous a permis de dévoiler plusieurs similitudes concernant l'organisation anatomie des tiges semi-ligneuses et des feuilles de *C. monogyna* et *C. pyracantha*. Les observations ont été effectuées sur des coupes transversales réalisées manuellement et soumises à une double coloration au Vert de Methyl-Rouge Congo.

III.2.1. Comparaison histo-anatomique des tiges semi-ligneuses :

Sur le plan microscopique, l'organisation du parenchyme cortical, du sclérenchyme ainsi que les structures tissulaires secondaires à savoir : le bois hétéroxylé et le liber, sont semblables dans les tiges semi-ligneuses des deux espèces étudiées (figure 11).

Cependant, la principale divergence réside dans la nature du tissu médullaire observé au niveau de la partie centrale des tiges de ces deux espèces, qui se caractérise par des cellules dont les parois sont entièrement imprégnées de lignine chez l'espèce *C. pyracantha* : il s'agit d'un parenchyme médullaire lignifié, alors que le tissu médullaire que l'on retrouve chez l'espèce *C. monogyna* est un parenchyme à parois pectocellulosique (figure 11).

La lignine est un composé phénolique (polymère de phenylpropanoïdes), ayant un rôle structural dans les parois cellulaires, elle est accumulée dans les structures de conduction (éléments conducteurs) et de soutien structurel (sclerenchyme). Cette rigidité permet la croissance verticale des plantes et un degré de ramification souvent élevé, permettant d'accroître les surfaces photosynthétiques et le transport de la sève brute via les vaisseaux conducteurs (Gayal et Vindit, 1991). Selon Macheix et al. (2005), le bois renferme un pourcentage élevé de lignine allant de 15 à 35%.



35
 Figure 13 : Anatomie des tiges de *C. pyracantha* et *C. monogyna* observés au microscope optique

III.2.2. Comparaison histo-anatomique des feuilles

L'observation microscopique des coupes transversales des feuilles étudiées nous a permis de mettre en évidence une structure foliaire à symétrie bilatérale. La feuille présente une nervure principale saillante à la face inférieure, et une légère dépression à la face supérieure (**figure 12 B**). La face supérieure de la feuille est recouverte par un épiderme supérieur cutinisé (**figure 12A**). La face inférieure est protégée par un épiderme inférieur.

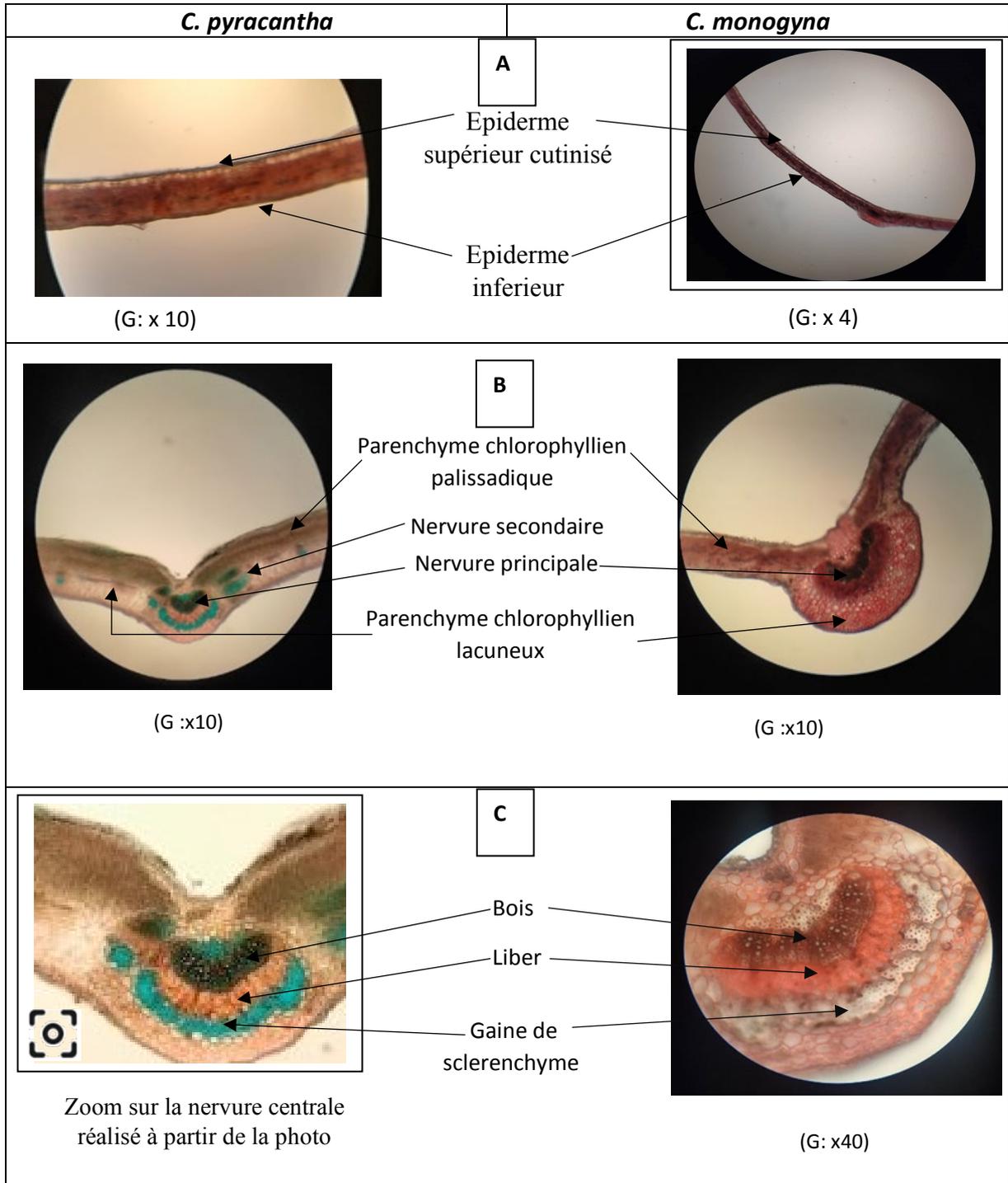


Figure 14: Anatomie des feuilles de *C. pyracantha* et *C. monogyna* observés au microscope optique.

Pour ces deux espèces, le mésophile est hétérogène, il comprend le parenchyme chlorophyllien palissadique et le parenchyme chlorophyllien lacuneux dans lequel se trouvent les nervures (**figure 12 C**). Celles-ci sont constituées de faisceaux libéro-ligneux collatéraux, avec le liber du côté abaxial (face inférieure de la feuille) et le bois du côté adaxial (face supérieure), les faisceaux cribro-vasculaires sont delimités du coté abaxial par une gaine de sclérenchyme.

III.3. Résultats du rendement des extraits secs obtenus :

Les résultats présentés dans le tableau VIII montrent que parmi les quatre extraits éthanoliques préparés par macération à partir des feuilles et des fruits de *C. monogyna* et *C. pyracantha* respectivement, l'extrait des feuilles de *C. monogyna* présente le rendement le plus élevé (21.03%), suivi par l'extrait des feuilles de *C. pyracantha* (15.61%), alors que les rendements des extraits de fruits étaient plus faibles par rapport à ceux des feuilles (14.91% et 10.96 % des fruits de *C. pyracantha* et *C. monogyna* respectivement.

Tableau VIII : Rendement des extraits secs obtenus des feuilles et des fruits de deux espèces étudiées

Organe étudié	<i>C. pyracantha</i>		<i>C. monogyna</i>	
	Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits
Rendement %	15.61	14.91	21.03	10.96

L'extraction de la fraction polaire d'une matière végétal est une étape très importante dans sa caractérisation biochimique (**Garcia-Salas et al., 2010**). La diversité structurale de chaque organe dans une même plante est responsable de la grande variabilité des rendement obtenus (**Koffi et al., 2010**).

Les travaux conduits par **Katalinic et al. (2010)**, **Bonnaillie et al. (2012)** et **Mahmoudi et al. (2013)** ont indiqué que l'éthanol solubilise correctement les composés phénoliques fortement et moyennement polaires, la solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupements hydroxyles, du poids moléculaire et de la longueur de la chaîne carbonique du squelette de base. L'éthanol et l'eau sont les meilleurs solvants d'extraction recommandés, car ils ont l'avantage d'être non polluants, moins chers et non toxiques par rapport à d'autres solvants comme le méthanol (**Jokiæ et al., 2010**).

Dans ce même contexte, **Mahmoudi et al. (2013)** ont remarqué que la macération par l'éthanol est considérée comme étant la meilleure technique d'extraction des biomolécules thermosensibles.

III.4. Résultats de l'étude phytochimique :

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence qualitativement la présence de certains groupes de métabolites primaires et secondaires au niveau des feuilles et des fruits de *C. monogyna* et *C. pyracantha*, la détection de ces composés est basée sur des essais de

solubilité des constituants, des réactions de précipitation et de changement de couleur spécifique.

Les résultats obtenus sont présentés dans tableau IX .

Tableau IX : Résultats de screening phytochimique des feuilles et des fruits des deux espèces d'aubépine.

Métabolites recherchés	Indicateur (réaction positive)	<i>C. pyracantha</i>		<i>C. monogyna</i>	
		Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits
Les glucosides	L'apparition d'une coloration rouge brique	+	+	+	+
L'amidon	L'apparition d'une coloration bleu-violacée	-	-	-	-
Les composés réducteurs	L'obtention d'un précipité rouge brique	-	+	+	+
Les lipides	L'apparition d'une forte coloration violette ou une coloration verte	+	+	+	+
Les alcaloïdes	La formation d'un précipité blanc jaunâtre	-	+	+	+
Les sennosides	L'apparition d'une coloration jaune-orangée	+	-	+	-
Les anthocyanes	L'apparition d'une coloration bleu-violacée	-	-	+	-
Les leuco-anthocyanes	L'apparition d'une coloration rouge	+	+	+	+
Les tanins catéchiques	L'apparition d'un précipité	+	+	-	+
Les tanins galliques	L'apparition d'une couleur bleu-noirâtre	+	-	+	+
Les flavonoïdes	L'apparition d'une coloration rouge, orange ou jaune	+	+	+	+
Les coumarines	L'apparition d'un trouble	-	-	-	-
Les saponines	La formation d'une couche de mousse de 1 cm	-	-	-	-
Les mucilages	La formation d'un précipité floconneux	-	+	+	+
Dérivés anthracéniques libres	L'apparition d'une coloration rouge	-	-	-	-
Dérivés anthracéniques combinés	L'apparition d'une couleur rouge foncée	-	-	-	-
Les stérols et terpènes	La formation d'un anneau rouge brun et /ou violet au niveau de la zone de contact entre les deux solutions	-	-	-	-

Remarque : toutes les photos des résultats de l'étude phytochimique sont regroupées en annexe C

+ : Réaction positif

- : Réaction négatif

III.4.1. Les glucosides :

Dans notre étude, nous avons noté que les deux espèces d'aubépine étudiée contiennent des glucosides aussi bien au niveau des feuilles qu'au niveau des fruits.

D'après **Hassaine (2020a)**, les glucosides sont très répandus dans le règne végétal, on les trouve à peu près dans tous les organes (racines, tiges, feuilles, fleurs et fruits).

Ces métabolites sont très fréquents chez les plantes à fruits rouges, les plantes herbacées, et les plantes à feuilles épaisses. Les plantes utilisent ces composés pour se défendre contre des agents pathogènes extérieurs (**Hassaine, 2020b**).

III.4.2. L'amidon :

La caractérisation phytochimique de l'amidon s'est avérée négative aussi bien dans les feuilles que dans les fruits des deux espèces étudiées

L'amidon est la principale forme de réserve glucidique des végétaux (**Hamdaoui, 2018**). Cependant, le résultat négatif que nous avons obtenu nous laisse suggérer les trois suppositions suivantes :

- L'amidon n'est pas stocké au niveau des organes étudiés (feuilles, fruits),
- L'amidon est présent à des seuils non détectables par cette méthode qualitative.
- Les fruits étaient, au moment de leur collecte, à un stade de maturité très avancé durant lequel les sucres complexes ont tendance à se convertir en sucres simples, donnant ainsi une saveur sucrée aux fruits

III.4.3. Les composés réducteurs :

Après les tests de caractérisations des composés réducteurs réalisées sur les parties étudiées de *C. pyracantha* et *C. monogyna*, nous avons obtenu des résultats négatifs au niveau de feuilles de *C. pyracantha* et des résultats positifs au niveau de leurs fruits ainsi qu'au niveau des feuilles et fruits de *C. monogyna*.

Nos résultats rejoignent partiellement ceux de **Kardi et Sekiou (2020)** qui a rapporté l'absence totale de ces composées au niveau des feuilles de *C. pyracantha*, par contre, ces auteurs avaient noté également leur absence au niveau des fruits *C. pyracantha*. Cela peut être justifié par le degré de maturité ou non du fruit au moment de sa récolte.

III.4.4. Les lipides :

Les résultats des tests de caractérisations des lipides montrent que tous les organes étudiés contiennent des lipides.

D'après **William (2003)**, les lipides sont des composées qui rentrent dans la composition des membranes biologiques, plus précisément de la bicouche des membranes phospholipidiques.

III.4.5. Les alcaloïdes :

Dans cette étude, nous avons noté que les alcaloïdes sont absents dans les feuilles de *C. pyracantha*. Cependant, ils ont été détectés au niveau des fruits de cette espèce ainsi que dans les feuilles et les fruits de *C. monogyna*.

Nos résultats rejoignent ceux de **Kardi et et Sekiou (2020)**, qui ont signalé l'absence totale des alcaloïdes au niveau des feuilles de *C. pyracantha*, ainsi que les travaux de **Brahmi et Karrou (2016)**, qui ont confirmé la présence de cette classe de métabolites au niveau des fruits de *C. pyracantha*.

Cependant, les résultats que nous avons obtenus ne corroborent pas avec ceux **Kardi et al (2020)** ainsi que **Bouid (2009)**, qui ont obtenus des résultats négatifs validant l'absence totale des alcaloïdes au niveau des fruits de *C. monogyna* et *C. pyracantha*.

D'après **Clautriau (1900)**, les alcaloïdes sont des déchets de l'activité cellulaire, dont la présence dépend de taille et de l'état juvénile des cellules.

III.4.6. Les sennosides :

Les feuilles des deux espèces d'aubépine présentent les sennosides dans leur composition chimique, contrairement aux fruits de ces espèces.

Roux et Catier (2007) ont rapporté que les sennosides des plantes exercent une action diurétique sur les reins, par amélioration du débit sanguin. Cette action augmente la filtration glomérulaire, qui aboutit par conséquent à accroître la sécrétion urinaire. Ces résultats ont été également validés par les travaux de **Boudraa (2008)** et **Fico et al (2000)**

III.4.7. Les anthocyanes et les leuco-anthocyanes :

Les résultats de la caractérisation phytochimique confirment l'absence des anthocyanes dans les feuilles et les fruits de *C. pyracantha* ainsi que dans les fruits de *C. monogyna* par contre, les leuco-anthocyanes sont présents dans l'ensemble des organes étudiés.

Kardi et Sekiou (2020) ont rapporté que les anthocyanes sont présents au sein des feuilles et des fruits de *C. pyracantha*. Cependant les travaux de **Brahmi et Karrou (2016)** ont rapporté des résultats positifs concernant la présence des anthocyanes au niveau des fruits.

D'après **Mberdoun et al (2020)**, les anthocyanes se trouvent chez la plupart des espèces végétales, dans les fruits, les fleurs, feuilles et les organes de réserve, la variation des teneurs en anthocyanes totales entre les organes est probablement liée à la couleur de ces derniers.

III.4.8. Les tanins catéchiques et les tanins galliques :

Dans notre étude, nous avons noté que les deux espèces d'aubépines présentent des tanins au niveau des organes étudiés. Cependant, les fruits de *C. pyracantha* et les feuilles de *C. monogyna* étaient dépourvues de tanins catéchiques et de tanins galliques respectivement.

La présence des tanins condensés (les tanins catéchiques) est responsable de l'astringence caractéristique des fruits avant maturité.

Nos résultats rejoignent ceux de **Bouزيد (2009)** qui a trouvé des résultats positifs, validant la présence des tanins catéchiques au niveau des fruits de *C. monogyna* et corroborent également avec les travaux de **Kardi et Sekiou (2020)** qui ont mis en évidence cette classe de métabolites au niveau des feuilles et fruits de *C. pyracantha*.

Concernant les tanins galliques, nos résultats ne sont pas compatibles avec ceux de **Bouزيد (2009)** qui a retrouvé des résultats négatifs au niveau des fruits de *C. monogyna*, et ne corroborent pas avec ceux de **Brahmi et Karrour (2016)**, qui ont obtenus des résultats positifs au niveau des fruits de *C. pyracantha*.

Pour une espèce végétale donnée, le stade végétatif influence la concentration en tanins. De manière générale, lors de la croissance de l'appareil végétatif, on note une diminution du taux des tanins. Dans les feuilles, la quantité et la qualité des tanins varient lors de la maturation. Enfin, la teneur en tanins diminue graduellement lors du mûrissement des fruits (**Sabater, 2012**).

III.4.9. Les flavonoïdes :

Le test phytochimique des flavonoïdes réalisés sur les feuilles et les fruits de *C. pyracantha* et *C. monogyna* a donné suite à des résultats positives.

Nos résultats rejoignent ceux de **Kardi et Sekiou (2020)** qui ont trouvé des résultats positifs valident la présence des flavonoïdes au niveau des feuilles et fruits de *C. pyracantha* ; et corroborent aussi ceux de **Brahmi et Karrour (2016)** et **Bouزيد (2009)** qui ont signalé la présence de ces composés au niveau des fruits de *C. pyracantha* et *C. monogyna* respectivement.

Les flavonoïdes ont un effet protecteur contre le stress induit par la sécheresse. Ils pourraient également permettre aux plantes de survivre sur les sols riches en métaux toxiques comme l'aluminium. Ils jouent un rôle important dans la protection contre les UV en absorbant les radiations UV et en protégeant ainsi les tissus internes des tiges et des feuilles. Les flavonoïdes sont de puissants piègeurs des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et préviennent ainsi la peroxydation des lipides (**Aouissi et al, 2020**).

III.4.10. Les coumarines, les stérols et terpènes :

Les tests de caractérisation phytochimique des coumarines, des stérols et des terpènes réalisés sur les fruits et les feuilles *C.pyracantha* et *C.monogyna* avaient donné suite à des résultats négatifs. L'absence des stérols et des terpènes peut être justifiée par le fait que ces deux espèces ne synthétisent pas des huiles essentielles, donc elles ne font pas partie du groupe des plantes aromatiques.

Les résultats que nous avons obtenus corroborent parfaitement avec ceux de **Kadri et Sekiou (2020)**. Par contre, les résultats que nous avons obtenus pour les fruits se sont avérés

complètement différents par rapport à ceux rapportés par **Brahmi et Karrou (2016)** et **Bouzi (2009)** ayant travaillé sur *C. pyracantha* et *C. monogyna* respectivement.

Audray (2015), a indiqué que la localisation des coumarines au sein des plantes est aussi soumise aux conditions environnementales et peut donc varier au cours du temps.

III.4.11. Les saponines :

Dans notre étude, nous avons noté que les deux espèces d'aubépine étudiées *C. monogyna* et *C. pyracantha* ne comportent pas des saponines.

Nos résultats qui concernent l'espèce *C. pyracantha* ne sont pas compatibles avec ceux de **Kardi et Sekiou (2020)**, ces auteurs avaient obtenus des réactions positives aussi bien dans les feuilles que dans les tiges.

III.4.12. Les mucilages :

Nous avons obtenu des résultats négatifs au niveau de feuilles de *C. pyracantha*, par contre, les mucilages étaient présents au niveau de ses fruits ainsi qu'au niveau des feuilles et fruits de *C. monogyna*.

C'est une substance végétale de nature visqueuse, très miscible à l'eau, et qui peut se transformer le plus souvent en une autre substance sèche et concrète appelée gomme. Elle est ré pondue dans presque tous les végétaux, elle est plus abondante dans les racines et les semences que dans les autres parties. Chez les végétaux supérieurs, les mucilages se trouvent essentiellement dans la sève. On ignore l'utilité exacte des mucilages pour les plantes (**Hammouda-Bousbia, 2021**).

III.4.13. Les dérivés anthracéniques libres et combinés :

Les résultats obtenus ont confirmé l'absence des dérivés anthracéniques libres et combinés au niveau des feuilles et fruits de *C. pyracantha* et *C. monogyna*.

Les résultats de **Brahmi et Karrou (2016)** sont parfaitement similaires à nos résultats, confirmant ainsi l'absence des dérivés anthracéniques libres et combinés au niveau des feuilles et des fruits de *C. pyracantha*.

III.5. Résultats de l'étude biochimique :

Afin de caractériser quantitativement les extraits préparés à partir des feuilles et fruits de *C. pyracantha* et *C. monogyna*, nous avons effectué des dosages pour les paramètres biochimiques suivants : les sucres solubles totaux, les polyphénols totaux, les flavonoïdes, les flavonols, les tanins ainsi que les pigments totaux (*chlorophylle a* et *b*).

III.5.1. Dosage des sucres solubles totaux :

La teneur en sucres solubles totaux contenus dans les extraits des plantes étudiées, a été représentée dans l'histogramme ci-dessous (figure 15).

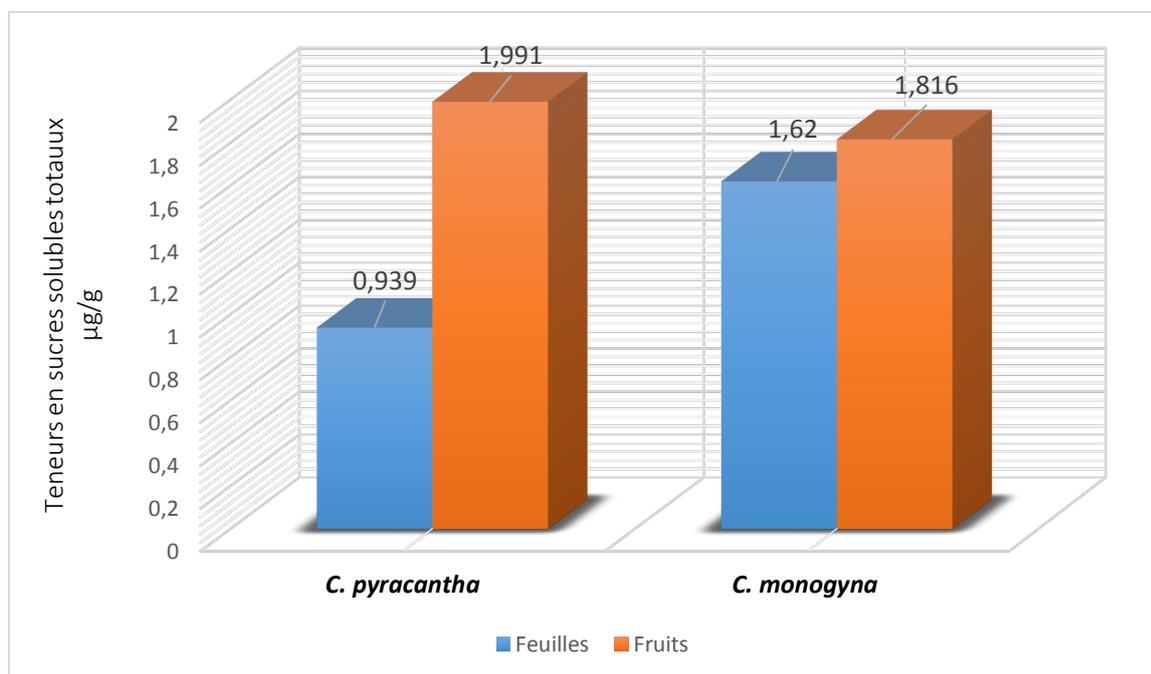


Figure 15: Teneurs des extraits des feuilles et des fruits en sucres solubles totaux.

Les résultats obtenus ont révélé que les extraits des fruits sont plus riches en sucres solubles que les feuilles, où nous avons enregistré une teneur de 1.991 µg/g pour *C. pyracantha* et 1.816 µg/g pour l'espèce *C. monogyna*. Quand aux extraits des feuilles, les teneurs moyennes obtenues étaient de l'ordre de 0.939 µg/g et 1.620 µg/g respectivement.

La variabilité des teneurs en sucres solubles totaux obtenus entre les deux espèces de *C. pyracantha* et *C. monogyna* est due à plusieurs facteurs, dont il convient de citer : l'organe végétal étudié, les conditions climatiques, la nature du sol et le patrimoine génétique de la plante.

À l'échelle cellulaire, les sucres solubles se trouvent généralement dans des cellules bien déterminées (épiderme, endoderme, péricycle, etc). En plus des sucres solubles, une même plante peut contenir également plusieurs glucosides (Hassaine, 2020a).

III.5.2. Dosage des phénols totaux :

Le dosage des phénols totaux contenus dans les extraits éthanoliques préparés à partir des feuilles et des fruits des deux espèces étudiées, a été réalisé par méthode spectrophotométrique

en utilisant le réactif Folin Ciocalteu. Les teneurs en polyphénols ont été déterminées grâce à une courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard (voir annexe D). Les résultats sont présentés dans la figure 16.

Nous avons constaté que les feuilles de *C. monogyna* et *C. pyracantha* sont plus riches en polyphénols par rapport aux fruits, avec des teneurs de 13,41 $\mu\text{g eq ac gal/ mg ES}$ et 17,83 $\mu\text{g eq ac gal/ mg ES}$ respectivement. Par contre, les fruits ont présenté des teneurs relativement basses qui étaient de l'ordre de 3,03 $\mu\text{g eq ac gal/ mg ES}$ chez *C. monogyna* et 0,58 $\mu\text{g eq ac gal/ mg ES}$ chez *C. pyracantha*

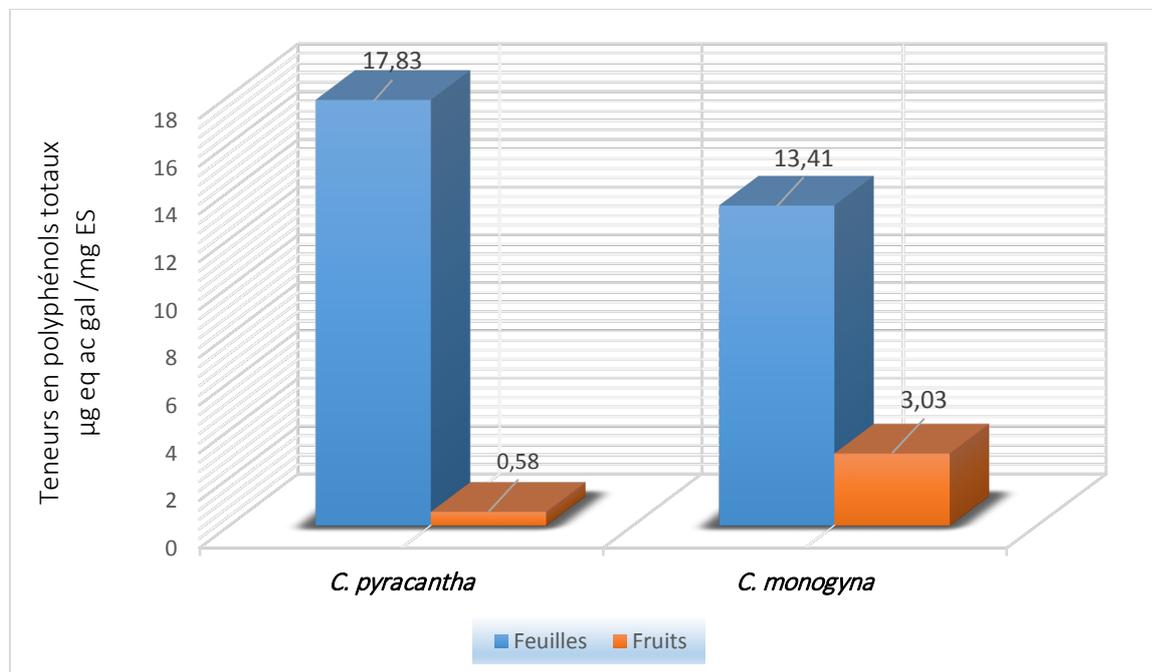


Figure 16 : Teneurs en polyphénols des extraits des feuilles et des fruits de *C. pyracantha* et *C. monogyna*.

Bouزيد (2009) a rapporté dans ses travaux que la teneur des polyphénols contenus dans les fruits de *C. monogyna* est estimée à $21.72 \pm 6.10 \mu\text{g eq ac gal/ mg ES}$.

On suppose que cette grande divergence est en relation avec plusieurs facteurs pouvant influencer sur la teneur en composés phénoliques, des études établies par **Evenamedede et al. (2017)** ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que des facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, ainsi que le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols.

III.5.3. Dosage des flavonoïdes :

La quantité des flavonoïdes totaux contenus dans les extraits testés est estimée, à l'aide de la courbe d'étalonnage de la quercétine (voir annexe D) à partir des valeurs des absorbances mesurées de cette dernière. Les résultats obtenus sont présentés au niveau de la figure 17.

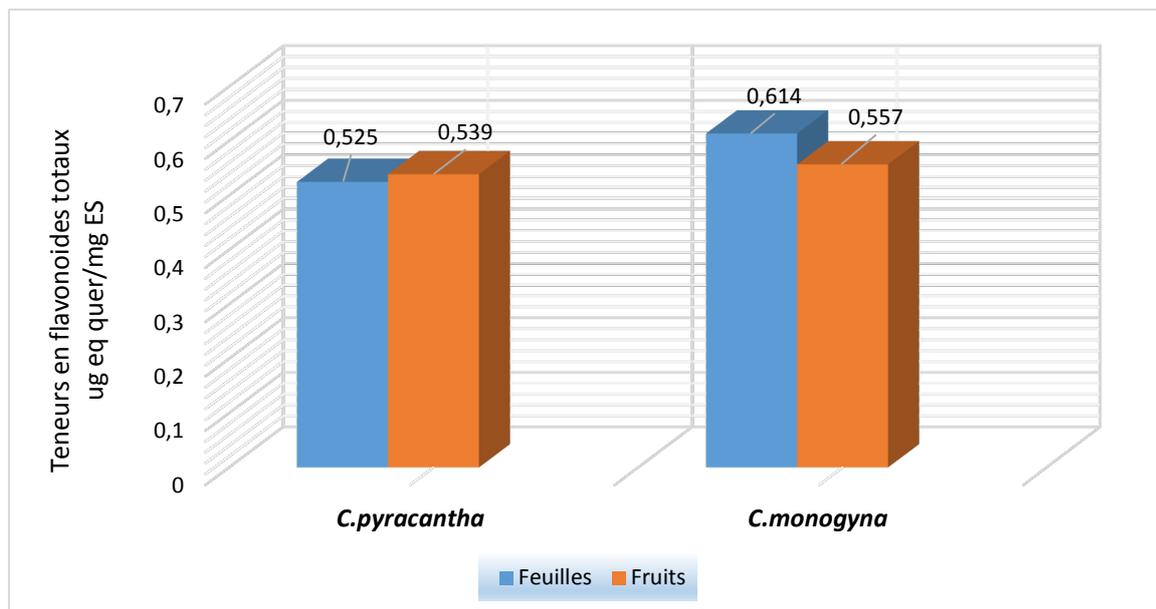


Figure 17 : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits des feuilles et des fruits de *C. pyracantha* et *C. monogyna*.

Nous avons noté que les teneurs des flavonoïdes dans les extraits de l'espèce *C. monogyna* sont plus élevées par rapport à ceux de *C. pyracantha* aussi bien dans les feuilles (0.614 contre 0.525 µg eq quer /mg ES respectivement) que dans les fruits (0.557 contre 0.539 µg eq quer /mg ES respectivement)

Nos résultats sont nettement plus bas en comparaison avec ceux de **Bouزيد (2009)**, qui a enregistré une teneur en flavonoïdes dans les fruits de *C. monogyna* égale à 3.2 ± 0.02 (µg eq/mg ES).

Selon **Evenamedede et al. (2017)**, les flavonoïdes assurent la protection des tissus de la plante contre les effets nocifs du rayonnement solaire et la présence de ces métabolites dans les organes de la plante pourrait faire penser que la plante possède des activités anti-inflammatoires et antimutiques, ils jouent également un rôle positif dans le traitement des maladies cardiovasculaires et neurodégénératives.

III.5.4. Dosage des flavonols :

Le dosage des flavonols a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium décrite par **Yermakov et al. (2004)**. La rutine a été utilisée comme standard (dont la courbe d'étalonnage est présentée en annexe D). Les résultats sont présentés en figure 18.

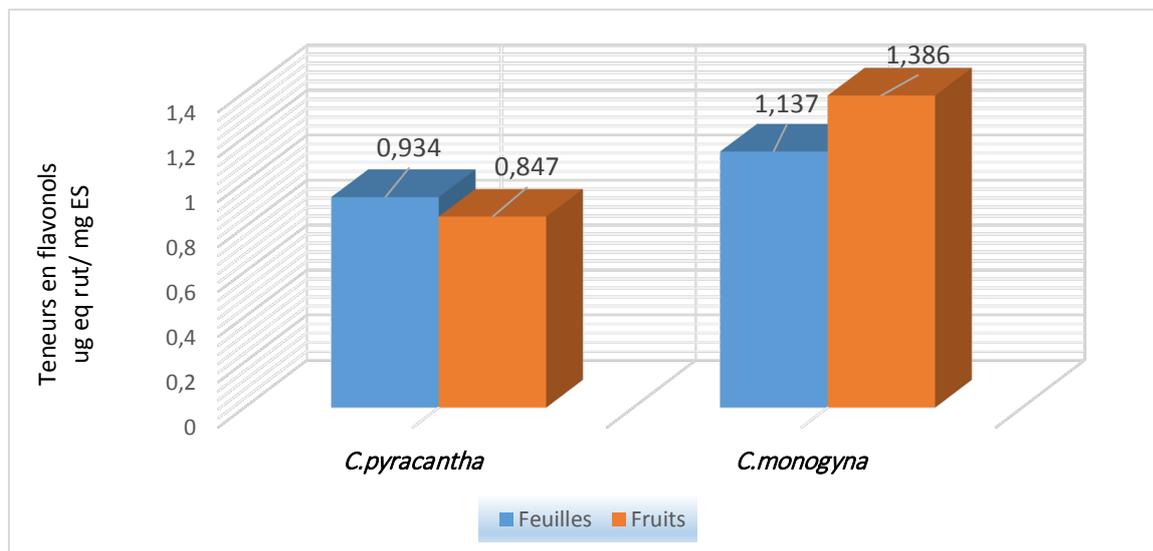


Figure 18: Teneurs en flavonols des extraits des feuilles et des fruits de *C. pyracantha* et *C. monogyna*.

A travers les résultats présentés, on constate que les deux espèces d'aubépine contiennent des flavonols, mais en quantités différentes, puisque *C. monogyna* en contient les teneurs les plus élevées estimées à 1.386 ug eq rut/mg ES dans les fruits et 1.137 µg eq rut/mg ES dans les feuilles, alors que l'espèce *C. pyracantha* n'en contenait que 0.847 µg eq rut/mg ES des fruits et 0.934 ug eq rut/mg ES des feuilles.

III.5.5. Dosage des tanins :

Les teneurs en tanins ont été retenues à partir d'une courbe d'étalonnage tracée en utilisant l'acide tannique comme standard (voir annexe D).

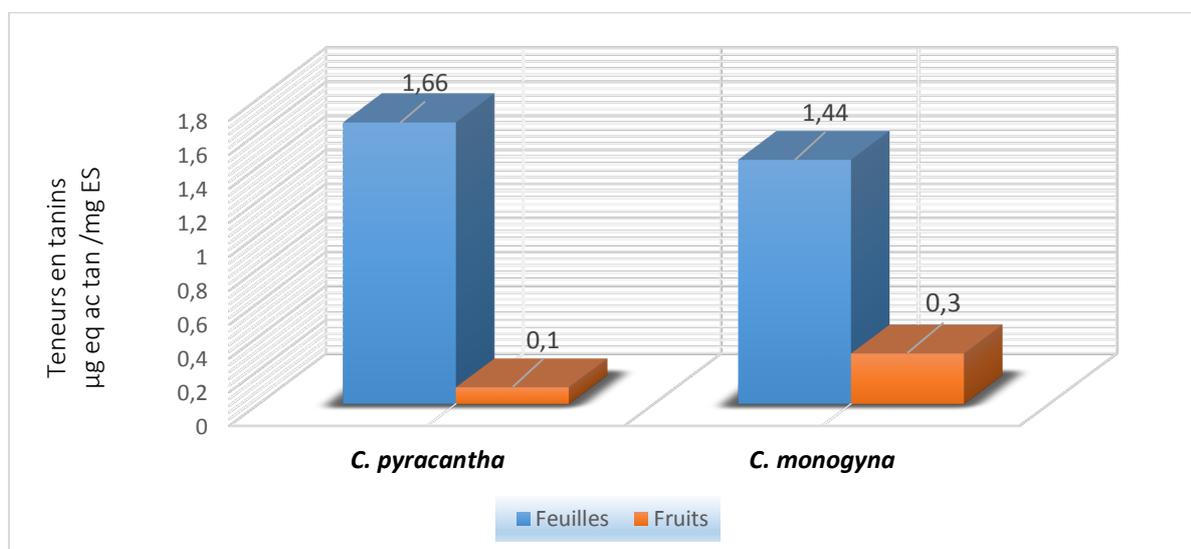


Figure 19 : Teneurs en tanins des extraits des feuilles et des fruits de *C. pyracantha* et *C. monogyna*.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que les extraits des feuilles de *C. pyracantha* et *C. monogyna* sont particulièrement riches en tanins (1,66 et 1,44 µg eq ac tan /mg ES respectivement). Par contre, les extraits des fruits contiennent des teneurs relativement plus faibles estimées à 0,1 µg eq ac tan /mg ES chez *C. pyracantha* et 0,3 µg eq ac tan /mg ES chez *C. monogyna*.

Bouزيد (2009) a rapporté dans ses travaux sur *C. monogyna*, que la teneur des tanins dans les fruits est de l'ordre de $2.1 \pm 0,01 \mu\text{g eq ac tan /mg ES}$.

La différence observée en terme de teneurs en tanins entre ces deux espèces est susceptible d'être influencée par le stade phénologique. En outre, cette différence observée peut partiellement être attribuée aux facteurs génotypiques qui contrôlent la biosynthèse et l'accumulation de ces métabolites secondaires dans la plante. Sachant que l'accumulation des métabolites primaires et secondaires est une propriété physiologique de la plante et elle varie à travers les espèces et les familles végétales (**Haouli, 2015**).

Selon **Ali- Rachedi et al (2018)**, la présence des tanins chez une plante témoigne de la capacité d'une plante à exercer un puissant effet antimicrobien et antioxydant.

III.5.6. Dosage des pigments totaux :

Dans cette étude nous avons analysé quantitativement les extraits préparés à partir des tiges et des feuilles fraîchement récoltées de chaque plante, en utilisant la technique de dosage décrite par **Plassard et al. (1983)**.

- **Teneurs en chlorophylle a :**

Les résultats des teneurs en chlorophylle a sont présentés en figure 18.

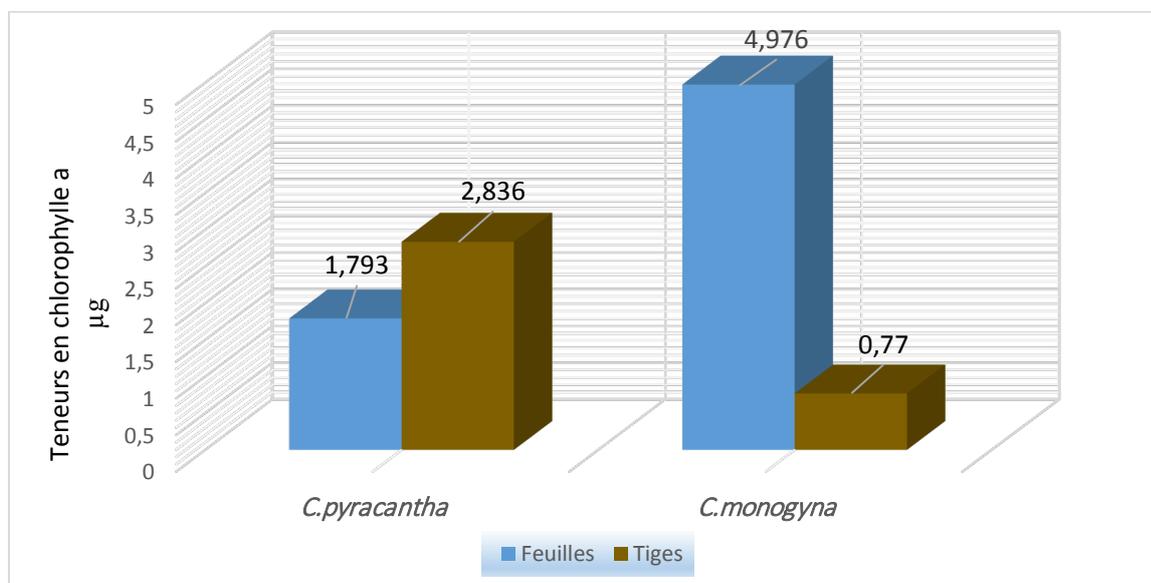


Figure 20: Teneurs en chlorophylle a des extraits des feuilles et des fruits de *C. pyracantha* et *C. monogyna*.

A travers ces résultats, on constate que les extraits des feuilles des deux espèces d'aubépine sont riches en *chlorophylle a* avec une teneur estimée à 4.976 µg chez *C. monogyna* et 1.793 µg pour *C. pyracantha*, suivi par l'extrait des tige de *C. pyracantha* qui contient 2.836 µg, tandis que les extraits des tiges de *C. monogyna* contiennent une très faible quantité de *chlorophylle a* estimée à 0.77µg.

Selon **Khelil et Hammouche (2017)**, l'altération de l'état physiologique des plantes, causée par des conditions défavorables de l'environnement, se reflète rapidement au niveau des signaux lumineux et thermiques émis par les feuilles. La quantité de la chlorophylle des feuilles et des tiges peut être influencée par beaucoup de facteurs tels que l'âge, la position, et des facteurs environnementaux tels que la lumière, la température et la disponibilité en eau (**Hikosaka et al., 2006**).

- **Teneurs en *chlorophylle b* :**

Les résultats des teneurs en *chlorophylle b* sont présentés en figure 21.

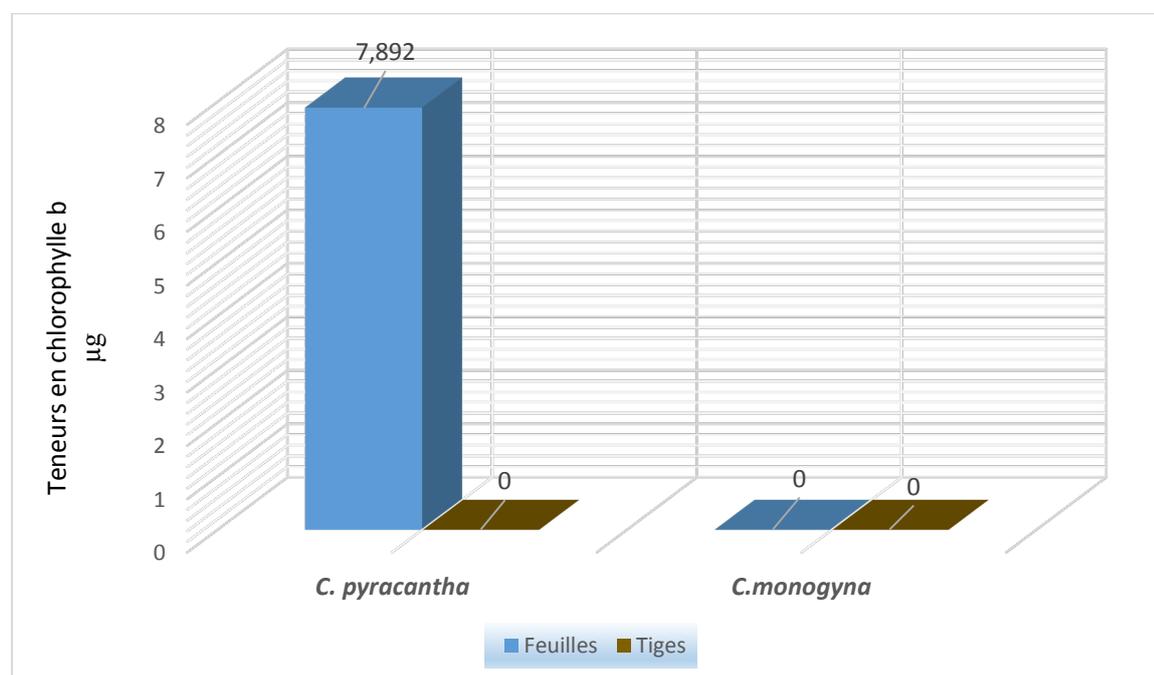


Figure21 : Teneurs en chlorophylle b des extraits des feuilles et des fruits de *C. pyracantha* et *C. monogyna*.

D'après ces résultats, on note que la *chlorophylle b* n'est présente que dans les feuilles de l'espèce de *C. pyracantha* 7.892µg. tandis que les extraits de et *C. pyracantha* et les extraits des tiges des deux espèces d'aubépine ne contient pas de chlorophylle b.

Lorsque la plante subit un stress, le niveau de chlorophylle diminue, affectant la coloration de la plante et ralentissant ses activités de croissance. La chute observée des teneurs en *Chlorophylle a* et *b* résulte probablement de la synergie de plusieurs facteurs : réduction de

l'ouverture des stomates qui limite les pertes en eau par évapotranspiration et par augmentation de la résistance, baisse de l'entrée du CO₂ atmosphérique nécessaire à la photosynthèse. Ainsi, la diminution en Chlorophylles perturbe la redistribution des assimilâtes stockés par la tige vers les différentes parties de la plante, ce qui perturbe sa croissance (**Khelil et Hammouche, 2017**)

Conclusion

et

perspectives

Dans le cadre de l'étude de la variabilité de la composition chimique et la biodiversité morpho-anatomique des espèces végétales, nous nous sommes intéressées à l'étude de deux espèces d'aubépine : *C. pyracantha* et *C. monogyna*, appartenant à la famille des Rosaceae, collectées dans la région de Blida.

Les résultats obtenus ont permis de mettre en relief la variabilité morphologique des feuilles, des fruits et des graines selon différents paramètres morphométriques (forme, taille, couleur).

D'après les résultats de l'étude histo-anatomique des tiges semi- ligneuses et des feuilles de ces deux espèces, il ressort que l'organisation du parenchyme cortical et les structures tissulaires secondaires sont semblables dans les tiges semi-ligneuses des deux espèces étudiées avec la présence d'une différence significative dans la nature de tissu médullaire observé dans leurs tiges. Pour ce qui est des feuilles, elles se caractérisent par la présence d'une symétrie bilatérale et un mésophile hétérogène chez les deux espèces.

Le screening phytochimique nous a permis de caractériser quelques groupes chimiques existants dans les feuilles et les fruits de *C. pyracantha* et *C. monogyna*, parmi lesquels on peut citer : les glucosides , les lipides , les leuco- anthocyanes, les flavonoïdes et les tanins aussi bien au niveau des feuilles qu'au niveau des fruits, avec une absence d'amidon, des coumarines , des saponines , des dérivés anthracéniques libres et combinés ainsi que des stéroïdes. Les résultats de ces tests indiquent aussi la présence des sennosides au niveau des feuilles de *C. pyracantha* et *C. monogyna* contrairement aux fruits. Des résultats positives ont été également mises en évidence pour les mucilages, les composées réducteurs et les alcaloïdes au niveau des feuilles de *C. monogyna* et les fruits des deux espèces.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux dans les feuilles et des sucres solubles au niveau des fruits de ces deux espèces a révélé la présence de teneurs très intéressantes. Les flavonoïdes, les flavonols, les tannins ainsi que les pigments totaux avaient présenté également des teneurs variables.

Les résultats obtenus dans ces différents tests révèlent la diversité et la richesse de ces plantes en métabolites, et apportent une modeste contribution à la valorisation de ces ressources naturelles peu exploitées et n'ayant fait l'objet que de quelques rares travaux de recherche à l'échelle national.

Ce travail reste ouvert à de larges perspectives, parmi lesquels il convient d'établir :

- Une étude biochimique approfondie des feuilles et des fruits de *C. pyracantha* et *C. monogyna*, pouvant être élargie vers d'autres organes, tout en recherchant l'impact de la période de récolte et des conditions environnementales sur leur composition chimique
- Une étude morpho-anatomiques et phytochimiques des fleurs, des racines et des graines de *C. pyracantha* et *C. monogyna*.
- Une étude de la biodiversité de ces deux espèces d'aubépine récoltée dans différents régions du territoire national.
- Une étude comparative entre ces deux espèces étudiées avec d'autres espèces d'aubépine
- Un essai de micropropagation de ces deux espèces
- Une étude du comportement physiologique de ces deux espèces suite à l'induction d'un stress.
- Réaliser une caractérisation moléculaire de ces espèces.

Références bibliographiques

1. **Abdeddaim M. 2016.** Etude de la composition biochimique des fruits de cinq espèces végétales présentes dans la région des Aurès en vue de leur utilisation alimentaire ou pharmacologique. (*Celtis australis* L, *Crataegus azarolus* L, *Crataegus monogyna* J, *Elaeagnus angustifolia* L, et *Zizyphus lotus* L). Thèse de doctorat en sciences biologiques. Université Ferhat Abbas - Sétif 1. Algérie. 131p.
2. **Abdelguerfi A .2003.** Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à l'évaluation et la réduction des risques menaçant les éléments de la diversité biologique en Algérie. Rapport de synthèse sur les risques menaçant la biodiversité en Algérie MATE-GEF/PNUD: Projet ALG/97/G31 (Tome V). Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement. 92p.
3. **Adra F. 2017.** Etude des effets d'une élévation de température sur la croissance et le développement du pêcher : conséquences sur la qualité des fruits. These de doctorat en sciences agronomiques. Université d'Avignon. France. 177p
4. **Agropromizdat. Leningrad. 1987.** In: Miliauskasa G, Venskutonis PR, Van Beek TA. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food chemistry 85:231-237.
5. **Ali-RACHEDI F, Meraghni S, Touaibia N, Sabrina M.2018.** Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 87 :13 -21
6. **Amor L. 2018.** Composition chimique et activités biologiques des extraits de *Crataegus oxyacantha* L. (Rosaceae) . Thèse de doctorat en sciences biologiques. Université Ferhat Abbas - Sétif 1. Algérie. 111p
7. **Aouissi A, Mekalfa A , Khacha M.A .2020.** Etude in silico de l'effet inhibiteur potentiel d'un groupe de flavonoïdes contre la shikimate kinase chez *Erwinia chrysanthemi* agent responsable de la pourriture molle de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L). Mémoire de mastère en biologie. Université 8 Mai 1945 Guelma. Algérie.54p.
8. **APG IV. 2016.** An Update of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the Orders and Families of Flowering Plants. Botanical Journal of the Linnean Society, 181:1-20.
9. **Audray D-J.** Contribution à l'étude phytochimique et moléculaire de la synthèse des coumarines et furocoumarines chez diverses variétés d'agrumes du genre Citrus. Thèse de doctorat en sciences agronomiques. Université de Lorraine. France. 184p
10. **Berkane M. 2017.** Etude bibliographique sur l'Aubépine : *Crataegus laevigata* Poir (DC) (syn:*Crataegus oxyacantha* L) Famille : Rosacées. Mémoire en vue de l'obtention du titre de docteur en Pharmacie. Université Abou Bekr Belkaïd- Tlemcen. Algérie. 95p
11. **Berthod A, Billardello B, Geoffroy S. 1999.** Polyphenols in countercurrent chromatography. An example of large scale separation. Analysis. EDP Sciences.27:750-757.
12. **Bessas A, Benmoussa L, Kerarma M.2008.** Dosage biochimique des polyphenols dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien. Mémoire d'ingénieur en biologie. Université Djillali Liabes. Sidi belabbas. Algérie. 137p
13. **Bibet A ,Naili F .2008.** Le métabolisme primaire et secondaire des angiospermes. Mémoire de DES en biologie et physiologie végétale. Université de Jijel . 50p.
14. **Bonnaillie C, Salacs M, Vassiliova E, Saykova I.2012.** Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). Revue de génie industriel. 7: 35-45

15. **Bouabid B , El yahyaoui O , Sammama A, Kerrouri S, Abdellahi L , Ouaziz N , Lrhorfi L Quay A, Bengendour R, 2016.** Phytochemical screening of two grapefruit varieties: citrus paradisi yellow and blood .International journal of unnovation and applied studies . 17:506-512.
16. **Boudjada A. 2018.** Etude phytochimique de deux espèces *Crataegus azarolus* L. (Rosaceae) et *A Dioscorea communis* L. (Dioscoreaceae). Thèse de doctorat en phytochimie. Université des frères Mentouri-Constantine. Algérie. 154p.
17. **Boudjenna N , Benzouai S . 2020.** Criblage phytochimique des feuilles de *Lavandula officinalis* récoltées de la région constantine . Mémoire de de master en Biologie. Université Larbi Ben Mhidi-Oum El Bouaghi. Algérie.41p.
18. **Boudjerda A , 2012 .** Détermination structurale des métabolites secondaires, par le méthodes d'analyses spectrales, de *Satureja hispidula*. Mémoire de Magistère en Chimie . Université de Jijel. Algérie. 98p.
19. **Boudraa EG.2019.** Les effets d'incorporation de la poudre du fruit *Crataegus monogyna* Jacq sur la qualité d'un lait fermenté type yaourt ferme . Mémoire de master en sciences agronomiques et forestières. Université Akli Mohand Oulhadj-Bouira. Algérie. 78p
20. **Boudraa S. 2008.** Etude de la fraction minérale et vitaminique des fruits de : *Celits australis* L., *Cratagus azarols* Jacq ., *Elaeagnus angustifolia* L . et *Zizyphus lotus* L . Mémoire de magister en agronomie . Université EL Hadj Lakhder – Batna- Algérie.136p.
21. **Bouzi W. 2009.** Etude de l'Activité Biologique des Extraits du Fruit de *Crataegus monogyna* Jacq. Mémoire de magister en Biologie. Université -El Hadj Lakhder-BATNA . Algerie. 71p
22. **Brahami D , Karrour L 2016.** Etude comparative de deux procédés de séchage de *pyracantha coccinea*. Evaluation antimicrobienne de certains composés phénoliques. Mémoire de Master en biochimie. Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou. 78p.
23. **Chaabani E . 2019 .** Eco-extraction et valorisation des métabolites des primaires et secondaires des différentes parties de *Pistacia Lentiscus*. Thèse de doctorat en cotutelle en science biologiques. Université de Carthage/Academis d'Aix-Marseille.100p
24. **Clautrieau G .1900.** Nature et signification des alcaloïdes végétaux .Libraire . Bruxelles . 112p.
25. **Couplan F. 2012.** Les plantes et leurs noms,Histoires insolites ,Edition Quae. Paris. 224p.
26. **Cowan MM. 1999 .**Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews. 12 (4):564-582.
27. **Csurhes S, Weber j, Zhou Y.2016.** Firethorn: *Pyracantha* species. Ed. Department of agriculture and fisheries biosecurity. Queensland Government. 16p
28. **Diallo A.2005.** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd.Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako. Mali. 99p
29. **Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956.** Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Analytical Chemistry, 28, 350-356.
30. **Evenamede K, Kpegba K, Simalou O, Boyode P, Agbonon A, Gbeassor M .2017.** Etude comparative des activités antioxydantes d'extraits éthanoliques de feuilles, d'écorces et de racines de *Cassia sieberiana*. Journal of Biological and Chemical Sciences (IJBCS) 6 :2924-2935.

31. **Fico G, Bilia A-R, Morelli I, Tomé F. 2000** . Flavonoïde distribution in *Pyracantha coccinea* plante at different growth phases. *Biochemical Systematics and Ecology*. 28 : 673-678
32. **Garcia-Salas P, Morales-Soto A, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. 2010**. Phenolic Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*. 15:8813-8826
33. **Gayal R , Vindit K .1991** Handbook of botany .Edition Ram .INDIA.78p.
34. **Guessoum.S .2021**. Support pédagogique de la matière Arboriculture Fruitière et Viticulture Université Ferhat Abbas– Sétif- Algérie.41p.
35. **Hamdaoui M .2018**. Valorisation biochimique et comportement germinatif de *Crataegus monogyna* Jacq. du mont de Tessala (Algérie occidentale) . Thèse de doctorat en sciences de l'environnement. Université Djillali Liabes- Sidi Bel Abbas . Algerie. 108p
36. **Hamid EL-Haoud, Moncef Boufellous, Assia BERRAN, Hind Tazougart et Rachid Bengueddour. 2018**. SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE MEDICINALE: MENTHA SPICATA L. *Am. J. innov. res. appl. sci.* 7(4): 226-233.
37. **Hammouda-Bousbia D .2021**. Biologie des produits végétaux et Bio-industrie. Mémoire de mastère en biotechnologie et Génomique végétale. Université Constantine1. Algérie. 72p.
38. **Haouli NE .2015**. Caractérisation photochimique et biologique du contenu tannoïde de « Marrubium vulgare» et« Urtica urens »de zones arides et semi arides. Université El Arbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi. Algérie. 57p.
39. **Hassaine A.2020a**. Les hétérosides ou glucosides. Université Badji moukhtar Annaba. 2p
40. **Hassaine. A.2020b**. Les hétérosides ou glucosides. Support pédagogique de la matière Biomolécules d'intérêts pharmaceutiques et cosmétiques Université Badji Mokhtar Annaba Algérie. 6p.
41. **Herrera CM .1984**. Seed dispersal and fitness determinants in wild rose: Combined effects of hawthorn, birds, mice, and browsing ungulates . *Oecologia* 63 : 386-339.
42. **Hikosaka K, Ishikawa K, Borjigidai A, Muller O, Onoda Y. 2006**. Temperature acclimation of photosynthesis: mechanisms involved in the changes in temperature dependence of photosynthetic rate. *Journal of Experimental Botany*, 57(2):291-302
43. **Iserin P. 2007** . **Larousse des plantes médicinales, identification, préparation, soins ; 2 ème édition, Ellipses, Paris.335p.**
44. **Iserin P.2007**. : Larousse des plantes médicinales, identification, préparation, soins ; 2ème édition, Ellipses, Paris.335p.
45. **Javad S-R , Shengnan S, Akhtar A, Viganini S, Yasaman T, Hafiz A.R .2021**. LC-ESI-QTOF-MS/MS characterization of phenolic compounds from *Pyracantha coccinea* M.Roem. and their antioxidant capacity. *Cellular and Molecular Biology C (Noisy le Grand)* . 67 : 201-211.
46. **Jokiæ S, Veliaè D, Biliaè M, Buciaè-Kojiaè AM, Plan I, Tomas S.2010**. Modelling of the Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans. *J. Food Sci.* 28: 206- 212
47. **Joslyn MA. A serie of monography. Food. Sci. techn. Second Edition Board. 1970**. In: Bessas A, Benmoussa L, Kerarma M. Dosage biochimique des polyphenols dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien. Mémoire d'ingénieur en biologie. Université Djillali Liabes. Sidi belabbas. Algérie. 2008. 137p

48. **Judith MD. 2005** Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans Vahl* (Caesalpinaceae) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako. Mali.. 135p.
49. **Kardi C , Sekiou S.2020.** Valorisation d'une plante poussant spontanément dans la région de tipaza (Algérie), par l'analyse photochimiques et l'étude des activités biologiques de ses extraits. Mémoire de master en chimie des produits naturels. Université Larbi Tébessi-Tébessa. Algérie. 60p
50. **Katalinic V, Mozina S, Skroza D, Generalic I, Abramovic H, Milos M, Ljubenkovic I, Piskernik S, Pezo I, Terpinc P, Boban M.2010.** Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *J. Food. Chem.*119: 715-723
51. **Khelil B, Hammouche I .2017.** Etude de variabilité morpho-physiologique et biochimique de sept variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) en condition climatique semi-aride. Memoire de Master en amélioration de la production végétale. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi-Bordj Bou Aferidj-Algerie. 86p.
52. **Kheloufi A , Mansouri L.M , Vanbellinghen C. 2021.** Levée de la dormance chez les graines de l'aubépine (*Crataegus monogyna*) du parc national de belezma (W. de Batna), Article scientifique.Université Abou bekr Belkaid Tlemcen-Algérie.8p.
53. **Kheloufi A, Mansouri LM, Vanbellinghen C. 2019.** Seed germination of *Crataegus monogyna* – a species with a stony endocarp. *Reforesta. 7:* 73-80.
54. **Kim D, Chun O, Kim Y, Moon H, Lee C. 2003.**Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 51(22):6509-6515.
55. **Koffi E, Sea T, Dodehe Y, Soro S. 2010.**Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. *J. Animal & Plant Sci.* 5: 550-558.
56. **Langeron M.1949.** Précis de microscopie. Edition Masson et Cie. Paris. 1949. 1362p.
57. **Lemoine J 2016.** Analyse des cas d'exposition aux plantes ornementales à partir du système d'information des centres antipoison et de toxicovigilance français sur les années 2011 à 2013. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Lorraine. France. 156p.
58. **Maaoui M. 2014.** Atlas plantes ornementales des ziban . Station de bioressources El Outaya. Ed. CRSTRA. Algerie.341p.
59. **Machex JJ , Fleuriet A , Jay- Allemand C.2005.** Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, presses polytechniques et universitaires romandes.162p.
60. **Magdalena L , Marianna S , Agnieszka S-P, Anna S-L , Alicja K , Bożena O-M .2019.** Hawthorn (*Crataegus monogyna*) Phenolic Extract Modulates Lymphocyte Subsets and Humoral Immune Response in Mice. *Planta Med* 2020. New York. 86(2): 160-168 .
61. **Mahmoudi S, Khali M, Mahmoudi N. 2013.**Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technologie.* 9: 35- 40
62. **Martinelli F , Perrone A, Yousefi S , Papini A , Castiglione S, Guarino F , Cicatelli A , Aelaei M, Arad N , Gholami M Salami S-A .2021.** Botanical, Phytochemical, Anti-Microbial and Pharmaceutical Characteristics of Hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.), Rosaceae . *Molecules* 26(23): 7266.
63. **Matenga M. 1996.** Screening phytochimique de "*Achillea Millefolium* l " et "*Bridelia Brideliifolia* " et tests d'activité biologique sur " *Escherichia Coli* ", "*Salmonella*

- Polyvalento " et "Shigella Flexneri " par la méthode de tests antibiogrammes. Mémoire en pédagogie appliquée 1996 . Institut supérieur pédagogique de Bukavu-Congo.
64. **Mberdoun M, Ngam-Asra N, Otchom B. 2020.** Composés minéraux et teneur en anthocyane d’*Ampelocissus multistriata* du Tchad. d’Afrique *SCIENCE*17(2) : 11- 24p.
 65. **Moiron JC. 2017.** Les haies hautes .livre .23p
 66. **Plassard C, Mousain D, Salsac L. 2011.** Dosage de la chitine sur des ectomycorhizes de pin maritime (*Pinus pinaster*) à *Pisolithus tinctorius*: évaluation de la masse mycelienne et de la mycorhization. *Canadian Journal of Botany*
 67. **Popoviciu D R, Negreanu- Pirjol T, Motelica L, Negrenu-Pirjol B-S. 2020.** Carotenoides, flavonoids, total phenolic compounds content and antioxidant activity of indigenous *Pyracantha coccinea* M.Roem. *Fruits Revista de Chimie.* 71 (4) :258-266
 68. **Ribereau P. 1968.** Les composés phénoliques des végétaux. Ed Gayon Dunod. Paris. 1968. 254p.
 69. **Roche P, Taton T, Medcil F .1998.** Relative importance of abiotic and land use factors in explaining variation in woody vegetation in a french rural landscape . *Journal of vegetation science.* 9(2) :221-228.
 70. **Romani A, Ieri F, Turchetti B, Mulinacci N, Vincieri FF, Buzzini P. 2006.** Analysis of condensed and hydrolysable tannins from commercial plant extracts. *J Pharm Biomed Anal* 41(2):415-20
 71. **Roux D, Catier O. 2007.** Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3ème édition, Wolters Kluwer. 141p.
 72. **Saadoudi M .2008.** Etude de la fraction glucidique des fruits de : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Zizyphus lotus* L. Mémoire de magister en agronomie. Université EL Hadj Lakhder – Batna- Algérie. 80p.
 73. **Sabater F. 2012.** Détermination d’une dose efficace et d’une dose toxique de tanins condensés dans le contrôle des strongyloses digestives chez les caprines. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse. 111p.
 74. **Safer S, 2018.** Teneur en polyphénols, tannins et flavonoïdes et capacité antioxydante d’extrait méthanolique d’une plante. Mémoire de Master en Chimie. Université Abdelhamid ibn badis - Mostaganem. Algérie. 32p.
 75. **Sarikurkcu C, Tepe B. 2015.** Biological activity and phytochemistry of frethorn (*Pyracantha coccinea* M.J. Roemer). *Journal Of Functional Food.* 19: 669-675
 76. **Seyed FN, Solomon H , Touqeer A, Antoni S, Maria D, Eduardo S-S and Seyed M-N. 2015.** Polyphenolic Composition of *Crataegus monogyna* Jacq.: From Chemistry to Medical Applications . *Nutrients* 2015, 7:7708-7728
 77. **Sharifi-Rad J, Song S, Akhtar A , Subbiah V, Taheri Y, Suleria ARH. 2021.** LC-ESI-MS/MS caractérisation de composés phénoliques de *Pyracantha coccinea* M.Roem et leur capacité antioxydante . *Journal of Cellular and molecular biology.* 67(1):201-211.
 78. **Singleton VL, Rossi JA.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic Pharmacopée URSS. Tome II. 1991. 11ème édition. Moscou. 250p.
 79. **Togola A. 2002.** Etude de la phytochimie et de l’activité anti-paludique de *Alchornea cordifolia* Schmach.. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako. Mali. 100p, phosphotungstic acid reagents. 1965. *Am J Enol Viticult.* 16:144-158.

80. **Turu D, Bozyel ME, Candan K, Yakan MA, Benek A, Canli k. 2020.** In vitro antimicrobial and antioxydant activities of *Pyacantha coccinea* fruits ethanol extract. *International Journal of Academic Multidisciplinary Research (IJAMR)*. 4(12): 89-93
81. **Villabos AE, Vazquez DP, Martin JL. 2010.** Soil disturbanc, vegetation cover and the establishment of the exotic shrub *Pyracantha coccinea* in southern france. *Biological Invasions*. 12(5) :1023-1029
82. **William G .H 2003.** Physiologie végétale . traduction de la 2ème édition américaine par Serge Rambour . Université des sciences et technologie de Lille .310p.
83. **Yermakov AI, Arasimov VV, Yarosh NP.2004.** Methods of biochemical analysis of plants. Agropromizdat. Leningrad. 1987. In: Miliauskasa G, Venskutonis PR, Van Beek TA. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*. 85:231-237.
84. **Zhang DL, Zhang YT, Yin JJ, Zhao BL. 2004.** Oral administration of Crataegus flavonoids protects against ischemia/reperfusion brain damage in gerbils. *Journal of Neurochemistry*. 90(1):211-219.

Annexes

Annexe A

A.1. Verrerie utilisée au laboratoire :



Épiprouvette



Erlenmeyer



Entonnoir



Becher



Tube à essai



Verre à montre



Ampoule à décanter

Figure 22 : Verrerie utilisée au laboratoire

Annexe A

A.2. Instruments et consommables utilisés au laboratoire :



Boite de Pétri



Pipette graduée



Micropipette réglable



Support du tube à essai



Papier filtre



Spatule métallique



Pissette

Figure23: Instruments utilisés au laboratoire

Annexe A

A.3. Appareillages utilisés au laboratoire :



Etuve de séchage



Agitateur magnétique/plaque
chauffante



Bain marie



Balance analytique



Centrifugeuse



Loupe binoculaire



Microscope optique



Vortex



Spectrophotomètre UV-visible

Figure24: Les appareils utilisés au laboratoire

Annexe A

A.4. Liste des produits chimiques utilisés :

1	Acétate de sodium pulvérisé
2	Acide acétique
3	Acide chlorhydrique
5	Acide ortho-phosphorique
5	Acide sulfurique
6	Alcool éthylique
7	Ammoniaque
8	Carbonate de sodium
9	Carbonate de sodium (Na_2CO_3)
10	Chloroforme
11	Chlorure de mercure
12	Ethanol
13	Ether
14	Ether de pétrole
15	Folin Ciocalteu
16	Folin Denis
17	Formaldéhyde
18	Hydroxyde de sodium (NaOH)
19	Iode
20	Iodure de potassium
21	Méthanol
22	Nitrite de sodium
23	Phénol
24	Propanole
25	Sulfate de cuivre (CuSO_4)
26	Sulfate de sodium
27	Trichlorure d'aluminium
28	Trichlorure de fer (FeCl_3)

Annexe B

Préparation des réactifs utilisés dans la caractérisation phytochimique :

1. Réactifs de Mayer :

Déposer 13,55 g de chlorure de mercure et 50 g iodure de potassium dans un ballon jaugé de 1 litre. Ajouter de eau distillée petit à petit en remuant, puis en ajouter jusqu' au trait de jauge. Prélever dix volumes de la solution ainsi obtenue et ajouter un volume acide chlorhydrique 17 %..(**Iserin P, 2007**)

2. Réactif de Stiasny :

Dissoudre 40 g de formaldéhyde dans 100 ml eau distillée. Ajouter un volume égal acide chlorhydrique 1 N pour avoir une solution de formol chlorhydrique.(**Iserin P, 2007**)

Annexe C
Résultats de l'étude photochimique

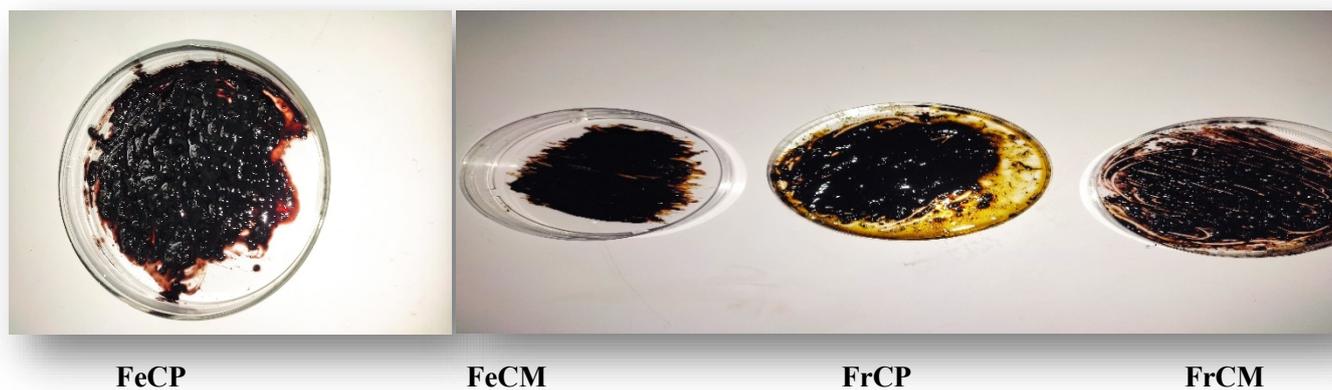


Figure 25 : Résultats de la recherche des glucosides

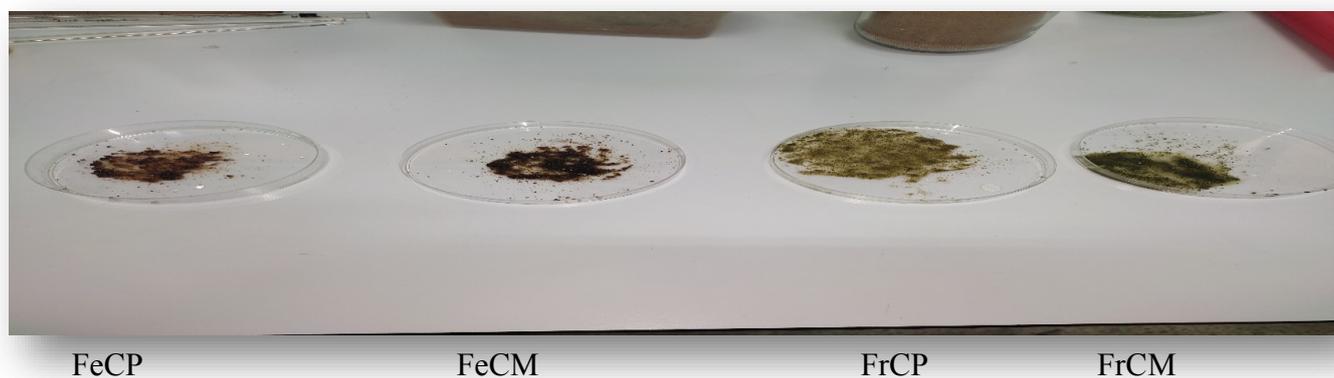


Figure 26: Résultats de la recherche de l'amidon

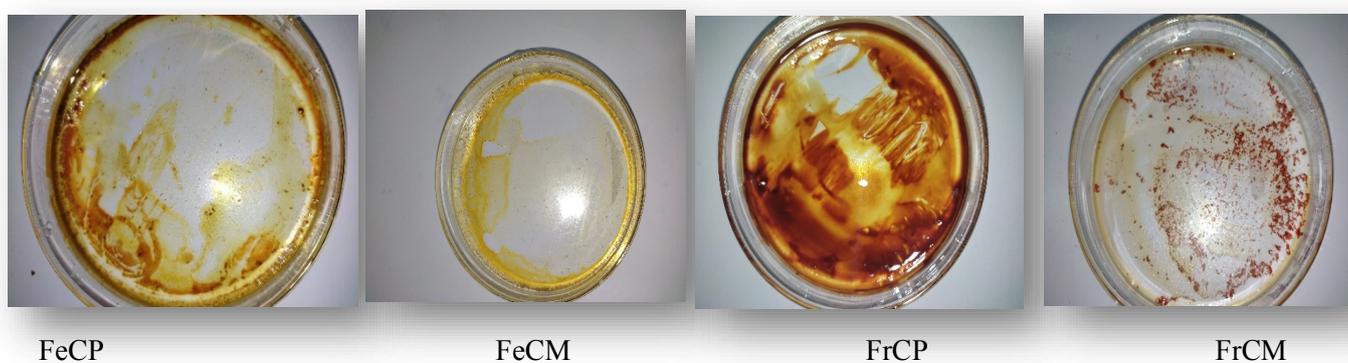


Figure 27 : Résultats de la recherche des composés réducteurs



Figure 28 : Résultats de la recherche des lipides

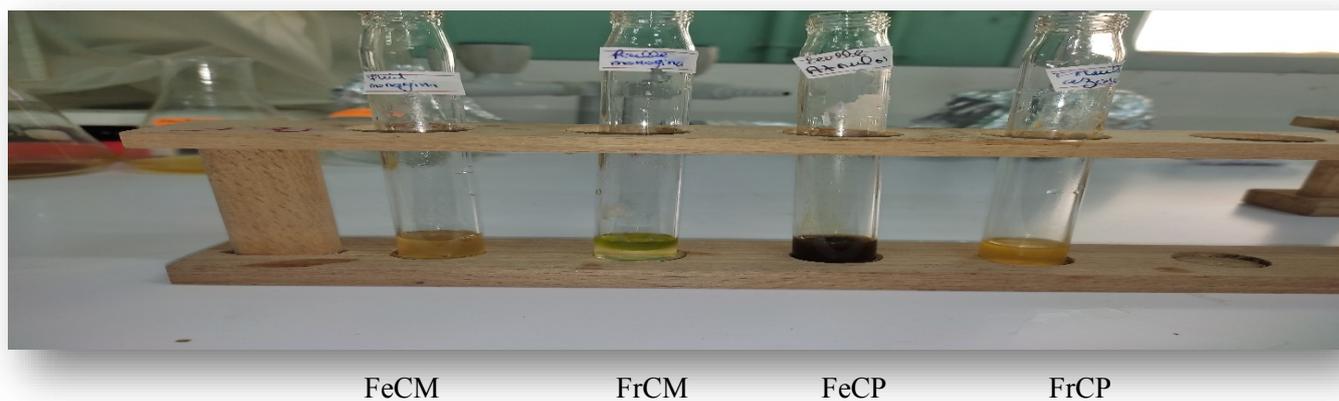


Figure 29 : Résultats de la recherche des alcaloïdes

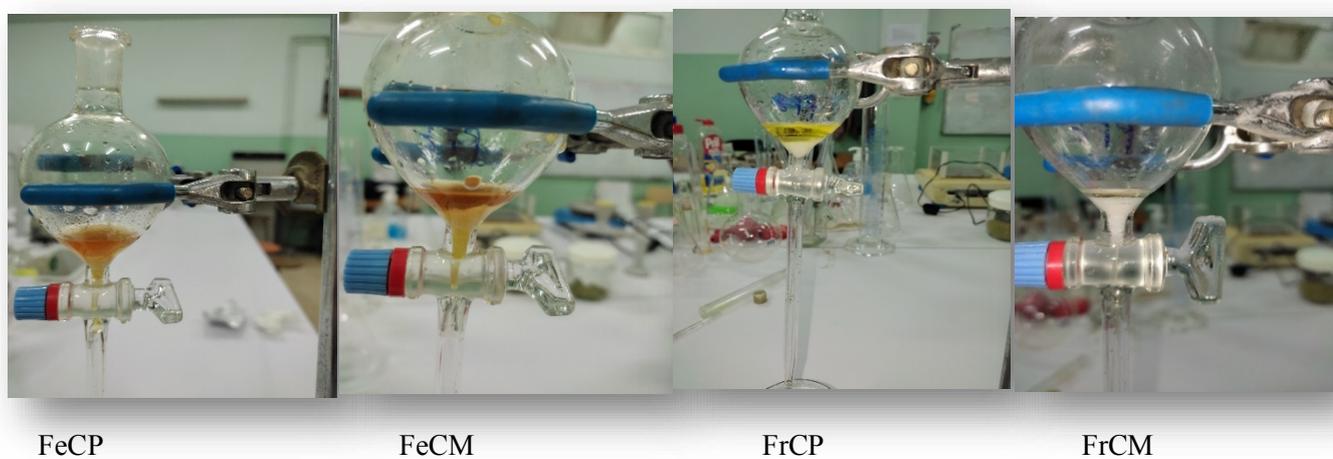


Figure 30: Résultat de la recherche des sennosides



FeCP

FrCP

FrCM

FeCM

Figure 31: Résultats de la recherche des anthocyanes



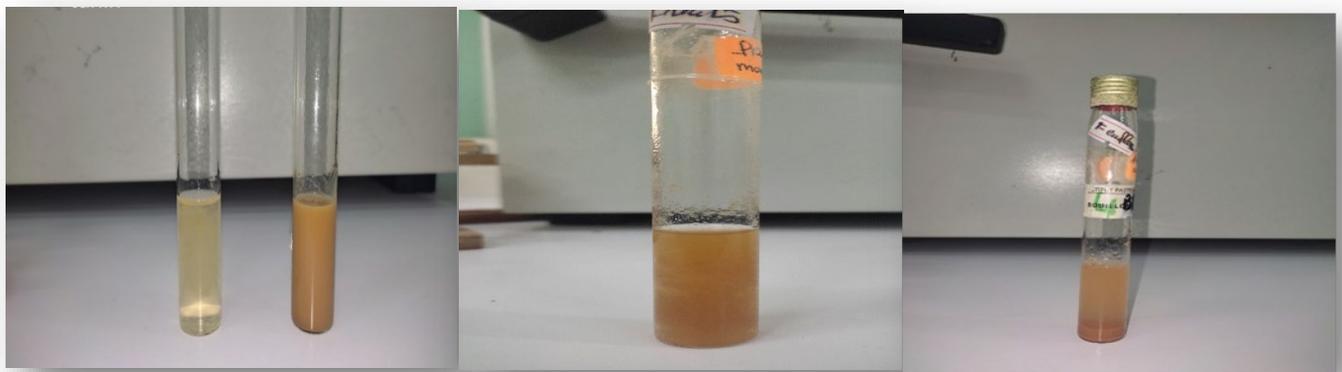
FeCP

FeCM

FrCP

FrCM

Figure32: Résultats de la recherche des leuco-anthocyanes



FeCP

FeCM

FrCM

FrCP

Figure 33 : Résultats de la recherche des tanins cathéchiques



FeCP

FeCM

FrCP

FrCM

Figure 34 : Résultats de la recherche des tanins galliques



FeCP

FeCM

FrCP

FrCM

Figure 35 : Résultats de la recherche des flavonoïdes



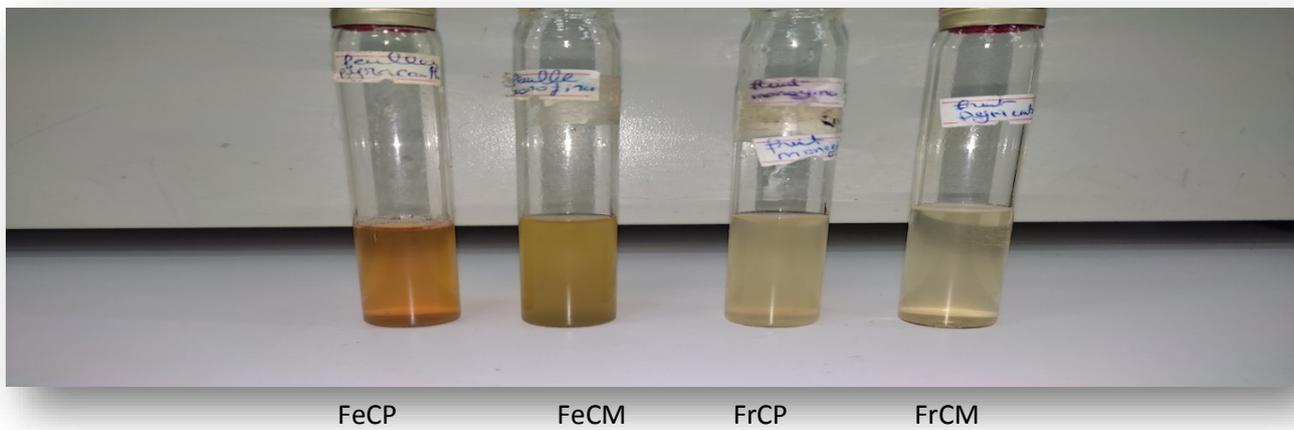
FeCP

FeCM

FrCP

FrCM

Figure 36 : Résultats de la recherche des coumarines



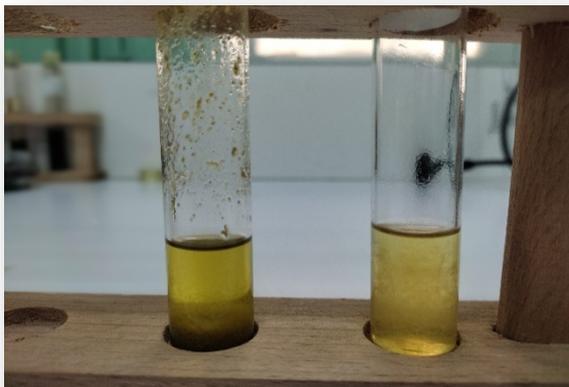
FeCP

FeCM

FrCP

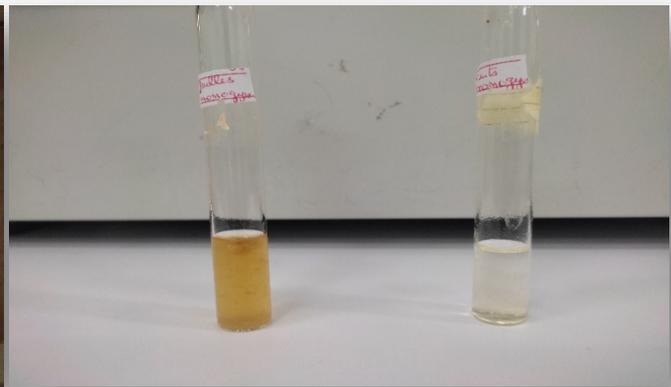
FrCM

Figure 37: Résultats de la recherche des saponines



FrCP

FrCM



FeCM

FeCP

Figure 38 : Résultats de la recherche des mucilages



FeCP

FeCM

FrCP

FrCM

Figure 39 : Résultats de la recherche des anthracéniques libres



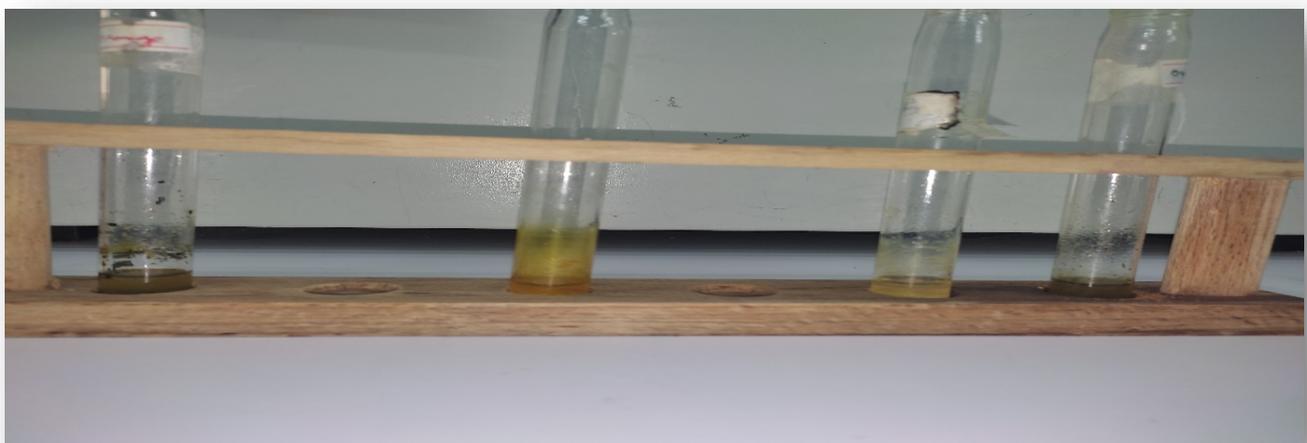
FeCP

FeCM

FrCP

FrCM

Figure 40: Résultats de la recherche des dérivés anthracéniques combinés



FeCP

FeCM

FrCP

FrCM

Figure 41 : Résultats de la recherche des stérols et terpènes

Annexe D

Les courbes d'étalonnage utilisées

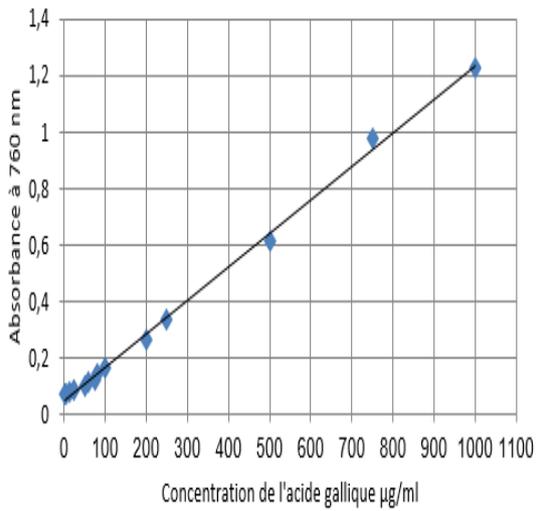


Figure 42 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

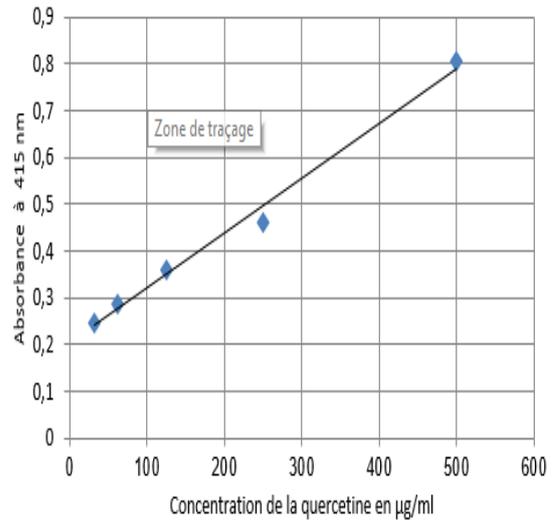


Figure 43: Courbe d'étalonnage de la quercetine

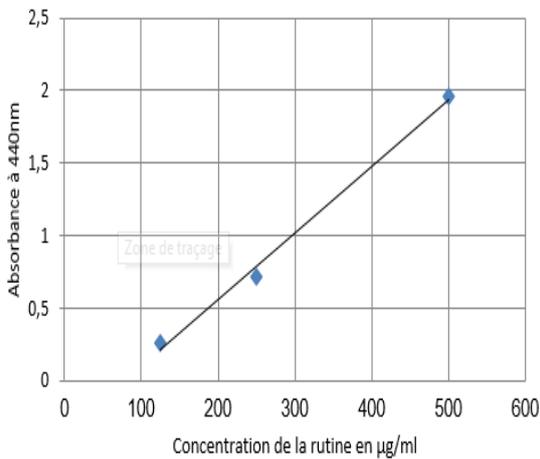


Figure 44 : Courbe d'étalonnage de la rutine

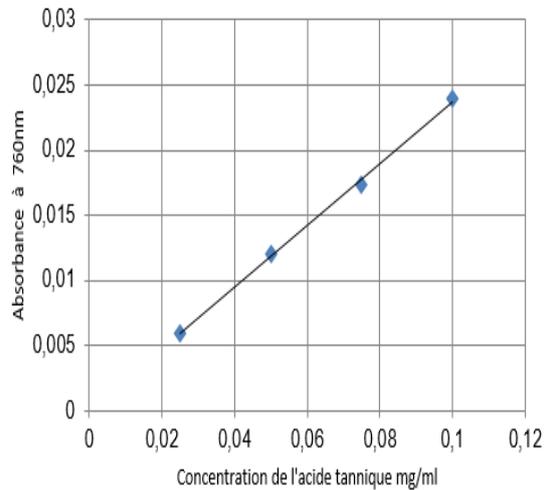


Figure 45 : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique

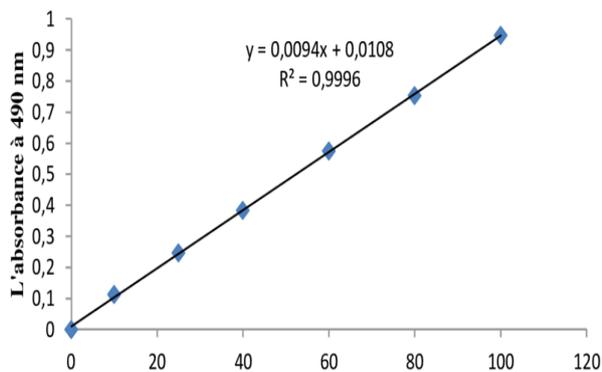


Figure 46 : Courbe d'étalonnage du glucose