

# UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté des Sciences Agronomiques, Vétérinaires et Biologie

Département des sciences agronomiques

## MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : AGRO-RESSOURCES

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES CARACTERISTIQUES PHENOLOGIQUES  
ET BIOCHIMIQUES d'*Artemisia campestris*

Par

**ELKREDIM Hanan**

Devant le jury composé de :

Mr S.A. SNOUSSI	Professeur	U.S.D. Blida	Président
Mr M. BEN MOUSSA	Professeur	U.S.D. Blida	Examineur
Mr T. HADJ SADDOK	Maître de conférences B	U.S.D. Blida	Examineur
M <sup>me</sup> F/Z BENREBIHA	Professeur	U.S.D. Blida	Promotrice
M <sup>me</sup> C. CHAOUIA	Maître de conférences B	U.S.D. Blida	Co-promotrice

Blida, Juin 2012

## REMERCIEMENTS

Je remercie en premier lieu «**DIEU**» le tout puissant, pour m'avoir donnée la santé et la patience afin d'accomplir ce modeste travail.

Mes profonds remerciements et ma respectueuse reconnaissance vont directement à ma promotrice **Pr. BENREBIHA F.Z.** pour le bien vouloir m'encadrer.

Mes vifs remerciements s'adressent à ma Co-promotrice **Dr. CHAOUIA C.** pour son attention, sa simplicité, sa sympathie et sa générosité scientifique.

Qu'elle veuille bien trouver ici l'expression de toute ma gratitude pour son soutien permanent.

J'exprime mes remerciements au **Pr. SNOUSSI S.A.** d'avoir accepté de juger ce travail et m'honoré par la présidence de jury.

Mes remerciements vont également au **Pr. BEN MOUSSA** et **Dr. HADJ SADOUK** pour avoir accepté d'examiner ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à toute ma famille ainsi que ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.



## RESUME

L'*Artemisia campestris* L. connue sous le nom de Dgouft, est l'une des espèces répandue sur les étages bioclimatiques semi-aride, aride et saharien.

L'étude des caractéristiques phénologiques et biochimiques de l'*Artemisia campestris* L. a pu montrer une variabilité des stades phénologiques selon les écotypes sous l'effet des facteurs de milieu. Afin de l'utilisation de ces paramètres comme principes actifs, des tests pharmaco-toxicologiques de l'*Artemisia campestris* ont été entrepris. Au stade germinatif, les graines issus des trois provenances (Biskra, Djelfa et M'sila), ne présente aucune différence au niveau du pouvoir germinatif. Le taux de germination est de 82.86 % (Biskra), 83.26 % (Djelfa) et 84 % (M'sila).

L'accumulation des composés organiques et inorganiques varie d'un écotype à un autre sous les contraintes de climat et du sol. Chez les deux écotypes de la région aride et la région prè-saharienne, une diminution du taux de la chlorophylle a été observer, elle est de  $0.38 \pm 0.01$  µg/g de MF (M'sila) et  $0,53 \pm 0.03$  µg/g de MF (Biskra). En parallèle, il ya eu une augmentation des composés organiques notamment les sucres avec  $4.18 \pm 0.02$  µg/g de MF pour l'écotype de M'sila et  $3.13 \pm 0,06$  µg/g de MF pour l'écotype Biskra.

Nous enregistrons pour la région semi- aride (Djelfa) une augmentation des teneurs des pigments végétaux (chlorophylle et caroténoïdes) et une diminution de la teneur des composés organiques avec une valeur de  $3.13 \pm 0,06$  µg/g de MF pour les sucres, une moyenne de  $1.09 \pm 0.03$  µg/g de MF pour la proline et une moyenne de  $14 \pm 2.61$  µg/g de MF pour les protéines.

La valeur de la DL<sub>50</sub> de l'extrait aqueux de cette espèce obtenue lors de notre expérimentation selon l'échelle de HODGUE et STERNER ne présente aucun effet toxique, elle est de 0 g/kg. L'effet anti-inflammatoire le plus rapide et le plus intense a été observé chez le lot de souris ayant reçu la dose de 0,2g/ml de l'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* de l'écotype de M'sila comparé au lot de souris traité par le Diclofenac.

**Mots clés** : *Artemisia campestris* L., phénologie, physiologie, biochimie.

## ABSTRACT

*Artemisia campestris* known to Dgouft, is a widespread species on semiarid bioclimatic zones, arid Sahara.

The objective of our work is the study of biochemical and phenological characteristics of three ecotypes of *Artemisia campestris* (Djelfa, Biskra and M'sila). The goal is to determine the changes in physiological and biochemical parameters influenced by environmental factors. To use these settings as active ingredients, pharmaco-toxicological testing of *Artemisia campestris* were undertaken.

Variability of the phenological stages according to ecotype under the influence of environmental factors was observed.

Stage germination, seeds from the three sources (Biskra, and Djelfa M'sila), shows no difference in germination rate. The germination rate is 82.86% (Biskra), 83.26% (Djelfa) and 84% (M'sila).

The accumulation of organic and inorganic compounds varies from one ecotype to another under the constraints of climate and soil. In two ecotypes of the arid region and the pre-Saharan region, we note a decrease of chlorophyll with a value of  $0.38 \pm 0.01$  mg / g MF (M'sila) and  $0.53 \pm 0.03$  mg / g MF (Biskra). In parallel, there was an increase of organic compounds: sugars ( $4.18 \pm 0.02$  mg / g MF for the ecotype M'sila and  $3.13 \pm 0.06$  mg / g MF for the ecotype Biskra), proline ( $1.33 \pm 0.02$  mg / g MF for M'sila ecotype) and protein ( $19.46 \pm 0.89$  mg / g MF for the ecotype Biskra).

We record for the semi-arid region (Djelfa) increased levels of plant pigments (chlorophyll and carotenoids) and decreased content of organic compounds with a value of  $3.13 \pm 0.06$  mg / g MF for sugars, a average of  $1.09 \pm 0.03$  mg / g MF for proline and averaged  $14 \pm 2.61$  mg / g of protein for MF.

The aqueous extract of this species exhibits an anti-inflammatory and has no toxic effect.

**Keys words :** *Artemisia campestris* L., phénology, physiology, biochemical.

## الملخص

نبات الأرتاماسيا المعروف بالدققت، هو نوع واسع الانتشار في المناطق الشبه الجافة، والجافة والصحراوية

إن دراسة الخصائص الحيوية والكيميائية والفينولوجية لنبات الأرتاماسيا أظهرت تباين في مراحل الظواهر الحيوية للنبات من منطقة إلى أخرى تحت تأثير العوامل البيئية. لاستخدام العوامل الحيوية لنبات الأرتاماسيا كمكونات نشطة، أجريت بعض الاختبارات الطبية لهذا النبات.

بالنسبة لمرحلة الإنتاش، بذور المناطق الثلاثة (بسكرة، مسيلة و الجلفة) ليس لها أي تأثير على معدل الانتاش. حيث نسبة الانتاش هي 82.86% (بسكرة)، 83.26% (الجلفة) و 84% (مسيلة).

تراكم المركبات العضوية وغير العضوية يختلف من نمط إلى آخر تحت تأثير المناخ والتربة. بالنسبة لنمط المنطقة الجافة والمنطقة الصحراوية، نلاحظ انخفاض في معدل اليخضور بقيمة  $0.01 \pm 0.38$   $\mu\text{g}/\text{g}$  (مسيلة) و  $0.03 \pm 0.53$   $\mu\text{g}/\text{g}$  (بسكرة). في موازاة ذلك، كانت هناك زيادة المركبات العضوية: السكريات ( $0.02 \pm 4.18$   $\mu\text{g}/\text{g}$  و  $0.06 \pm 3.13$   $\mu\text{g}/\text{g}$  للنمط بسكرة)، بروتين ( $0.02 \pm 1.33$   $\mu\text{g}/\text{g}$  و  $0.89 \pm 19.46$   $\mu\text{g}/\text{g}$  للنمط بسكرة).

لقد سجلنا ارتفاع في نسبة اليخضور و الجزرين لنبات المنطقة شبه الجافة (الجلفة) وانخفاض في نسبة المركبات العضوية بقيمة  $0.06 \pm 3.13$   $\mu\text{g}/\text{g}$  بالنسبة للسكريات، و  $0.03 \pm 1.09$   $\mu\text{g}/\text{g}$  للبروتين وبلغ متوسط البروتين قيمة  $2.61 \pm 14$   $\mu\text{g}/\text{g}$ .

المستخلص المائي لنبات الأرتاماسيا غير سام بحيث متوسط نسبة السم المتحصل عليها في الاختبار الذي اجري هي 0 كغ/غ. مفعول مضاد الالتهاب الأكثر تجاوبا مقارنة مع دواء ديكلوفيناك لوحظ لدى مجموعة الفئران المحقونة بالمستخلص المائي للأرتاماسيا لنمط المسيلة بجرعة 0.2 غ/مل.

الكلمات الدالة: الأرتاماسيا، الحيوية، الكيميائية، الفينولوجية.

## LISTE DES ABREVIATIONS

- % : Pourcentage.
- $\lambda$  : Longueur d'onde
- $\mu\text{g}$ : Microgramme
- Chl (a): Chlorophylle<sub>a</sub>
- Chl (b): Chlorophylle<sub>b</sub>
- C° : Degré Celsius
- d : La densité.
- dl : Facteur de dilution.
- DL<sub>50</sub> : La dose létale moyenne
- Do: Densité optique
- E. A : Extrait aqueux
- E.P : Eau physiologique
- EBD1 : Première dose d'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* d'écotype Biskra.
- EBD2 : Deuxième dose d'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* d'écotype Biskra.
- EDD1 : Première dose d'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* d'écotype M'sila.
- EDD2 : Deuxième dose d'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* d'écotype M'sila.
- EDTA : Ethylène Diamine Tetra Acétique.
- EMD1 : Première dose d'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* d'écotype Djelfa.
- EMD2 : Deuxième dose d'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* d'écotype Djelfa.

- Fe : Fer.
- g : Gramme.
- H : Heure.
- H.E : Huile essentiel.
- HCl : Acide chlorhydrique
- K<sup>+</sup> : Potassium
- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: Phosphate dipotassique
- KCl : Chlorure de potassium
- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : Phosphate monopotassique
- Lux : Flux lumineux
- M : Molarité
- MF: Matière fraîche
- mg : Milligramme
- min : Minute
- ml : Millilitre
- MS : MURASHIGE et SKOOG
- N° : Numéro.
- Na<sup>+</sup> : Sodium
- NaCl : Chlorure de sodium



- NaClO : Hypochlorite de sodium.
- NaOH : La soude
- Nbr : Nombre.
- nm : Nanomètre
- p : Poids.
- pH : Potentiel hydrogène
- ppm: Partie par million
- SM : Solution mère.
- TC : Taux de contamination
- TN : Taux de nécrose
- TR : taux de reprise
- UV : Ultra violet
- V: Volume
- W: Poids de la matière fraîche

## LISTES DES FIGURES

Figure 1.1 : Différentes sections du genre <i>Artemisi</i>	19
Figure 1.2 : Structure chimique de la chlorophylle	26
Figure 1.4 : Relations biogénétiques entre les principales classes de métabolites secondaires, sources de principes actifs	34
Figure 2.3.1 : Températures moyennes mensuelles de la région de Djelfa (Décennie 1998-2008)	39
Figure 2.3.2 : Précipitations moyennes mensuelles de la région de Djelfa (Décennie 1998-2008)	39
Figure 2.3.3 : Températures moyennes minimales et maximales mensuelles (Campagne 2009/ 2010)	41
Figure 2.3.4 : Précipitations moyennes mensuelles (campagne 2009/ 2010)	42
<b>Figure 2.3.5 : Diagramme ombrothermique de la région de Biskra (Période 1977-2001)</b>	42
Figure 2.3.6 : Précipitations moyennes mensuelles en mm de la région de M'sila (1988 – 2008)	44
<b>Figure 2.3.7 : Moyennes mensuelles des températures de la région de M'sila (Période 1988–2008)</b>	45
Figure 2.3.8 : <b>Diagramme ombrothermique</b> de la région de M'sila (Période 1988 – 2008)	46
Figure 2.3.9 : Positionnement de la région de M'sila dans le <b>Climagramme d'Emberger</b>	47
Figure 3.1.1 : Dosage des flavonoïdes	52
Figure 3.2.2 : Couplement de la proline avec la ninhydrine selon les écotypes	54
Figure 3.2.2 : Dosage de la proline	56
Figure 3.2.3 : Extraction des protéines solubles	57
Figure 4.1.1 : Stades phénologiques d' <i>Artemisia campestris</i> L.	63
Figure 4.1.2 : Tiges d' <i>Artemisia campestris</i> L.	65
Figure 4.1.3 : Feuilles d' <i>Artemisia campestris</i> L.	65
Figure 4.1.4 : Feuille d' <i>Artemisia campestris</i> L. sous loupe binoculaire (GX10)	66
Figure 4.1.5 : Coupe transversale de la feuille vue au microscope photonique	

	11
(G×10)	66
Figure 4.1.6 : Coupe transversale de la tige vue au microscope photonique	
(G×10)	67
Figure 4.1.7 : Coupe transversale de la tige vue au microscope photonique	
(G×20)	67
Figure 4.1.8 : Diagramme floral d' <i>Artemisia campestris</i> L.	68
Figure 4.1.9 : Inflorescence d' <i>Artemisia campestris</i> L.	69
Figure 4.1.10 : Graines d' <i>Artemisia campestris</i> vue à la loupe binoculaire	
(G× 10)	69
Figure 4.1.11 : Taux de germination <i>in-vivo</i> des graines	
d' <i>Artemisia campestris</i> L.	70
Figure 4.1.12. Germination des graines d' <i>Artemisia campestris</i> L. <i>in-vivo</i>	70
Figure 4.1.13 : Taux de germination <i>in-vitro</i> des graines	
d' <i>Artemisia campestris</i> L.	71
Figure 4.1.14 : Taux de reprise de germination des graines en culture <i>in-vitro</i>	
des trois écotypes	72
Figure 4.1.15 : Evolution des vitro-plants d' <i>Artemisia campestris</i> L. issus de	
germination <i>in-vitro</i>	73
Figure 4.1.16 : Vitro-plants après trois mois de mise en culture selon les	
écotypes	73
Figure 4.1.18 : Variation de taux des caroténoïdes selon les écotypes	76
Figure 4.1.19 : Variation de taux des flavonoïdes selon les écotypes	77
Figure 4.1.20 : Détection des tanins (tanins catéchiques)	78
Figure 4.1.21 : La teneur en Na et k selon les écotypes	79
Figure 4.2.1 : Teneur en sucres solubles selon les différents écotypes	81
Figure 4.2.2 : Variation de la teneur en proline selon les régions	83
Figure 4.2.3 : Variation de la teneur en protéines selon les régions	85
Figure 4.3.1 : Evolution du pourcentage de l'œdème au niveau des pattes	86

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 : Formule chimique des chlorophylles	26
Tableau 2.1 : Caractéristiques climatiques des stations étudiées	36
Tableau 2.3.2 : Températures moyennes mensuelles en °C (Biskra)	40
Tableau 2.3.3 : Précipitations moyennes mensuelles en (mm) à Biskra	41
Tableau 2.3.4 : Températures (minimales et maximales) et précipitations de la région de Biskra (campagne 2009/ 2010)	43
Tableau 2.3.5 : Précipitations (mm) moyennes mensuelles et annuelles de M'sila (Période 1988 – 2008)	43
Tableau 2.3.6 : Régime pluviométrique saisonnier de la région de M'sila	44
Tableau 3.2.1 : Différentes concentrations d'albumine d'œuf	56
Tableau 3.3.1 : Test toxicologique	59
Tableau 3.3.2 : Test anti-inflammatoire	60
Tableau 4.1.1 : Stades phénologiques d' <i>Artemisia campestris</i> L.	61
Tableau 4.1.2 : Températures moyennes mensuelles des régions d'étude (Campagne 2010/1011)	63
Tableau 4.1.3 : Teneur moyenne de la chlorophylle	74
Tableau 4.1.4 : Teneur moyenne des Caroténoïdes	76
Tableau 4.1.5 : Teneur moyenne des flavonoïdes	77
Tableau 4.1.6 : Teneur moyenne de sodium et potassium	79
Tableau 4.2.1 : Teneur moyenne des sucres solubles	81
Tableau 4.2.2 : Teneur moyenne en proline	82
Tableau 4.2.3 : Teneur moyenne en protéines	85
Tableau 4.3.1 : Application de la méthode de BEHREN et KARBBER d' <i>Artemisia Campestris</i> L.	87
Tableau 4.3.2 : Echelle de HODGE et STERNER (1943)	88

## TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	15
CHAPITRE 1 : Synthèse bibliographique	17
1.1. Généralités sur l'espèce <i>Artemisia campestris</i>	17
1.2. Paramètres physiologiques	23
1.2.1. Eléments minéraux	22
1.2.2. Pigments végétaux	25
1.3. Paramètres biochimiques	28
1.3.1. Hydrates de carbones	28
1.3.2. Protéines	28
1.3.3. Proline	29
1.4. Propriétés pharmaco-toxicologiques des plantes médicinales	29
1.4.1. Phytothérapie	29
1.4.2. Principe actif	30
1.4.3. Principales familles de principes actifs d'origine végétale	30
1.4.4. Inflammation	35
1.4.5. Toxicité	35
CHAPITRE 2 : Etude de milieu de la récolte des plantes	36
2.1. Représentation géographique	36
2.2. Pédologie	37
2.3. Etude climatique	38
CHAPITRE 3 : Matériel et méthodes	48
3.1. Caractéristiques phénologiques et physiologiques	48
3.1.1. Phénologie d' <i>Artemisia campestris</i> L.	48
3.1.2. Etude morphologique et anatomique de l'espèce	48
3.1.3. Paramètres physiologiques	49
3.1.3.1. Germination	49
3.1.3.1.1. Germination <i>in-vivo</i>	49
3.1.3.1.2. Germination <i>in-vitro</i>	50
3.1.3.2. Dosage de la chlorophylle	51

3.1.3.3. Dosage des caroténoïdes	51
3.1.3.4. Détermination des tanins	51
3.1.3.5. Dosage des flavonoïdes	52
3.1.3.6. Dosage des ions K <sup>+</sup> et Na <sup>+</sup>	52
3.2. Etude des paramètres biochimiques	54
3.2.1. Dosages des sucres solubles	54
3.2.2. Dosage de la proline	54
3.2.3. Dosage des protéines	56
3.3. Propriétés pharmaco-toxicologiques de l'espèce	58
3.3.1. Effet toxicologique	58
3.3.2. Effet anti-inflammatoire	59
3.4. Mode d'expression des résultats	60
CHAPITRE 4 : Résultats et discussion	61
4.1. Paramètres phénologiques et physiologiques	61
4.2. Paramètres biochimiques	81
4.2.1. Sucres solubles	81
4.2.2. Proline	82
4.2.3. Protéines	85
4.3. Propriétés pharmaco-toxicologiques	87
CONCLUSION	92
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	94
ANNAXES	106

## INTRODUCTION

En Algérie, l'espace naturel est vaste et s'étend sur plusieurs étages climatiques tempérés froids et chauds, ce qui explique les conditions naturelles très variées et le grand nombre d'espèces végétales [1].

Les changements climatiques deviennent de plus en plus contraignants pour la croissance et le développement des plantes notamment dans les zones semi-arides et arides [2, 3].

L'Algérie fait partie des pays méditerranéens où la sécheresse observée depuis longtemps a conduit manifestement au processus de salinisation des sols [4,5].

Ces deux contraintes naturelles, sécheresse et salinité ont modifié la stabilité des écosystèmes et sont en grande partie les causes de la désertification des sols [6].

La variabilité du climat représente un stress permanent pour les écosystèmes. Par conséquent, ces variations climatiques et la composition du milieu ont une influence sur la phénologie ainsi que sur les paramètres physiologiques et biochimiques des plantes, cet intérêt a suscité l'attention de nombreux chercheurs [7].

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail. Nous avons étudié les caractéristiques phénologiques et biochimiques de l'*Artemisia campestris* L. provenant de trois régions différentes ; Biskra, M'sila et Djelfa.

La domination de plantes médicinales est réservée aux espèces de plantes qui contiennent des composés chimiques à action pharmacodynamique certaine, utilisées dans un but thérapeutique. En phytothérapie traditionnelle, les plantes peuvent être utilisées fraîches ou séchées préservant leurs principes actifs [8].

L'espèce d'étude est largement utilisée en médecine traditionnelle, dans cet optique, nous avons étudié quelques propriétés pharmaco-toxicologiques de l'extrait aqueux de cette plante.

Notre travail est réparti en quatre chapitres :

Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique.

Le second chapitre décrit les régions d'étude; afin de faciliter la lecture des résultats obtenus.

Une présentation du matériel végétal et des méthodes utilisées lors des expérimentations est étudiée dans le troisième chapitre dont l'objectif est :

- ✓ Etude morphologique et anatomique de l'espèce avec détermination des périodes phénologiques.
- ✓ Analyse de certains paramètres physiologiques afin caractériser le rôle des facteurs du milieu dans la modification de la physiologie de la plante.
- ✓ Etude des paramètres biochimiques afin de définir les modifications influencées par le milieu.
- ✓ Test de toxicité et anti-inflammatoire dont le but est de caractériser l'effet thérapeutique de certains paramètres physiologiques et biochimiques.

Le quatrième chapitre est réservé aux résultats obtenus et discussion.



## CHAPITRE 1

### SYNTESE BIBLIOGRAPHIQUE

#### 1.1. Généralités sur l'espèce *Artemisia campestris*

L'*Artemisia campestris* appartient à la famille des *Astéracées* qui constitue une immense famille cosmopolite. Cette famille est l'une des plus importantes de toutes les Phanérogames avec 25000 espèces [9].

##### 1.1.1. Historique

Le territoire Algérien renferme 408 espèces réparties en 109 genres [10]. Les *Astéracées* sont connues depuis l'oligocène [11] et ont peuplé le globe entier avec prédominance dans les régions tempérés et froides [9]. Cette famille est moins fréquente dans les forêts tropicales [12].

La première extension marquée de cette plante d'après les analyses sporo-polliniques se situe vers la limite tertiaire–quaternaire lors des premiers changements climatiques importants. Au cours du quaternaire, *Artemisia* est souvent présente en faible quantité (grandes glaciations). Après la période glaciaire, la végétation à armoise s'étend surtout par suite de l'influence de l'homme et de ses activités (Néolithique : phase à *Astéracées* tubuliflores et liguliflores) [13].

*Artemisia campestris* fut utilisée dès l'époque de l'Égypte Pharaonique pour chasser les mauvais esprits. Cette espèce fut décrite en 1753 par LINNE [14]. L'espèce a été découverte en Russie en 1835 sous le nom scientifique *Artemisia jussicana* [14].

En Algérie, l'*Artemisia campestris* a été découverte en 1898 par GAY [14].

### 1.1.2. Répartition géographique

DEYSSON, (1979) signale que les Astéracées ont peuplé le globe entier avec prédominance dans les régions tempérées. Ils sont moins fréquents dans les forêts tropicales humides [12].

#### 1.1.2.1. Famille des Astéracées

La famille des *Astéracées* est reconnaissable à ses petites fleurs [15]. Elle est répartie en quatre sous familles: Tubuliflores, Labiatiflores, Liguliflores et Radiées (Corymbifères) [9]. Les Tubuliflores, les Radiées et les liguliflores caractérisent les régions tempérées de l'Eurasie. Les Labiatiflores quant à eux sont presque exclusivement localisées en Amérique du sud [9].

#### 1.1.2.2. Genre *Artemisia*

Le genre *Artemisia*, se trouve actuellement dans les prairies et les steppes des régions tempérées de l'hémisphère nord [16,17], en Afrique du sud et en Amérique du sud [18]. Il est généralement localisé dans les zones où les précipitations ne dépassent pas 50 mm avec une extension vers les régions tropicales [19].

L'armoise est une plante importante des steppes russes. En Amérique, elle est répandue dans les plaines nord-américaines de l'ouest et les steppes des bassins intérieurs des montagnes rocheuses (*Artemisia tridentata* qui arrive à un recouvrement de 85%). Dans les steppes méditerranéennes, notamment dans les hautes plaines nord-africaines qui sont des steppes naturelles (Atlas saharien, haut atlas au Maroc), l'*Artemisia* est souvent psammophile (croissant sur les sables) dans les déserts [13]. Cette plante se trouve également en Chine, qui pousse souvent dans les terrains vagues [20].

#### 1.1.2.3. *Artemisia campestris*

Selon MARIE, (1993) ; QUEZEL et SANTA, (1963) et OZENDA, (1983), l'espèce *Artemisia campestris* est très répandue dans les régions pierreux et sablonneux des oueds des montagnes dans les étages méditerranéennes.

Elle se trouve plus rarement sur les pentes pierreuses de l'étage supérieur, et elle peut se trouver dans l'étage tropical.

En Algérie, cette espèce est assez commune dans les hauts plateaux constantinois, algérois, oranais et surtout dans les régions de Frenda, Machria, Sétif, Bordj Bouarrerdj, Ain M'Lila, M'sila, Khenchla et Djelfa [12].

Elle est très connue dans les montagnes du Sahara centrale en altitude, elle est répandue dans les Hoggars et moins fréquente dans les régions Tefedeste, et du Tassili des Ajjer. Elle se rencontre dans l'Oued Tit à 1300 m, dans l'Oued Outoul à 1450 m, Tamanrasset à 1500 m, dans le ravin au pied de Tahat à 2500 m et dans les plateaux de Tigharghar entre 1000 et 2000 m d'altitude [2].

### 1.1.3. Taxonomie

La première taxonomie du genre *Artemisia* à été réalisé par BESSER, (1829). Le genre *Artemisia* est divisé en quatre sections selon la différence fondamentale de la structure florale (Figure 1).

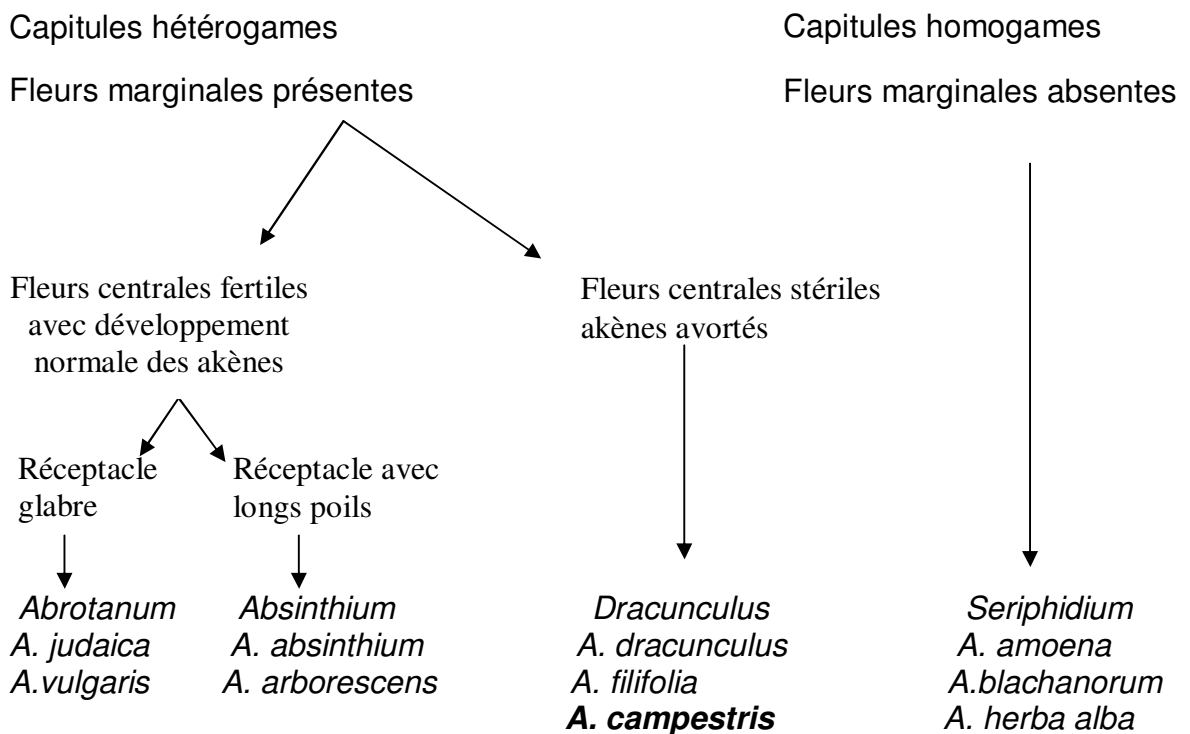
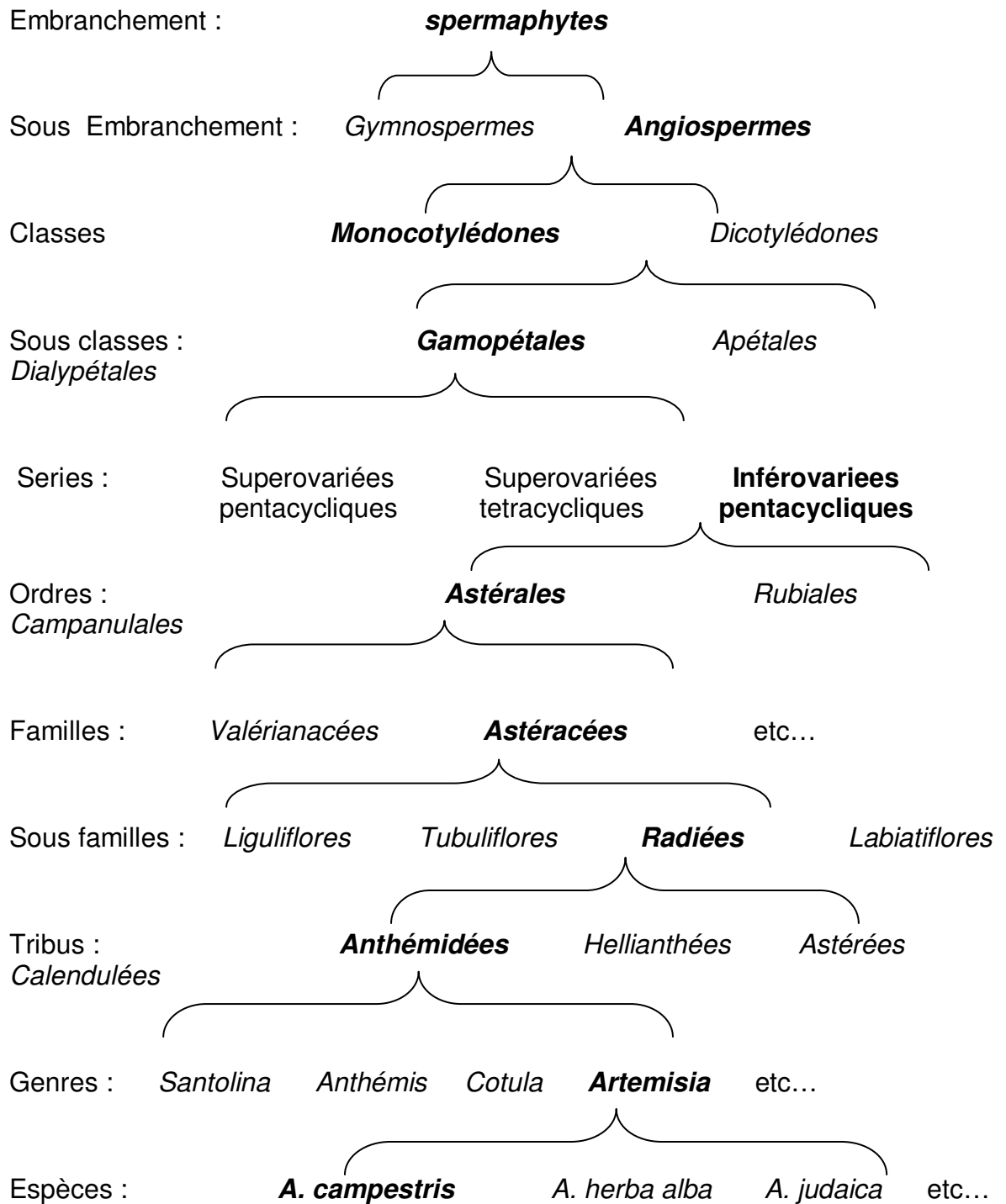


Figure 1.1 : Différentes sections du genre *Artemisia* [23].

La systematique d'*Artemisia campestris* L. est comme suit [9] :



#### 1.1.3.1. Sous espèces d'*Artemisia campestris*

Il existe plusieurs sous espèces d'*Artemisia campestris* [24, 25, 26] parmi elles :

- *Artemisia campestris subsp. alpina*
- *Artemisia campestris L. subsp. campestris*
- *Artemisia campestris subsp. Glutinosa*
- *Artemisia campestris subsp. borealis*
- *Artemisia campestris subsp. variabilis*

#### 1.1.3.2. Etymologie

Le nom armoise dérive du latin *Artemisia*, emprunté au grec Artémis, reine d'Halicarnasse en Carie [20, 27].

Artémis, déesse qui assistait aux accouchements, à cause des usages antiques de ces plantes en gynécologie [28]. L'armoise est un symbole de fidélité conjugale et signifie : rien ne me détournera de mes devoirs [29].

Nom vernaculaires : armoise rouge, armoise des champs, l'armoise champêtre, tgouft ou dgouft.

#### 1.1.4. Etude botanique

Les Astéracées sont généralement des plantes herbacées, arbustes ou des lianes cactoïdes en coussinet [11]. Ses Fleurs sont hermaphrodites à style et ont en général une touffe de poils au sommet [10].

Selon OZENDA, (1991) cette famille se caractérise par un groupement de fleurs en capitules et soudure des étamines par leur anthère. Ces derniers sont presque toujours obtus à la base. Les feuilles sont alternées et rarement opposées [28, 11].

Le fruit des *Asteracées* est un akène provenant du développement du calice après fécondation [12]. La graine est exalbuminée, avec un embryon droit à radicule infère [28].

Le genre *artemisia* se caractérise par des plantes ligneuses, vivaces rarement annuelles ou bisannuelles. Les feuilles sont alternées et divisées en lobes de part et d'autre de la nervure centrale [28].

L'*Artemisia campestris* se caractérise par des tiges subligneuses et couchées à la base puis ascendantes, généralement rougeâtres et glabrescentes. Elles sont très ramifiées à rameaux étalés. Les feuilles sont alternées. L'épi de capitule ovoïde, large de 1,5 à 2,5 mm. Il est involucre glabre et luisant. Les fleurs périphériques sont femelles, les autres sont des fleurs mâles. Le fruit est un akène et la pollinisation est anémogame [31].

#### 1.1.5. Intérêt thérapeutique d'Artemisia campestris

La plante entière est recommandée en cas de troubles digestifs [32, 33]. L'infusion des sommités fleuries est recommandée en cas de douleurs menstruelles [34].

En Tunisie, AKROUT et *al.*, en 2001 ont étudié l'effet thérapeutique de la plante et ont montré que la décoction de la racine a une efficacité contre les venins des morsures des scorpions. Ces auteurs ont confirmé l'action d'inhibition de l'activité microbienne.

La partie aérienne est utilisée comme antispasmodique, diurétique et antirhumatismale [36]. C'est un bon anti-inflammatoire et soulage les rhumatismes. Elle traite la toux, le diabète et l'ulcère gastrique [37].

Elle est aussi efficace contre l'eczéma et est cicatrisante, en particulier en cas de brûlure [36, 32]. Elle peut aussi être utilisée comme cataplasme en cas de circulation sanguine difficile [34].

#### 1.1.6. Intérêt pastorale

L'armoise champêtre (*dgouft*) est une plante toxique pour la plupart des animaux. Elle est broutée par les ovins en période de disette [38].

Dans les régions de Tamanrasset, l'armoise champêtre fournit un pâturage médiocre brouté en dernier recours par le cheptel exclusivement de caprins et de chameaux [39].

## 1.2. Paramètres physiologiques

L'un des principaux caractères physiologiques de tolérance aux contraintes du milieu est l'ajustement osmotique. Celui-ci est réalisé grâce à une accumulation de composés osmorégulateurs conduisant à une réduction du potentiel osmotique permettant ainsi le maintien du potentiel de turgescence [40].

### 1.2.1 Éléments minéraux

Les végétaux chlorophylliens nécessitent pour leur développement une alimentation exclusivement minérale [41]. Pour cela, le diagnostic foliaire permettra éventuellement de corriger le déficit en éléments minéraux s'il est décelé.

Les éléments minéraux essentiels peuvent être classés en macroéléments et en microéléments en fonction des concentrations qui sont normalement requises [42]. Les macroéléments sont présents à des teneurs de  $10^{-3}$  à  $10^{-2}$  g/g de tissus secs. Les micro ou oligoéléments se rencontrent à des teneurs de 1000 à 10000 fois plus faibles [41]. Chaque élément minéral essentiel joue un rôle biochimique ou physiologique dans la plante [42].

#### 1.2.1.1. Potassium

Selon MEYER et *al.*, (2004) le potassium joue un rôle dans la régulation de l'hydratation et de l'équilibre ionique. C'est l'ion inorganique le plus abondamment associé aux changements du potentiel osmotique [44]. Il est responsable de l'ouverture et la fermeture des stomates et l'activation d'enzymes.

Les ions phosphates, abondants et très mobiles, sont capables de s'accumuler dans la vacuole jusqu'à cent fois la teneur du milieu extérieur [41].

La potasse est empruntée par la plante sous forme de divers sels solubles : parmi eux le chlorure.

Cette absorption est sélective et rapide grâce à l'intervention directe de K dans les mécanismes de perméabilité cellulaire [45].

#### 1.2.1.2. Sodium

Le sodium est accumulé en grandes quantités chez certaines halophytes, il résulterait d'un faible potentiel osmotique [44]. Ce cation n'est pas vraiment indispensable aux végétaux et il ne peut remplacer le potassium [46]. Les halophytes accumulent les ions jusqu'à 800 mM. Quant aux glycophytes, ils le font entre 300 et 600 Mm selon leur degré de résistance [47].

#### 1.2.1.3. Phosphore

C'est un élément important qui entre dans la constitution du cytoplasme et des membranes (phospho-lipides) [46]. Il a un rôle de contrôle de la synthèse de saccharose et d'amidon [43].

#### 1.2.1.4. Calcium

MEYER et *al.*, (2004) signalent que le calcium est présent sous forme d'ion libre ou lié dans la cellule. C'est un constituant de la paroi cellulaire. Il est antitoxique vis-à-vis de quelques acides organiques que dans la plante (acide oxalique, tartrique et citrique). Ce cation joue un rôle souvent antagoniste vis-à-vis d'autres ions métalliques. Le calcium diminue la perméabilité cellulaire et freine la pénétration de l'eau à travers les tissus [47].

#### 1.2.1.5. Magnésium

C'est un constituant essentiel de la chlorophylle et pour quelques enzymes de la glycolyse. Ce cation semble favoriser la pénétration des ions  $PO_4$  dans la cellule [47].

#### 1.2.1.6. Chlorure

Il est présent constamment dans les plantes, généralement sous forme ionique à des taux plus élevés et moins que ceux de sodium [48].



MARTIN et *al.*, (1987) soulignent que cet élément est essentiel pour la multiplication cellulaire, mais le mécanisme n'est pas encore connu. Il est également nécessaire à la photosynthèse [48].

Généralement les excès de chlorure sont très redoutés chez les végétaux, le manque est extrêmement rare [50], cependant il existe des plantes qui tirent un effet bénéfique de chlorure (régulation de l'hydratation et de l'équilibre ionique) [51].

### 1.2.2 Pigments végétaux

Les principaux pigments des végétaux sont les caroténoïdes, les flavonoïdes, les porphyrines (les chlorophylles) et les tanins.

#### 1.2.2.1. Chlorophylles

Le caractère commun à tous les végétaux terrestres qui les composent, est la couleur verte de la totalité ou d'une partie de leurs organes aériens : feuilles, tiges herbacées. En effet, les chlorophylles pigments contenus dans les tissus de ces organes leur confèrent cette teinte verte [43].

Les chlorophylles sont les principaux pigments responsables de la capture de l'énergie lumineuse utilisée dans la photosynthèse [41]. Ce sont des molécules dont le squelette de base est celui d'un noyau de chlorine (un dérivé de la famille des porphyrines) au centre auquel est fixé (complexé) un ion magnésium  $Mg^{2+}$  grâce aux doublets non-liants des atomes d'azote, à la périphérie du noyau se trouve une chaîne carbonée (Figure 2 et Tableau 1) [52].

La chlorophylle (a) est présente chez l'ensemble des plantes supérieures et des algues. La chlorophylle (b) qui diffère de la précédente par un groupement aldéhyde en place d'un méthyl, est également très largement répandue [41].

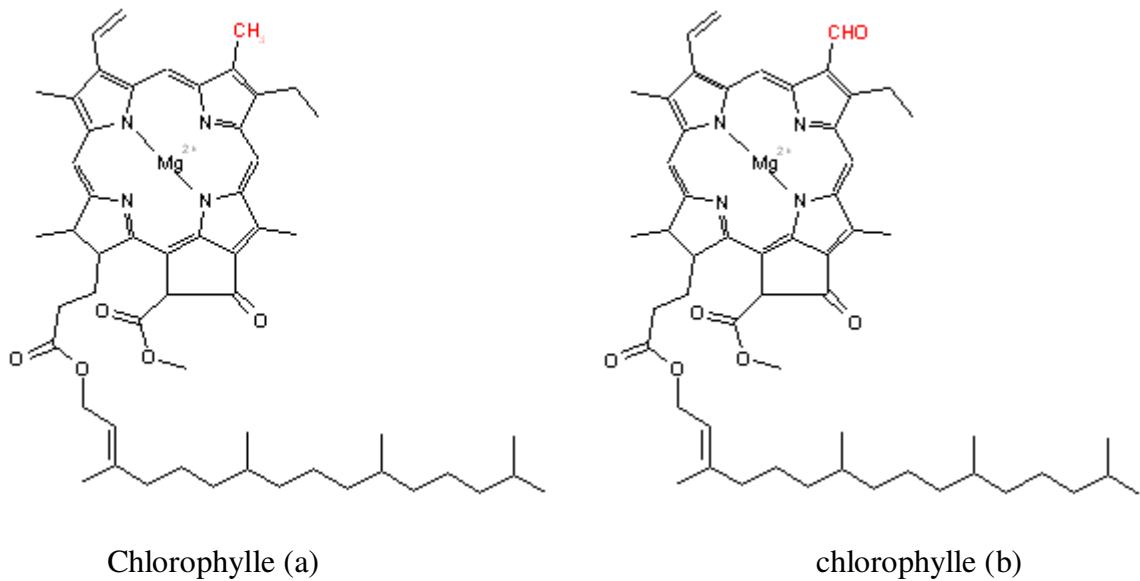


Figure 1.2 : Structure chimique de la chlorophylle [53].

Tableau 1.1 : Formule chimique des chlorophylles [53]

	<b>Chlorophylle (a)</b>	<b>Chlorophylle (b)</b>	<b>Chlorophylle (c1)</b>	<b>Chlorophylle (c2)</b>	<b>Chlorophylle (d)</b>
Formule brute	$C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$	$C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$	$C_{35}H_{30}O_5N_4Mg$	$C_{35}H_{28}O_5N_4Mg$	$C_{54}H_{70}O_6N_4Mg$
groupe C <sub>3</sub>	-CH=CH <sub>2</sub>	-CH=CH <sub>2</sub>	-CH=CH <sub>2</sub>	-CH=CH <sub>2</sub>	-CHO
groupe C <sub>7</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CHO	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>
groupe C <sub>8</sub>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-CH=CH <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
groupe C <sub>17</sub>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COO- Phytyl	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COO- Phytyl	-CH=CHCOOH	-CH=CHCOOH	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COO- Phytyl
liaison C <sub>17</sub> - C <sub>18</sub>	Simple	Simple	Double	Double	Simple
Occurrence	Universel	principalement plantes vertes algues vertes	diverses algues	diverses algues	certaines Cyanobactéries

#### 1.2.2.2. Caroténoïdes

Ce sont des pigments non azotés, considérés comme des polymères de l'isoprène [47]. Ils sont liposolubles et localisés soit dans les membranes des chloroplastes ou dans des plastes spécialisés nommés chromoplastes.

Les caroténoïdes absorbent très fortement la lumière bleu, ils peuvent aussi protéger la chlorophylle de la photo-oxydation en absorbant l'excès de la lumière bleu [42].

#### 1.2.2.3. Flavonoïdes

Ils sont présents dans la plupart des plantes, ce sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc [54]. Ils sont dissous dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituant de plastes particuliers, les chromoplastes [41]. Les flavonoïdes sont également présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules, assurant ainsi la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet [55]. Environ 2% de tous les composés carbonés produits par les plantes par photosynthèse sont convertis en flavonoïdes ou des composés apparentés [56].

#### 1.2.2.4. Tanins

Ce sont des composés polyphénoliques, hydrosolubles, ayant la propriété de tanner les tissus. Cette propriété est liée à leur aptitude à se combiner à des macromolécules (protéines et polysaccharides) [57]. Tous les organes végétaux peuvent en renfermer (racines, écorces et feuilles). L'accumulation se trouve dans les organes âgés (écorces) [54].

Les tanins se trouvent dans le cytoplasme de la cellule végétale, ou concentrés dans des poches spéciales appelés les vacuoles à tanins [58].

Les tanins ont un intérêt thérapeutique certain car ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections [59].

### 1.3. Paramètres biochimiques

Certaines espèces possèdent la faculté de produire, sous stress abiotique, des composés organiques tels que la proline, les sucres solubles totaux et les protéines. Ce type de comportement implique la mise en place des mécanismes d'adaptation [40].

#### 1.3.1. Hydrates de carbones

Les glucides sont des constituants universels des organismes vivants, parfois appelés hydrates de carbones. Ce sont des composés organiques carbonylés poly-hydroxylés [55]. Ils jouent un rôle de soutien et de réserves énergétiques chez les végétaux. Ce sont des constituants de métabolites variés et des précurseurs indispensables de tous les autres métabolites.

Certains auteurs ont mis en évidence le rôle protecteur des sucres solubles notamment le saccharose, le glucose et le fructose sur les membranes, en particulier au niveau des mitochondriales [60, 61].

Leur présence permet le maintien des réactions de phosphorylation et de production d'énergie. Outre ce rôle protecteur des membranes, les hydrates de carbones protègent les processus par lesquelles les enzymes sont synthétisés [62]. Les sucres semblent intervenir dans le contrôle de la régulation de l'état hydrique des cellules lors des contraintes osmotiques [63]. Une forte accumulation d'hydrates de carbone dans les tiges est une protection de la plante contre un stress abiotique du milieu [64].

#### 1.3.2. Protéines

Les protéines jouent un rôle central dans la biochimie des cellules. La plupart des membranes renferment jusqu'à 50% de leur masse de protéines [42]

Nombreuses sont les protéines qui s'accumulent en réponse du déficit hydrique, aux fortes salinités et aux basses températures (stress hydrique et salin) [65, 66].

### 1.3.3. Proline

La proline est un corps blanc soluble dans l'eau et l'éthanol, s'oxyde facilement avec la ninhydrine. C'est le seul acide aminé qui peut se solubiliser dans l'eau à cause de sa fonction imine [67]. Elle possède un rôle majeur dans la structure des protéines [68].

Plusieurs facteurs induisent l'accumulation de la proline notamment l'éclairement [69], les fortes températures [70] ainsi que le stress hydrique [71].

La proline est synthétisée à partir de l'acide glutamique par l'intermédiaire de l'acide semi aldéhyde dont la cyclisation donne l'acide pyroline carboxylique qui se réduit en proline [67].

## 1.4. Propriétés pharmaco-toxicologiques des plantes médicinales

En général, les plantes peuvent être source de nouvelles molécules utilisées comme bio-médicaments. Cependant, l'usage de plantes médicinales peut apporter directement des réponses à certains problèmes de santé. Avant de pouvoir recommander l'usage de la plante ou de certains de ses organes pour remédier à une maladie, il est nécessaire de valider l'usage traditionnel qui en est fait [72].

Pour cela, il convient d'évaluer scientifiquement l'activité pharmacologique de la plante médicinale retenue et apprécier si celle-ci confirme sa réputation.

Il est impératif de vérifier également l'absence de toxicité des plantes employées. L'usage de plantes médicinales locales, en réponse à des problèmes de santé peut-être perçu comme une alternative aux médicaments, en particulier dans les pays du Sud où ces médicaments sont souvent chers, peu accessibles et quelquefois contrefaits [73].

### 1.4.1. Phytothérapie

Etymologiquement le traitement par les plantes, est une méthode thérapeutique qui utilise l'action des plantes médicinales.

Selon ROUX, (2007) la phytothérapie utilise les plantes ou formes galéniques dérivées des plantes excluant les principes purs isolés des plantes.

Deux types de phytothérapie ont une pratique courante, l'une est traditionnelle et l'autre une pratique basée sur les avancées scientifiques et la recherche des principes actifs des plantes [8].

La phytothérapie utilise les plantes ayant des propriétés médicinales. Les préparations peuvent être obtenues par macération, infusion, décoction, ou sous forme de teinture et poudre totale.

Les plantes médicinales peuvent être des espèces cultivées mais dans la plupart des cas des espèces spontanées d'où la nécessité de l'identification précise des plantes employées [73]. Cette identification représente une nécessité concrète, car elle est la base de l'utilisation sécuritaire des produits de santé naturels à base de plante.

#### 1.4.2. Principe actif

Le principe actif (PA) est un facteur évident qui influence l'activité pharmacologique ou toxicologique d'une plante [75]. Les PA d'origine végétale ont une constitution chimique extrêmement variée d'où des effets pharmacotoxicologiques dissemblables (Figure 1.4.2.2). Ils peuvent être des alcaloïdes, des glycosides ou des tanins. Ils peuvent agir sur le système nerveux, l'appareil digestif et même le système cardio-vasculaire, [73].

La concentration en PA peut varier en fonction du stade de développement de la plante ainsi que les facteurs climatiques et la nature du sol [75].

#### 1.4.3. Principales familles de principes actifs d'origine végétale

Les plantes produisent un grand nombre de métabolites secondaires qui ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures.

Parmi les plus importants au plan pharmaco-toxicologique nous citons :

#### 1.4.3.1. Glucosides ou hétérosides

Ce sont des produits du métabolisme secondaire des plantes. Ils se composent de deux parties.

L'une contient un sucre, par exemple le glucose, et est le plus souvent inactivée. Elle exerce un effet favorable sur la solubilité du glucoside et son absorption et distribution dans le corps. L'effet thérapeutique est déterminé par la seconde partie, la plus active, nommée aglycone (génine) [73].

Selon leur composition chimique, plusieurs groupes de glucosides se distinguent:

- ✓ Saponosides (Les stéroïdes et les triterpénoïdes).
- ✓ Cardiotoniques (cardénolides, bufadiénols)
- ✓ Anthraquinoniques
- ✓ Cyanogènes
- ✓ Lactoniques
- ✓ Les glucosinolates

#### 1.4.3.2. Huiles essentielles

L'Huile essentielle (H.E) est un extrait volatil et odorant qui est extrait de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau, pressage ou incision des végétaux qui les contiennent.

L'H.E se forme dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire. Elle s'accumule d'autre part dans certains tissus au sein de cellules ou de poches à essence, sous l'épiderme dans des glandules ou dans les espaces intercellulaires [73].

L'H.E est un composé liquide très complexe. Elle a des propriétés et des modes d'utilisation particuliers qui ont donné naissance à l'aromathérapie.

L'H.E est constituée de différents composants tels que les terpènes, les esters, les cétones, les phénols et d'autres éléments [75].

#### 1.4.3.3. Alcaloïdes

Ce sont des composés azotés complexes, à caractère basique, présentant généralement une intense activité pharmacologique.

Les alcaloïdes sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique. Les alcaloïdes sont utilisés comme antalgiques majeurs (morphine), antipaludéen (quinine), pour combattre l'excès d'acide urique (colchicine).

Ils sont aussi utilisés comme substance paralysante, poisons, comme stupéfiants, cholinergique (pilocarpine) ou comme anticancéreux (vinblastine et vincristine) [74].

Selon leur structure moléculaire, les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes : les phénylalanines, les alcaloïdes isoquinoléiques, les alcaloïdes indoliques, les alcaloïdes quinoléiques, les alcaloïdes pyridiques, pipéridiques et les alcaloïdes stéroïdes.

#### 1.4.3.4. Tannins

Les tanins sont contenus dans toutes les plantes à des teneurs plus ou moins élevées [75]. Leur intérêt médicinal réside essentiellement dans leur caractère astringent. Ils ont la propriété de coaguler les albumines des muqueuses et des tissus, en créant une couche isolante et protectrice, ayant pour effet de réduire l'irritabilité et la douleur [75].

Les décoctions et les autres préparations à base d'organes de végétaux riches en tanins sont employées le plus souvent à usages externes contre les inflammations de la cavité buccale, les catarrhes, la bronchite, les hémorragies locales, les brûlures et les engelures, les inflammations dermiques, les hémorroïdes et la transpiration excessive.



#### 1.4.3.5. Mucilages

Ce sont souvent des macros glucides. Ces substances ont un rôle de réservoirs, surtout par leur capacité à retenir l'eau. Ils forment en présence d'eau des systèmes colloïdaux fortement visqueux. Préparées en infusion ou en décoction, les mucilages des plantes médicinales ont pour effet de réduire l'irritation tant physique que chimique [74].

Les mucilages exercent donc une action favorable contre les inflammations des muqueuses, notamment celles des voies respiratoires et digestives, ils atténuent les douleurs des contusions, assouplissent la peau lors d'applications de cataplasmes.

#### 1.4.3.6. Substances aromatiques

Ce sont des substances fréquentes dans les organes végétales, de composition et d'action souvent très variable. Il existe les glucosides phénoliques, ou les dérivés du phényl-propane, telles les coumarines et les hydroxycoumarines [73].

#### 1.4.3.7. Flavonoïdes

Ce sont des substances aromatiques largement distribués dans le règne végétal et sont couramment consommés quotidiennement sous forme de fruits et légumes [55]. Ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, suggérant qu'ils pourraient exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés anti-oxydantes, vasculo-protectrices, anti-hépatotoxiques, anti-allergiques, anti-inflammatoires, anti-ulcéreuses et même anti-tumorales significatives [73].

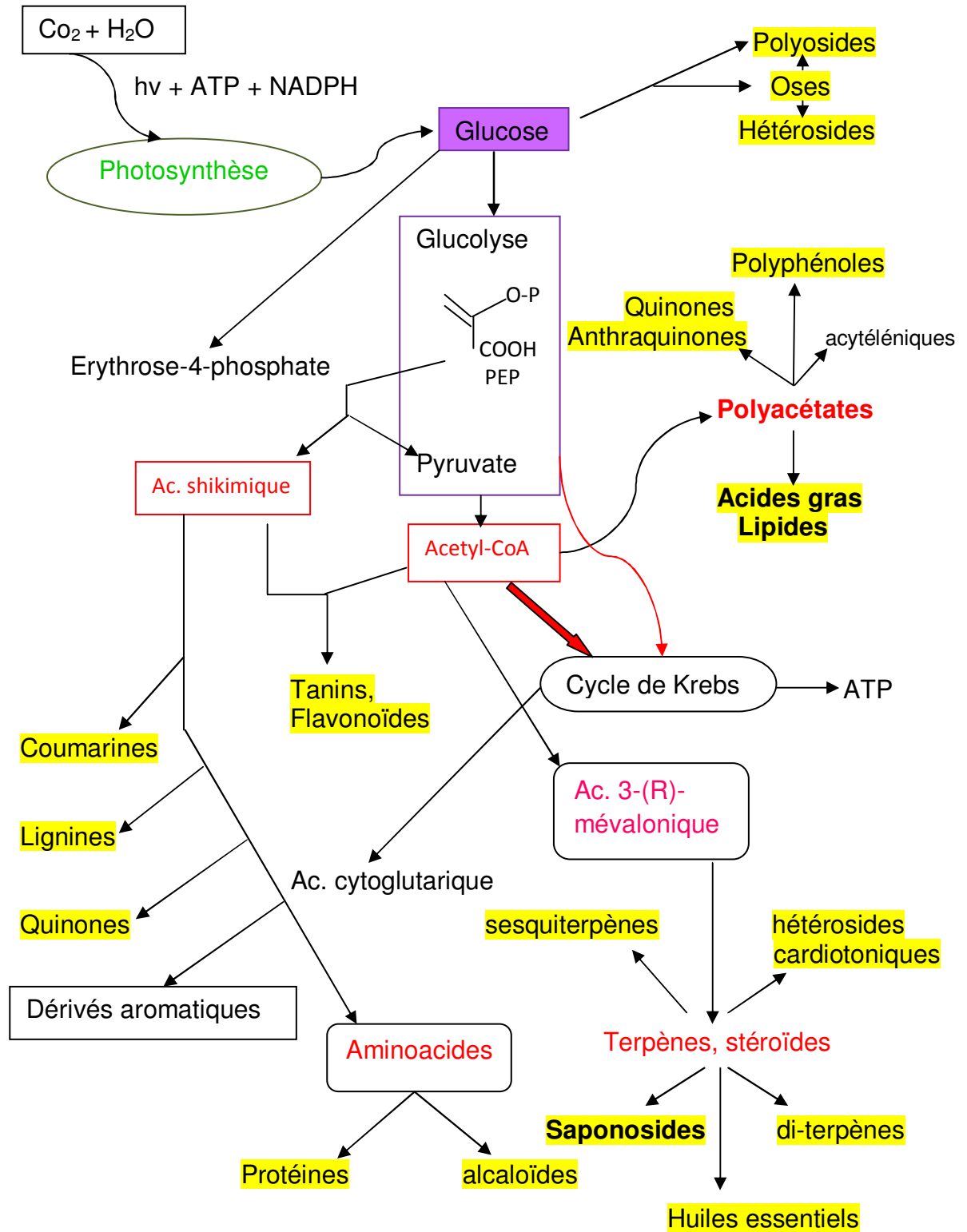


Figure 1.4 : Relations biogénétiques entre les principales classes de métabolites secondaires, sources de principes actifs [75].

#### 1.4.4. Inflammation

Le mécanisme inflammatoire fait intervenir un grand nombre de substances présentes dans le sang, entre autres de nombreuses hormones, comme les prostaglandines, l'histamine et les cytokines participent à l'inflammation.

L'inflammation se déroule en différentes phases: la première phase est causée par une augmentation de la perméabilité vasculaire résultant en une exsudation de fluide à partir du sang dans l'espace interstitiel, le second par l'infiltration des leucocytes du sang vers les tissus par la formation de granulomes [76].

#### 1.4.5. Toxicité

L'effet toxique est une manifestation biologique résultante d'interaction chimique entre molécules exogènes et endogènes (récepteurs). Il peut être exprimé par deux types de toxicité qui sont basés sur la durée d'expression aux éléments toxiques à savoir ; toxicité aiguë et toxicité à long terme [77].

Selon l'écrivain PARCELASE (XVI siècle) [78] aucune substance n'est un poison en elle-même. En effet, une substance a une action thérapeutique à une certaine dose et peut avoir une action toxique à une dose plus élevée [78].

La dose statistiquement établie d'une substance qui, administrée en une seule fois par voie orale, est susceptible de provoquer dans un délai de 14 jours la mort de la moitié d'un groupe d'animaux. La dose létale moyenne (DL<sub>50</sub>) est exprimée en masse de substance étudiée par unité de poids corporel de l'animal soumis à l'expérimentation (mg/kg) [78].

## CHAPITRE 2

### ETUDE DU MILIEU

Les principaux facteurs influents de façon significative sur la végétation sont le sol et le climat. Le climat est un facteur écologique déterminant pour la croissance et le développement des plantes. Il intervient directement par ses effets sur les différents processus physiologiques et la succession des stades phénologiques [79, 80].

Tableau 2.1 : Caractéristiques climatiques des stations étudiées [81].

Stations	Longitude (deg)	Latitude (deg)	Rugosité (m)	Vents (m/s)
Djelfa	3.25	34.68	0.08	2.7
M Sila	4.50	35.67	0.03	4.1
Biskra	5.73	34.8	0.02	4.1

#### 2.1. Représentation géographique

La plante étudiée provient de trois régions : Djelfa, Biskra et M'sila.

La wilaya de Djelfa représente la partie centrale du territoire steppique. Elle constitue la zone de transit entre les hauts plateaux steppiques des wilayas d'Atlas tellien et les parcours désertiques (Annexe 1.a). Le relief de Djelfa est caractérisé par la succession de quatre zones non homogènes du Nord au Sud de son territoire [82].

La ville de Biskra se situe au sud-est de l'Algérie, elle occupe une superficie de 21671 Km<sup>2</sup> (Annexe 1.b). Son altitude est de 128 mètres au niveau de la mer. Elle est limitée par une chaîne montagneuse et les hauts plateaux au nord ; avec l'altitude de djebel Tekriout de 1942 m. Les grands plateaux se trouvent au sud de la wilaya notamment sur la région d'Ouled Djellal et Sidi Khaled. Les plaines steppiques s'étendent sur l'axe El-Outaya et Doucen [83].

La wilaya de M'Sila a une superficie de 18 175 km<sup>2</sup>. Elle est limitée par les wilayas de Bouira et Bordj-Bou-Argeridj au nord, Batna et Sétif à l'est, Médéa et Djelfa à l'ouest et Biskra au sud (Annexe 1.c) [84].

## 2.2. Pédologie

Les sols de la région de Djelfa sont formés d'un dépôt hétérométrique variant de calcaire sablonneux au calcaire argileux, ils sont peu profonds allant de 0 à 20 cm [82]. Ils sont pauvres en matière organiques et en éléments fertilisants.

Les sols de la région Djelfa sont fragiles sauf dans les dayas où ils sont peu couverts [85]. La salinité est assez élevée. Le réseau hydrographique est de type endoréique drainé vers les dépressions fermées (chotts et sebkha).

Sur le plan géomorphologique, la région de Biskra constitue une partie de la transition entre les domaines atlasiques plissés du nord (Atlas Saharien) et les étendues plates et désertiques du Sahara. Dans cette plate forme, le mésozoïque est largement recouvert par des atterrissements tertiaires et quaternaires des dunes de sables constamment en mouvement, des croûtes dit deb–deb [86].

Les sols sont généralement pauvres en éléments nutritifs, leur pH est alcalin (varie de 7.79 à 8.15) et limite la solubilité des éléments minéraux. Le taux de calcaire élevé insolubilise le phosphore et diminue son assimilation. La perméabilité est élevée et provoque des pertes par lessivage d'éléments minéraux notamment les nitrates, leur faible teneur en argile leur confèrent une faible capacité d'échange cationique [86].

La région de M'sila est caractérisée par un sol peu évolué d'apport alluvial affecté à différents degrés par des sels sur les glacis récents et également dans les plaines [87]. Ainsi, elle est caractérisée par un sol halomorphe moyennement à très fortement salin dans le chott en complexe avec des sols hydromorphe à redistribution de gypse [88].

## 2.3. Etude climatique

L'étude des régimes pluviométriques et thermiques est d'une importance capitale pour la caractérisation des différents types de climat [79].

### 2.3.1. Région de Djelfa

Le climat de la région de Djelfa se traduit par d'importants écarts de températures entre la moyenne des minimas et celle des maximas ( $8$  à  $21 \pm 1$  °C) et par une pluviométrie insuffisante, de l'ordre de  $317$  mm par an (Figure 2.3.1 et 2.3.2). Une fluctuation des précipitations est parfois très marquée ( $150$  à  $380$  mm).

Dans cette zone les espèces végétales souffrent d'un manque de ressource en eau. Cet état est aggravé au cours des dernières années par une diminution sensible de la pluviométrie, entraînant un rabattement généralisé des nappes d'eau souterraines.

La moyenne des précipitations ne dépasse guère les  $152$  mm en  $46$  jours de pluie par an (Annexe 2.a) dont plus de  $70\%$  de cette quantité s'est précipité en  $26$  jours durant la période automnale.

Selon les données enregistrées par l'Office National de Météorologie à Djelfa (O.N.M) pour la décennie 1998- 2008 le climat de la wilaya est caractérisé par deux saisons contrastées :

- Une saison estivale sèche et chaude (d'avril à octobre) ;
- Une saison pluvieuse et froide (de novembre à mars).

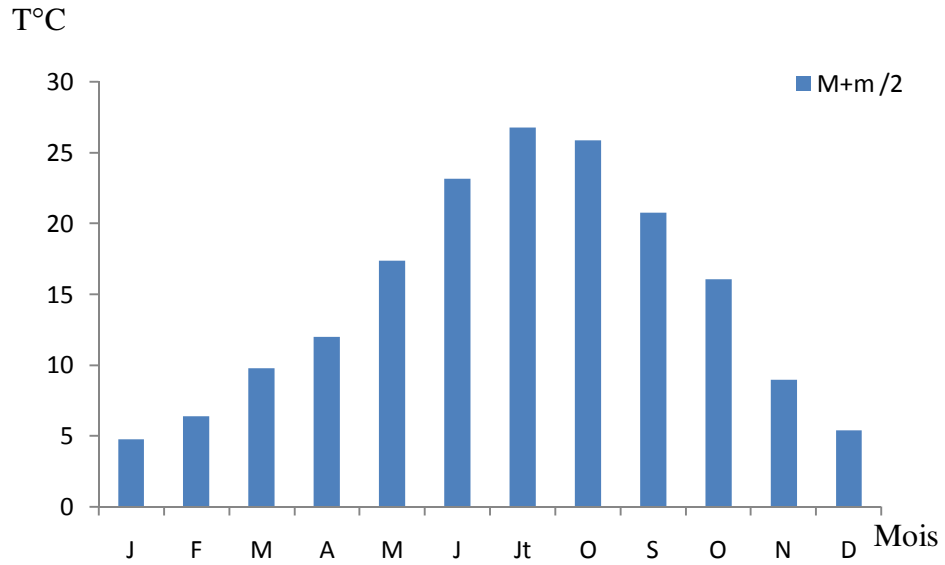


Figure 2.3.1 : Températures moyennes mensuelles de la région de Djelfa (Décennie 1998-2008) [89].

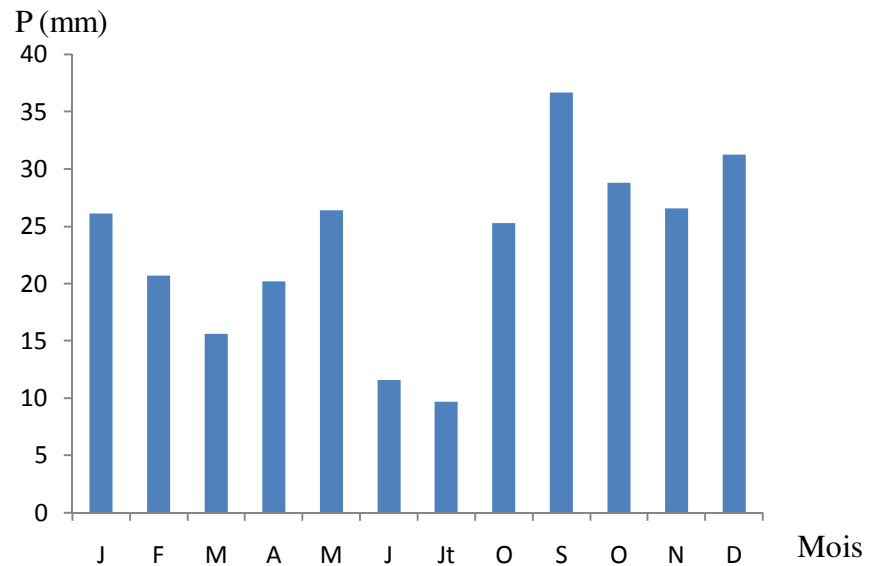


Figure 2.3.2 : Précipitations moyennes mensuelles de la région de Djelfa (Décennie 1998-2008) [89].

### 2.3.2. Région de Biskra

Les principaux paramètres climatiques retenus sont la température et les précipitations. On s'est basé sur les données climatiques recueillies au niveau de la station météorologique de Biskra.

Durant la décennie (1994-2004), la wilaya de Biskra se caractérise par une température élevée dont la moyenne annuelle est d'environ  $22,53 \pm 2$  °C avec des variations saisonnières remarquables ( $34,39 \pm 2$  °C en juillet et  $11,74 \pm 1$  °C en janvier) (Tableau 2.3.2).

Tableau 2.3.2 : Températures moyennes mensuelles en °C (Biskra) [90].

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juill	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc
(1995-2004)	11,74	13,78	17,29	20,74	26,33	31,44	34,39	34,01	28,79	22,91	16,57	12,38
2005	10	10.7	17.8	21.8	27.9	31.7	35.9	27.2	28.5	24	17.7	10.8



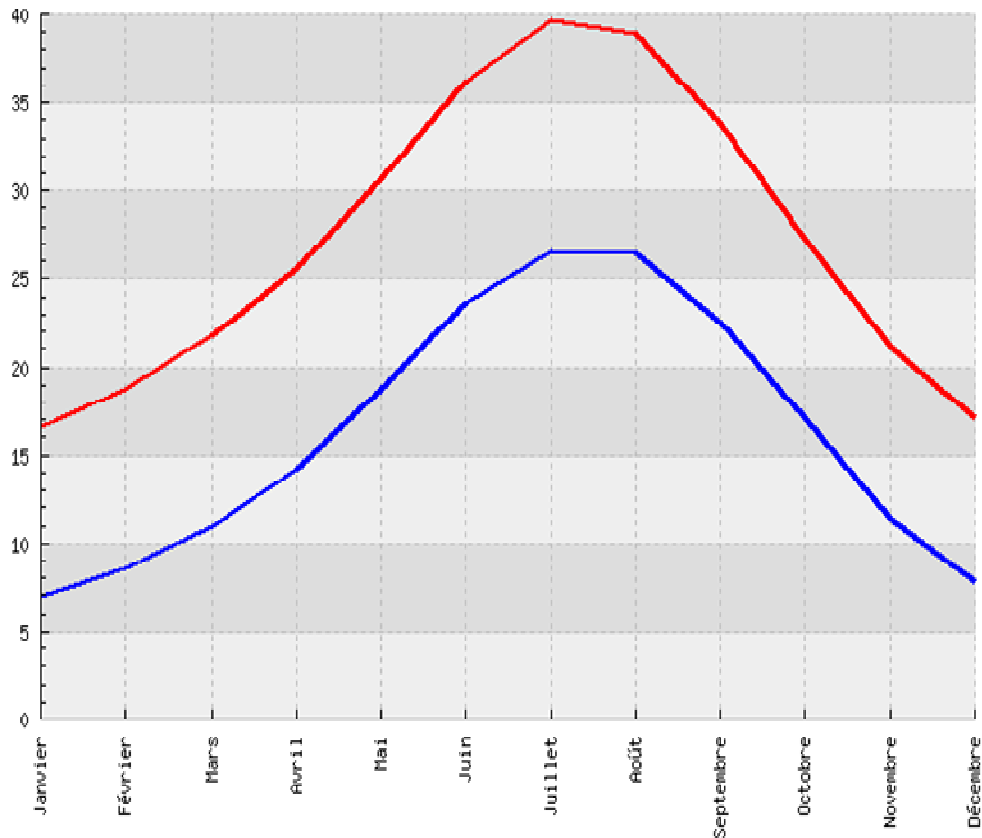


Figure 2.3.3 : Températures moyennes minimales et maximales mensuelles (Campagne 2009/ 2010) [91].

Tableau 2.3.3 : Précipitations moyennes mensuelles en (mm) à Biskra [91].

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juill	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc
(1995-2004)	25,68	1,86	15,59	20,96	8,85	4,18	0,34	3,38	10,17	10,1	18,4	15,44

L'analyse du tableau montre que le total des précipitations moyennes mensuelles relevées durant la décennie est de l'ordre de 138,44 mm/an avec une moyenne mensuelle de 11,53 mm/an.

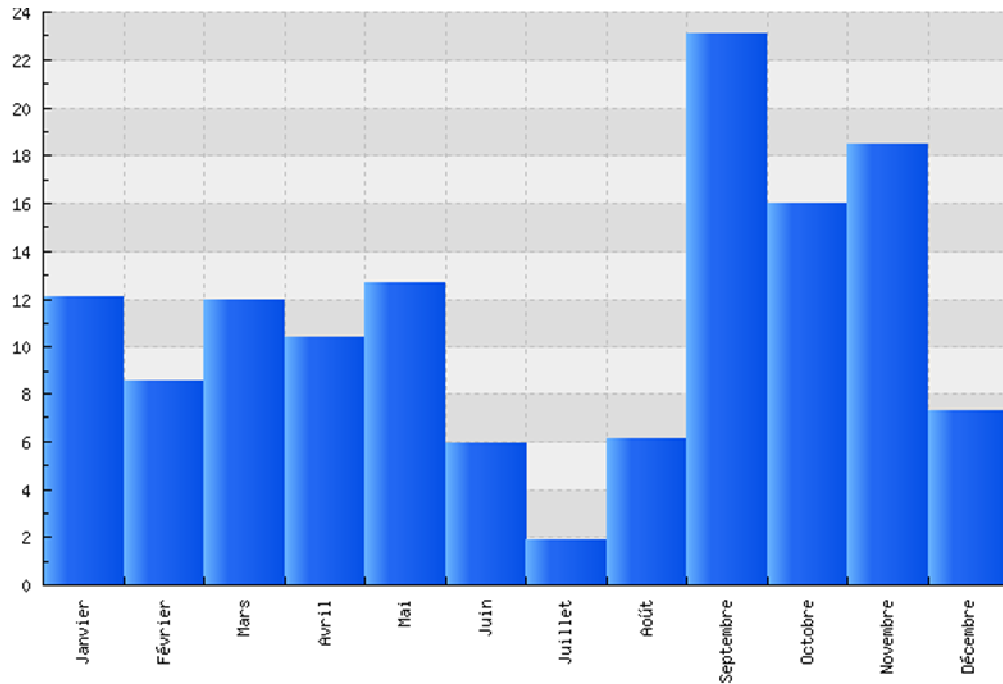


Figure 2.3.4 : Précipitations moyennes mensuelles (campagne 2009/ 2010) [89].

Durant l'année d'étude (2011), la pluviométrie annuelle est de l'ordre de 11.20 mm.

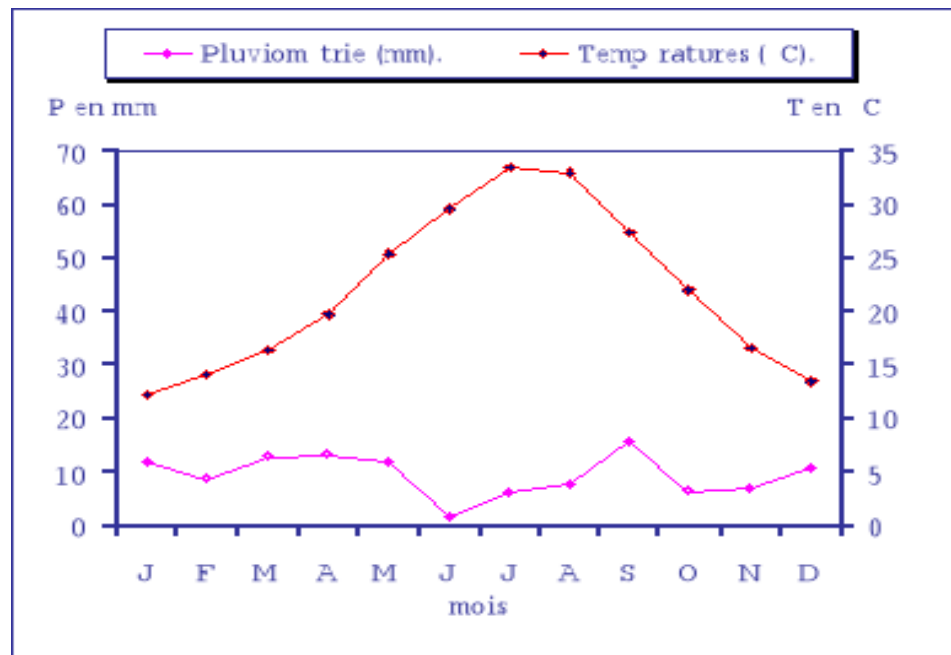


Figure 2.3.5 : Diagramme ombrothermique de la région de Biskra

(Période 1977-2001) [90].

Tableau 2.3.4 : Températures (minimales et maximales) et précipitations de la région de Biskra (campagne 2009/ 2010) [91].

Mois	Jan.	Fév.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juill.	Aout	Sep.	Oct.	Nov.	Déc.	Moy.
M(°C)	16.6	18.8	21.8	25.6	30.7	36.2	39.7	38.9	33.8	27.3	21.1	17.1	27.3
m(°C)	6.9	8.6	10.9	14.2	18.8	23.6	26.6	26.5	22.6	17.1	11.4	7.8	16.25
P(mm)	12.1	8.6	12	10.4	12.7	5.9	1.9	6.1	23.1	16	18.5	7.3	11.21

Les données climatiques et leur analyse montrent que la région d'étude est définie par un climat saharien sec sur toute l'année, une évaporation importante et plus accentuée par les vents chauds en été (Sirocco).

### 2.3.3. Région de M'sila

La région de M'sila se caractérise par les barrières montagneuses du Hodna qui empêchent toute influence méditerranéenne. De ce fait, il ne tombe que très peu de pluies, soit 225 mm par an avec des maximums durant les mois d'automne et d'hiver. Le printemps est souvent sec.

Les données climatiques dans la présente étude proviennent de la station météorologique de M'sila et couvrent une période de 21 ans allant de 1988 à 2008. Ces données recueillies concernent les températures maximales M (°C), les minimales m (°C) et les précipitations P (mm).

Tableau 2.3.5 : Précipitations (mm) moyennes mensuelles et annuelles de M'sila (Période 1988 – 2008) [92]

Mois	Jan.	Fév.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juill.	Aout	Sep.	Oct.	Nov.	Déc.
1988– 2008	18,86	12,71	14,95	20,81	27,52	9,28	4,19	8,19	27,47	26,28	20,43	20,48

Le tableau (2.3.5) montre que le mois le plus pluvieux à M'sila est le mois de mai avec 27.52 mm. Le mois de juillet est marqué par de faibles précipitations avec 4.19 mm. La région de M'sila reçoit en moyenne 211.16 mm de pluie par an. La figure (2.3.6) illustre l'irrégularité des précipitations.

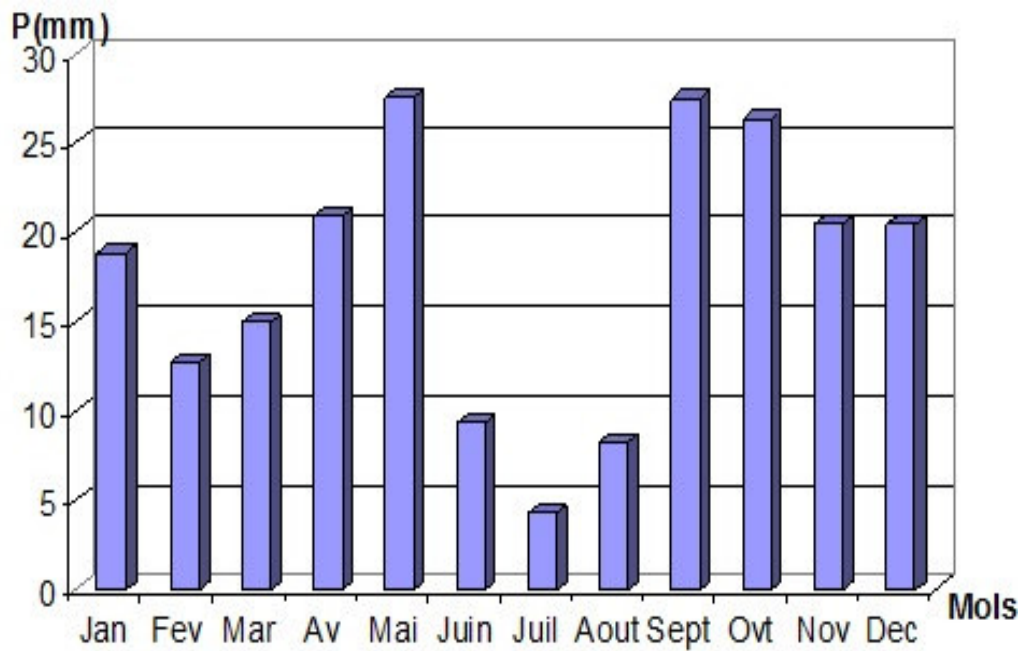


Figure 2.3.6 : Précipitations moyennes mensuelles en mm de la région de M'sila (1988 – 2008) [92].

Le tableau ci-dessous permet de caractériser le régime pluviométrique en fonction des saisons. Le régime saisonnier de M'sila est de type APHE, ceci signifie que l'automne est la saison la plus arrosée alors que l'été est la saison la plus sèche.

Tableau 2.3.6 : Régime pluviométrique saisonnier de la région de M'sila [84].

Saison	Automne (A)	Hiver (H)	Printemps (P)	Été (E)
P (mm)	75,18	52,04	63,28	21.66

La température la plus basse de la station de M'sila est atteinte au mois de Janvier avec  $3.48\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  et le maximum est de  $38.62\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  au mois de juillet. La température moyenne annuelle  $(M+m/2)$  de la région d'étude est de  $19.24\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Annexe 2.b, Figure 2.3.7).

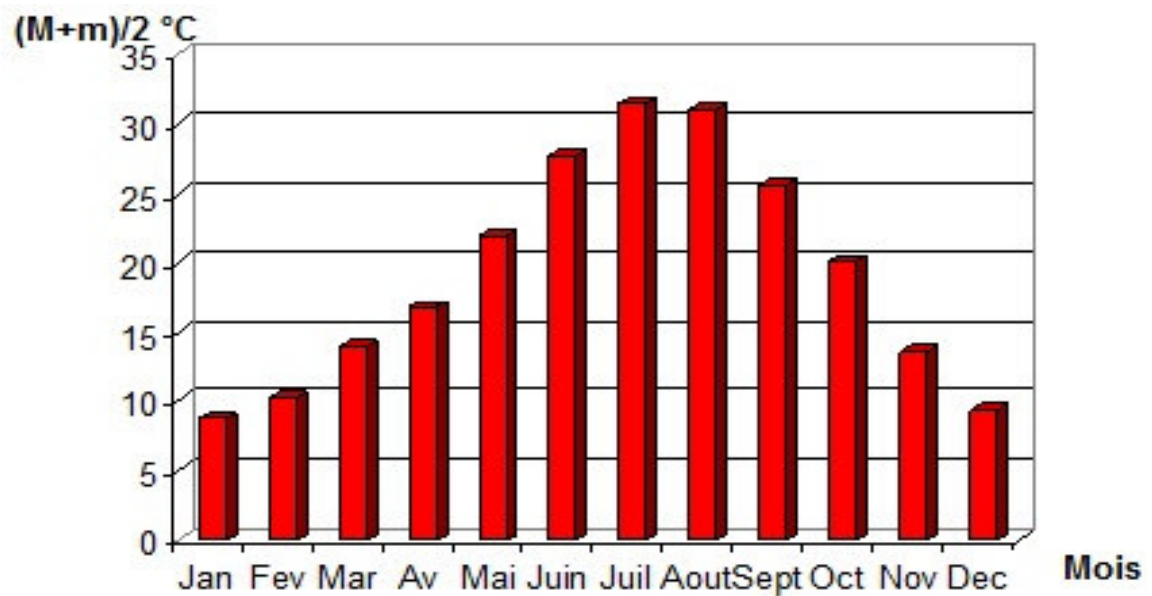


Figure 2.3.7 : Moyennes mensuelles des températures de la région de M'sila (Période 1988–2008) [92].

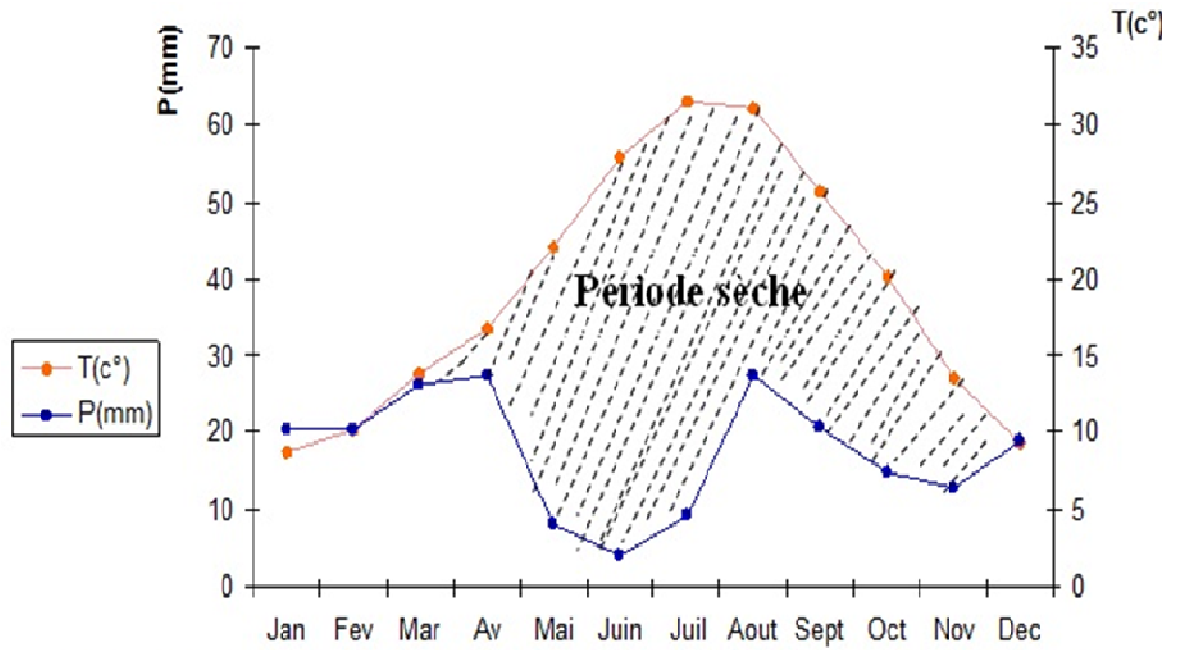


Figure 2.3.8 : Diagramme ombrothermique de la région de M'sila  
(Période 1988 – 2008) [92].

Selon le Diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN, (1953) la période sèche de la zone d'étude (M'sila) s'étend entre 9 et 10 mois. Elle va du mois de mars jusqu'au mois de décembre (Figure 2.3.9).

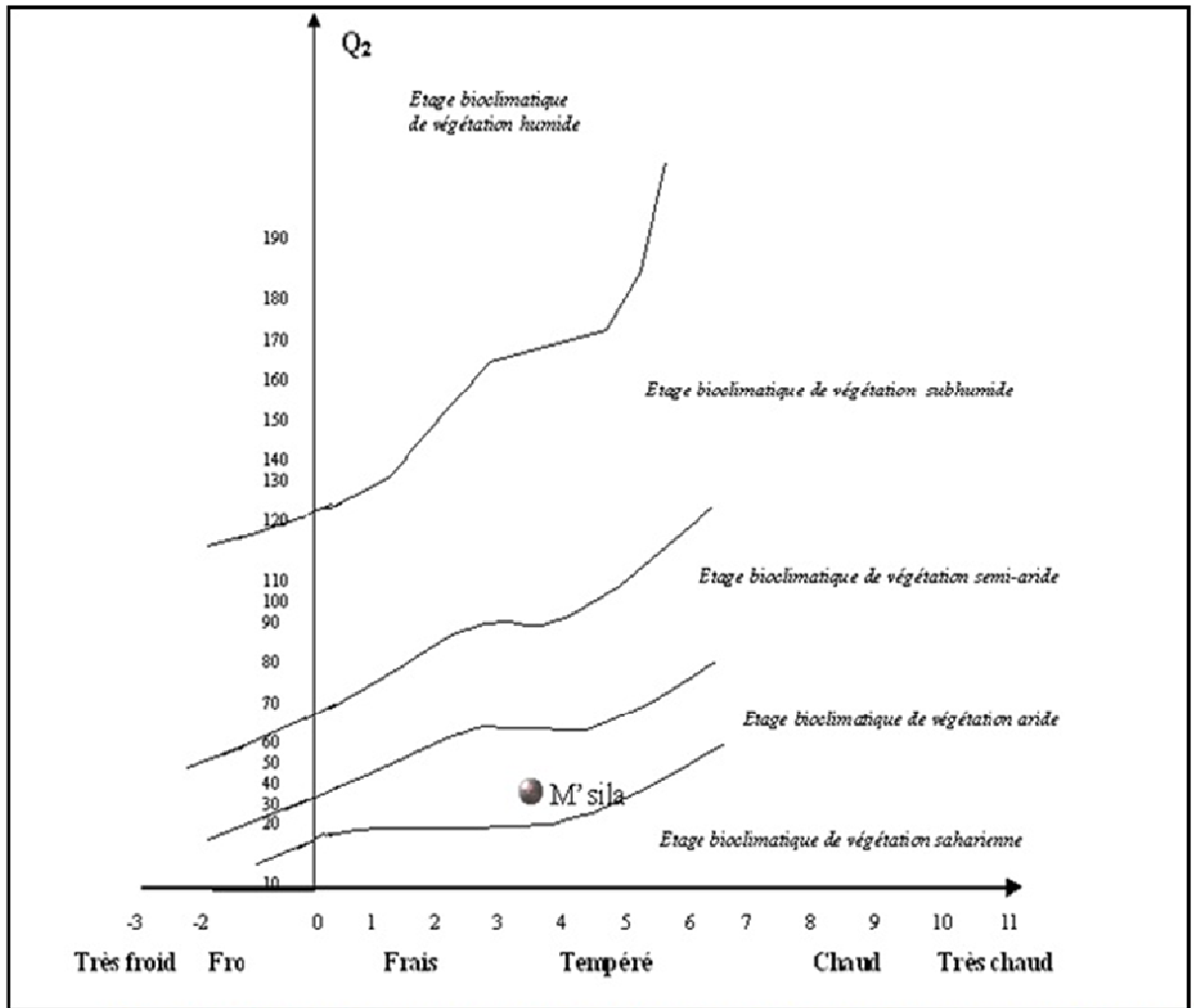


Figure 2.3.9 : Positionnement de la région de M'sila dans le Climagramme d'Emberger [94, 95].

La région de M'sila est située dans l'étage bioclimatique aride à hiver tempéré avec un quotient pluviothermique égale à 20.43.

## CHAPITRE 3

### MATERIEL ET METHODES

L'espèce étudié de l'*Artemisia campestris* L. provient de trois régions d'Algérie différentes ; Djelfa, M'sila et Biskra.

Le choix et le prélèvement des plantes sont faits d'une manière aléatoire dans des parcelles suffisamment étendues.

#### 3.1. Caractéristiques phénologiques et physiologiques

##### 3.1.1. Phénologie d'*Artemisia campestris* L.

Les étapes phénologiques sont des marqueurs du climat [97, 98]. Ce sont aussi des éléments-clé de l'adaptation des êtres vivants aux variations climatiques [99].

Un total de 30 arbustes d'*Artemisia campestris* L. est étudié dans trois sites (Biskra, M'sila et Djelfa) suivant un gradient d'aridité croissant. Nous avons choisis au hasard dix individus (arbustes) par région. Les phases suivies sont la feuillaison, la floraison et la fructification. Les relevés sont réalisés tous les 15 jours durant la période janvier – juin 2011.

##### 3.1.2. Etude morphologique et anatomique de l'espèce

L'expérimentation s'est déroulée au niveau des laboratoires de botanique, de biologie végétale et de physiologie végétale.

Nous avons effectué une description des feuilles, des graines, des fleurs et des tiges à l'œil nu et à la loupe binoculaire pour préciser la forme, la taille et la couleur des organes étudiés.

L'étude anatomique nous a permis de réaliser des coupes histologiques des tiges et des feuilles. Les coupes ont été effectuées à main levée et colorées par la méthode classique de double coloration (Annexe 3), elles ont été ensuite observées au microscope photonique.



### 3.1.3 Paramètres physiologiques

#### 3.1.3.1. Germination

Nous avons adopté deux modes de germination : *in-vivo* et *in-vitro* pour suivre l'aptitude et la faculté des graines à germer.

Les fruits mûrs de l'*Artemisia campestris* L. (récoltés en été) ont été décortiqués manuellement afin d'extraire la graine de son enveloppe. Après décortication, nous avons séparé les graines endommagées sous l'effet de frottement et nous avons utilisé seulement les graines viables.

Les graines sélectionnées ont été lavées par l'eau courante puis elles ont été désinfectées sous une hôte stérile selon le mode de désinfection suivant :

- Trempage dans l'alcool à 70 % pendant 10 minutes.
- Trempage dans la solution d'hypochlorite de sodium (NaClO) à 8% pendant 20 minutes.
- Trois rinçages dans l'eau distillée stérile, 5 minutes chacun.

##### 3.1.3.1.1 Germination *in-vivo*

Nous avons réalisé les essais de germination dans des boîtes à Pétri en plastique de 9 cm de diamètre. Les graines sont placées sur du coton recouvert de papier filtre imbibé d'eau distillée. Chaque essai a porté sur 100 graines, soit 20 graines par boîte et cinq boîtes par écotype.

Les boîtes sont placées dans une étuve à l'obscurité à  $15 \pm 1$  °C pendant 7 jours. Le dénombrement est effectué toutes les 24 heures, et le critère adopté pour le début de germination est l'apparition d'une racicule de 1 mm environ de longueur.

Un arrosage des graines est réalisé un jour sur deux à raison de 5 ml par boîte et ce pour imbiber le coton.

### 3.1.3.6.2. Germination *in-vitro*

Nous avons utilisé un milieu de culture artificiel pour la germination, celui de MURACHIGE et SKOOG, (1963) (Annexe 4).

Les solutions mères utilisées sont :

- La solution mère des macroéléments concentrée 50 fois.
- La solution mère des microéléments concentrée 20 fois.
- La solution mère de FeEDTA concentrée 100 fois.

L'ensemencement des graines s'est déroulé sous hotte stérile à flux laminaire à l'abri d'éventuelles infections.

Chaque essai a porté sur 100 graines, avec 24 graines par portoir. Chaque portoir contient 24 tubes, soit cinq portoirs par essai.

Les tubes repiqués sont placés dans une chambre de culture à une température moyenne de  $25 \pm 1$  °C, où ils sont soumis à une photopériode de 16 heures de lumière sur 8 heures d'obscurité.

Au cours de notre travail, nous avons enregistré les observations tous les trois jours. Nous avons retenue les paramètres suivants :

- Taux de reprise (TR).
- Taux de nécrose (TN).
- Taux de contamination (TC).

### 3.1.3.7. Dosage de la chlorophylle

Le dosage de la chlorophylle se fait selon la méthode de FRANCIS et *al.*, (1970) qui consiste à une macération de 100 mg de tissus foliaires dans un mélange de l'acétone et l'éthanol (75% et 25% de volume soit 80% et 40% de concentration). Les feuilles sont coupées en petits morceaux et mises dans des tubes à essai fermés et recouvertes par de papier aluminium, pour éviter l'oxydation de la chlorophylle par la lumière. Les tubes sont mis au repos à la température ambiante pendant 48 heures.

Après 48 heures, on procède à la lecture de la densité optique des solutions à l'aide d'un spectrophotomètre à deux longueurs d'ondes ; 645 nm pour la chlorophylle (a) et 663 nm pour la chlorophylle (b). La détermination des teneurs de chlorophylles se réalise selon les formules suivantes :

$$\text{Chl (a) } (\mu\text{g/g MF}) = [12,7 \times \text{Do}_{(663)} - 2,59 \times \text{Do}_{(645)}] \times V/1000 \times W$$

$$\text{Chl (b) } (\mu\text{g/g MF}) = [22,9 \times \text{Do}_{(645)} - 4,68 \times \text{Do}_{(663)}] \times V/1000 \times W$$

$$\text{Chl (a + b) } (\mu\text{g/g MF}) = \text{Chl (a)} + \text{Chl (b)}$$

V: volume de la solution extraite ; W : le poids de la matière fraîche.

#### 3.1.3.8. Dosage des caroténoïdes

Le dosage des caroténoïdes se fait comme celui de la chlorophylle à une longueur d'onde de 470 nm. La formule utilisée pour le calcul de la teneur des caroténoïdes est la suivante:

$$\text{Caroténoïdes (mg/ml)} = [(1000 \times \text{Do}_{(470)}) - (1,82 \times \text{chl b}) + (85,02 \text{ chl b})] / 198$$

#### 3.1.3.9. Détermination des tanins

Les tanins sont détectés selon la méthode de SARKER, (2007), pour cela, nous préparons tout d'abord l'extrait méthanolique (Annexe 5).

Dans une série des tubes, nous mettons 1ml de cet extrait, et nous ajoutons 1ml d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 1%, cette fraction permettra de détecter la présence ou non des tanins. La couleur vire au bleu noire en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques [103].

### 3.1.3.10. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont dosés selon la méthode de DJERIDANE et *al.*, (2006) (Figure 3.1.1). Pour établir la courbe d'étalonnage la quercetine est utilisée comme standard.

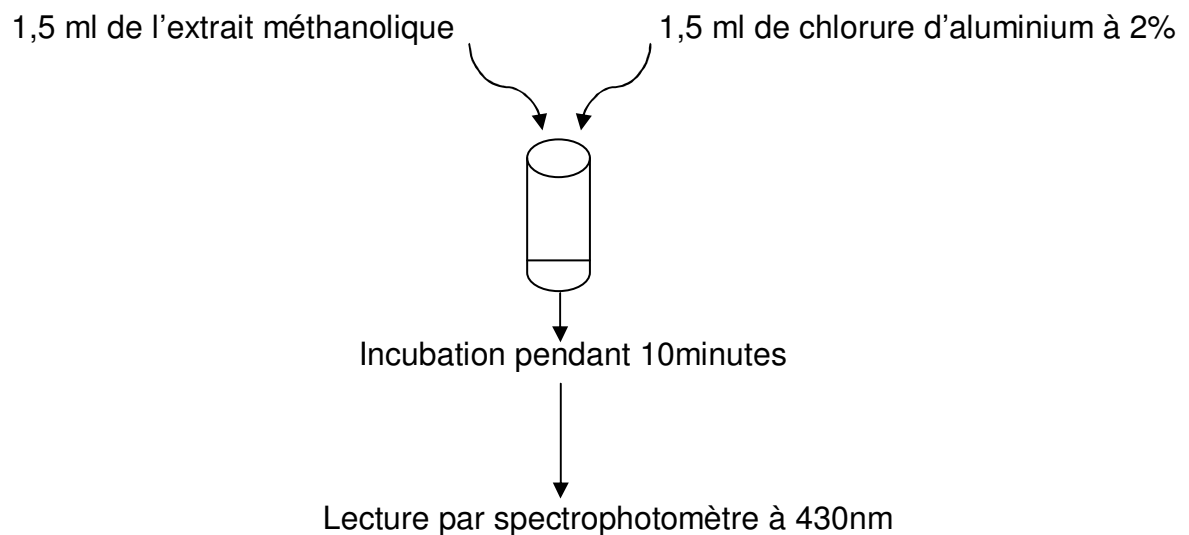


Figure 3.1.1 : Dosage des flavonoïdes.

### 3.1.3.11. Dosage des ions K<sup>+</sup> et Na<sup>+</sup>

Nous avons adopté la technique de minéralisation par calcination de la matière végétale (poudre) décrite par AFNOR, (1988) (Annexe 6). Le principe consiste à se débarrasser de toute la matière organique par des dégradations thermiques et de mettre en solution l'élément à doser.

Le dosage de sodium et potassium et des gammes étalon a été réalisé par photométrie à flamme.

Réactifs utilisés :

- acide chlorhydrique concentré d = 1,19
- acide fluorhydrique
- eau distillée.

La gamme d'étalonnage :

Nous avons préparé successivement deux solutions mères (SM) à 1000 ppm pour : - Na : 2, 5413 g de NaCl dans 1 L d'HCl à 1 %

- K : 1, 907 g de KCl dans 1 L d'HCl à 2%.

La sensibilité du spectrophotomètre a été réglé à une longueur d'onde  $\lambda = 760\text{nm}$  pour K et  $\lambda = 590 \text{ nm}$  pour Na.

Le calcul est effectué selon la formule suivante :

$\frac{\text{Teneur en K / Na} \times \text{dl} \times \text{ppm} \times 50}{P} \text{ } \mu\text{g} / \text{g} \text{ ou ppm de la MS}$
--

P : poids en gramme de matière sèche de l'échantillon.

ppm : mesure en Na et K en  $\mu\text{g} / \text{l}$ .

dl : facteur de dilution.

### 3.2. Etude des paramètres biochimiques

#### 3.2.1. Dosages des sucres solubles

La méthode utilisée pour le dosage des sucres solubles est celle de DUBOIS, (1956) qui consiste en une macération de 100 mg de matière fraîche dans 2 ml de l'éthanol à 80 % de concentration (Annexe 7).

La détermination de la teneur des sucres solubles est réalisée en utilisant la formule suivante :

$$\text{Sucres solubles } (\mu\text{g/g MF}) = D_{0(490)} \times 1,657$$

#### 3.2.2. Dosage de la proline

La méthode utilisée est celle de TROLL et LINDSLEY, (1955) simplifiée et mise au point par DRIER et GORING, (1974). Elle a été modifiée par MONNEVEUX et NEMMAR, (1986). Le principe est la quantification de la réaction proline-ninhydrine par mesure spectrophotométrique (Figure 3.2.2).

La proline se couple avec la ninhydrine en formant un complexe coloré, l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de proline dans l'échantillon (Figure : 3.2.1). La détermination de la teneur de la proline est réalisée selon la formule suivante :

$$\text{Proline } (\mu\text{g/g MF}) = D_{0(528)} \times 0,65$$

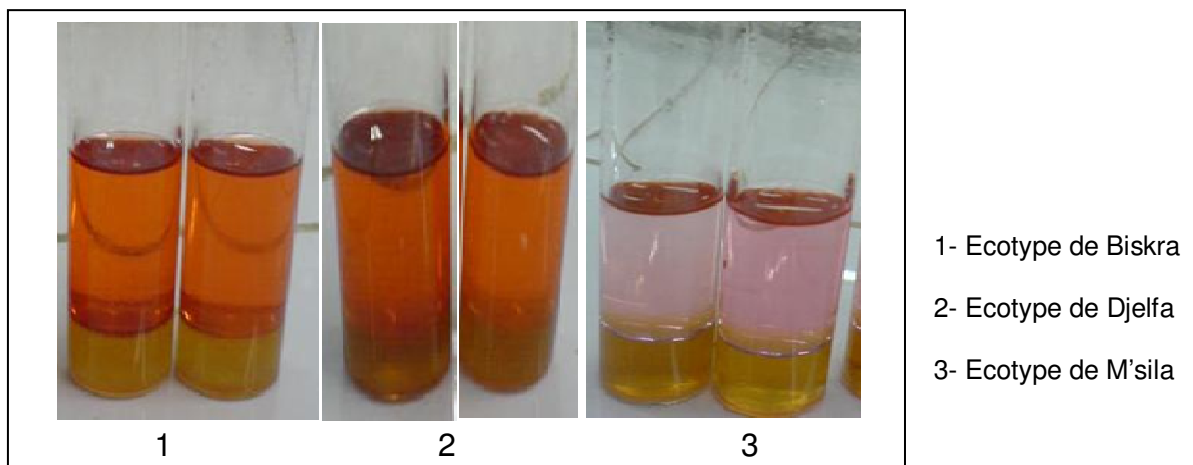


Figure 3.2.2 : Couplage de la proline avec la ninhydrine selon les écotypes.

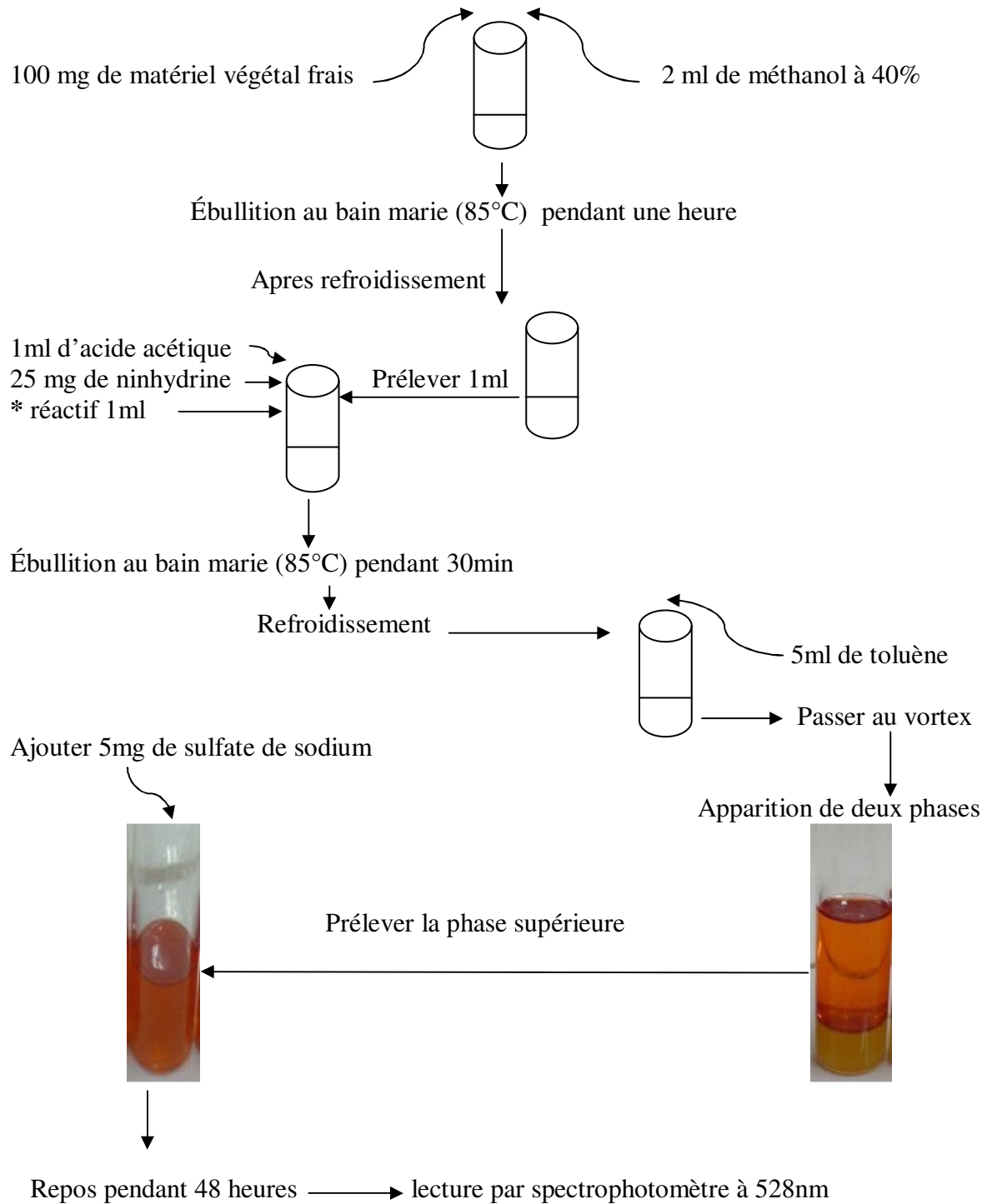


Figure 3.2.2 : Dosage de la proline.

(\*Réactif : 120 ml d'eau distillée + 300ml d'acide acétique + 80ml d'acide orthophosphorique).

### 3.2.3. Dosage des protéines

La méthode de BRADFORD, (1975) a été utilisée pour le dosage des protéines. C'est un dosage colorimétrique, basé sur le changement d'absorbance à une longueur d'onde 595 nm. Il se manifestant par le changement de la couleur du bleu de comassie après liaison avec les acides aminés et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans la ou les protéines (Figure 3.2.3).

La méthode exige la préparation des solutions tampons de phosphate (0,1 M) pour l'extraction des protéines ; solution A, solution B et la solution de KCl (0,1M) (Annexe 8.a).

Nous avons préparé une série des tubes contenant des différentes concentrations en albumine d'œuf à partir d'une solution mère 1mg/ml pour établir la courbe d'étalonnage (Tableau 3.2.1 et Annexe 8.b).

Tableau 3.2.1 : Différentes concentrations d'albumine d'œuf.

N° de tube	1	2	3	4	5	6
Concentration en albumine d'œuf (ml)	0	0,01	0,02	0,04	0,06	0,08
Eau distillée (ml)	0,1	0,09	0,08	0,06	0,04	0,02
Réactif de BRADFORD (ml)	5	5	5	5	5	5



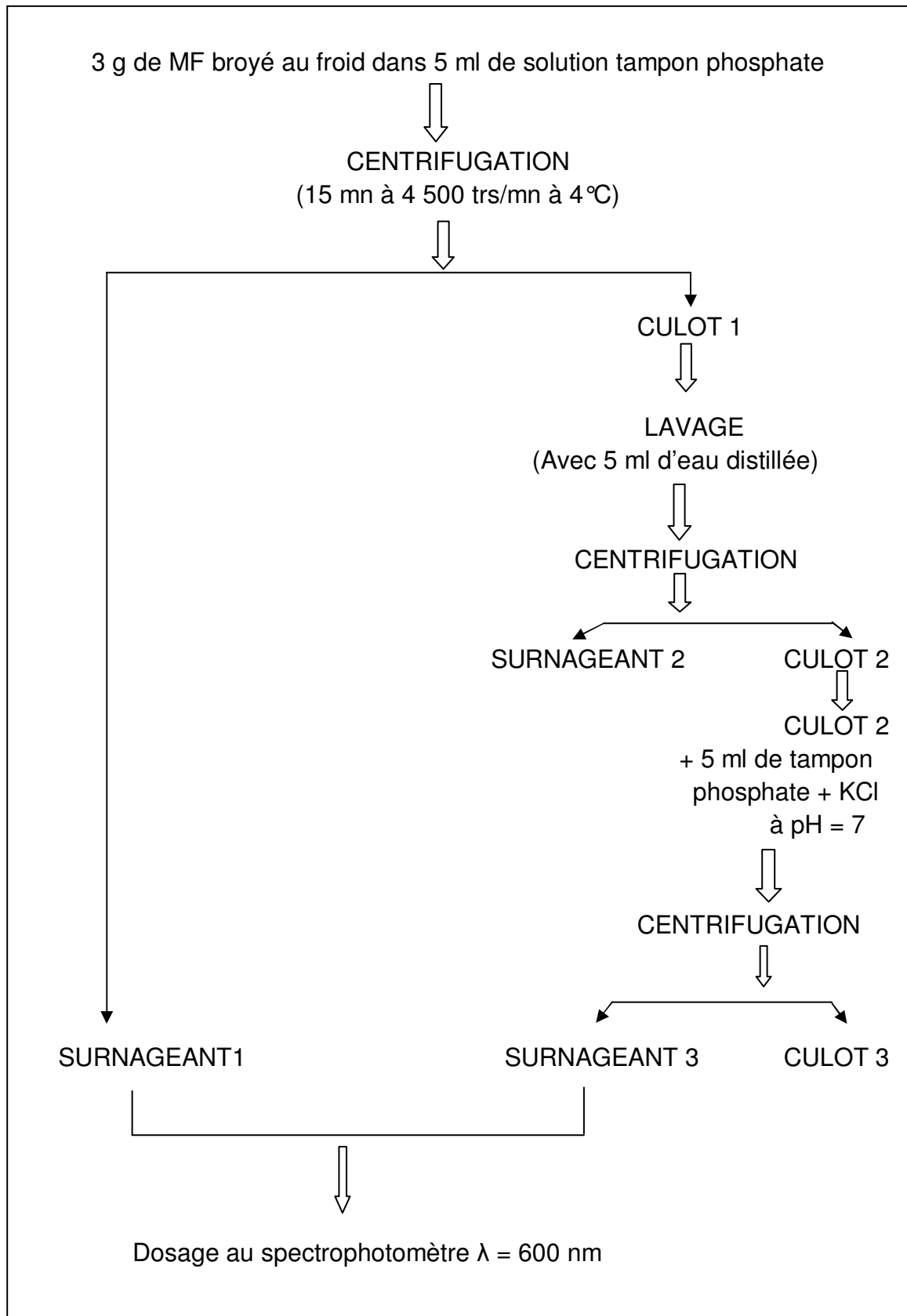


Figure 3.2.3 : Extraction des protéines solubles [110].

### 3.3. Propriétés pharmaco-toxicologiques de l'espèce

*L'Artemesia campestris* L. est une plante médicinale, pour cela nous avons testé l'effet anti-inflammatoire et la toxicité de l'extrait aqueux de la plante.

Nous avons préparé une infusion à base de la poudre végétale (poudre + eau physiologique bouillante). Cette infusion est laissée au repos pendant 15 à 20 minutes (jusqu'au refroidissement). Une première filtration à l'aide d'un papier filtre stérilisé s'est réalisée, suivie d'une deuxième filtration à l'aide de micro-filtre stérilisé.

#### 3.3.1. Effet toxicologique

Selon VILAIN, (1999) pour tout produit à base de plante destiné à un usage externe où un usage interne, il est indispensable, d'en déterminer la toxicité de ce produit.

Le but de cette méthode est de déterminer la toxicologie si elle existe, avec un calcul de la DL<sub>50</sub> de produit végétal testé.

L'expression numérique de la toxicité aiguë est la DL<sub>50</sub>. Elle est généralement exprimée sur le plan expérimental en mg/kg de poids corporel.

La méthode de BEHREN et KARBER, (1935) consiste à administrer à chaque fois à un nombre d'animaux constants, des doses croissantes de la substance à tester de façon à avoir un pourcentage de mortalité variant entre 0 et 100%.

Pour ce test, nous avons utilisé 9 lots de souris du même sexe et de poids moyen de 22 g. Ces animaux reçoivent des doses croissantes d'extrait aqueux (3 lots pour chaque écotype) et un groupe témoin ne recevant que l'eau physiologique (Tableau 3.3.1).

Avec une seringue stérile en verre de 1 ml, équipée d'une canule à bout émoussée, nous avons prélevé 0,5 ml de notre extrait, ce dernier sera administré à chaque souris en faisant attention à ne pas blesser l'œsophage.

Le pourcentage de mortalité est noté après des périodes de 1H, 4H, 24H, 48H, et 8 jours après le début de l'essai.

Tableau 3.3.1 : Test toxicologique

Lot	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nature de produit	E.A écotype de Djelfa			E.A écotype de Biskra			E.A écotype de M'sila			E.P
Dose g/ml	0,25	0,3	0,4	0,25	0,3	0,4	0,25	0,3	0,4	-

- E.A : extrait aqueux
- E.P : eau physiologique

### 3.3.2. Effet anti-inflammatoire

La mise en évidence de l'effet anti-inflammatoire a été réalisée selon la méthode de LEVY, (1969). Elle consiste à provoquer l'inflammation de l'œdème de la souris par application local de la carraghénine à 1%. Elle peut être réduite par application de substances anti-inflammatoires.

Le test d'effet anti-inflammatoire se réalise généralement sur des rats winster. Durant notre expérimentation nous avons testé le produit (extrait aqueux) sur des souris de même sexe (mâle) et même âge. Ce choix est dû au non disponibilité des rats winster au niveau de laboratoire de Sidal (Unité antibiotique de Medea).

Pour chaque écotype nous avons testé deux doses, 0,1g/ml et 0,2g/ml. Pour cela, 8 lots de 10 souris chacun ont été testés. Chaque souris a reçu 0,5 ml de l'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* L. par voie oral, 0,05 ml de carraghénine à 1% par injection en sous plantaire (Tableau 3.3.2).

Une heure après administration du traitement, nous injectons la carraghénine à 1% dans l'eau physiologique, sous la peau de la plante de la patte postérieure de la souris. Les animaux sont gardés dans des conditions de stabulation habituelle au cours de l'expérience.

Tableau 3.3.2 : Test anti-inflammatoire

Lot	1	2	3	4	5	6	7	8
Nature de produit	E.A écotype de Djelfa		E.A écotype de Biskra		E.A écotype de M'sila		E.P	Diclofenac de sodium
Dose g/ml	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	-	0,1

- E.A. extrait aqueux
- E.P. eau physiologique

#### 3.3.2.1. Mesure de l'épaisseur de la patte

A l'aide d'un pied à coulisse précis au 1/50<sup>ème</sup> de millimètre, nous avons mesuré l'épaisseur initiale de la patte de la souris avant l'injection de la carraghénine. Nous avons pris une deuxième mesure immédiatement après injection de carraghénine et des mesures toutes les 30 minutes pour suivre l'évolution de l'inflammation jusqu'à 210 minutes.

Les mesures sont faites au niveau de l'articulation tarso-métatarsienne des pattes postérieures des souris, dans le sens antéropostérieur.

#### 3.4. Mode d'expression des résultats

Le logiciel utilisé pour l'analyse statistique est le STATITCF. Les résultats sont traités par une analyse de la variance au seuil de 5%.

Le test de NEWMAN et KEULS (seuil de 5%) est utilisé pour la comparaison des moyennes.

## CHAPITRE 4

### RESULTATS ET DISCUSSION

#### 4.1. Paramètres phénologiques et physiologiques

##### 4.1.1. Phénologie

Les observations des événements phénologiques se sont déroulées durant la période allant du mois de janvier au mois de juin (Tableau 4.1.1).

Tableau 4.1.1 : Stades phénologiques d'*Artemisia campestris* L.

Régions	Débourrement	Floraison	Fructification
Pré-saharienne (Biskra)	3 février	2 avril	29 avril
Aride (M'sila)	15 février	21 avril	10 mai
Semi-aride (Djelfa)	27 février	3 mai	28 mai

Nous avons constaté que les stades phénologiques d'*Artemisia campestris* débutent assez tôt (début de février) pour l'écotype pré-saharien de Biskra comparés aux deux autres écotypes aride et semi-aride où le débourrement a eu lieu durant la période allant de la mi à la fin du mois de février.

Cette étude confirme l'existence, au sein de l'espèce *Artemisia campestris*, d'une différenciation phénologique qui est d'autant plus importante que les populations sont éloignées géographiquement et croissent sous un étage climatique différent.

Les dates des phénophases dépendent des facteurs topo-géographiques (longitude et altitude) [114]. Le gradient phénologique altitudinal a été estimé avec un retard d'un peu plus de 2 jours par 100 m d'altitude [115].

ROTZER et CHMIELEWSKI, (2001) estiment que pour le débourrement et la floraison un gradient altitudinal de 3 jours par 100 m est retenu.

Cela explique la précocité de débourrement pour l'écotype de Biskra par rapport aux écotypes de M'sila et de Djelfa. En effet, Biskra se trouve à une altitude de 128 m par rapport au niveau de la mer alors que M'sila est à 500 m. L'altitude la plus élevée est à Djelfa qui se trouve à 1140 m.

Selon LEBOURGEOIS, (2006) les différentes modélisations ont montré que la latitude et l'altitude jouent tous deux un rôle clé surtout dans les processus de débourrement printanier.

La précocité révélée pour l'écotype de Biskra par rapport à ceux de M'sila et Djelfa peut aussi s'expliquer par des différences de caractéristiques édaphiques [118]. Une augmentation de l'ETP en mars de 10 mm se traduit par une avancée du débourrement entre 4 et 9 jours selon les espèces. Concernant la température, une augmentation de 1 °C pendant cette période se traduit par une précocité de 2 à 5 jours environ [114].

Ceci confirme les données climatiques enregistrés au niveau des régions d'étude (Tableau 4.2.2). Nous avons relevé une augmentation de la température au mois de février de 4 °C entre Biskra et M'sila, et une augmentation de 7 °C entre Biskra et Djelfa.

Tableau 4.1.2 : Températures moyennes mensuelles des régions d'étude  
(Campagne 2010/1011).

Mois	Jan.	Fév.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juil.	Aout	Sep.	Oct.	Nov.	Déc.
Biskra	10.8	13.7	16.3	20	23.9	27.5	32.8	31.8	28.5	20.4	16	12
M'sila	8,8	9.2	14,9	20,8	27,5	9,2	4,5	8,2	27.6	26,3	20,5	20,4
Djelfa	4.8	6.4	9.8	12	17.4	23.2	26.8	25.9	20.8	16.1	9	5.4

Cet écart de température se traduit par une précocité de 12 jours de la phase de débourrement de l'écotype de Biskra par rapport à l'écotype M'sila et de 24 jours par rapport à Djelfa. La précocité des phases de floraison et de fructification suit le même processus que le débourrement (Figure 4.1.1).

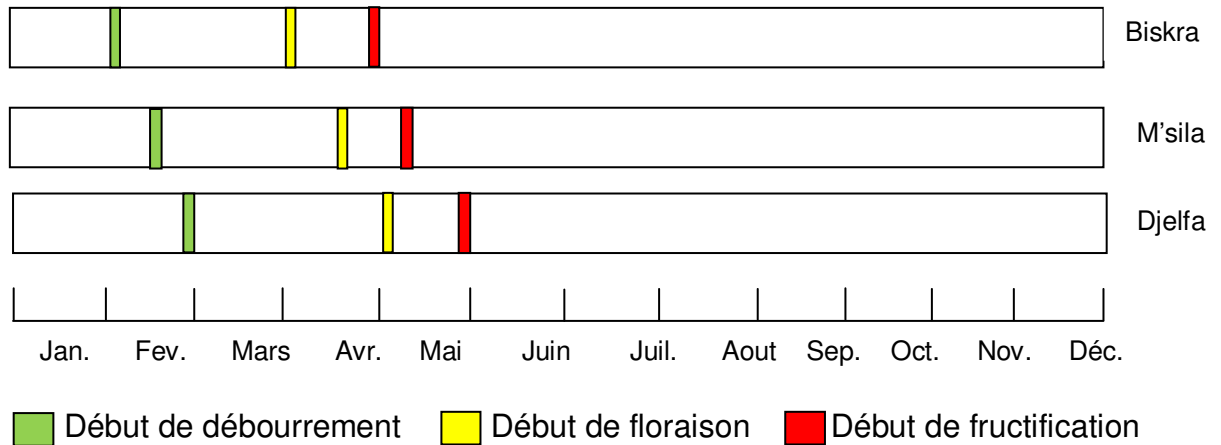


Figure 4.1.1 : Stades phénologiques d'*Artemisia campestris* L.

Toutefois, il faut préciser qu'une des caractéristiques essentielles du cycle végétatif et reproductif d'une espèce est son indépendance vis-à-vis des précipitations et donc de la dynamique de la réserve hydrique du sol [114].

Concernant nos observations et selon les données pédologiques, la région de Djelfa se caractérise par un sol variant de calcaire sablonneux au calcaire argileux ayant des réserves hydriques importants comparés aux autres écotypes étudiés avec un sol glaciaire calcaire (Biskra) et un sol hydromorphe à redistribution de gypse (M'sila).

REICH et BORCHERT, (1984) ont souligné que la pluviométrie influe sur la teneur en eau du sol qui détermine l'état hydrique de la plante et contrôle sa phénologie. Ces auteurs concluent que l'état hydrique interne de la plante apparaît comme étant le principal facteur déterminant de son comportement phénologique.

#### 4.1.2. Etude botanique de l'*Artemisia campestris* L.

La description de la plante d'*Artemisia campestris* L. revêt une importance capitale.

##### 4.1.2.1. Morphologie des tiges et des feuilles

Les observations macroscopiques de la plante d'*Artemisia campestris* L. montrent que les tiges sont subligneuses, glabrescentes et très ramifiées (Figure 4.1.2). Les rameaux sont étalés et deviennent rougeâtres à l'état adulte.

Quant aux feuilles, elles sont alternées de couleur verte et glabre à l'état juvénile et deviennent vêtues à l'état adulte (Figure 4.1.3). Elles sont très velues et totalement recouvertes de poils épidermiques (Figure 4.1.4).

Les coupes histologiques transversales des feuilles des différents écotypes étudiés répondent au même plan d'organisation. Elles sont limitées par un épiderme à cuticule plus au moins épaisse avec présence de stomates sur les deux faces (supérieure et inférieure).

Sous l'épiderme nous retrouvons un parenchyme palissadique chlorophyllien développé de deux assises. Le parenchyme sous-jacent présente des cellules arrondies ; il renferme des faisceaux libéro-ligneux. Le xylème et le phloème sont de structure primaire (Figure 4.1.5).

Les sections transversales des tiges montrent une anatomie plus homogène que celle de la feuille. Elles présentent un contour plus au moins polygonal ou subcirculaire. Sous l'épiderme, un collenchyme occupe les cotés entres lesquelles se place le parenchyme chlorophyllien. Le parenchyme cortical se termine par un endoderme au-dessous des fibres péricycliques ; il renferme des cavités sécrétrices (Figures 4.1.6 et 4.1.7).





Figure 4.1.2 : Tiges d'*Artemisia campestris* L.

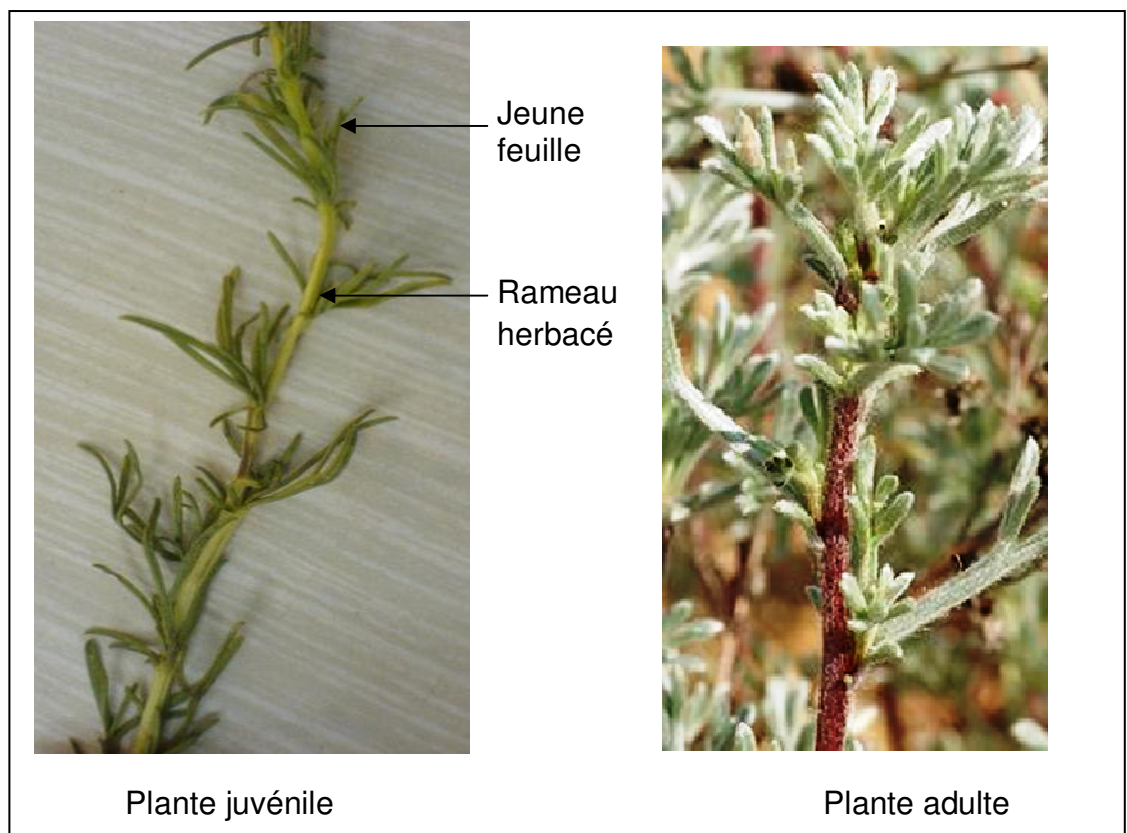


Figure 4.1.3 : Feuilles d'*Artemisia campestris* L.

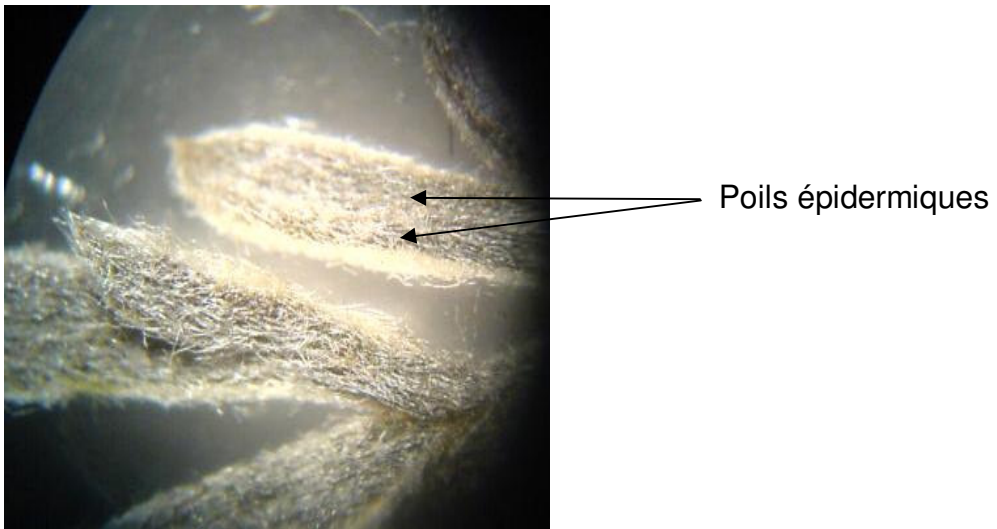


Figure 4.1.4 : Feuille d'*Artemisia campestris* L. sous loupe binoculaire (GX10).

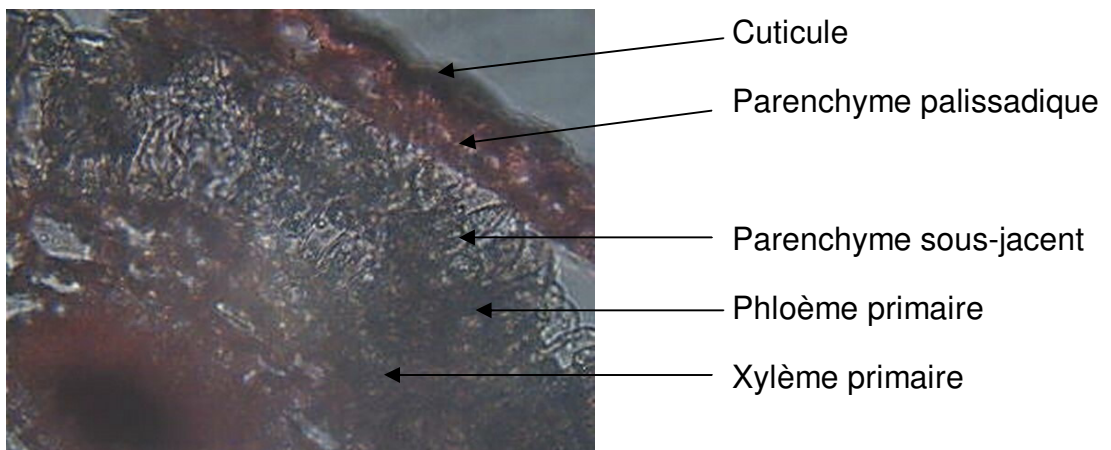


Figure 4.1.5 : Coupe transversale de la feuille vue au microscope photonique (G×10).

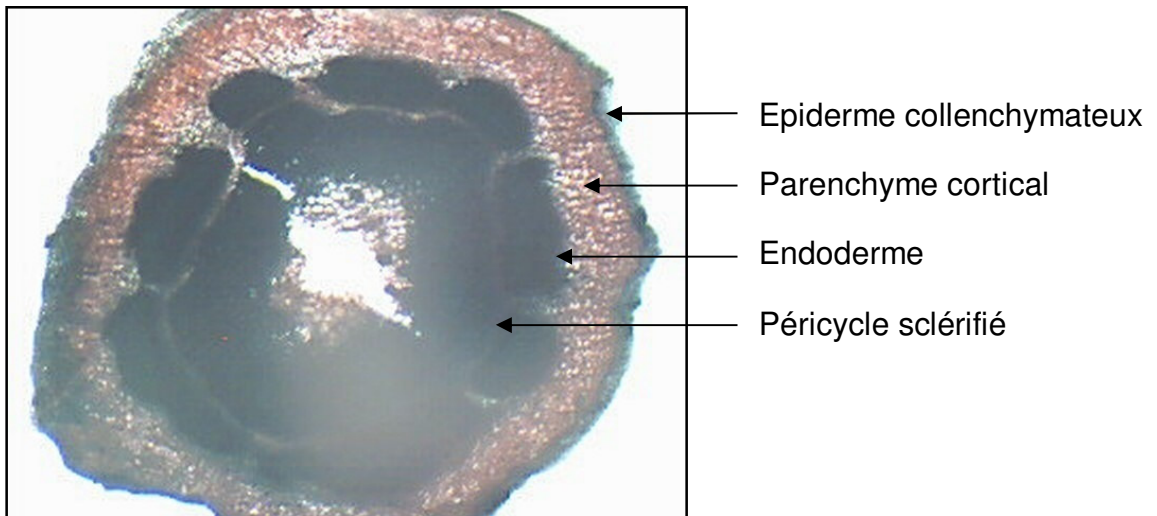


Figure 4.1.6 : Coupe transversale de la tige vue au microscope photonique (G×10).

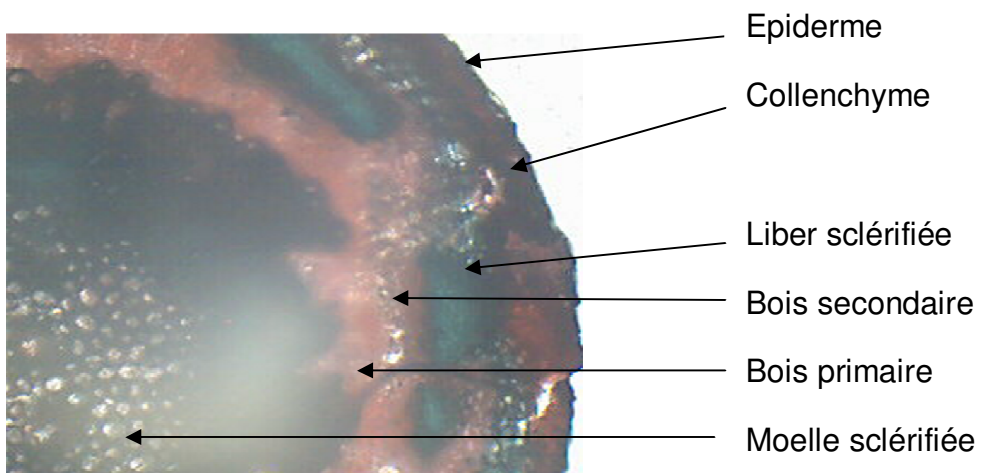


Figure 4.1.7 : Coupe transversale de la tige vue au microscope photonique (G×20).

#### 4.1.2.2. Inflorescence

L'inflorescence est en capitules globuleux de couleur vert jaunâtre (Figure 4.1.9). L'analyse macroscopique nous a permis d'établir le diagramme floral (Figure 4.1.8). Cette observation fait ressortir que la fleur d'*Artemisia campestris* est zygomorphe à symétrie bilatérale, elle est hermaphrodite.

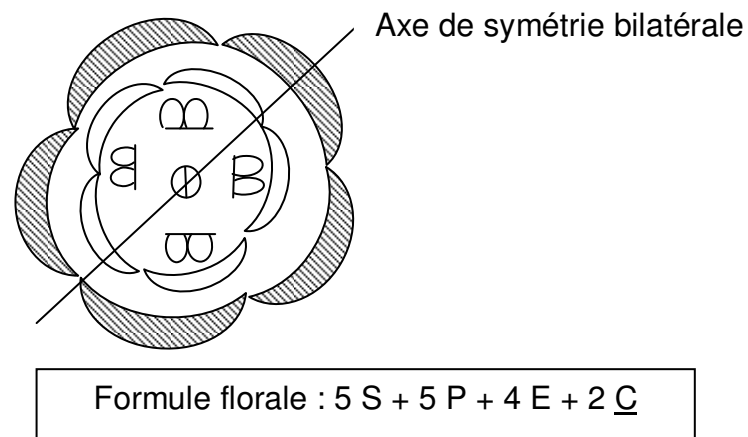


Figure 4.1.8 : Diagramme floral d'*Artemisia campestris* L.

#### 4.1.2.3. Graine

La graine de l'*Artemisia campestris* L. est formée d'un disque ovoïde de 1.5 mm, de couleur brune rougeâtre (Figure 4.1.10). Elle est entourée de deux téguments, l'un est brun et l'autre gris clair.



Figure 4.1.9 : Inflorescence d'*Artemisia campestris* L.



a- Graines avec téguments

b- Graines décortiquées

Figure 4.1.10 : Graines d'*Artemisia campestris* vue à la loupe binoculaire (G× 10).

#### 4.1.3. Germination in-vivo

Après cinq jours de mise en germination, nous avons observés l'apparition de radicule de quelques graines des trois écotypes (Figure 4.1.11). Nous avons observé la prolifération des champignons. Les résultats pour ce mode de germination étaient très faibles (Figure 4.1.12).

Cette apparition des microorganismes est probablement due à une mauvaise conservation des graines ou une stérilisation insuffisante.

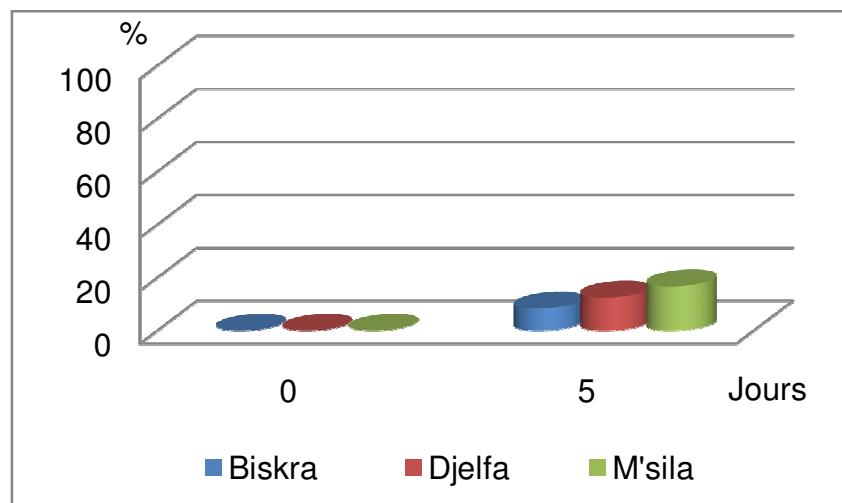
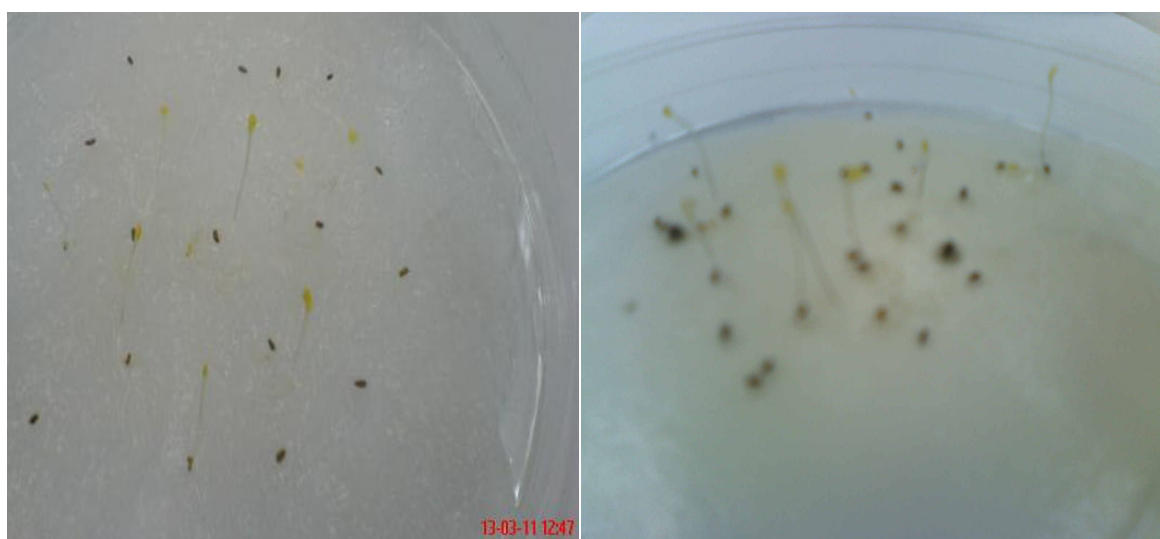


Figure 4.1.11 : Taux de germination *in-vivo* des graines d'*Artemisia campestris* L.



Graines germées

Graines contaminées

Figure 4.1.12. Germination des graines d'*Artemisia campestris* L. *in-vivo*.

#### 4.1.4. Germination in-vitro

Après une semaine de la mise en culture, nous avons remarqué l'éclatement de la quasi-totalité des graines récoltés selon les trois écotypes retenus. L'apparition des petites plantules (tiges feuillées) est observée après 15 jours de la mise en culture (Figures 4.1.13 et 4.1.15).

Nous avons enregistré l'apparition des nécroses (brunissement du milieu de culture et des graines) quatre à cinq jours après la mise en culture (Figure 4.1.14).

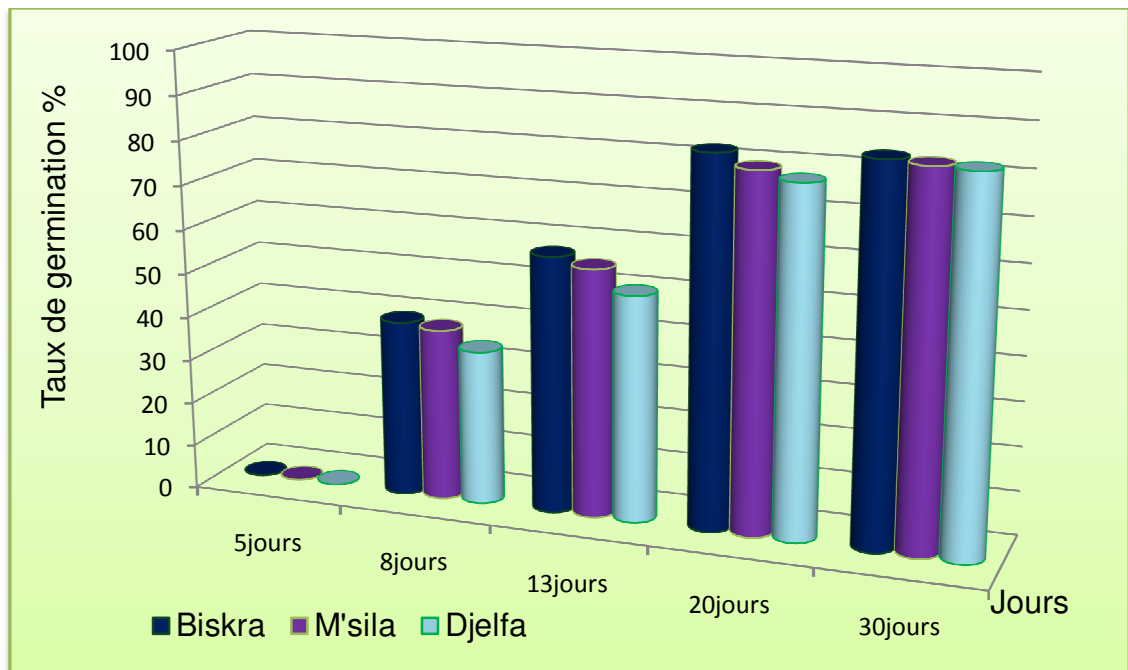


Figure 4.1.13 : Taux de germination in-vitro des graines d'*Artemisia campestris* L.

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les graines issues des trois écotypes ont une aptitude de germer in vitro.

Les résultats de l'analyse de la variance montrent que le facteur provenance des graines de l'*Artemisia campestris* (Biskra, M'sila et Djelfa) ne révèle aucune différence significative pour le taux de germination. Il n'existe aucune différence au niveau du taux de germination des graines des trois provenances (Biskra 84%, M'sila 83.25% et Djelfa 82.86%).

Nous supposons que l'apparition des nécroses est due à la concentration de l'hypochlorite de sodium, notons que ce dernier est un produit qui pénètre dans les tissus et provoque la détérioration des cellules (éclatement des vacuoles).

Ce problème se manifeste par un jaunissement qui risque de gêner la croissance ultérieure.

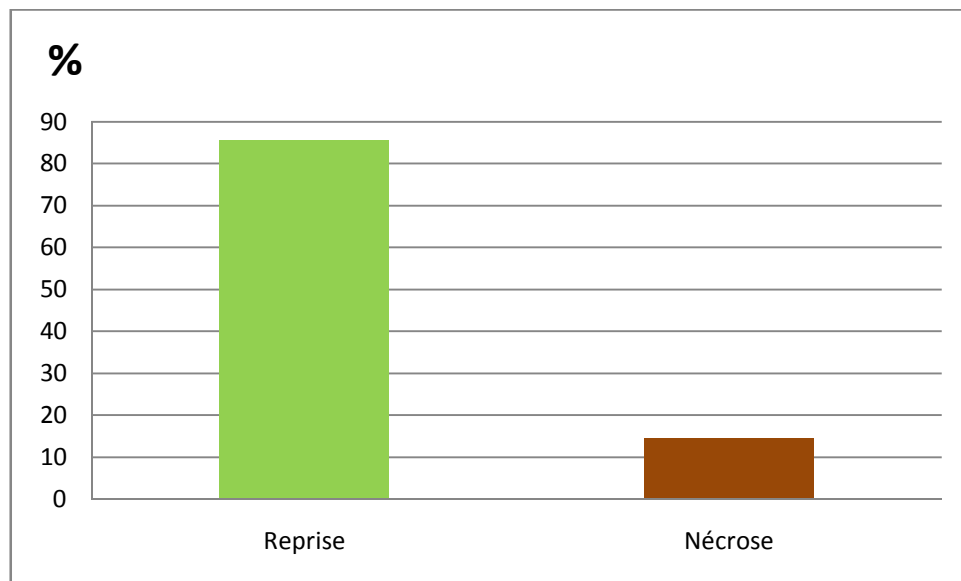


Figure 4.1.14 : Taux de reprise de germination des graines en culture *in-vitro* des trois écotypes.



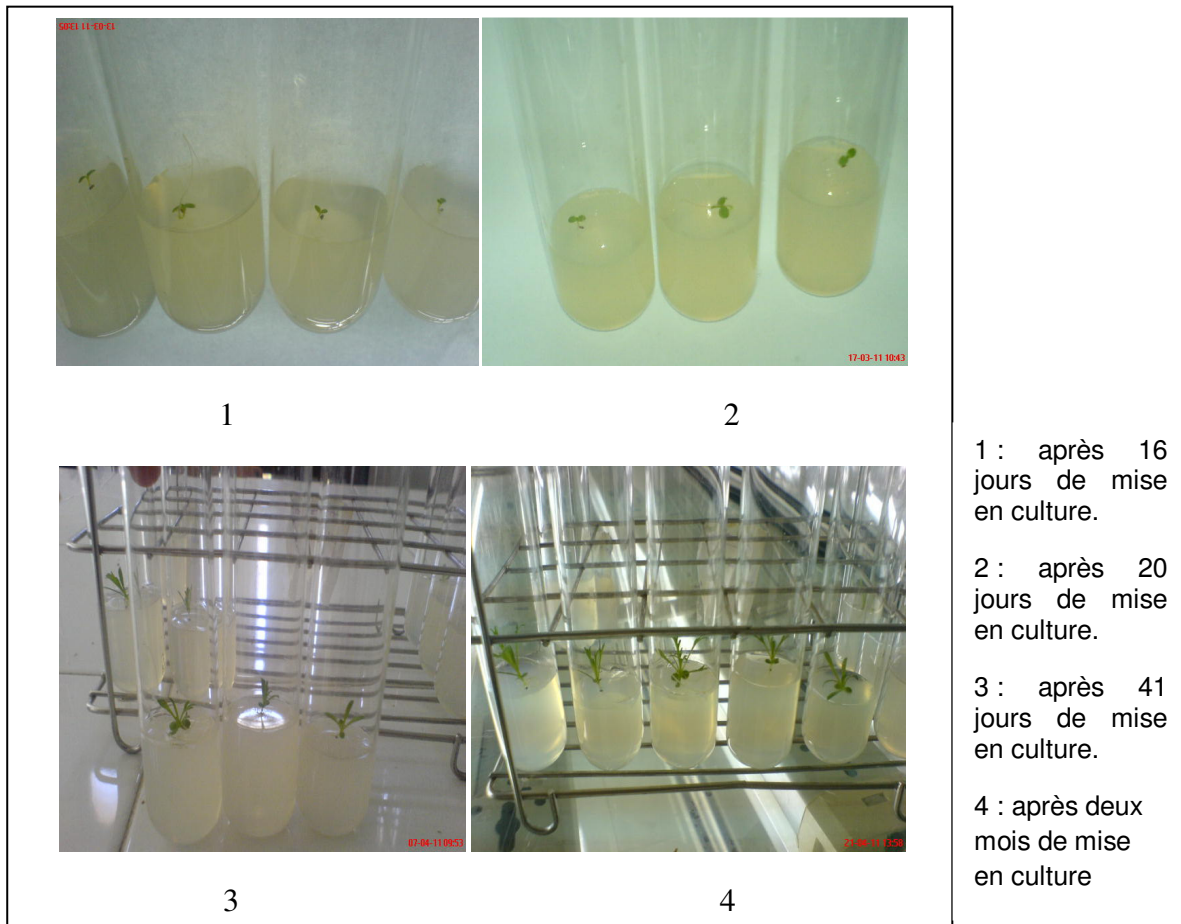


Figure 4.1.15 : Evolution des vitro-plants d'*Artemisia campestris* L. issus de germination *in-vitro*.

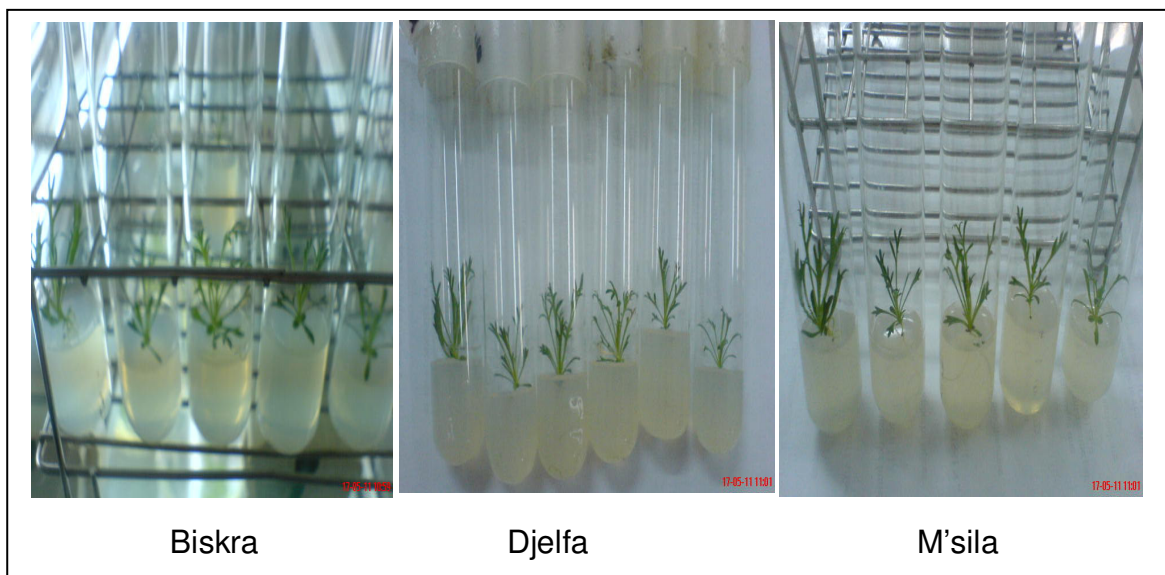


Figure 4.1.16 : Vitro-plants après trois mois de mise en culture selon les écotypes.

#### 4.1.5. Chlorophylle

Les résultats de dosage de chlorophylle montrent que la teneur en chlorophylle varie selon l'écotype. Le test de NEWMAN et KEULS au seuil de 5%, montre trois groupes homogènes et distincts (Figure 4.1.17), du taux le plus élevé au plus faible.

Tableau 4.1.3 : Teneur moyenne de la chlorophylle

Ecotypes	Moyennes	Ecart type	Groupes
Djelfa	0,84	$\pm 0,02$	A
M'sila	0,53	$\pm 0,03$	B
Biskra	0,38	$\pm 0,01$	C

Nous constatons que l'écotype Djelfa présente un taux de chlorophylle plus élevé avec une moyenne de  $0,84 \pm 0,02$  par rapport à l'écotype Biskra qui présente un taux plus faible ( $0,38 \pm 0,01$ ) (Tableau 4.1.3).

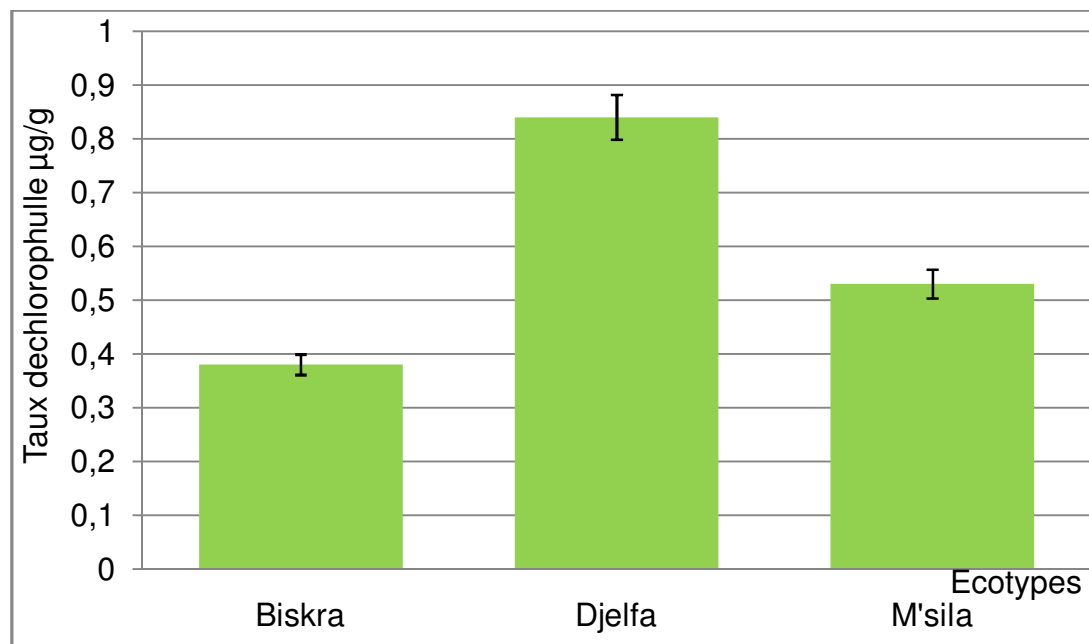


Figure 4.1.17 : Variation de taux de chlorophylle selon les écotypes.

La photosynthèse facteur primaire de la production totale en matière végétale, constitue un meilleur indicateur du fonctionnement hydrique de la plante au cours d'un déficit hydrique [120].

Les résultats montrent une réduction de la teneur en chlorophylle enregistrée chez l'écotype de la région saharienne de Biskra avec une valeur de  $0.38 \pm 0.01$   $\mu\text{g/g}$  de MF. Elle est suivie de l'écotype de la région aride de M'sila. La teneur en chlorophylle est plus accentuée chez l'écotype de la région semi-aride de Djelfa avec une moyenne de  $0.84 \pm 0.02$   $\mu\text{g/g}$  de MF.

Notons que la teneur de la chlorophylle diminue selon le niveau de la sécheresse et de la salinité. La région de Biskra est caractérisée par un taux de salinité très élevé.

La diminution de la quantité de chlorophylle est liée à la diminution de la quantité relative en eau qui est due essentiellement, à la réduction des échanges du  $\text{CO}_2$ , limitée par une fermeture des stomates. Ce phénomène engendre par conséquent la résistance de la feuille à la diffusion du  $\text{CO}_2$  [120].

Cette constatation se confirme par la diminution de la capacité photosynthétique de la plante entière due à la réduction des surfaces foliaires de la plante [121].

#### 4.1.6. Caroténoïdes

Nous remarquons que les résultats enregistrés (Figure 4.1.18) montrent que le taux le plus élevé des caroténoïdes est enregistré chez les plantes de l'écotype Djelfa ( $1,73 \pm 0,02$   $\mu\text{g/g}$  de MF) et le plus faible est enregistré chez ceux de l'écotype de Biskra ( $0,92 \pm 0,01$   $\mu\text{g/g}$  de MF). Le taux de caroténoïdes reste faible au niveau des échantillons récoltés dans la région de M'sila ( $1,25 \pm 0,02$   $\mu\text{g/g}$  de MF).

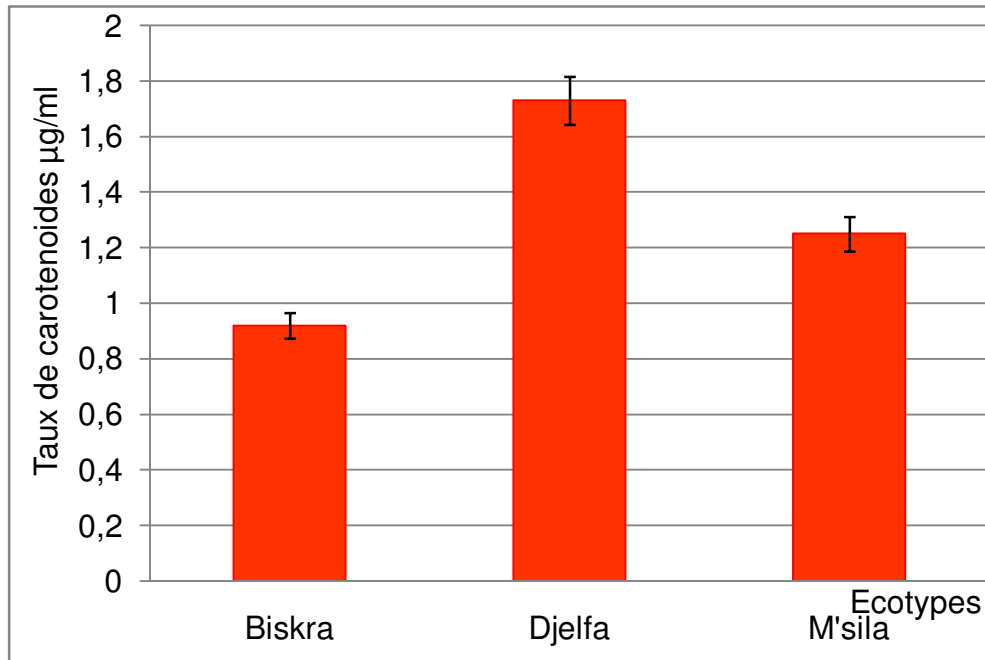


Figure 4.1.18 : Variation de taux des caroténoïdes selon les écotypes.

Le test de NEWMAN et KEULS au seuil de 5% fait ressortir trois groupes homogènes distincts en fonction des écotypes (Tableau 4.1.4).

Tableau 4.1.4 : Teneur moyenne des Caroténoïdes

Écotypes	Moyennes	Ecart type	Groupes
Djelfa	1.73	$\pm 0,02$	A
M'sila	1.25	$\pm 0.02$	B
Biskra	0.92	$\pm 0.01$	C

#### 4.1.7. Flavonoïdes

La teneur moyenne en flavonoïdes totaux d'*Artemisia campestris* est de  $3.97 \pm 0.2$  mg/g. Nous enregistrons une légère différence entre les échantillons étudiés (Figure 4.1.19).

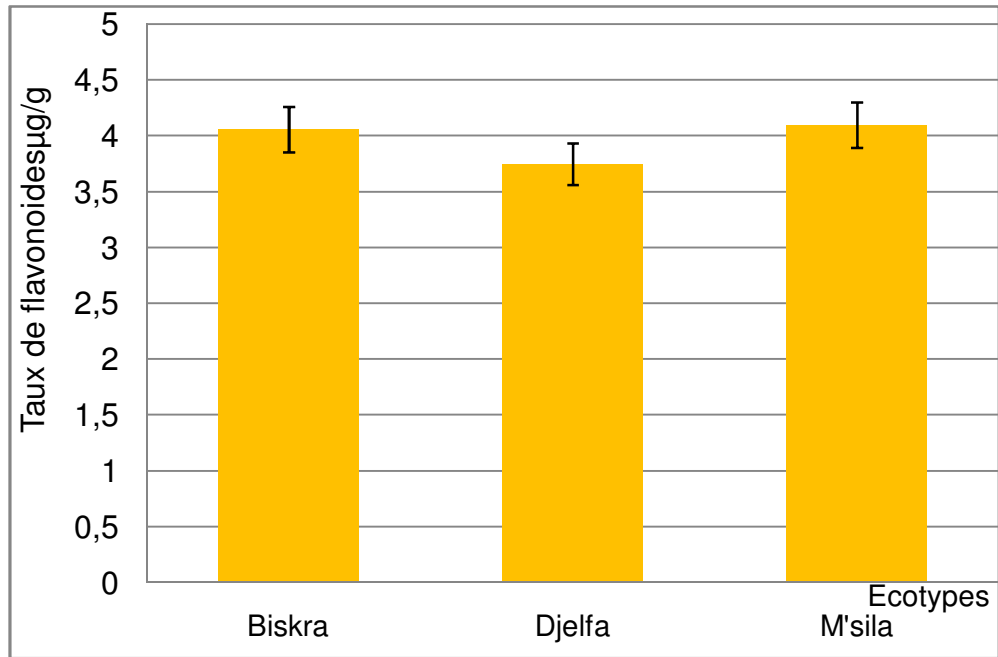


Figure 4.1.19 : Variation de taux des flavonoïdes selon les écotypes.

Les résultats de test de NEWMAN et KEULS au seuil de 5% présentent trois groupes homogènes (Tableau 4.1.5).

Tableau 4.1.5 : Teneur moyenne des flavonoïdes

Ecotypes	Moyennes	Ecart type	Groupes
M'sila	4.10	±0.05	A
Biskra	4.06	±0.05	B
Djelfa	3.75	±0,03	C

D'après les résultats de l'analyse de la variance, nous avons remarqué que les plantes de l'écotype de M'sila présentent le taux de flavonoïdes le plus élevé avec une moyenne de  $4,10 \pm 0,05$  mg/g (Groupe A) suivie de l'écotype de Biskra avec une valeur de  $4,10 \pm 0,05$  mg/g (Annexe 9).

#### 4.1.8. Tanins

Nous avons remarqué l'apparition de la couleur brune verdâtre, ce qui détermine la présence de tanins catéchiques (Figure 4.1.20).

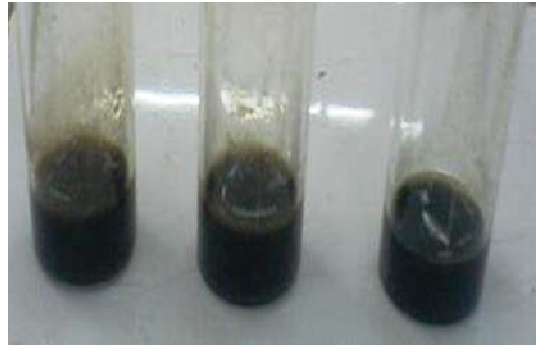


Figure 4.1.20 : Détection des tanins (tanins catéchiques).

Les résultats de dosage des flavonoïdes et détection des tanins montrent la richesse de la plante *Artemisia campestris* en composés phénoliques. DJERIDANE et *al.* (2006), classent l'espèce *Artemisia campestris*, selon sa richesse en composés phénoliques, en 3<sup>ème</sup> position parmi les 11 plantes médicinales algériennes sujettes à leurs travaux, ainsi que pour la fraction flavonoïdique.

La coloration jaune est observée après l'ajout de chlorure d'aluminium à la solution éthanolique de quercitine. Cette couleur est observée dans le cas des extraits d'*Artemisia campestris* indiquant ainsi la présence de complexes par chélation des ions d'aluminium par les flavonoïdes [122, 123].

La teneur en flavonoïdes totaux enregistrée des échantillons testés d'*Artemisia campestris* est de  $3,97 \pm 0.05$  mg/g, elle est plus faible que celle retrouvée par DJERIDANE et *al.*, (2006) en Tunisie pour cette même espèce (7.46 mg/g).

#### 4.1.9. Teneur en Na et K

Les résultats du test de NEWMAN et KEULS au seuil de 5% concernant la teneur en sodium, présentent trois groupes distincts (Tableau 4.1.6). Le taux le plus élevé est observé chez l'écotype de Biskra avec une valeur de  $220.93 \pm 15.96$   $\mu\text{g/g}$  de MF (Figure 4.1.21).

Tableau 4.1.6 : Teneur moyenne de sodium et potassium

Ecotypes	Sodium		Potassium	
	Moyennes	Groupes	Moyennes	Groupes
Djelfa	$148.40 \pm 14.01$	C	$60.60 \pm 1.72$	A
M'sila	$176.40 \pm 10.82$	B	$50.33 \pm 1.84$	B
Biskra	$220.93 \pm 15.96$	A	$40.33 \pm 1.40$	C

Concernant la teneur en potassium, les échantillons de Biskra enregistrent une faible quantité par rapport aux échantillons des autres écotypes (Figure 4.1.21).

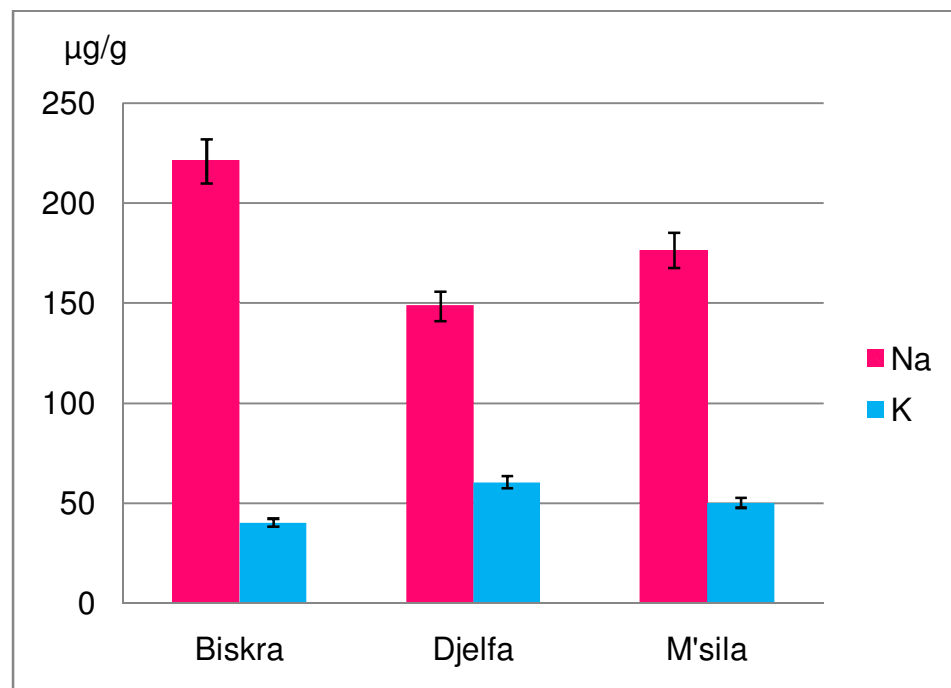


Figure 4.1.21 : La teneur en Na et k selon les écotypes.

Concernant l'accumulation des ions minéraux nous avons remarqué que la teneur en  $\text{Na}^+$  est très élevée chez les plantes de l'écotype Biskra par rapport à celle de l'écotype M'sila et de Djelfa. En revanche, la teneur en  $\text{K}^+$  est plus élevée chez les plantes de la région Djelfa.

Nous avons constaté que l'augmentation de taux de sodium est accompagnée d'une faible accumulation de potassium.

La faible accumulation pour de  $\text{K}^+$  est due à une diminution de la teneur en eau, l'évolution de cette dernière, signifie que la croissance de la feuille est liée à la quantité de  $\text{K}^+$  qui lui parvient. Cette situation résulte essentiellement de l'exportation sélective vers le haut de la plante du sodium importé dans la feuille par xylème [124].

L'accumulation excessive du sodium sous conditions de salinité favorise des compétitions d'antagonisme avec le potassium [125].

En cas des contraintes environnementaux (stress hydrique et salin) comme c'est le cas des régions d'étude, l'ajustement osmotique implique l'accumulation d'ions minéraux  $\text{K}^+$  et  $\text{Na}^+$ . L'enrichissement des tissus en sodium serait la cause de la réduction de la croissance [126]. Notons que cet élément intervient dans l'équilibre cationique [49].



## 4.2. Paramètres biochimiques

### 4.2.1. Sucres solubles

Après l'étude de la variance et le test de NEWMAN et KEULS au seuil de 5%, nous constatons que la provenance des échantillons a un effet très hautement significatif sur la teneur en sucres solubles (Tableau 4.2.1).

Nous avons enregistré une quantité plus élevée en sucres solubles pour les plantes d'*Artemisia campestris* (écotype Biskra) comparée aux autres écotypes de M'sila et Djelfa (Figure 4.2.1).

Tableau 4.2.1 : Teneur moyenne des sucres solubles

Ecotypes	Moyennes	Ecart type	Groupes
Djelfa	3.13	$\pm 0,06$	C
M'sila	4.18	$\pm 0.02$	B
Biskra	5.58	$\pm 0.48$	A

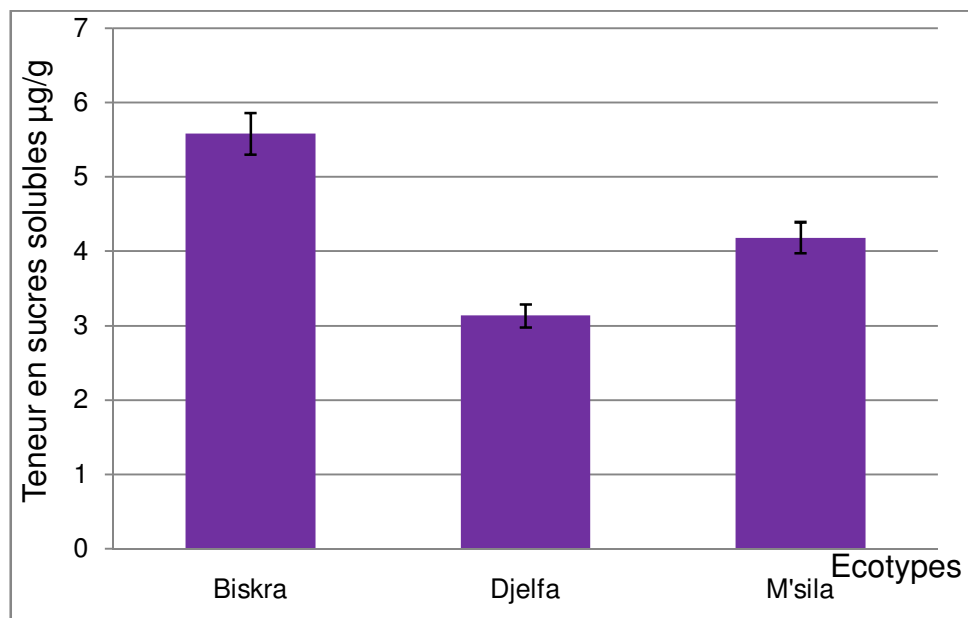


Figure 4.2.1 : Teneur en sucres solubles selon les différents écotypes.

D'après nos résultats, l'écotype de Biskra présente un taux de sucres solubles plus élevé ( $5.58 \pm 0.48 \mu\text{g/g}$  de MF) comparé au taux le plus faible enregistré de l'écotype Djelfa ( $3.13 \pm 0.02 \mu\text{g/g}$  de MF).

L'augmentation de la teneur en sucres chez les plantes des deux écotypes Biskra et M'sila par rapport à l'écotype Djelfa peut provenir de l'hydrolyse de l'amidon [44].

Cette dégradation serait un facteur de résistance au stress abiotique [127], notamment l'espèce étudiée peut se retrouver face à un stress hydrique et salin car elle pousse sur des surfaces sèches où nous enregistrons des températures très élevées et de faibles précipitations.

Ainsi, les régions arides et semi-arides caractérisés par une salinité des sols sont une contrainte pour le développement des plantes [128, 129].

DARBYSIRE, (1974) signale que les sucres ont un rôle dans l'ajustement osmotique et ils participent également à la préservation de l'intégrité membranaire dans les organes desséchés ainsi qu'une protection des protéines.

#### 4.2.2. Proline

Les résultats de l'analyse de la variance montrent un effet hautement significatif sur la teneur en proline selon les régions de récolte (Annexe 9). D'après le test de NEWMAN et KEULS au seuil de 5%, trois groupes homogènes sont enregistrés pour les trois écotypes (Tableau 4.2.2).

Tableau 4.2.2 : Teneur moyenne en proline

Ecotypes	Moyennes	Ecart type	Groupes
Djelfa	1.09	$\pm 0.03$	C
M'sila	1.33	$\pm 0.02$	B
Biskra	2.17	$\pm 0.01$	A

Le taux le plus élevé est enregistré chez les échantillons récoltés dans la région de Biskra avec une moyenne de  $2.17 \pm 0.01 \mu\text{g/g}$  de MF, comparés aux plantes récoltées dans la région de Djelfa qui présentent un taux plus faible avec une moyenne de  $1.09 \pm 0.03 \mu\text{g/g}$  de MF (Figure 4.2.2).

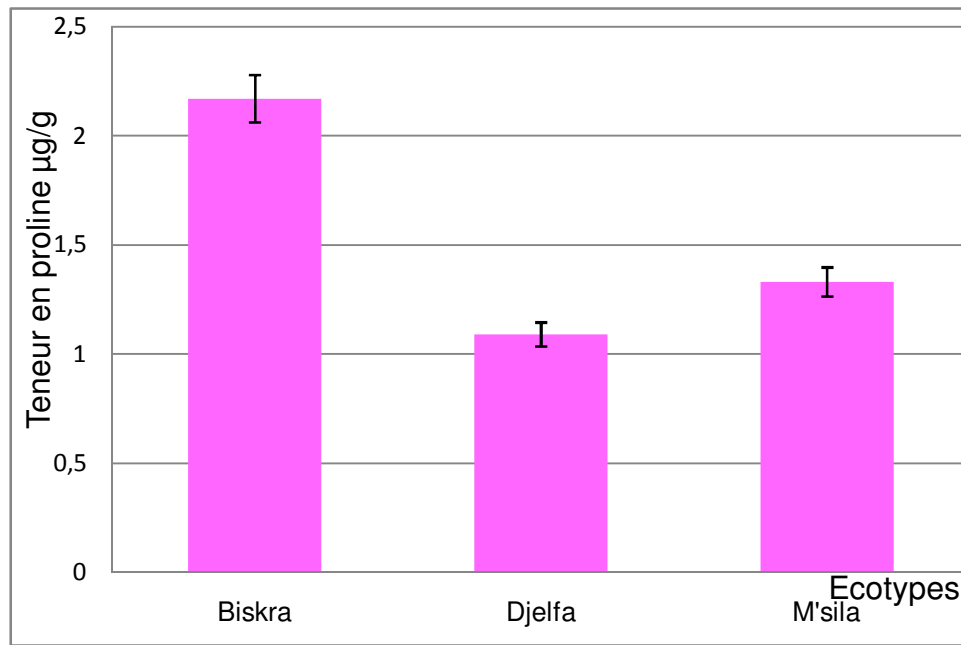


Figure 4.2.2 : Variation de la teneur en proline selon les régions.

L'accumulation de la proline est un phénomène d'adaptation des plantes à des conditions extrêmes à la sécheresse. Elle permet à la plante de maintenir sa turgescence par la diminution du potentiel hydrique, c'est une forme d'ajustement osmotique [44].

De nombreux travaux rapportent que la proline s'accumule dans la plante lorsqu'elle se trouve en conditions défavorables [131] ce qui traduit le caractère de la résistance aux stress [47]. Ce type de tolérance permet à la plante d'assurer normalement ses fonctions physiologiques malgré une dégradation de son état hydrique due à la sécheresse.

L'explication de l'accumulation de la proline est confuse selon les auteurs. HANSON et *al.*, (1977) affirment que c'est une conséquence pathologique.

STEWART et LEE, (1974) quant à eux montrent que la proline à de fortes concentrations agit comme soluté pour l'ajustement osmotique, et aussi pour servir de réservoirs de composés azotés et de carbone pour une utilisation ultérieure dans la croissance.

FEITOSA et *al.*, (2001), MELONI et *al.*, (2004) affirment que le rôle attribué à la proline dans la réponse des plantes aux stress reste parfois controversé.

Le mécanisme de l'accumulation de la proline permet de penser à la présence de sites de résistance de la plante à la contrainte abiotique [136].

En effet, le transport de la proline de la source (lieu de synthèse) au site de la résistance est admis depuis longtemps comme un paramètre important dans l'acquisition de cette résistance [129].

PAQUIN, (1986) signale que la proline serait synthétisée dans les feuilles et transportée vers ces sites de résistances.

D'après nos résultats, nous avons remarqué que la concentration des sucres solubles est proche de la proline, donc les sucres sont des effecteurs de l'accumulation de la proline [137].

#### 4.2.3. Protéines

Les résultats de l'étude de la variance sont confirmés par le test NEWMAN et KEULS au seuil de 5%. Ils indiquent que les échantillons de l'écotype de Biskra sont classés dans le groupe A avec une moyenne de  $19.46 \pm 2.61$   $\mu\text{g/g}$  de MF suivie de l'écotype de M'sila dans le groupe B avec une moyenne de  $15.48 \pm 2$   $\mu\text{g/g}$  de MF. L'écotype de Djelfa est classé dans le groupe C (Tableau 4.2.3).

Tableau 4.2.3 : Teneur moyenne en protéines.

Ecotypes	Moyennes	Ecart type	Groupes
Djelfa	14	$\pm 2.61$	C
M'sila	15.48	$\pm 2$	B
Biskra	19.46	$\pm 0.89$	A

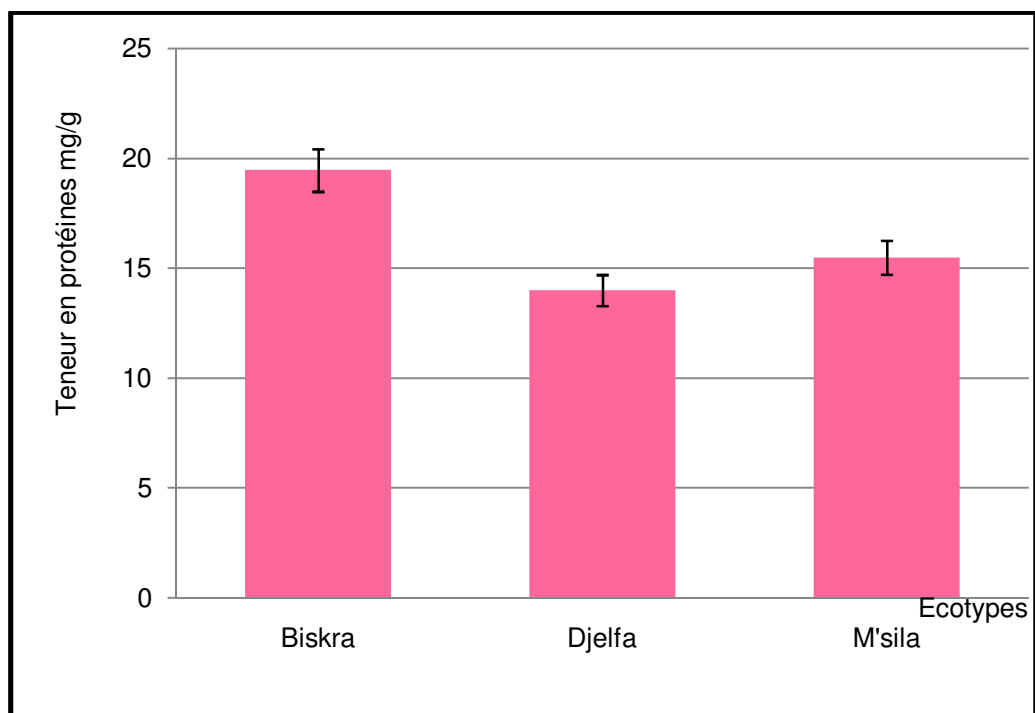


Figure 4.2.3 : Variation de la teneur en protéines selon les régions.

Le facteur provenance de l'espèce a un effet significatif sur l'accumulation des protéines.

Nous avons constaté que l'écotype de Biskra présente un taux de protéines plus élevé par rapport à l'écotype M'sila. L'écotype Djelfa présente un taux plus faible avec une moyenne de  $14 \pm 2.61$   $\mu\text{g/g}$  de MF (Figure 4.2.3).

Notre étude révèle une augmentation de la teneur en protéines dans les échantillons des deux écotypes de Biskra et M'sila par rapport à l'écotype Djelfa.

Cette augmentation est due à une activation d'un ensemble de gènes permettant la synthèse des protéines spécifiques associées au stress tel que les protéines « LEA » (Late Embryogenesis Abundant proteins) qui assurent une protection de l'ensemble vitale des protéines cellulaires [138], ainsi que les protéines de choc thermique qui permettent un maintien des structures protéiques et membranaires de la cellule végétale [139].

TODD, (1972) a remarqué une augmentation de la teneur en protéines solubles et acides aminés chez l'espèce *Atriplex*, suite à la dégradation des molécules de poids moléculaires élevés.

#### 4.3. Propriétés pharmaco-toxicologiques

##### 4.3.1. Test de toxicité

Après une semaine de l'administration de nos différents extraits sur les souris par voie orale, nous avons enregistré les résultats concernant la mortalité.

Tableau 4.3.1 : Application de la méthode de BEHREN et KARBBER d'*Artemisia Campestris* L.

Concentration mg/ml	250	300	400
Dose g/kg	6,25	7,5	10
Nbre d'animaux	10	10	10
Nbr. de mortalité	0	0	0
% de mortalité	0	0	0
Difference entre deux doses successives (A)	1,25	2,5	
Moyenne de mortalité de deux doses successives (B)	0	0	
A×B	0	0	
Somme d'A× B	0		

$$DL_{50} = \frac{DL_{100} - \sum A \times B}{n} = \frac{10 - 0}{10}$$

$$DL_{50} = 0g/kg$$

n : étant le nombre de souris par lots.

Selon BRUNETON, (1999) la DL<sub>50</sub> est de 17ml/kg chez le rat. Une dose thérapeutique usuelle de 0.05 à 0.2 ml/g ne présente aucun risque toxique pour l'homme.

En comparant la valeur de la DL<sub>50</sub> obtenue lors de notre expérimentation selon l'échelle de HODGUE et STERNER, (1943) nous constatons que l'extrait aqueux administré par gavage aux souris est relativement inoffensif.

Tableau 4.3.2 : Echelle de HODGE et STERNER (1943)

DL <sub>50</sub>	Indice de toxicité
Jusqu'à 1 mg/kg	Relativement inoffensif
De 1 à 50 mg/kg	Presque pas toxique
De 5 à 500 mg/kg	Légèrement toxique
De 500 à 5000 mg/g	Modérément toxique
De 5000 à 15000 mg/kg	Hautement toxique
Plus de 15000 mg/kg	Extrêmement toxique

#### 4.3.2. Test anti-inflammatoire

##### 4.2.2.1. Effet de la carraghinine

Le lot ayant reçu une injection de carraghinine en sous plantaire sans avoir reçu de traitement au préalable a montré une évolution continue et presque linéaire du pourcentage moyen de l'œdème en fonction du temps.

La carraghinine est donc un produit pro-inflammatoire, sachant que le lot témoin qui a reçu de l'eau physiologique n'a donné aucune évolution de l'œdème.



#### 4.2.2.2. Effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux

Les lots de souris, ayant reçu par voie orale la dose 0,2g/ml ont réagi globalement d'une manière semblable à ceux traités par l'anti-inflammatoire Diclofenac de sodium (Annexe 10).

L'effet le plus rapide et le plus intense a été observé chez le lot de souris ayant reçu la dose de 0,2g/ml (EMD2) comparé au lot de souris traité par le standard anti-inflammatoire le Diclofenac (Figure 4.3.1).

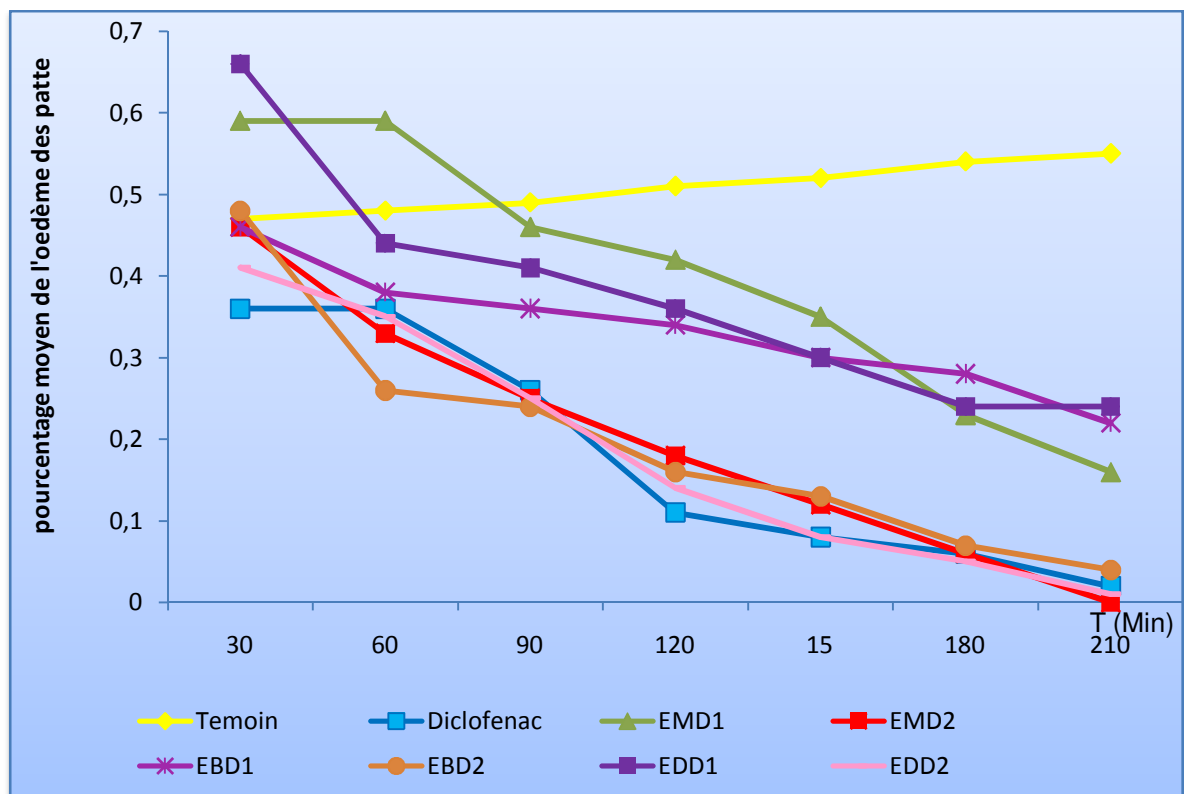


Figure 4.3.1 : Evolution du pourcentage de l'œdème au niveau des pattes.

- EMD 1 : Première dose (0,1 g/ml) de l'extrait aqueux de l'éco-type M'sila.
- EMD 2 : Deuxième dose (0,2 g/ml) de l'extrait aqueux de l'éco-type M'sila.
- EBD 1 : Première dose (0,1 g/ml) de l'extrait aqueux de l'éco-type Biskra.
- EBD 2 : Deuxième dose (0,2 g/ml) de l'extrait aqueux de l'éco-type Biskra.
- EDD 1 : Première dose (0,1 g/ml) de l'extrait aqueux de l'éco-type Djelfa.
- EDD 2 : Deuxième dose (0,2 g/ml) de l'extrait aqueux de l'éco-type Djelfa.

L'effet anti-inflammatoire ne s'est manifesté qu'après 90 minutes et de façon modéré pour le lot de souris ayant reçu la dose de 0,1g/ml de l'extrait aqueux de l'écotype de Djelfa.

La comparaison des lots ayant reçu les doses de l'extrait aqueux et ceux de Diclofenac a montré que l'effet anti-inflammatoire est plus important à partir de 0,2 g/ml mais il est moins rapide que celui de la dose 0,1 g/ml.

Le test de l'effet anti-inflammatoire et la toxicité de la plante permet de mettre en exergue le rôle thérapeutique des substances ou principes actifs de la plante. Ces derniers sont à l'origine du mécanisme de la photosynthèse.

Les produits formés par la photosynthèse sont des hydrates de carbone, de faible masse moléculaire (oses). A partir de ces oses sont ensuite formés tous les métabolites primaires nécessaires à la survie de la plante tels que les glucides complexes (polymères comme la cellulose, l'amidon ou les pectines), acides aminés (constitutifs des protéines), acides gras (constitutifs des lipides).

C'est également à partir de ces premiers oses que se forment les substances dont le rôle dans la plante est encore souvent mal connu, nous citerons les métabolites secondaires. [141]. Ils sont le plus souvent classés en trois catégories principales : composés phénoliques, terpènes et stéroïdes, alcaloïdes.

Les extraits végétaux d'*A. campestris* L. contiennent une proportion importante de composés phénoliques notamment les flavonoïdes ( $3.97 \pm 0.2$ ) et les tanins.

Les tests phytochimiques de certains chercheurs [142] sur l'extrait aqueux de cette même espèce révèlent la présence de plusieurs familles de composés chimiques (stéroles, flavonoïdes et triterpènes).

L'effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux d'*Artemisia campestris* est attribué à la teneur en composants présents réduisant ainsi le processus de l'inflammation.

Selon TAMARA, (1998) l'*Artemisia campestris* L. est constituée de flavones, flavonones, dihydroflavonols, acetophénones, coumarin et triterpènes. Le kaempferol qui a une action anti-inflammatoire est l'un des constituants des dihydroflavonols [143].

Selon SALVADOR et CHISVERT, (2007) les flavonoïdes seront à l'origine de l'effet anti-inflammatoire.

Les résultats obtenus montrent que l'effet le plus intense et le plus rapide a été observé chez l'écotype de M'sila, qui contient un taux de flavonoïdes ( $4.10 \pm 0.05$  mg/g) plus élevé par rapport aux plantes des autres écotypes de Biskra et Djelfa avec respectivement  $4.06 \pm 0.05$  mg/g et  $3.75 \pm 0.03$  mg/g.

Ainsi les flavonoïdes sont souvent présentés comme anti-inflammatoire. Ils sont compatibles avec les interactions des polynucléaires et les thrombocytes ou encore avec le métabolisme de l'acide arachidonique [39].

Les caroténoïdes sont largement utilisés dans l'industrie cosmétique et pharmaceutique pour leurs propriétés antioxydantes, photo-protectrice, pro-vitaminiques et anti-inflammatoire [145].

Nous pouvons déduire que, l'intérêt thérapeutique de la plante est dans sa richesse en composés phénoliques et chimiques qui sont à l'origine des composantes de métabolisme primaire.

## CONCLUSION

Le travail que nous avons réalisé, sur l'étude agro-biologique et biochimique de l'*Artemisia campestris* a montré que les paramètres étudiés présentent des modifications sous l'effet de facteurs de milieu (le sol et le climat). La physiologie des plantes varie sous les conditions abiotiques selon les étages bioclimatiques.

L'étude phénologique de la plante fait ressortir que les phénophases dépendant des facteurs abiotiques du milieu. Nous avons enregistré une précocité des stades biologiques chez l'écotype Biskra.

Le taux de reprise après germination *in-vitro* est de 83%. Les trois écotypes ont une aptitude de germination très élevée en condition in-vitro. La provenance des plantes n'a aucun effet sur le taux germination.

Le dosage des paramètres physiologiques et biochimiques montre que le facteur région a un effet significatif sur l'accumulation des éléments inorganiques et les éléments organiques.

En effet, la variation de la teneur en proline et en sucre est remarquable selon les écotypes. Le taux de sucres solubles le plus élevé est enregistré chez l'écotype Biskra ( $5.58 \pm 0.48$   $\mu\text{g/g}$  de MF) et le taux le plus faible est enregistré chez l'écotype Djelfa avec une moyenne de  $3.13 \pm 0.06$   $\mu\text{g/g}$  de MF.

La synthèse de la proline est liée au métabolisme des sucres. Le taux le plus élevé en proline est observé chez l'écotype Biskra avec une moyenne de  $2.17 \pm 0.01$   $\mu\text{g/g}$  de MF. La synthèse de la chlorophylle est liée au métabolisme des sucres, de proline et des protéines.

Nous pouvons déduire qu'en allant de la région semi-aride de Djelfa à la région pré-saharienne de Biskra, une diminution du taux de la chlorophylle et des caroténoïdes est observée. Nous avons enregistré un taux de chlorophylle et de caroténoïdes avec respectivement  $0.8 \pm 0.2$   $\mu\text{g/g}$  de MF,  $1.73 \pm 0.02$   $\mu\text{g/g}$  de MF respectivement) plus élevé chez l'écotype Djelfa, le taux le plus faible est enregistré chez l'écotype Biskra.

Parallèlement, il y a eu une augmentation de la teneur des composés organiques tels que sucres totaux, la proline et les protéines.

Ces composés retrouvés en quantité importante montrent des modifications physiologiques et biochimiques influencés par les variations du milieu.

Une corrélation entre les paramètres physiologiques, biochimiques et les variations du milieu est constatée. Cette corrélation est marquée par une diminution de taux de pigments végétaux (chlorophylle<sub>(a)</sub>, chlorophylle<sub>(b)</sub> et caroténoïdes) et une augmentation des composés organiques (sucres, proline et protéines) chez les deux écotypes de la région aride et la région près-aharienne. Contrairement aux plantes de la région semi- aride (Djelfa), nous enregistrons une augmentation des teneurs des pigments et une réduction de teneur des composés organiques.

La plante accumule les sucres, proline et protéines pour surmonter un effet de stress (hydrique ou salin). En effet elle ralentie la croissance de certains de ses organes (réduction des surfaces foliaires).

Ce phénomène suppose qu'il y a eu ajustement osmotique qui permet à la plante de poursuivre sa croissance de façon ralentie, grâce à une bonne résistance aux contraintes des facteurs abiotiques.

Concernant les éléments minéraux, ils varient selon l'accumulation des protéines et des sucres solubles. Nous avons enregistré une augmentation de la teneur en sodium accompagnée d'une diminution de la teneur potassium.

Les tests pharmaco-toxicologiques ont montré que *l'Artemisia campestris* possède une propriété médicinale. L'espèce ne présente aucun effet toxique. Les résultats du test anti-inflammatoire ont montré cette propriété en comparaison avec le Diclofenac de sodium.

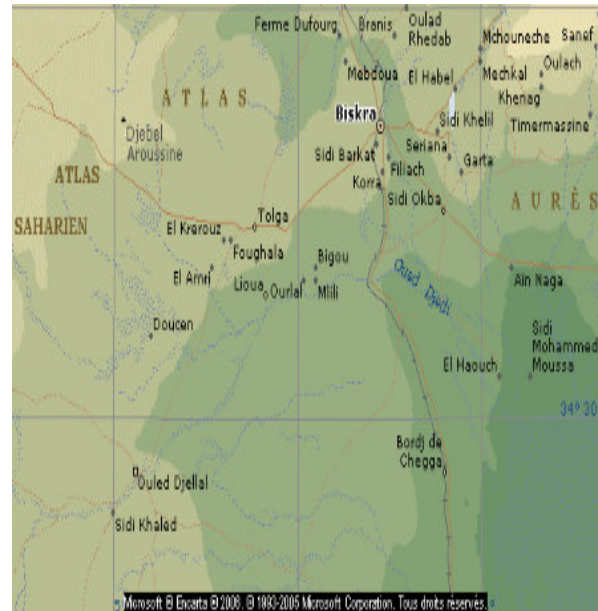
Ces résultats restent préliminaires et méritent d'être approfondis.

## ANNEXES

## ANNEXE 1. Cartes géographiques des régions d'étude



a- Djelfa



b- Biskra



c- M'sila.

**ANNEXE 2.a : Moyennes mensuelles des précipitations Station : DJELFA**

(Période 1994 – 2003).

Mois	Jan.	Fév.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juill.	Aout	Sep.	Oct.	Nov.	Déc.
1994	49,8	52	20	6	9,6	1,4	3,9	17,6	96	77,8	28,4	8,3
1995	44,2	12,7	49,8	11,2	8,5	46,2	0	12,5	10,5	26,4	6,5	25,7
1996	92	74,7	58,3	57	51,1	26,7	5,5	27,9	15,6	2,8	0,6	26,9
1997	40,4	4,6	0,5	87,4	44	9,2	2,4	44,5	76,8	11	55,4	19
1998	6,5	25,7	4,7	34,6	37,6	1,7	0	18,6	27,5	4,8	3,6	6
1999	61,1	23,5	24,4	9,1	3,4	15,8	2,6	16,6	25,1	28,9	26	68,6
2000	0	0	1,2	9,7	27,2	3,2	0,4	1,5	63,4	8,2	8,2	23
2001	59,6	12	0,2	3,7	3,1	0	0,4	22,8	78,1	28,1	12,4	17,5
2002	10,9	5,3	2,2	38,5	5,2	6,1	13,4	35,6	7,8	15,3	38	38
2003	55,1	45,3	13,2	17,8	14,8	2,9	4,6	0,7	32,5	43,9	41,5	54,3

**ANNEXE 2.b. Moyennes mensuelles des températures en °C (station de M'sila durant deux décennies 1988 – 2008) [93].**

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juill	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc
m(C°)	3,48	4,36	7,61	10,55	16,04	20,95	24,42	24,12	19,23	14,56	8,33	4,6
m(C°)	13,98	16,21	20,23	23,06	27,93	34,64	38,62	38,02	32,17	25,68	18,8	14,15
M+m/2	8,73	10,28	13,92	16,8	21,98	27,79	31,52	31,07	25,7	20,12	13,56	9,37

**ANNEXE 3.** Technique de la double coloration :

- Faire des coupes très fines à l'aide d'une lame.
- Les coupes sont traitées par une solution d'hypochlorite de sodium à 12% pendant 20 minutes, pour détruire le contenu cellulaire.
- Lavage des coupes dans deux bains successifs d'eau distillée et d'acide acétique à 1%, qui élimine les traces d'hypochlorite restantes et qui facilite la fixation ultérieure de réactif de coloration.
- Colorer 15 à 20 minutes dans le vert de méthyle.
- Rincer les coupes à l'eau courante pendant 10 minutes.
- Colorer 15 à 20 minutes dans le rouge de Congo.
- Dernier lavage par l'eau distillée pour éliminer l'excès de colorant ; monter les coupes colorées entre lame et lamelle puis observer au microscope photonique.



**ANNEXE 4.** Milieu de culture de MURACHIGE et SKOOG, (1963) :

<b>Constituants</b>	<b>Concentration mg/l</b>
<b>Macro – éléments:</b> NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> KNO <sub>3</sub> MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O CaCl <sub>2</sub> , 2H <sub>2</sub> O KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1650 1900 370 440 170
<b>Micro – éléments:</b> H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> KI MnSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O Na <sub>2</sub> Mo <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	6,2 0,83 22,30 8,60 0,25 0,025 0,025
<b>Fer – EDTA:</b> Fe SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O Na <sub>2</sub> EDTA	27,8 37,3
<b>Vitamines:</b> Acide nicotique Myo – inositol Pyridoxine – HCL Thiamine – HCL	5 100 5 1
<b>Acides aminés</b> Glycine	2
<b>Saccharose</b>	20000
<b>Agar</b>	8000

ph = 5.8

**ANNEXE 5.** Préparation de l'extrait méthanolique :

Nous introduisons 1,5 g de la poudre végétale dans des tubes à essai contenant 10 ml de méthanol à 80%, après agitation pendant 15 minutes les extraits sont filtrés. Le filtrat obtenu est l'extrait méthanolique.

**ANNEXE 6.** La technique de minéralisation par calcination (AFNOR, 1988):

- Homogénéiser la poudre végétale finement broyée et la sécher pendant 16 heures à 70 °C et refroidir durant 30 minutes au dessiccateur.
- Peser 2 g dans une capsule en silice ou en porcelaine.
- Disposer la capsule dans un four à moufle froid, élever la température progressivement à 550 °C, refroidir.
- Humecter les cendres par 2 à 3 ml d'eau distillée et 1 ml d'HCl concentré (lentement ajouté).
- Chauffer sur plaque chauffante jusqu'à l'apparition des premières vapeurs, ajouter quelques ml d'eau distillée.
- Filtrer sur filtre sans cendre, dans une fiole jaugée de 100 ml, rincer la capsule 3 ou 4 fois à l'eau tiède (30° à 40° C).
- Incinérer le papier filtre et son contenu dans la capsule pendant une demi-heure à 550° C.
- Reprendre par 5 ml d'acide fluorhydrique.
- Aller à sec sur plaque chauffante douce sans dépasser 100° C.
- Reprendre par 1 ml d'HCl concentré, laver à l'eau tiède, puis filtrer.
- Après refroidissement les fioles ont été ajustées avec de l'eau distillée.

### ANNEXE 7. Méthode de DUBOIS, (1956) de dosage des sucres solubles :

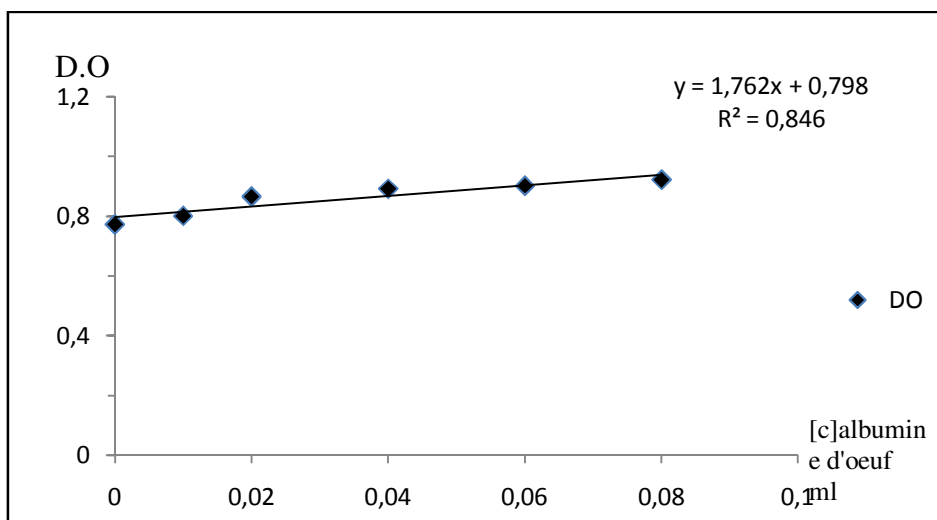
Macération de 100 mg de matière fraîche dans 2 ml de l'éthanol à 80 % de concentration. Après 48 heures de repos dans la température ambiante, les tubes sont mis au bain marié réglé à une température de 70°C ; pour faire évaporer l'alcool, puis sont refroidis, aux quels on a ajouté 20ml de l'eau distillée. 1ml a été prélevé de la solution précédente auquel on a ajouté 1ml de phénol à 5%.

Bien agiter les tubes, puis repos à la température ambiante pendant 10 minutes, puis les passer au bain marie à une température de 30°C pendant 15 minutes. Ensuite, procéder à la lecture par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 490 nm.

### ANNEXE 8.a. Solutions tampons potassique utilisées pour l'extraction des protéines :

- Solution A 0.1M de phosphate monopotassique : 13,6 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 100 ml d'eau distillée ((136,09 x 0,1 = 13,6g/L).
- Solution B 0.1M de phosphate dipotassique: 17,4 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  + 100 ml d'eau distillée.
- Pour avoir une solution a pH=7 on mélange les deux solutions A et B.
- Solution de KCl (0,1M) : 119,2 g de KCl dans 1000 ml d'eau distillée.

### ANNEXE 8.b. Courbe d'étalonnage des protéines



**ANNEXE 9.** Analyse de la variance :

## a- Analyse de la variance : Chlorophylle.

	S.C.E	DDL	Carres moyens	TEST F	PROBA	E.T	C.V
Var. totale	1.69	44	0.04				
Var. facteur	1.67	2	0.84	2777.01	0.000		
Var. résiduelle	0.02	12	0.00			0.02	3.3%

## b- Analyse de la variance : Caroténoïde.

	S.C.E	DDL	Carres moyens	TEST F	PROBA	E.T	C.V
Var. totale	4.90	44	0.11				
Var. facteur	4.89	2	2.45	7321.81	0.0000		
Var. résiduelle	0.01	42	0.00			0.02	1.4%

## c- Analyse de la variance : Sucres totaux.

	S.C.E	DDL	Carres moyens	TEST F	PROBA	E.T	C.V
Var. totale	48.82	44	1.11				
Var. facteur	45.57	2	22.79	294.91	0.000		
Var. résiduelle	3.25	42	0.08			0.28	6.5%

## d- Analyse de la variance : Proline.

	S.C.E	DDL	Carres moyens	TEST F	PROBA	E.T	C.V
Var. totale	9.64	44	0.22				
Var. facteur	9.62	2	4.81	10091.57	0.000		
Var. résiduelle	0.02	42	0.00			0.02	1.4%

## e- Analyse de la variance : Protéines.

	S.C.E	DDL	Carres moyens	TEST F	PROBA	E.T	C.V
Var. totale	401.60	44	9.13				
Var. facteur	239.24	2	119.62	30.94	0.000		
Var. résiduelle	162.36	42	3.87			1.97	12.1%

## f- Analyse de la variance : Sodium.

	S.C.E	DDL	Carres moyens	TEST F	PROBA	E.T	C.V
Var. totale	48095.66	44	1093.08				
Var. facteur	40141.53	2	20070.76	105.98	0.000		
Var. résiduelle	7954.13	42	189.38			13.76	7.6%

## g- Analyse de la variance : Potassium.

	S.C.E	DDL	Carres moyens	TEST F	PROBA	E.T	C.V
Var. totale	3196.98	44	72.66				
Var. facteur	3080.71	2	1540.36	556.44	0.000		
Var. résiduelle	116.27	42	2.77			1.66	3.3%

## h- Analyse de la variance : Flavonoïdes.

	S.C.E	DDL	Carres moyens	TEST F	PROBA	E.T	C.V
Var. totale	1.15	44	0.03				
Var. facteur	1.07	2	0.53	292.58	0.000		
Var. résiduelle	0.08	42	0.00			0.4	1.1%

**ANNEXE 10.** Test anti-inflammatoire (Evolution du l'œdème de la patte de la souris).

- Ecotype de Biskra 1<sup>ère</sup> dose (0.1 g/ml) :

Poids (g)	Mesure de la patte de la souris (mm)								
	Pts/avant (mm)	Inj.	30min	60min	90min	120min	150min	180min	210min
21	2,46	3,14	2,66	2,78	2,64	2,48	2,46	2,46	2,4
25	2,44	2,66	2,66	2,66	2,54	2,46	2,45	2,44	2,44
23	2,16	2,72	2,68	2,56	2,46	2,26	2,2	2,16	2,16
22	2,3	2,76	2,64	2,6	2,56	2,52	2,48	2,42	2,38
22	2,4	3,14	2,86	2,78	2,64	2,48	2,46	2,46	2,4
20.5	2,1	2,7	2,68	2,56	2,46	2,26	2,2	2,16	2,1
25	2,18	2,8	2,72	2,68	2,56	2,46	2,26	2,2	2,18
24	2,26	2,98	2,64	2,48	2,46	2,38	2,3	2,3	2,28
23	2	2,8	2,6	2,6	2,43	2,41	2,36	2,2	2,13
22	2,5	3	2,8	2,6	2,56	2,5	2,5	2,5	2,5

- Ecotype de Djelfa 1<sup>ère</sup> dose (0.1 g/ml) :

Poids (g)	Mesure de la patte de la souris (mm)								
	Pts/avant (mm)	Inj.	30min	60min	90min	120min	150min	180min	210min
24	2,26	2,98	2,64	2,48	2,46	2,38	2,3	2,3	2,28
25	2	2,64	2,54	2,44	2,4	2,36	2,3	2,26	2
23	2,18	2,84	2,4	2,36	2,28	2,26	2,2	2,18	2,18
21	2,26	2,66	2,58	2,32	2,3	2,26	2,26	2,26	2,26
22	2,3	2,9	2,8	2,7	2,56	2,46	2,4	2,33	2,3
22	2,16	2,7	2,7	2,6	2,5	2,42	2,3	2,21	2,16
23	2,2	2,9	2,7	2,63	2,48	2,38	2,26	2,2	2,2
25	2,4	3	2,9	2,6	2,52	2,46	2,4	2,4	2,4
20	2,1	2,8	2,6	2,6	2,53	2,41	2,36	2,13	2,1
20.5	2	2,6	2,6	2,48	2,4	2,36	2,28	2,2	2

- Ecotype de M'sila 1<sup>ère</sup> dose (0.1 g/ml) :

Poids (g)	Mesure de la patte de la souris (mm)								
	Pts/avant (mm)	Inj.	30min	60min	90min	120min	150min	180min	210min
20	1,98	2,33	2,8	2,5	2,68	2,61	2,58	2,5	2,5
22	2	2,46	2,9	2,66	2,62	2,62	2,52	2,48	2,48
23	2,3	2,8	2,9	2,6	2,7	2,68	2,6	2,53	2,48
21	2	2,7	2,6	2,6	2,56	2,53	2,48	2,4	2,3
25	2,4	3,1	3	2,92	2,9	2,87	2,8	2,68	2,6
23	2,3	3	2,9	2,7	2,6	2,6	2,53	2,48	2,38
27	2,6	3,3	3	2,97	2,9	2,82	2,7	2,65	2,6
20	2,2	2,8	2,66	2,62	2,56	2,52	2,48	2,44	2,43
25	2,33	2,92	2,9	2,9	2,89	2,88	2,8	2,77	2,7
24	2,42	3	2,8	2,76	2,72	2,6	2,54	2,5	2,46

- Ecotype de Biskra 2<sup>ème</sup> dose (0.2 g/ml) :

Poids (g)	Mesure de la patte de la souris (mm)								
	Pts/avant (mm)	Inj.	30min	60min	90min	120min	150min	180min	210min
24	2,32	2,9	2,82	2,62	2,6	2,54	2,5	2,4	2,33
25	2,34	2,96	2,72	2,68	2,56	2,48	2,4	2,34	2,34
23	2,38	3	2,66	2,46	2,46	2,74	2,5	2,41	2,38
21	2,24	2,6	2,46	2,38	2,36	2,24	2,24	2,24	2,24
22	2	2,86	2,62	2,56	2,34	2,68	2,6	2,42	2,4
22	2,3	2,9	2,8	2,6	2,6	2,54	2,5	2,4	2,3
23	2,43	3	2,9	2,72	2,68	2,56	2,48	2,45	2,44
25	2,2	2,8	2,7	0,62	2,56	2,4	2,38	2,3	2,22
20	2,12	2,8	2,9	2,6	2,5	2,35	2,26	2,12	2,12
20.5	2,1	2,7	2,7	2,5	2,4	2,36	2,2	2,1	2,1

- Ecotype de Djelfa 2<sup>ème</sup> dose (0.2 g/ml) :

Poids (g)	Mesure de la patte de la souris (mm)								
	Pts/avant (mm)	Inj.	30min	60min	90min	120min	150min	180min	210min
20	2,46	3,14	2,66	2,78	2,64	2,48	2,46	2,46	2,4
22	2,44	2,66	2,66	2,66	2,54	2,46	2,45	2,44	2,44
23	2,16	2,72	2,68	2,56	2,46	2,26	2,2	2,16	2,16
21	2,3	2,76	2,64	2,6	2,56	2,52	2,48	2,42	2,38
25	2,4	3,14	2,86	2,78	2,64	2,48	2,46	2,46	2,4
23	2,1	2,7	2,68	2,56	2,46	2,26	2,2	2,16	2,1
27	2,18	2,8	2,72	2,68	2,56	2,46	2,26	2,2	2,18
20	2,26	2,98	2,64	2,48	2,46	2,38	2,3	2,3	2,28
25	2	2,8	2,6	2,6	2,43	2,41	2,36	2,2	2,13
24	2,5	3	2,8	2,6	2,56	2,5	2,5	2,5	2,5

Ecotype de M'sila 2<sup>ème</sup> dose (0.2 g/ml) :

Poids (g)	Mesure de la patte de la souris (mm)								
	avant (mm)	Inj.	30min	60min	90min	120min	150min	180min	210min
21	2,26	2,98	2,64	2,48	2,46	2,38	2,3	2,3	2,28
22	2	2,64	2,54	2,44	2,4	2,36	2,3	2,26	2
23	2,18	2,84	2,4	2,36	2,28	2,26	2,2	2,18	2,18
24	2,26	2,66	2,58	2,32	2,3	2,26	2,26	2,26	2,26
23	2,3	2,9	2,8	2,7	2,56	2,46	2,4	2,33	2,3
22	2,16	2,7	2,7	2,6	2,5	2,42	2,3	2,21	2,16
24	2,2	2,9	2,7	2,63	2,48	2,38	2,26	2,2	2,2
25	2,4	3	2,9	2,6	2,52	2,46	2,4	2,4	2,4
21	2,1	2,8	2,6	2,6	2,53	2,41	2,36	2,13	2,1
20	2	2,6	2,6	2,48	2,4	2,36	2,28	2,2	2

- Témoin :

Poids (g)	Mesure de la patte de la souris (mm)								
	Pts/avant (mm)	Inj.	30min	60min	90min	120min	150min	180min	210min
20	2,5	2,7	2,6	2,8	2,7	2,72	2,71	2,7	2,6
22	2,16	2,7	2,6	2,5	2,6	2,62	2,62	2,63	2,63
23	2,4	2,7	3,2	2,8	2,78	2,79	2,78	2,79	2,79
21	2,3	3,3	2,8	2,9	3,1	2,9	2,91	2,92	2,92
25	1,9	2,6	3,2	2,5	2,7	2,4	2,46	2,48	2,5
23	2,1	3	2,7	2,75	2,75	2,76	2,78	2,76	2,76
27	2,1	2,9	2,7	2,7	2,72	2,74	2,75	2,76	2,76
20	2,5	3,1	2,7	2,71	2,73	2,9	2,9	2,58	2,56
25	2,2	2,9	2,8	2,81	2,83	2,83	2,84	2,84	2,84
24	2,2	2,7	2,6	2,7	2,7	2,73	2,74	2,76	2,75

- Declofenac de Na.

Poids (g)	Mesure de la patte de la souris (mm)								
	Pts/avant (mm)	Inj.	30min	60min	90min	120min	150min	180min	210min
21	2,2	2,9	2,6	2,5	2,6	2,4	2,38	2,3	2,24
22	2,1	3,1	2,5	2,3	2,5	2,35	2,3	2,21	2,1
23	2,3	3,1	2,7	2,6	2,5	2,32	2,3	2,3	2,3
24	2,22	2,5	2,56	2,42	2,22	2,22	2,22	2,22	2,22
23	2,36	2,9	2,58	2,56	2,56	2,46	2,4	2,38	2,36
22	2,2	2,46	2,36	2,3	2,28	2,28	2,26	2,24	2,2
24	2,22	2,62	2,52	2,44	2,4	2,38	2,36	2,34	2,3
25	2,2	2,9	2,6	2,5	2,42	2,22	2,2	2,2	2,2
21	2,1	3	2,7	2,6	2,5	2,38	2,3	2,28	2,2
20	2,4	3,2	2,8	2,7	2,58	2,46	2,44	2,4	2,4



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Unesco, "Les plantes médicinales des régions arides. Recherches sur les zones arides ", Rve., Paris, (1996), 99 p.
2. Quezel P., Babero M., " Variations climatiques au Sahara et en Afrique sèche depuis le Pliocène " : Enseignement de la flore et de la végétation actuelle, Bull. Ecol., 1993 ; 24 : 191-202.
3. Higazy M ; Shehata M ; Allam A. " Free proline relation to salinity of three sugar beet varieties ". Egypt J. Agric Res, (1995) ; 73 : 175-89.
4. Ozenda P. " Observation sur la végétation d'une région semi aride : les hauts plateaux du Sud Algérois ". Bull Soc Hist Nat AFN, (1954) ; 45 : 189-224.
5. Gaucher F, Burdin S. " Géologie, géomorphologie et hydrologie des terrains salés ". Paris : PUF, (1974) ; 234 p.
6. Hamdy A. " Saline irrigation and management for a sustainable use. In : Advanced Short Course on Saline Irrigation Proceedings ", Thèse de doctorat, Agadir Marocco, (1999) : 152-227.
7. Aziz H., Abdelmadjid B., Mostefa S., "Évolution de la pluviosité annuelle dans quelques stations arides algériennes", Science et changements planétaires/ Sécheresse. Volume 18, N° 4, 314-20, Article scientifique DOI : 10.1684/sec., 2007. 99 p.
8. Jean-Pierre Willem, " Les huiles essentielles, une médecine d'avenir ", ed. Tec. & Doc. Paris, (2000), 120-131.
9. Deysson G., " Organisation et classification des plantes vasculaires ", 2<sup>ème</sup> partie : systématique, société d'édition d'enseignement supérieure et CDU réunis, Paris, (1979).
10. Quezel, P., Santa, S., " La nouvelle flore de l'Algérie et des régions méridionales désertiques " .2T.CNRS, Paris, (1963) ,1170p.
11. Chadefaud M. et Embergger L., " Traité de botanique (systématique). Les végétaux vasculaires ", tome 2, Masson et C<sup>ie</sup> éditeurs, Paris,(1960),75-88.
12. Rodolphe Edouard Spichiger et *al.*, " Botanique systématique des plantes à flores", Presses polytechnique et universitaire ramandes, Lausanne, (2004), 328, 383, 413p.
13. Meon H., " Aller. Immunologie ". (1987), 2 : 2013-2018.

14. Banque de spectre de référence, Librairie NBS, CNRS, Lyon, (1987), 185-193.
15. M. C. Clintock D. et Fitter R.S.R., " Guide des plantes à fleurs de l'Europe occidentale", Ed. Delachaux et Niestlé Neuchatel, Suisse, (1964), 782p.
16. Benabelkader Tarek, " Contribution à l'étude phytochimique et chimio taxonomique et biologique de dgouft (*Artemisia campestris*) ", Mémoire de magister, INES Kouba, alger, (2005), 145p.
17. De Lima T.C.M., Morato G.S. and Takahachi R.N., "Planta Med", (1993), 59: 326-326.
18. Baba aissa F., " Encyclopédie des plantes médicinales " ; édas. Librairie moderne, Rouiba-Alger, (1999), 18-25.
19. Keleey R.G. and Shafi Wadeh F., "Phytochemistry", (1997), 18; 159-1611.
20. Tamara K. et Jade B., " Herbal Remedies ", John Wiley & Sons, (1996), 64 p.
21. Maire R., " Flore de l'Afrique du nord ", vol. 7, Ed. Le Chevalier, Paris, (1962), 581-591.
22. Ozenda P., " Flore du Sahara septentrional et central ", CNRS; Louis-Jan. Gop., Paris, (1983), 486p.
23. Besser, W.S., "Bull. Soc. Imp. Natl. Mosc", (1829), 1: 219p.
24. Pignatti S., "Flora d'Italia", vol. 3, Ed. Agricole, <http://it.altervisita.org>, (1982), 18-20.
25. Tutin, T.G. et *al.*, " Flora Europaea ", second edition, <http://it.altervisita.org>, (1993), 145p.
26. Zangheri P., "Flora Italica", Voll. 2, Cedam. <http://it.altervisita.org>, (1976), 125p.
27. Beloued, " Plantes médicinales d'Algérie", O.P.U. Alger, (1998), 239p.
28. Abdelkader Ali Halimi, " Les faveurs racontées des plantes médicinales", O.P.U. Alger, (1996), 195p.
29. Romagenesl H., Weill J., Charbonnet J., " Atlas de plantes médicinales", Ed. Lebel, Paris, (1988), pp55-187.
30. OZENDA P., "Flore et végétation du Sahara", 2<sup>ème</sup> ed. Centre National de la recherche scientifique (CNRS), Paris, (1991), 662 p.
31. Dronnet Erick ; " Botanique générale", Art., Association *TELA BOTANICA*, [tela-botanica.org](http://tela-botanica.org). Institut de Botanique. Montpellier, (2003), 18p.

32. Baba Aissa F., “ Les plantes médicinales en Algérie”, Coédition Bouchène et Ad-diwan, Alger, (1991), 368p.
33. Benoit vical F. “ Dictionnaire des astuces”, Ed. Chihab. Alger, (1993), 398p.
34. Rojatkar S.R., Pawar S.S., Pujar P.P., Sawaikar B.B., Gurunath S., Sathe V.T. and Nagasampagl B.A., “ Phytochemistry”, Vol. 4, (1996), 1105-1106.
35. Akrouf, A., Chemli, R., Chreïf, I., Hammami, M. “Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L.”, Flavour. Frag. J., Tunisie, (2001) ,16(5): 337-339.
36. Ali Adidjoui, “ Encyclopédie des plantes médicinales et aromatiques”, Tome 1, Ed. Atlas, Egypte, (1996), 487p.
37. Boukef P.M.K., “ Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne”, Agence de coopération culturelle et technique, Paris, (1986), p384.
38. Le houerou H.N., “ Les pâturages de l'Afrique du Nord: Typologie, production, productivité et développement” Coll. Intem. sur Invelt. et Cartogr.de l'Afrique Tropicale, Bamako, Centre International pour l'Elevage en Afrique, Addis Abeba, (1975), 40-55.
39. Benchelah A., Bouziane H., Maka M. et Omaches C., “ Fleurs du Sahara, voyage enthobotanique avec les touaregs du Tassili”, Ibis. Press. et attantica, Paris, (2000), P12.
40. M. El Midaoui, M. Benbella, A. Aït Houssa, M. Ibriz & A. Talouizte, “Contribution a l'étude de quelques mecanismes d'adaptation à la salinité chez le tournesol cultivé (*Helianthus annuus* L.)”, HTE N°136, Maroc, (2007), 29p
41. Guingnard Jean Louis , “ Biotechnologie végétale”, 2<sup>eme</sup> edition Dunod, Paris, (2000), 29-38.
42. Hopkins, “Physiologie végétale”, 2<sup>eme</sup> edition De Boeck and Larcier. s.a., Paris, (2003), 45-58.
43. Meyer S., Reeb C., Bosdeveix R., “Botanique. Biologie et physiologie végétale”, Edition Maloine, Paris, France, (2004), 487p.
44. Nilsen E.T.; David M.; Orcut T., “Physiology of plant unders stress. Abiotics factors”, Ed. John Wiley and Sons, INC Newyork, (1996), 689p.
45. Mazliak P., “ Physiologie végétale. Nutrition et métabolisme”, Ed. Hermann, Paris, (1974), 349p.

46. Savouré Bernard, " Manipulations pratiques en physiologie végétale", Edition Masson, Paris, (1980), 258p.
47. Grenway H. et Munns R., "Mechanisms of salt tolerance in no halophytes", Annu. Rev., plant. physiol., (1980), 31: 149-190.
48. Heller R., "Biologie végétale ", Tome 2. Nutrition et métabolisme, Ed. Masson, Paris, (1969), 547p.
49. Martin P., Gagnard J., et Gaytier P., " Plant analysis as guide the nutrient requirement of temperate and tropical corps", Ed. Lavoisier, Paris, (1987) 122p.
50. Wang Zl., Huang BR., Xu Qz., " Effect of abscissic acid on drought resposes of kentucky bluegrass", J. Am., ed. Soc. Hot Sci. , (2003), 128p ; 36-41.
51. Loue A., "Oligo-éléments en agriculture", Ed. agri. Nathan-International; (1989), 339p.
52. Brown S.B., Houghton J.D., Hendry G.A.F., "Chlorophyll Breakdown, Chlorophylls", CRC Press . (1991), 465p.
53. Lebeau P., Janot M.M. ; "Traité de pharmacie chimique ", Tome 2, ed. Masson et Cie (1955), 3733p.
54. Murphy Cowan M., "Plant products as antimicrobiology reviews. American Society for microbiology", v.12, n° 4, (1999), 564-582.
55. Bruneton Jean , " Phytochimie. Plantes médicinales", 3<sup>eme</sup> édition. Technique et Documentation, Paris, France, (1999), 3 ; 298-383.
56. Daayf F. et Lattanzio V., "Recent Advances in polyphenol research", Blackwell Publishing Ltd. United Kingdom and U.S.A. V.I., (2008), 393p.
57. Arnal-Schnebelen B., Goetz P, and Paris M., "Santé référence: Phytothérapie. La santé par les plantes", Sélection du reader's Digest, Vidal, Canada, (2007), 448p.
58. Dellil L., " Les plantes médicinales d'Algérie", BERTI., Alger, (2007), 240p.
59. Iserin P., Masson M.; Restellini J-P Ybert E. ; DE La Rouque R. et Vican P., "Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification. préparation. Soins", Larousse /VUEF., Paris, (2001), 335p.
60. Kameli A. and Losel D.M., "Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress", Journal Plant Physiology, (1995), p145, 636-366.

61. Bammoun, " Contribution à l'étude de quelques caractéristiques morphologiques, biochimique et moléculaires chez 13 variétés de blé dur, région des hauts plateaux de l'ouest Algérien", Thèse de magister, Institut des sciences et de la technologie Houari Boumediene, Alger, (1997), 169p.
62. Parker R.V., "Monthly variation in the chemical composition of desert saltbush. J. Range. Physiology and biochemistry", *Plant physiol.*, (1968); 97:515-522.
63. Popp T.; Smirnov N.; Nylander M. and Palva ET., "Characterization and differential expression of DHN.LEA. RAB. like genes cold-acclimation and drought stress in *Abidopsis thaliana*", *Plant. Mol. Biol.*, (1995), 26 : 131-44.
64. Benabdallah M. et Bensalem N., "Paramètre morphologiques de la callogenèse chez l'*Atriplex halimus* L. sur des milieux de culture dépourvus d'hormones de croissance. Rôle des éléments minéraux", *Bull. Soc Bot fr. lettres Bot.*, (1993), 31-119.
65. Gillet B., " Caractérisation moléculaire de CDSP3<sub>4</sub> protéine induit par le déficit hydrique chez *Solanum tuberosum* L. implication potentielle dans la protection des thylakoides lors des contraintes environnementales", Thèse de doctorat, sciences agronomiques, (1998), 85-165.
66. Bonhert H.J.; Nelson D.E. and Jensen R.G., "Adaptation to the environmental stress". *Plant Cell.* 7, (1995), p1099-1111.
67. Delaunay A.J. and Verma D.P., "Proline biosynthesis and osmoregulator in plants"., *Plant J.* 4, (1993), 215-223.
68. Singh T.N. ; Paleg L.G. et Aspinall D., " Nitrogen metabolism and growth in barley plant during water stress". *Aust. J. Boil. Sci.*, (1973), 26 : 45-56.
69. Paquin R., " Effet de l'humidité du sol sur la teneur de la proline libre et des sucres totaux de la luzerne endurcie au froid et à la secheresse ", *can. J.Plant. Scie.*, (1986), 66, 95-101.
70. SANTORO M. ; De Simone NA. ; Lingle WL. And Dure L., "Increased thermal stability of proteins in the presence of naturally occurring osmolytes", *Biochem*, (1992), 31: 5278-5283.
71. MC. MICHEL BH and ELMORE CD., "Proline accumulation in water stress cotton leaves", *Corps Science*, (1977), 17: 905-908.

72. Lionel Germosén-Robineau, “ Farmacopea caribeña”, Primera. Edition Emile Désormeaux Martinique, France, (1997), 156p.
73. Driss Lamnaouer, “Plantes médicinales du Maroc : “Usages et toxicité”. Département de Pharmacie-toxicologie Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, art., MAROC, (2004), p10.
74. Danielle Roux et Odile Catier “ Botanique, pharmacognosie, phytothérapie ”, 3<sup>rd</sup> ed. Collection Porphyre Wolters Kluwer (2007), 1587p.
75. J.Vercauteren, “ Plans, schémas, formules du cours de pharmacognosie”, Troisième années pharmacie, Université de Montpellier, France, (2011), 310p.
76. H. Gerhard Vogel, “ Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays”, Third edition Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, (2008), 394p.
77. Gazengel J.Metorecchioni A.M., “Le préparateur en pharmacie: Guide théorique et pratique”, Ed. Tec et Doc., (1999), 1443p.
78. Viala A., “Toxicologie : Pharmacologie”, Ed. Tec and Doc., Paris, (1998), 1094p.
79. Peguy, C., “ Précis de climatologie”, ED. Masson, Paris, (1970), 468p.
80. Haddad, A., “ Contribution à l'étude de la production du Cèdre de L'Atlas en fonction des facteurs stationnels dans le Parc National de Chréa”, mémoire de Magister, INA, Alger, (1998), 12-15.
81. R. Hammouche, “ Atlas. Vent de l'Algérie”, Publication Interne de l'ONM, Office National de Météorologie, Alger, (1990), 12p.
82. Sahara K., “ Essais de recensement de quelques espèces et perspectives en apiculture (cas de la wilaya de Djelfa)”, Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie, Université de Djelfa, (2003), 132p.
83. Abderrahim BENSEGHIR, “Contribution à l'étude de l'état nutritionnel par la méthode du diagnostic foliaire de trois variétés d'abricotier (*Prunus armeniaca* L.) en zone aride (commune de Doucen - w. Biskra) ”, mémoire d'ingénieur d'état en Agronomie, Université de Biskra, (2006), 112p.
84. Anonyme, Direction générale des forêts. Antenne M'sila, (2000), 12p.
85. Melzi S. , “ Dynamique des parcours présahariens”, IV<sup>ème</sup> congrès international des terres des parcours, Résumés, Montpellier du 12 au 26 avril 1991, 125p.

86. Daoud Y, Halitim A., "Irrigation et salinisation au Sahara algérien", *Sécheresse*, (1994), 5 : 151-61.
87. Aubert, "Les sols sodiques en Afrique du Nord", *Ann. INA El Harrach*, Alger, (1976), p6.
88. Ladgham Chicouche, A., Zerguine, D., "Projet d'étude: classement de la zone humide (Chott El Hodna) Wilya de M'sila en zone humide d'importance Internationale", (Ramsar), (2000), 23p.
89. Anonyme, l'Office National de Météorologie à Djelfa (O.N.M), (2008), 2p.
90. Anonyme, l'Office National de Météorologie Biskra (O.N.M), (2005), 5p.
91. Anonyme, l'Office National de Météorologie (O.N.M), (2010), 2p.
92. Anonyme, l'Office National de Météorologie à M'sila (O.N.M), (2008), 2p.
93. Bangoul F. et Gausse H., "Saison sèche et indice xérothermiques", *Doc : cartes Product. végét., Sér. : Généralités 3 (1), art. 8*, (1953), 74p.
94. Long G., "Diagnostic phytécologique et aménagement du territoire. Principes généraux et méthodes", vol.1, Masson, Paris, (1974), 252 p.
95. Samraoui B. ; DE belair, G., "Les zones humides de la Numidie orientale: Bilan des connaissances et perspectives de gestion", *Synthèse (Numéro spécial)*, (1998), 4. 90p.
96. Emberger L. "Une classification biogéographique des climats". *Rec. Trav. Lab. Géol. Bot. et 'Lool., Fac. Sc., Montpellier*, (1955), 7 : 1-43.
97. Chuine, I. & Belmonte, J., "Improving prophylaxis for pollen allergies: predicting the time course of the pollen load of the atmosphere of major allergenic plants in France and Spain", *GRANA*, (2004), p43, 1-17.
98. Chuine, I. et *al.*, "Grape ripening as an indicator of past climate. *Nature*", (2004), p432, 289-290.
99. Chuine, I. & Beaubien, E. "Phenology is a major determinant of temperate tree range", *Ecology Letters*, (2001), 4, 500-510.
100. Murachige T. et Skoog F., "A revised medium for rapid growth and bio assay with Tobacco tissue cultures", *Physiol. Plant*, (1963), 15: 473-497.
101. Francis et *al.*, "Cooper enzymes in isolated plantes", *plant physiol*, 24, 1949, (1970), pp 1-15.
102. Sarker S.D. and Nahar L., "Chemistry for pharmacy students General, Organic and Natural product chemistry", John Wiley and Song L. Ed, England, (2007), P302-369.

103. Rizk A.M., "Constituents of plants growing", Qatar fitoterapia, V52. N° 2. (1982), 35-42.
104. Djeridane A.M. Yousfi; B. Nadjemi D.; Boutassouna, P.; Stocker and N. VIDAL, " Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds", Food Chemistry, (2006), 97: 654–660
105. Afnor, "Recueil de normes françaises des corps gras, oléagineuse, produits dérivés", ed. AFNOR, (1988), 325p.
106. Dubois M.: Gilles K.A.: Hamilton J.K.; Rebers P.A. and Smith E., "Colorimetric method for determination of sugar and related substances", Allal. Chem., (1956), 28, 350-356.
107. Troll W. and Lindsley J., "A photometric method for determination of proline", J. Bio. Chem., (1955), 655-660.
108. Drier and Goring, "Rapid determination of free proline for water stress studie", Plant soil, (1974), 39; 205-7.
109. Monneveux P. et Nemmar M., " Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum*) et chez le blé dur (*Triticum durum*) ", Etude de l'accumulation de la proline au cours de cycle de développement, Agronomies, (1986), (6) ; 583-590.
110. Bradford M., "A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities on protein utilizing the principal of protein-dye binding", Anal Biochem, (1975), 72 : 248-254.
111. Vilain R., " Critères chimiques pour qu'une plante soit reconnue comme médicament en usage externe", Pharm. (C), Rv. 2 1999, 12p.
112. Behren, N. and Karber, C., "Wie Sind Reihenversuche für Biologische Auswertungen am Sweckmassigsten Anzuordnen". Arch. Exp. Path. Pharmak., (1935), 177- 379.
113. Levy Y., "Carrageenan paw oedema in the mouse". Lie sciences. 8, (1969), 601-606.
114. Chuine L. ; Kramer K. and Hänninen H., "Plant development models". In Schwartz (éd.), Phenology : an Integrative Environmental Science, (2003), 217-235.
115. Isabelle Chuine et Bernard Seguin, "Système d'Information Phénologique pour l'étude et la Gestion des Changements Climatiques" (SIP-GECC), Rapport annuel d'activité du GDR 2968 France, (2008), 36p.



116. Rotzer T. and Chmielewski F.M., "Phenological maps of Europe", *Climate Research*, (2001), 18 : 249-257.
117. F. Lebourgeois et P. Godfroy, "Analyse de la variabilité spatiale et temporelle et du déterminisme climatique de la phénologie des peuplements du Réseau National de Suivi à Long Terme des Ecosystèmes Forestiers", (RENECOFOR), 2006, 44p.
118. Diouf M., "Étude du fonctionnement hydrique et des réponses à l'aridité des ligneux sahéliens. Cas de *Acacia tortilis*", (Forssk.) Hayne subsp. raddiana (Sa vi) Brenan. Thèse doct., UCAD Dakar, (1996), 172p.
119. Reich P. B. and Borchert R., "Water stress and tree phenology in a tropical dry forest in the lowlands of Costa Rica", *Ecol.*, (1984), 72: 61-74.
120. Friedman j., "Folding of newly translated in-vivo: the role of molecular chaperones". *Annu. Rev. biochem.*, (2001), 70: 603-47.
121. Steduto P.; Albrizio R.; Giorio P. and Sorrentino G., "Gas exchange response and stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation of sunflower under salinity", (2000), 144 (5) 243-255.
122. Akrouf, A., Chemli, R., Simmonds, M., Kite, G., Hammami, M. and Chreif, I., "Seasonal variation of the essential oil of *Artemisia campestris* L.", *J. Essent. Oil. Res.*, (2003), 15: 333-336.
123. Ribereau Gayon, "Les composés phénoliques des végétaux". Ed. DUNOD, Paris, (1968), 173-201.
124. Kramer, Lauchli and Politov C., "Displacement of Ca by Na from plasmalemma of root cells", *plant physiol.*, (1982), 79: 207-211.
125. kramer P.J., " Drought stress and the origin of adaptation" In : Turner NC. ; Kramer PJ., *Adaptation of plants to water and high temperature stress*, New york : wiley-interscience, (1980), 7-20.
126. Benrebiha F.Z., " Etude de différents milieux de culture et de la salinité sur la morphogénèse de l'*Atriplex halimus* L.", Thèse de doctorat en Agronomie, (2003), 193p.
127. Reeman C and Breakle S.W., "sodium relation in chenopodiaceae : a comparative approach", *Plant. Cell and environment. Germany. Vol 12*, (1993), 323-328.

- 128.** Lauchli L. & E. Epstein., " Plant response to saline conditions". In Tanji K., ed. Agricultural Salinity Assessment and Management, (1990), 113-137.
- 129.** Szabolcs I., "Salt affected soils", Boca Raton Florida : C.R.P. Press, (1989), 18-19.
- 130.** Darbyshire B., "The function of the carbohydrate unitd of fungal enzymes in their resistance to deshydratation", plant phyiol, (1974) ; 54 : 717-7121.
- 131.** Sivaramakrishnan S. ; V.Pattel ; G.Flower and LG. Paleg., "Proline accumulation and nitrate reductase activity in contrasting sorghum lines during mid season drought stress", Plant Physiol., (1988), 74 : 418-426.
- 132.** Hanson A.D. ; Nelson Ce. ; Everson Eh., "Evaluation of free proline accumulation as an index of drought resistance using two contrasting barley cultivars", Corps sci., (1977), 17 : 720-726.
- 133.** Stewart G.R. et Lee J.A., "The role of proline accumulation in halophytes ", Planta, (1974), 12 : 273-289.
- 134.** Feitosa LC., J.Cambraia, MA.OlivoCano & HA. Ruiz., " Plant growth and solute accumulation and distribution in two sorghum genotypes under NaCl stress", Braz.J.Plant. Physiol , (2001), 13 :270-284.
- 135.** Meloni DA. ; MR. Gulotta ; CA.Martinez and MA. Oliva., " The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba* ", (2004), 11 : 185-250.
- 136.** Bellinger Y. ; A.Bensaoud & F.Larher., " Physiology breeding of winter cereals for stress environments", Colloque N°3, Montpellier, France, (1989), 15-18.
- 137.** Joyce P.A. ; Aspinall D. and Paleg L.G., " Photosynthesis and accumulation of proline to water deficit ", Aust. J. plant., (1992), 19, 249-261.
- 138.** David D.F et Grongnet Z.R., " *Atriplex halimus* L. : source de feu et de fourrage en milieu aride (cas de la région de marrakech, maroc) " In Guitzbunger G. M. ; Bounejmate and Nefzaoui , " Fodder shrub development in arid and semi arid zones" , proceedings of the warkshop on native and exotic fodder shrub in arid and semi arid zones, Hammamet, Tunisie, (27 october-2 november, 2001),12-18.

139. Baker J. Steel C.H et Dure and Lutts S., " Sequence and characterisation of 6 lea proteis and their genes from cotton", *Plant. Mol. Bio.*, (1998), 11 : 277-291.
140. Todd H., " Aphotometric method for determination of proline", *J. bio. Chem.*, (1972), 655-660.
141. Moreau, F. et Prat, R. " La photosynthèse", Université Pierre & Marie Curie, (2008), 120p.
142. Moussaoui B., " Etude de l'effet de la plante médicinale *Artemisia campestris* sur les cellules tumorales et son rôle dans la protection du stress oxydatif induit par le cisplatine", Mémoire de magister en biologie. Université Mentouri Constantine, (2010), 177p.
143. Manach C., et al., "Polyphenols: food sources and bioavailability ", *Am J.clin. Nutr*, (2001), 79: 727-47.
144. Salvador M.D. et Chisvert, " Cornicabra virgin olive oil a stydy of fives corps seasons : composition, quality and oxidatve stability". *Food chemistry*, (2007), 74, 274-276.
145. Stahl W. and Scie H., " Antioxydant defence : Vitamine E and C and carotenoids ", *Diabetes*, (2000), 46 : 14-18.