

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET BOPULAIRE.



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE.



UNIVERSITE SAAD DAHLEB.

FACULTE DE SIENCE DE LA VIE ET DE LA NATURE.

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE DE POPULATION ET DES ORGANISME.

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master II option :

BIODEVERSITE ET PHYSIOLOGY VEGETALE

THEME

ANALYSE PHYTOCHIMIQUE ET ANATOMIQUE DE CARTHAME
JAUNE (*Carthamus tinctorius L.*) PROVENANT DE DEUX REGIONS
(BOUGARA &TABLAT).

Présenté par :

M^{elle} .SAIDI OUISSEM & M^{me} .HOCINE IMENE

Soutenu le :30/09/2020

devant le jury composé de:

M ^{me} . BENSALAH. A	MAA	(USDB 01)	PRESIDENTE
Mr . ROUIBI. A.	PR	(USDB 01)	EXAMINATEUR
M ^{me} .GHANAI. R.	MAA	(USDB 01)	PROMOTRICE
Mr .GRANDI. M.	MCB	(USDB 01)	CO-PROMOTEUR

Année Universitaire 2018/2019

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir accordé la foi, le courage, la santé pour réaliser ce travail.

Nous commençons par L e dédier en premier à la mémoire de notre chère promotrice Mme le Professeur KEBBAS Selma **ALLAHYERHAMHA**, qui nous a proposé le thème de ce mémoire . Nous la remercions pour tous ses efforts, sa patience, sa présence, ses conseils, ses encouragements et son dévouement. On aurait tant aimé qu'elle soit présente parmi nous pour lui démontrer notre profonde gratitude et reconnaissance. **Qu'elle repose en paix au Paradis inchallah.**

Nous tenons à remercier Mme BENSALAH L .pour l'honneur qu'elle nous fait en présidant ce jury

Je tiens également à remercier M ROUIBI A. d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer notre travail.

Nos vifs remerciements vont à Mme GHANAI R. qui a aimablement accepté d'être notre co-promotrice, qu'elle soit remerciée pour tous les efforts quelle a fourni et toute la patience qu'elle a montré à notre égard.

Nous remercions infiniment notre promoteur M. GRANDI M. qui a commencé le travail avec Mme KEBBAS pour son aide, conseils et ses efforts pour l'aboutissement de ce modeste mémoire.

Nous remercions tout le personnel de l'université Saad dahleb –Blida

A tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie -

MERCI

Dédicace

Je dédie ce travail à la famille

***SAIDI, HADJKACI** et aux personnes les plus chères au monde mes chers
parents ,*

*A ma très chère mère **DJAMILA HKC** ;*

*Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de
prier pour moi. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder
santé, longue vie et bonheur.*

*A mon cher père **SAADI** ;*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation
et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices qui tu as consentis
pour mon éducation et ma formation. Puisse Dieu t'accorder
santé, longue vie et bonheur.*

A mes grands parents :

SAID (رحمه الله), Belkacem .Fatima ; Feroudja

*A mes chères sœurs : **Amina, Lamia***

*A mes chers frères: **Hichem. Mohammed***

*A mes belles cousines : **Siham Sarah Manel Linda***

*A mes nièce: **Imene , Safa***

*A mon neveu : **Ilyess .q***

*A mon binôme **Imene Hoceine** qui a partagée avec moi les moments difficiles
de ce travail et pour les années d'étude passées ensemble à rire ,se stresser ,
et dédicace a son famille.*

Dédicace

Je dédie ce travail à la familles

HOCEINE ,ALIOUAT *Et aux personnes les plus chères au monde mes chers parents ;.*

*A mon grand père **AHMED**;*

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

*A ma très chère mère **RAZIKA**;*

Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder santé, longue vie et bonheur.

*A mon père **AHMED**.*

Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder santé, longue vie et bonheur.

*Je dédie spécial Mon mari **KHALED** qui n'a jamais cessé de croire source d'amour et de tendresse sans toi ce mémoire n'aurait jamais un le jour...*

*A ma petite cœur : **Maria***

*A mes frères et soeurs: **abdelkader ,amina et abderraouf**.*

A Mes cousins et mes cousines

*A ma 2^{ème} famille : ma belle mère : **Fatima zohra Heddadi** , Ma sœur et Mes frères.*

*A mon binôme **wissem saidi** qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et son famille.*

Résumé

Le présent travail porte sur l'étude phytochimique, l'activité antioxydante, l'étude anatomique et une analyse sur le sol de *Carthamus tinctorius* L. provenant de deux régions. récoltée dans la région de Tablat (wilaya de Médéa) et Bougara (Wilaya de Blida) située au nord Algérien. Le but de cette étude est d'évaluer le pouvoir antioxydant des extraits secs de la partie aérienne et souterraine de l'espèce étudiée des deux régions.

Le screening phytochimique révèle une richesse en métabolites secondaires dans les feuilles de l'espèce *carthamus tinctorius* L. que dans la partie souterraine. Le test phytochimique réalisé nous a permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes, saponines, coumarines, alcaloïdes et les tanins.

Le dosage des polyphénols de la plante étudiée de la région Tablat et Bougara pour les feuilles a montré des teneurs respectives de $(33.36 \pm 2,13 \text{ mg/EAG})$, et $(24.45 \pm 1,06 \text{ mg/EAG})$. Et pour la partie racinaire présente des teneurs respectives de $(10.49 \pm 1,33 \text{ mg/EAG})$, et $(5.72 \pm 0,58 \text{ mg/EAG})$.

alors que celui des flavonoïdes et des anthocyanes montre que la partie aérienne est plus forte que la concentration de la partie racinaire.

En outre, l'analyse de l'activité antioxydante révèle que tous nos extraits présentent des activités antioxydantes.

Concernant les résultats de l'analyse de sol des deux régions étudiées BOUGARA et TABLAT montre que le premier est un sol humifère et l'autre sol normal et ils ont des caractères communs sont des sols riches en calcaire et une texture limono-argileuse.

Mots clés : *carthamus tinctorius* L., l'activité antioxydante, sol humifère, le test phytochimique, étude anatomique, Le screening phytochimique.

summary

The present work covers the phytochemical study, antioxidant activity, anatomical study and a soil analysis of *Carthamus tinctorius* L from two regions. collected in the region of Tablat (wilaya of Médéa) and Bougara (Wilaya of Blida) located in northern Algeria. The aim of this study is to evaluate the antioxidant power of the dry extracts of the aerial and underground part of the study species from the two regions.

Phytochemical screening reveals a wealth of secondary metabolites in the leaves of the species *carthamustinctorius*L than in the underground part. The phytochemical test carried out made it possible to demonstrate the presence of flavonoids, saponins, coumarins alkaloids and tannins.

The determination of the polyphenols of the plants studied from the Tablat and Bougara region for the leaves showed respective contents of (33.36 ± 2.13 mg / EAG, and 24.45 ± 1.06 mg / EAG). And for the root part present respective contents of (10.49 ± 1.33 mg / EAG, and 5.72 ± 0.58 mg / EAG).

while that of flavonoids and anthocyanins shows that the aerial part is stronger than the concentration than the root part.

In addition, analysis of antioxidant activity reveals that all of our extracts exhibit antioxidant activity.

Regarding the results of the soil analysis of the two regions studied BOUGARA and TABLAT shows that the first is a humus soil soil and the other normal soil and they have common characteristics are soils heavily loaded with limestone and a silty clay texture.

Keywords: *carthamustinctorius* L, antioxidant activity, humus soil, phytochemical tests, anatomical study, phytochemical screening

ملخص

يغطي العمل الحالي دراسة الكيمياء النباتية ، والنشاط المضاد للأكسدة ، والدراسة التشريحية وتحليل التربة لنبته المدروسة كارثاميستانتكتوريس التي تم جمعها في منطقة طبلاط (ولاية مديّة) وبوقرة (ولاية البليدة) الواقعة شمال الجزائر. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم القوة المضادة للأكسدة للمستخلصات الجافة للجزء العلوي والجوفي للنوع من كلتا المنطقتين

يكشف الفحص الكيميائي النباتي عن ثروة من المستقلبات الثانوية في أوراق النوع المدروس مقارنة بالجزء السفلي . أتاح الاختبار الكيميائي النباتي الذي تم إجراؤه إثبات وجود مركبات الفلافونويد والصابونين والكومارين الفلويات والعفص

أظهر تحديد البوليفينول للنباتات المدروسة من منطقة الطبلاط وبوقرة للأوراق احتواءها على كل منها (1.06 ± 24.45 مجم EAG 2.13 ± 33.36 مجم / EAG)

وتظهر بالنسبة للجزء الجذري (0.58 ± 5.72 مجم / EAG) / (1.33 ± 10.49 مجم . EAG)

في حين أن مركبات الفلافونويد والأنثوسيانين تظهر أن الجزء الجوي أقوى من التركيز من الجزء الجذري بالإضافة إلى ذلك ، يكشف تحليل نشاط مضادات الأكسدة أن جميع مستخلصاتنا تظهر نشاطاً مضاداً للأكسدة.

فيما يتعلق بنتائج تحليل التربة للمنطقتين المدروستين بوقرة وطبلاط تبين أن الأولى هي تربة الدبال والأخرى التربة العادية ولهما خصائص مشتركة هي التربة المحملة بكثافة بالحجر الجيري وقوام طيني

الكلمات المفتاحية

نشاط مضادات الأكسدة ، تربة الدبال ، اختبارات الكيمياء النباتية ، دراسة تشريحية ، فحص كيميائي

نباتي, *Carthamustinctorius*

Sommaire

Introduction	01
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I. Généralités	03
II. la famille des Asteraceae	03
II.1. Le genre <i>Carthamus</i>	04
II.1.1. Présentation botanique de <i>Carthamus tinctorius L</i>	05
II.1.1.1. Description morphologique	05
II.1.1.2. Distribution.....	08
II.1.1.3. Classification systématique	09
II.1.1.4. Utilisation traditionnelle	09
II.1.1.5. composition chimique	10
III. Principes actifs des plantes médicinales.....	11
III.1. Métabolites secondaires.....	11
III.1.1. Polyphénols	11
III.1.1.1. les flavonoïdes	11
III.2. Activité antioxydante.....	12
IV. Etude anatomique	13
Chapitre II : Matériel et méthodes	
I. Matériel	14
I.1. Matériel végétale	14
I.2. présentation de la région de la récolte	15
II. Méthodes d'études	16
II.1. Etude phytochimique	16

II.1.1. Détermination de la teneur en eau.....	16
II.1.2. Screening phytochimique.....	17
II.1.3.Extraction des polyphénols totaux	19
II.1.3.1.dosage des polyphénols totaux	19
II.1.3.2.Dosage des flavonoïdes	20
II.1.3.3.Dosage des anthocyanes totaux	20
II.1.4Activité antioxydant.....	21
II .2. Analyse du sol	22
II.2. 1.Préparation des échantillons de terre	22
II.2.2. Détermination de l'humidité	24
II.2.3. Le pH	24
II.2.4. Détermination de la matière organique	25
II.2.5. Le calcaire total	29
II.2.6. II.2.6. Analyses granulométrique.....	31
II.3. Etude anatomique.....	35

Chapitre III : Résultats et discussions

I. Etude phytochimique	38
I.1. Détermination de la teneur en eau.....	38
I.2. Screening phytochimique.....	39
I.3.dosage des polyphénols totaux	40
I.3.1.Dosage des flavonoïdes	42
I.3.2.Dosage des anthocyanes totaux	44
I.4.Activité antioxydant	
.....	46
.....	II.Analyse de sol
.....	50

III.Etude anatomique	52
III.1.Etude anatomique de la tige de <i>carthamustinctorius</i>	53
III.2.Etude anatomique de la feuille de <i>carthamustinctorius</i>	54
III.3. Etude anatomique de la racine de <i>carthamustinctorius</i>	56
Conclusion	57

Liste des figures

Figure 01 : la plantes de <i>CarthamustinctoriusL</i>	05
Figure 02 : Tige et feuilles de <i>Carthamustinctorius L</i>	06
Figure 03 : Racine de <i>Carthamustinctorius L</i>	06
Figure 04 : Fleurs ouvert et fermé de <i>Carthamustinctorius L</i>	07
Figure 05 : les fruits de <i>CarthamustinctoriusL</i>	07
Figure 06 : Répartition de <i>Carthamustinctorius L</i> dans le monde	08
Figure 07 :Les pistils des fleurs de carthame sont utilisés comme teinture ou fade substitut au safran	10
Figure08 : carte géographique montrant les villes de Bougara et Tablat	16
Figure09 : Le Triangle de texture	35
Figure10 : histogramme représente le pourcentage en teneur en eau	38
Figure 11 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	40
Figure 12 : Concentration des polyphénoles dans les deux parties de la plante (feuilles et racine) de deux ragions	42
Figure 13 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage .	43
Figure14 : Concentration des flavonoïdes.	44
Figure 15 : les concentrations des anthocyanes .	45
Figure 16 :Pourcentage de réduction de la R.T ,RB ,FT ,FB et le BHT.	48
Figure17 :Activitéantiradicalaire (DPPH) (exprimée en CI50 mg/ml) des extraits méthanolique obtenus à partir des extraits FB , FT, RB ,RT.	49
Figure 18 :Coupe transversale de la tige de CT aux (G×400) .	54
Figure 19 : Coupe transversale de la feuille CT aux (G×400).	55
Figure 20 : coupe transversale de la racine CT aux (G×400).	56

Liste des tableaux

Tableau01: Liste de quelques espèces de <i>Carthamus</i> d'Algérie .	04
Tableau 02: Classification de genre de carthamus.	05
Tableau 03 : classification de la plante <i>carthamustinctoriusL.</i>	09
Tableau 04 : Echelle d'interprétation du Ph.	24
Tableau 05 : Echelle d'interprétation du MO.	28
Tableau 06 : Classification des sols selon le pourcentage en M.O.	28
Tableau 07: Echelle d'interprétation du calcaire total.	30
Tableau 08 : Teneur en eau de <i>carthamustinctoriusL.</i>	38
Tableau 09 : Résultats des tests phytochimiques des racines et des feuilles du <i>CarthamustinctoriusL.</i> des deux régions.	39
Tableau 10 : Résultats de la teneur en polyphénols des racines et des feuilles de <i>carthamustinctorius L</i> provenant des deux régions.	39
Tableau 11 : valeurs du dosage des flavonoïdes enregistrés à partir des racines et des feuilles.	41
Tableau 12 : les concentrations d'anthocyane de <i>carthamustinctoriusL</i> dans les deux régions.	43
Tableau 13: Pourcentage d'inhibition (%) du DPPH en fonction des concentrations de <i>Carthamustinctorius L</i> et du BHT à différentes concentrations	45
Tableaux 14 : IC50 de RT RB FT FB par rapport aux BHT	49
Tableau 15 : Résultats des analyses physico-chimiques des échantillons de sol de 2 régions étudiées	51

Liste des abréviations

DPPH : 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyl

MO : matière organique

BHT: Hydroxytoluènebutylé.

C.T : carthamustinctorius L

F.T : feuille de région de Tablat

F.B : feuille de région de Bougara

R.B : racine de région de Bougara

R.T : racine de région de Tablat

DO : densité optique.

CI50 : Concentration inhibitrice à 5

INTRODUCTION

INTRODUCTION

A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Ainsi, si certaines pratiques médicales paraissent étrangères, d'autres au contraire semblent plus fondées et plus efficaces ayant pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des humaines (**Djabou, 2006**).

Dans le but d'améliorer l'état de santé, les patients des pays développés où ceux en voie de développement ont souvent recours à la thérapie médicale à cause de son efficacité. En raison des effets secondaires qui peuvent être engendrés par ces thérapies et aussi son coût relativement élevé, beaucoup de personnes se sont tournés vers les extraits bruts des plantes qui commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives (**Yakhlef *et al.*, 2011**).

Les plantes médicinales et aromatiques sont prometteuses et constituent une source inépuisable d'antioxydants pour l'industrie agroalimentaire. En effet, l'oxydation des lipides dans les produits alimentaires induit non seulement une diminution de la valeur nutritive de l'aliment, mais aussi des effets reconnus nuisibles pour le consommateur et qui peuvent être associés à des risques de cancer chez l'homme.

La présence d'antioxydants dans l'alimentation est devenue essentielle pour la qualité et la sécurité de l'aliment. Les effets négatifs des antioxydants synthétiques encouragent à leur substitution par des agents naturels. (**Chaker el Kalamouni .,2010**).

L'Algérie, par la richesse et la diversité de sa flore, constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 4000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires (**Dobignard et Chatelain, 2010-2013**).

INTRODUCTION

Dans certaines régions de l'Algérie, pour un grand nombre de la population, la médecine traditionnelle demeure le pilier des soins de santé et la plupart des médicaments et des remèdes proviennent de plantes, à l'exemple de la plante spontanée de la famille des Asteraceae, *Carthamus tinctorius L.* Notre choix pour cette espèce est justifié par l'abondance de cette espèce dans les régions d'étude et leur richesse en métabolites secondaires ainsi que l'absence d'études phytochimiques concernant cette espèce, mais aussi dans le but de valoriser et confirmer ses vertus thérapeutiques.

Ce mémoire s'articule autour des objectifs suivants :

- Analyses biochimique (extraction des polyphénols , des Flavonoïdes et des anthocyanes), des extraits de la plante *Carthamus tinctorius L.* provenant de deux régions différentes TABLAT et BOUGARA. ainsi qu'une contribution à l'étude de l'activité antioxydante,
- A l'échelle microscopique, étude anatomique de la structure interne des différentes parties de l'espèce, tige, feuilles et racines,
- Analyses du sol des 2 régions de Tablat et Bougara en vue de distinguer la relation entre la composition du sol et la variabilité des métabolites secondaires existants chez la plante

La présentation de nos travaux est répartie comme suit :

Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique et une présentation botanique du genre *Carthamus* et sur notre plante *Carthamus tinctorius L* ; ainsi que la présentation des travaux scientifiques réalisés sur la plante.

Le deuxième chapitre décrit les démarches méthodologiques en abordant les analyses quantitatives et qualitatives des extraits de nos plantes, et l'évaluation de leurs activités biologiques.

Dans le dernier chapitre, sont rapportés et discutés nos résultats. Et on terminera par une conclusion générale .

CHAPITRE I :
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités

L'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des maladies vient habituellement de la croyance qu'elles présentent une très faible toxicité du fait de leur origine naturelle. Selon l'organisation mondiale de la santé, autour de 80 % de la population du monde emploie la médecine traditionnelle pour le soin de santé (**Gomes et al., 2012**).

Une plante dite «médicinale» est une plante qui possède des propriétés thérapeutiques. L'utilisation des plantes est très ancienne, et pendant très longtemps elle a représenté pratiquement le seul moyen de soigner, basé sur l'empirisme (**Catier et Roux, 2007**). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées à l'échelle mondiale à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Elles sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine (**Elqaj et al., 2007 ; Dutertre, 2011**). Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration de médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (**Iserin, 2001 ; Ameenah, 2006**).

L'Algérie, pays connu pour sa biodiversité, dispose d'une flore particulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques. Ce potentiel floristique constitué de plantes médicinales, toxiques et condimentaires, est peu exploré du point de vue chimique et pharmacologique. A cet effet, il constitue à notre avis, une source non négligeable de recherche de substances naturelles (**QUEZEL, 1963**).

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (**LUTGE et al., 2002, ABDERRAZAK et JOËL, 2007**).

II. la famille des Astéracées

Le nom Astéraceae est dérivé du mot grec « Aster » qui signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur. Les Astéracées représentent la plus importante famille de la division des spermatophytes. Elle comprend près de 25 000 espèces

connues, groupées en 1500 genres repartis en 17 tribus répandues à travers le monde (**Bloor S. J., 2001**) ;(**Clifford M.N., 1999**).

La famille des Astéracées avec de 1528 genres et de 22750 espèces dont 750 endémiques est la seconde en importance, derrière celle des Orchidacées (**Archivio.et al,Selles., 2012**). Le genre *Carthamus* comprend 18 espèces dont *Carthamus tinctorius L.* est la seule espèce cultivée. Le Carthame est une espèce provenant probablement de Sud de l'Asie et il est connu que ce genre eut été cultivé en Chine, Inde, Iran et en Égypte, presque depuis les temps préhistoriques. Au cours du Moyen Age, il a été cultivé en Italie, en France et en Espagne et a été introduit aux Etats-Unis dans les années 20 (**Turgumbayeva et al.**). Elle est présente dans toutes les régions du monde principalement dans les régions tempérées à l'exception des pôles (**Selles , 2012**).

II.1. Legenre *Carthamus*

Le nom « Carthame » découle du mot arabe « Kurthum » qui signifie « teinte », c'est un membre de la tribu des cynarées, sous-famille Tubuliflores, et de la famille des Astéracées. Le genre botanique *Carthamus* regroupe des plantes présentes dans presque toutes les régions méditerranéennes. En Algérie, il est retrouvé en particulier dans le Tell oranais et dans les piémonts Sud des Babors (**Saffidine, 2015**). Le genre *Carthamus* comprend 14 espèces d'annuelles et vivaces herbacées dont le *Carthamus tenctorius L.* Les tableaux suivant (**Tableau 1 et 2**) regroupent quelques espèces du Carthame d'Algérie.

Tableau 01: Liste de quelques espèces du Carthame d'Algérie :

Espèces	Nom vernaculaire	Synonyme(s)
<i>C. lanatus L</i>	-	<i>Kentrophyllum lanatum L</i>
<i>C. arborescens L</i>	-	<i>Kentrophyllum arborescens L</i>
<i>C. helenioides L</i>	<i>Zitset</i>	-
<i>C. strictus L</i>	-	<i>Onobroma stricta pomel</i>
<i>c.tinctorius L</i>	safran des teinturiers	-
<i>C.caeruleus L</i>	Cardoncelle bleu	-

Tableau 02: Classification de genre de carthamus, selon (Singh, 2007 ; Shweta et al., 2013)

Par apport au nombre de chromosomes				
Section I (n=12)	Section II (n=10)	Section III (n=22)	Section IV (n=32)	D'autres
<i>C.tinctorius</i>	<i>C.alexandria</i>	<i>C.lanatus</i>	<i>C.baeticus</i>	<i>C.arborescens</i>
<i>C.palaestinus</i>	<i>C.tenuis</i>			<i>C.caeruleus</i>
<i>C.axyacantha</i>	<i>C.syriacus</i>			
	<i>C.glaucus</i>			

II.1.1. Présentation botanique de *Carthamus tinctorius* L

II.1.1.1. Description morphologique

Le carthame est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle, à tige dressée, ramifiée, glabre remeuse (**photo 01**), de croissance rapide mesurant 60 à 90 cm de hauteur (fournier ,1999 ;Baba aissa , 2011)



Figure 1: *Carthamus tinctorius* L. in situ.

- **Les feuilles**

Elles sont de couleur gris vert pale, mesurant 3 à 9 cm de long (**photo 02**). Elles sont alternes, luisantes, lancéolées avec un bord ondulé et portant des dents épineuses. figure (**Patrick, 2004 ; fournier, 1947;debuigne et al,2009**)

- **La tige**

La tige est dressée, simple ou ramifiée au sommet, en branches raides, glabres, jaune blanchâtre et brillantes. (**Figure 02**)



Figure 02 : feuilles de *Carthamus tinctorius L* (original)

- **Les racines**

L'appareil racinaire : il s'agit de racine pivotante tubérisée (**Boudia ; 2013**)



Figure 03: Racine de *Carthamus tinctorius L* (original)

- **Les fleurs**

Elles sont tubuleuses, de couleur jaune rouge à jaune orangé filiformes

(Bezenger, 1990), rassemblées en capitules à bractées épineuses (Hans, 2007),

Leur diamètre est de 2 à 4 cm, elles sont groupées en corymbes légers, portant à la base un large involucre de bractées vertes (Mioulane,2008) (Figure 04).



Figure 04 : Fleurs épanouie et fermé de *Carthamus tinctorius L.*

- **Les fruits**

Ils sont oléagineux, ce sont des akènes d'un blanc brillant , de 1 cm de longueur, (fournier, 1947 ; girre,2001).ils sont claires et anguleux semblables à de graines de tournesol (debuigne et al .,2009).

- **Les graines** : Elles sont blanches et luisantes (figure 5). Elles mûrissent en été

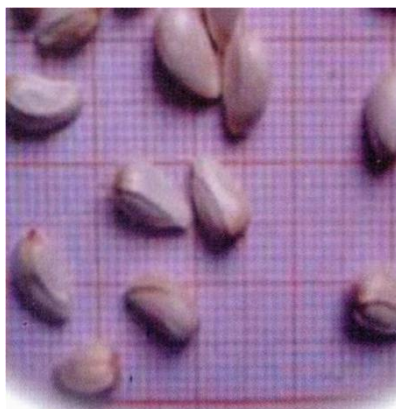


Figure 05 : les graines de *Carthamus tinctorius L.* (CRSTRA S.D)

II.1.1.2. Distribution

Cette espèce préfère les endroits ensoleillés, elle est d'origine de sud-ouest Asiatique mais se retrouve dans Afrique du nord, en Europe et en Amérique (Boumerfeg, 2010). (Figure 06). En Algérie, elle se trouve dans les régions côtières méditerranéennes (Tipaza, Annaba, Bejaia, Boumerdes, Sidi bel- abbés et Bouira ainsi que dans les hauts plateaux Sétif et Médéa). (Benhamou, Fazouane 2013) (Baghiani et al., 2010).

Le carthame tinctorial ou safran batard (*Carthamus tinctorius* L), est originaire de l'orient; il est cultivé en France , en Espagne , en Italie , en Hongrie , dans le sud de la Russie , en Asie ; le plus estimé vient de l'Egypte , de la Chine et de l'Inde .



Figure 06: Répartition de *Carthamus tinctorius* L dans le monde

II.1.1.3. Classification systématique

Selon (Quezel et Santa, 1993) la systématique de l'espèce *Carthamus tinctorius* L. est la suivante :

Tableau 03 : classification de la plante *Carthamus tinctorius L.*

Règne	Plantea
Sous-règne	Tracheobionta - Plantes vasculaires
Embranchement	embryophyta
Sous-embranchement	Spermatophyta - Semences
Division	Magnoliophyta - Plantes à fleurs
Classe	Magnoliopsida - Dicotylédones
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	Carthamus

➤ **Les noms vernaculaires**

Arabe : alqartam(القرطم), Bahram chouran (**Baba aissa, 2014; Alain ,1920**)

Algérien: cosmos, tesmert ,nossogross ,asfour , merghres egres.

Français: safran des teinturiers .

Anglais : safflower , dyer ssaffron . (**Fournier, 1947**)

Italien: Cartamo

Chinois: hong hua (**Baba aissa, 1999**)

Allemand : Saflor, farber

II.1.1.4. Utilisation traditionnelle

- Les fleurs de carthame (connus aussi sous le nom de graines de perroquet) sont surtout utilisées comme matière colorante (figure 08). Elles n'intéressent guère le pharmacien que par leur mélange avec le safran, dans lequel on les introduit frauduleusement.
- les fruits de carthame renferment une huile très amère et purgative qui est utilisée en Inde contre le rhumatisme et la paralysie. (**Nadkarni, 1976**)
- utilisée dans les coliques abdominales, l'asthme, la bronchite, la jaunisse, rhumatismes et comme purgatifs(**Usmanghani et al ., 1997**)

- Les décoctions de carthame ont été utilisées avec succès pour le traitement de la stérilité masculine (**Qin Yuehao, 1990**) et la maladie de l'excès de sperme mort (**Qu Chun, 1990**). Selon (**Zhou Wenyu, 1986**), des traitements à base de Carthame ont entraîné des grossesses chez 56 des 77 femmes stériles infertiles pendant 1,5 à 10 ans .
- les racines de *Carthamus tinctorius L.* peuvent être utiles pour traiter les maladies de la peau ou comme cicatrisant qui contribue à guérir les brûlures.



Figure 07 :Les pistils des fleurs de carthame sont utilisés comme teinture ou de substitut au safran

II.1.1.5. Composition chimique

Le Carthame des teinturiers possède des fleurs jaune orange avec carthamine (flavonoïde) à propriétés tinctoriales : huile diététique contient 90% d'acide gras non saturés (utilisée pour les margarines de régime) (**Archivio et al 2007**). Jusqu'à ce jour, de nombreux constituants, tels que quinochalcons, flavonoïdes ,polyacétylènes, alcane-diols, des acides gras, des stéroïdes, des lignanes, etc., ont été isolés à partir *Carthamus tinctorius L.* parmi lesquels, quinochalcons et flavonoïdes considérés comme les constituants caractéristiques et actifs de cette plante . (**Lhuillier,A., 2007**) (**Archivio M et al 2007**)

III. Principes actifs des plantes médicinales

Le métabolisme de la plante verte produit avant tous des glucides (sucres) et des protides. Une fraction des glucides est ensuite transformée en composés divers dont les lipides sont les plus importants pour la plante, mais le métabolisme fournit aussi plusieurs corps secondaires que l'homme utilise dans son arsenal thérapeutique, il s'agit des alcaloïdes, des hétérosides, des huiles essentielles et des tanins, les végétaux nous fournissent également des vitamines, des oligoéléments, et des antibiotiques . (BOITEAU et POTIER, 1980).

III.1. Les Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (LUTGE *et al.*, 2002, ABDERRAZAK et JOËL., 2007).

III.1.1. Les Polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc. (BRUNETON, 1999 ; LUGASI *et al.*.,2003).

Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (KING et YOUNG., 1999 ; TAPIERO *et al.*, 2002). Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (BOIZOT et CHARPENTIER., 2006).

III.1.1.1.les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (SEYOUM *et al.*,2006), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les

flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**GHESTEM et al. 2001; BRUNETON, 1999**).

➤ **Rôle des flavonoïdes dans les plantes**

Les flavonoïdes présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent entre autres à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou autre, Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales et des effets protecteurs sur le foie (**Djeddi S., 2012**)

Les flavonoïdes, en particulier les anthocyanes, sont les seules molécules du règne végétal capables de produire une vaste gamme de couleurs, susceptibles de donner des teintes allant du jaune-orangé au bleu, en passant par le pourpre et le rouge (**GRACE et al., 1996**) (**LUIGIA et GIUSEPPE, 2006**). Les flavones, aurones et chalcones donnent plutôt des couleurs jaune, beiges voire blanche, ou participent aux nuances produites par les anthocyanes et les caroténoïdes (**BRUNETON, 1999**) (**GROTEWOLD, 2006**).

Un des rôles de la couleur chez les plantes est d'attirer les insectes et les oiseaux, qui jouent un rôle majeur dans la pollinisation et la dispersion assurant ainsi la reproduction de l'espèce (**GROTEWOLD, 2006**) (**JAIME, 2007**).

➤ **Activité antioxydante**

Les antioxydants sont des métabolites secondaires chez les plantes (**Chen C et al .,1992**) Tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes et caroténoïdes, qui sont parmi les antioxydants produite par les plantes (**Dai J et al .,2010**).

Les antioxydants sont des composés spécifiques qui protègent l'homme, les cellules animales et végétales contre les effets néfastes des radicaux libres (espèces réactives de l'oxygène,ROS). Un déséquilibre entre les antioxydant et les radicaux libres résulte « le stress oxydatif ». Ce dernier, va conduire à des dommages cellulaires (**Kukic J et al., 2006**). À l'heure actuelle, la plupart des antioxydants sont fabriqué synthétiquement, appartenant à la classe des antioxydants synthétiques. Le principal inconvénient des antioxydants synthétiques sont les effets secondaires lorsqu'il est consommé in vivo (**Apak R., et al 2007**)

IV. Étude anatomique

« Histologie » signifie étymologiquement « science des tissus », dérive du grec « Histo » signifiant « tissus » et « logs » signifiant « science ». L'histologie est l'étude des groupements des cellules en tissus (**Crète, 1965**). L'histologie végétale est la partie de la biologie végétale qui étudie la structure microscopique des tissus végétaux. Cette science fournit une structure de base pour l'étude de la physiologie (**Lesson et Lesson, 1980**).

Le concept de tissu, de derme, a été inauguré fin XVIIème / début XVIIIème par Xavier Bichat, sans microscope ; ce concept a été élaboré grâce à ses travaux de dissection anatomique. En deux siècles, de sa naissance à aujourd'hui, l'histologie a vécu trois révolutions : la révolution fondatrice issue de la microscopie optique et de la théorie cellulaire ; la révolution revivifiante engendrée par la microscopie électronique ; la révolution décisive de la biologie moléculaire. Ces trois périodes cruciales dans l'histoire de cette discipline correspondent à une plongée des investigations vers des échelles d'observation de plus en plus fines correspondant en fait à des niveaux d'organisation du vivant de plus en plus élémentaires.

(**Speranza et Calzoni, 2005**) soulignent que littéralement, le mot « Anatomie » désigne l'acte de « couper » pour connaître les caractéristiques des structures internes examen qui a lieu généralement au niveau microscopique. Lorsque l'histologie décrit la qualité des tissus, l'anatomie étudie leur place dans l'organisme ce qui permet de comprendre leur relation de développement et d'association à des niveaux hiérarchiques de plus en plus élevés jusqu'à celui de l'organe.

Pour pouvoir étudier la structure anatomique des organes végétaux, il est nécessaire de savoir effectuer des coupes minces et parfaitement orientées et de pratiquer différentes colorations. (**Deyson, 1956**)

Chapitre II :
Matériels et
Méthodes

- Notre travail consiste à une étude biochimique et à une évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la plante *Carthamus tinctorius L.* provenant de deux régions différentes TABLAT et BOUGARA, pour cela une analyse du sol des deux régions de prélèvement a été réalisée. Cette analyse a été complétée par des dosages des polyphénols, des flavonoïdes et des anthocyanes, et par une évaluation de l'activité antioxydante et une étude anatomique des différents organes de la plante.

Ce travail a duré 4 mois et a été réalisé au sein de deux laboratoires :

- Laboratoire PFE au niveau du département Vétérinaire de l'université de Blida pour les tests de screening phytochimique ,le dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des anthocyanes, l'activité antioxydante et l'étude anatomique.
- Laboratoire de pédologie du département de Biotechnologie de l'université de Blida pour les analyses de sol.

MATERIELS

I.1. Matériel végétal

Notre étude a porté sur les parties aériennes (tige et feuille) et souterraines (Racine) de l'espèce *Carthamustinctorius L.*

L'échantillonnage de *carthamus tinctorius* a été réalisé au niveaux de Bougara (wilaya de Blida) durant le mois d'avril 2018, et au niveau du Tablate la wilaya de Médéa durant le mois d'mars 2018.

Ces échantillons ont été prélevés au stade feuillaison, à une température ambiante et en endroits sec et ont été transporté dans des sacs en plastique étiquetés

Les échantillons sont mis à sécher à l'air libre pendant 20 jours, a l'abri de la lumière.

Le matériel végétal séché est moulu dans un mortier, la poudre obtenue est conservée dans un flacon opaque. (Annexe01)

I.2. présentation des régions de récolte

Carthamus tinctorius L a été prélevé de 2 régions

1^{er} région : Tablat se trouve dans la wilaya de Médéa à **463 m** d'altitude, localité de montagne située respectivement à :

- 45 kms au sud d'Alger
- 90 kms à l'est de Médéa et environ
- 72 kms à l'est de Blida. (**figure 08**).

Elle possède un climat méditerranéen chaud avec un été sec (classification de Köppen). à Tablat, la température moyenne annuelle est de 17.5°C et les précipitations sont de **645.2 mm**.

2^{ème} région : Bougara est située à l'est de la wilaya de Blida avec une altitude de 114 m, localité du piémont de l'Atlas Blidéen située à

- à 54 km au nord-est de Blida
- à 44 km au sud d'Alger
- à environ 32 km au nord-est de Médéa. (**figure 08**).

Elle possède un climat méditerranéen avec un été sec et chaud. La pluviométrie est généralement plus importante en montagne qu'en plaine. Les précipitations sont plus importantes au mois de décembre, janvier et février. La température moyenne annuelle est de 24.74 C°



Figure08 : carte géographique montrant les villes de Bougara et Tablat



La ville de Bougara



La ville de Tablat

II. Méthodes d'études

II .1.Étude phytochimique

II.1.1. Détermination de la teneur en eau

Nous avons suivi le protocole de (ZERRAD et al. ; 2006) Ainsi , nous avons classé des échantillons des feuilles d'un poids déterminé dans une étuve portée à 75 ± 2 C°. Les échantillons sont pesés chaque 24h pendant une semaine jusqu'à l'obtention d'un poids constant

La teneur en eau est calculée selon la formule suivante

$$teneur \text{ en eau} = \frac{\text{poids frais} - \text{poids sec}}{\text{poids frais}} \times 100$$

II.1.2. Screening phytochimique

Ce sont des techniques qui permettent déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques d'identification de la présence de substances chimiques.

Les principaux groupes phytochimiques sont : les polyphénols (flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins et coumarines) les alcaloïdes, les stérols et les terpènes.

Le screening phytochimique a été effectué sur la poudre, l'infusée et les décoctée de la partie aérienne de la plante (feuille) et partie souterraine (racine).

- **préparation de l'infusé à 5% :**

Introduire 5g de poudre dans un 100 ml d'eau bouillant contenu dans un Erlenmeyer de 250 ml , fermer et laisser infuser pendant 15min , ensuite filtrer sur papier filtre et rincer avec un peu d'eau chaud de manière à obtenir 100 ml de filtrat

- **Caractérisation des anthocyanes**

Rajouter quelques gouttes d'HCl à 5ml d'infusé. La réaction donne une coloration rouge en présence d'Anthocyanes.

- **Caractérisation des tanins :**

Prendre 5ml d'infusé, auquel on ajoute 1ml d'une solution de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 1%. L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des tanins catéchiques, et le bleu noirâtre la présence des tanins galliques.

La différenciation des tanins catéchiques et galliques est obtenue par la réaction de Stiasny. A 30 ml d'infusé à 5% ajouter 5ml de réactif de Stiansy (10ml de formol à 40% + 5ml d'acide chlorhydrique concentré), puis chauffé au bain marie pendant 15 à 30 min. l'obtention de précipité indique la présence des tannins catéchiques . Filtrer et saturer 10 ml de filtrat avec l'acétate de sodium pulvérisé. Ajouter 1 ml d'une solution de ($FeCl_3$) a 1%. Le développement d'une teinte noire indique la présence des tanins galliques non précipité par le réactif de Stiansy

- **Caractérisation de flavonoïdes**

- **Réaction à cyanidine**

Introduire dans un tube à essai 5ml d'infusé, ajouter 5ml d'éthanol chlorhydrique (éthanol à 95C°, eau distillée, acide chlorohydrique concentré à

parties égales V /V/V=5ml) puis quelque copeaux de magnésium et 1 ml d'alcool iso-amylque,

L'apparition d'une coloration rose-orangée indique la présence du flavone ou rose-violacée (flavonone) ou rouge flavonol, flavonol

➤ **Caractérisation des saponines :**

Leur présence est déterminée quantitativement par le calcul de l'indice de mousse (IM). Ce dernier représente le degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées. Une décoction est préparée à 1% de la poudre végétale (1g de poudre où nous avons ajouté 100ml d'eau distillé puis mise en ébullition pendant 15 min, la suspension est ensuite filtrée) à partir de cette solution mère, 10 tubes (à différentes concentrations allant de 1 à 10 ml) ont été préparés. Le volume final de chaque tube a été réajusté à 10ml avec l'eau distillée. Chacun des tubes a été agité en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15 min en position verticale. Le tube dont la hauteur est de 1 centimètre indique la valeur de l'indice de mousse, l'indice de mousse est alors calculé par la formule suivante :

$$IM = 1000 / n^{\circ} \text{ du tube à 1cm de mousse à hauteur.}$$

La présence de saponine dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100

➤ **Test de confirmation**

A 2ml rajouter quelques gouttes d'acétate de plomb, la formation d'un précipité blanc indique la présence des saponines.

➤ **Caractérisation des alcaloïdes**

10 g de poudre végétale ajouter 50 ml d'acide sulfurique à 10% (dans un Erlenmeyer de 250 ml). Laisser en macération pendant 24 heures à température ambiante. Filtrer puis compléter le filtrat ainsi obtenu à 50 ml avec de l'eau distillée.

Dans 2 tubes à essai, introduire le filtrat (1ml) et ajouter dans le premier tube quelques gouttes du réactif de Meyer qui est une solution aqueuse de mercuriiodure de potassium, et dans le second tube 5 gouttes du réactif de Dragendorff qui est une solution aqueuse d'iode de bismuthé et iodure de potassium, l'apparition d'un précipité indique la présence des alcaloïdes.

➤Caractérisation des stérols et des terpènes :

Procéder à la macération de 5g de la poudre végétale dans 20 ml d'éther pendant 24 heures. Évaporer jusqu'à l'obtention d'un produit sec, puis dissoudre le résidu dans 1 ml d'anhydride acétique puis 1 ml de chloroforme. Partager dans deux tubes à essai,

L'un servant de témoin. Mettre dans le second tube 1 à 2 ml de H_2SO_4 concentré à la zone de contact des deux liquides il y'a formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageant devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et terpènes.

➤Caractérisation des coumarines

Nous avons bouilli 2g de poudre végétale dans 20ml d'alcool éthylique pendant 15min dans un bain marie, après refroidissement et filtration, nous avons pris 5ml du filtrat auquel nous avons ajouté 10gouttes de KOH 10% et quelques gouttes d'HCl 10%, l'apparition d'un trouble indique la présence des coumarines.

II.1.3.Extraction des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux sont extraits selon la méthode de **Zhang et al.**, (2006) avec quelques modifications.

100mg de feuilles sèches sont broyées dans 2 ml de méthanol à 80% .après centrifugation (12.000 trs. min^{-1} , 30 min ou 20000g, 20min), le surnageant est récupéré.

II.1.3.1.dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été déterminée selon la méthode de (**Singleton et Rossi 1965in D.Ramful 2010**), la teneur a été estimée par la méthode colorimétrique de folin-Ciocalteu.

- **Principe** le réactif de folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMW_{12}O_{40}$).il est réduit ,lors de l'oxydation des phénols ,en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribereau,1968).

- **Mode opératoire :**

250µL de surnageant sont ajoutés à 3500µL d'eau distillés, et 250µL de réactif de folin-Ciocalteu. Après 3 min, 1ml de solution de carbonate de sodium (NaCO_3) à une concentration de 20/ (préalablement préparé dans de l'eau distillés) est ajoutée. Les tubes sont agités et incubés pendant 40min dans un bain marie à 40°C.

Au bout de 40min une coloration bleue se développe, la densité optique est lue à une longueur d'onde de 760nm.

II.1.3.2. Dosage des flavonoïdes

Selon (Zhang et al., 2010) modifié, 100mg sont broyés dans 2 ml de méthanol à 80 %. On centrifuge à 20 000g pendant 20min à 4°C.

Le dosage différentiel des flavonoïdes totaux fait intervenir les propriétés chélatantes des ions.

1ml de la solution de chaque extrait est ajouté à un volume égale d'une solution de AlCl_3 à 2% (à préparer le jour même dans du méthanol à 80%), le mélange est vigoureusement agité et l'absorbance est à 440nm après 10min d'incubation à l'obscurité.

- **Préparation de la droite d'étalonnage**

Une courbe d'étalonnage est réalisée grâce une solution mère de quercétine à 1mg/ml à préparer le jour même dans du méthanol à 80%, à l'abri de la lumière) dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons.

La teneur en flavonoïdes a été exprimée en mg équivalent quercitrine par g de MVF ou MVS.

II.1.3.3. Dosage des anthocyanes totaux

Les anthocyanes totaux sont extraits selon la méthode de Gould et al. , (2002) modifiée.

30-50mg de feuilles fraîches sont broyés dans 2 ml de méthanol, HCL à 1 % (99 :1, v/v).Après centrifugation (12.000 trs/min. 30 min), le surnageant est récupéré. Deux lectures au spectrophotomètre sont faites, l'une à une densité optique de 530 nm, la seconde à 657 nm, celle-ci sert à enlever la contribution des chlorophylles ainsi que leurs produits de dégradation à Les absorbance 530nm.

Les anthocyanes totaux sont calculés selon la formule suivante :

$$\frac{\text{Absorbance} \times 449.2 \times \text{facteur de dilution}}{29600 \times \text{poids(g)}}$$

$$A : A_{530} - 0.25A_{657}$$

449.2 : poids moléculaire de cyanidine-3-glucoside.

29600 : coefficient molaire d'extinction.

Revenir au g de MVF ou MVS.

Les teneurs en anthocyanes sont exprimées en mg d'équivalents de cyanidine-3glucoside.

II.1.4 Activité antioxydante

Les polyphénols et surtout les flavonoïdes sont des antioxydants puissants, susceptibles d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules (Van Acker et al, 1995).

En effet, les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres les plus prooxydants, particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique. Ils formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives (Laughton et al., 1989; Puppo, 1992). De plus, ils ont une activité chélatrice des métaux tels que le cuivre et le fer qui, à l'état libre, peuvent être à l'origine de la production de radicaux libres (Puppo, 1992; Van Acker et al., 1995)

Test de piégeage du radical libre DPPH. (2,2-diphényl 1-1picrylhydrazyl)

- **Principe**

Le DPPH (2,2-diphényl-1-1picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune.

Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH., qui est proportionnel au pouvoir anti-radicalaire de l'échantillon.

- **Mode opératoire**

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. Un volume de 50µl de chacune des solutions méthanoliques des extraits testées (huile, acides gras, insaponifiables) à différentes concentrations (300 µg/ml, 250 µg/ml, 200 µg/ml, 150 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml) est ajouté à 1,95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0.025g/l) fraîchement préparée. En ce qui concerne le témoin négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1,95 ml d'une solution méthanolique de DPPH. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le BHT est utilisé comme témoin positif dans cette expérience dans les mêmes conditions.

- **Expression des résultats**

-Calcul des pourcentages d'inhibitions : L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (IN%) est calculée de la manière suivante :

$$IN\% = [(At - Ac)/At] \times 100$$

: Absorbance du témoin négatif.

At : Absorbance des différentes concentrations.

- **Calcul des concentrations 50 " IC50"**

IC50 (aussi appelée EC50 pour Efficient concentration 50), permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% des radicaux DPPH. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits utilisés

II .2. Analyse du sol

II.2.1.Préparation des échantillons de terre

D'une manière générale pour chacune des stations d'étude, un profil pédologique fut analysé. Nous avons effectué des prélèvements d'échantillons de sol au niveau de chaque horizon. Avant tout prélèvement, on a rafraîchi le profil pédologique à l'aide d'un marteau et d'un pinceau, on a aussi positionné le mètre pour mesurer la profondeur du profil. Suite à cela, la délimitation des horizons a été effectuée ainsi qu'une description. C'est au niveau de chaque horizon qu'un prélèvement fut effectué tout en s'assurant de la représentativité

de l'échantillon. Chacun deux est mis dans des sachets en plastiques soigneusement numérotés, datés et Localisés.

- **Traitement des échantillons.**

- a. Matériel** (Annexe 02)

- b. Séchage**

Les échantillons destinés à l'analyse sont séchés à l'air. Après séchage, peser l'échantillon, enregistrer le poids obtenu pour utiliser dans les calculs. Retirer les débris végétaux et les cailloux, les mettre dans un bocal numéroté contenant de l'eau.

- c. Broyage et tamisage**

Mettre la terre dans un mortier en porcelaine et pilonner légèrement, juste pour écraser les mottes mais non les graviers. Passer au tamis 2mm. Pilonner à nouveau légèrement le reste et repasser à nouveau au tamis à 2mm et ainsi de suite jusqu'à ce qu'il ne reste plus que les graviers. Stocker la terre dans des boites en carton portant une référence.

Mettre les graviers correspondant aux terres dans le même bocal contenant les cailloux et les débris végétaux.

Passer le contenu du bocal sur un tamis et laver sous un courant d'eau. Faire sécher à l'étuve à 105°C. Peser, mettre le refus dans des sachets en papier portant le même numéro que la terre écrasée préalablement. Enregistrer le poids de la terre totale et le poids des graviers lavés.

II.2.2. Détermination de l'humidité

- **Principe.**

L'humidité de la terre est déterminée sur un échantillon fraîchement prélevé par différence entre le poids de l'échantillon humide et le poids de l'échantillon séché à 105°C.

- **Mode opératoire.**
 - Peser l'échantillon contenu dans un bocal fermé, soit P1.
 - Enlever le couvercle et mettre à l'étuve à 105°C pendant 24 h.
 - Refroidir en dessiccateur
 - Peser le bocal avec couvercle, soit P2.
 - Vider le bocal, le laver, le sécher à 105°C et le peser, soit P3.

- **Calculs**

$$\text{Humidité en \%} = \frac{P1-P2}{P2-P3} \times 100$$

II.2.3. Le PH

Le pH des particules de terre à l'état naturel est sujet à des variations en fonction des changements dans les rapports terre/solution motivés par le climat, la culture et d'autres facteurs. Le pH est couramment mesuré dans une suspension sol : eau de rapport 1/2.5 et dans une solution de KCl 1N avec le même rapport. La différence obtenue (pH KCl - pH eau) correspond à l'acidité d'échange, c'est à dire aux ions H⁺ adsorbés sur le complexe d'échange. Ce paramètre permet de donner un classement au sol (tableau 04)

Tableau 04 : Échelle d'interprétation du pH

pH/H ₂ O	Sol
< 4,9	Très acide
4,9 – 6,0	Acide
6,0 – 7,0	Peu acide
7,0	Neutre
7,0 – 8,0	Peu alcalin
8,0 – 9,4	Alcalin
>9.4	Très alcalin

❖ Principe.

Cette méthode est basée sur le fait que si deux électrodes spécifiquement choisies sont plongées dans une solution, il se développe entre elles un potentiel qui dépend de l'activité des ions H^+ de la solution et dont la mesure permet de connaître le pH. Elle est mesurée à l'aide d'un pH-mètre à lecture directe dont le potentiel qui apparaît entre les électrodes lorsqu'elles sont plongées dans une solution est traduit en unités de Ph.

• Mode opératoire**➤ pH à l'eau.**

- peser 10 g de sol à 2mm
- ajouter 25 ml d'eau distillée bouillie
- agiter pendant quelques minutes et laisser ensuite reposer pendant 30mn.
- Faire la lecture au pH-mètre préalablement étalonné dans des solutions à pH connu.

II.2.4. Détermination de la matière organique

La matière organique amplifie grandement la capacité d'échange cationique du sol et retient les nutriments assimilables par les plantes. Ainsi, la matière organique constitue un réservoir de nutriments lentement assimilables. La teneur en matière organique du sol n'est pas une donnée utilisée pour effectuer des recommandations de fertilisation, mais elle joue néanmoins un rôle important dans la fertilité du sol. Ainsi, en général, le carbone organique présent dans le sol est mesuré, puis le résultat obtenu est transformé pour obtenir la matière organique présente en prenant comme référence que 58 % du carbone organique de l'humus du sol constitue la matière organique.

La méthode la plus indiquée dans le dosage du carbone organique est la méthode ANNE pour déterminer indirectement le taux de matière organique dans le sol, cette méthode permet de mesurer le carbone organique. Elle ne peut être utilisée si les sols contiennent plus de 20 % de matière organique.

❖ Principe

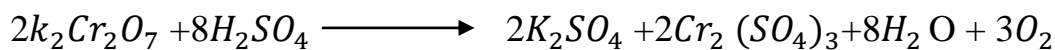
La méthode ANNE consiste à oxyder à chaud le carbone de la MO contenu dans un échantillon de sol en présence d'un oxydant puissant : le bichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) en milieu sulfurique.

L'excès de bichromate de potassium est titré par le sel de MOHR (sulfate de fer et d'ammonium $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2$)

On admet ainsi que l'oxygène consommé est proportionnel au carbone que l'on veut doser. Le taux de MO peut être déduit du résultat obtenu sachant que le carbone représente 58% de la matière organique.

Ce sont des réactions d'oxydo-réduction qui sont mises en jeu, il y a :

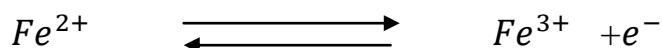
- Libération d'oxygène :



- Oxidation du carbon :



- Enfin dosage de l'excès d'oxydant $K_2Cr_2O_7$ qui fait passer le fer du sel de MOHR de l'état réduit à l'état oxydé.



Mode opératoire

A. Essai-témoin

Dans un erlen meyer, mettre successivement :

- 2g de sable calciné.
 - 10ml de la solution de bichromate à 8 %.
 - 15ml d'acide sulfurique concentré.
- Couvrir l'erlenmeyer d'un verre de montre ou mieux l'adapter à un réfrigérant ascendant pour éviter les vapeurs.

- porter à ébullition, la durée d'ébullition est de 5 min après formation de goutte de condensation.
- laisser refroidir et ajouter 150ml d'eau distillé, homogénéiser. Pour titrer :
- Prélever 20ml de cette solution qu'on introduit dans un ballon de 250ml contenant 150ml d'eau distillée.
- ajouter 3-4 gouttes de diphenylamine (indicateur faisant passer la solution du brun violacé au bleu verdâtre en présence d'un excès de sel réducteur).
- ajouter 5ml de la solution de NaF à 3%.
- titrer avec la solution de sel de MOHR 0.2%.
- noter le volume (n') de sel de MOHR utilisé pour obtenir le virage au bleu verdâtre.

B.Essai –échantillon

- remplacer le sable calciné par 2g de sol finement broyé, la prise d'essai peut être réduite jusqu'à 0.5g si l'échantillon est humifère.
- procéder de la même manière que dans l'essai témoin
- noter le volume (n) de sel de MOHR au moment du virage au bleu verdâtre.

❖Calculs :

Le taux de matières organique peut être déterminé ainsi :

$$\%M.O = \%C \cdot \frac{100}{58} = \%C \cdot 1.72 \quad \text{Soit } \%C = \frac{n' - n \cdot 0.615}{p}$$

Tableau 05 : Échelle d'interprétation du MO

%M.O	Sol
< 0.5 %	Très pauvre en MO
0.5 - 1.5%	Pauvre en M.O
1.5 - 2.5%	moyennement pauvre en MO
2.5 - 6 %	riche en MO
6 - 15%	très riche en MO

Tableau 06 : Classification des sols selon le pourcentage en Matière organique

%M.O	Sol
0-2 %	Très pauvre en MO
2 -4 %	sol normal
4 -10 %	sol humifère
10 -20%	humu- * texture *
>20%	on dira que c'est un HUMUS

Il est souhaitable d'avoir :

- En climat tempéré, 1.25% dans les terres franches à bonne structure ,1.5% dans les sols lourds (=argileux) ,2% dans les sols limoneux ,2.2% dans les sols sableux et 3 % dans les sols calcaires ;
- En climat aride 1% de MO

II.2.5. Le calcaire total

Le calcaire total groupe les carbonates insolubles des sols, ceux du calcium et du magnésium. Il est mesuré l'aide du calcimètre de Bernard. Il peut également être apprécié par le test d'effervescence

❖ Principe

Sous l'action d'un acide fort, l'acide chlorhydrique, les carbonates se décomposent. Il en résulte un dégagement de gaz carbonique. La méthode au calcimètre de Bernard permet la mesure du volume de CO₂ dégagé, recueilli dans un tube gradué. Le test d'effervescence permet d'estimer, à l'œil nu, l'importance des bulles formées.

❖ test d'effervescence

- Placer quelques grammes de terre fine des sols 1 et 2 dans des verres de montre - Ajouter à la goutte, de l'acide chlorhydrique, au demi et noter l'importance de l'effervescence qui en résulte (aucune, moyenne, forte, très forte)

❖ méthode au calcimètre de Bernard

• Mode opératoire

a- Étalonnage

- Remplir, au préalable, l'appareil d'un liquide coloré légèrement acide pour éviter une solubilisation du CO₂ (HCL N/20)
- Introduire dans le doigt de la fiole ou dans un petit tube environ 5ml d'acide.
- Peser exactement une prise d'essai de carbonate de calcium (1g de CaCO₃ donne naissance à 225 ml de CO₂), l'introduire dans la fiole
- Boucher, ouvrir la pince, mettre les niveaux liquides à zéro ; même niveau dans le tube et dans l'ampoule. Fermer la pince

- Renverser la fiole afin de faire couler sur l'échantillon l'acide se trouvant dans le doigt. Le dégagement gazeux commence. Lorsqu'il est terminé, le niveau ne change plus dans le tube manomètre, équilibrer les niveaux en abaissant l'ampoule afin que le liquide soit dans le même niveau (dans l'ampoule et le tube).
- Lire le volume V correspondant au poids P (avec le carbonate pur)

- b- Dosage

Selon l'importance des carbonates, évalués par le test d'effervescence, on peut orienter la prise d'essai variant de 0.5 à 1g de terre à 2mm. La prise d'essai choisie sera disposée comme pour l'étalonnage. Soit P la prise d'essai et V1 le volume dégagé.

- **Calculs**

$$\text{CaCO}_3 = \frac{P \times V_1 \times 100}{V \times P_1}$$

Tableau 07: Échelle d'interprétation du calcaire total

% de carbonates	Charge en calcaire
< 0.3	Très faible
0.3 – 3.0	Faible
3 – 25	Moyenne
25 - 60	Forte
> 60	Très forte

Une fois les résultats de l'analyse connus, nous pourrons utiliser selon **BAISE, (2000)** les appréciations du tableau ci-dessous proposées par le **G.E.P.P.A** (Groupe d'Étude des Problèmes de Pédologie Appliquée).

II.2.6. Analyses granulométrique

L'analyse granulométrique a pour but de déterminer quantitativement la distribution des particules de sol par classes de diamètres. Le nombre et la grandeur des classes de diamètres dépendront de l'objectif pour suivi et, éventuellement, de l'importance de l'échantillon dont on dispose. Il y a lieu de faire remarquer dès à présent qu'il existe des différences quant aux limites des classes et quant aux appellations des sols en fonction du corps professionnel impliqué.

Au cours de divers congrès de l'association international de la science du sol, les particules ont été classées en fraction suivant leur diamètre en microns (μ)

- Argile $<2 \mu$
- Limon fin 2-20 μ
- Limon grossier 20-50 μ
- Sable fin 50-200 μ
- Sable grossier 200-2000 μ

Ces fractions peuvent être en proportion variables dans le sol. L'analyse granulométrique (répartition des particules selon leur taille) correspond à l'une des caractéristiques fondamentales nécessaires pour établir une classification des sols en déterminant la part de chaque fraction et les résultats peuvent être comparés à l'aide d'un diagramme de texture. Elle permet donc de déterminer la proportion d'argile, de limons, de sables en vue de connaître les propriétés du sol et pédogenèse en mettant en évidence les phénomènes d'éluviation et la relation entre sol-roche mère. La connaissance de la texture permet la classification des sols et l'appréciation de leur niveau de fertilité.

Une méthode « internationale » a été mise au point et elle est fréquemment employée c'est la méthode d'analyse granulométrique à la pipette ROBINSON

- **Principe :**

La méthode consiste à faire subir à la terre fine :

-une attaque par l'eau oxygénée pour détruire la matière organique.

-Une attaque par l'acide chlorhydrique pour éliminer le calcaire.

Ces deux traitements sont généralement appliqués aux sols organiques et calcaires.

L'échantillon est ensuite mis en suspension par une solution dispersante « l'hexametaphosphate de sodium » sel neutre qui élimine tous les ions maintenant Les colloïdes à l'état floculé.

Après cette dispersion, la séparation des différentes particules peut se faire alors selon leur diamètre par tamisage.

- **Mode opératoire**

Sol séché à l'air libre, broyé et tamisé à 2mm peut conserver à humidité résiduelle, exclusivement hygroscopique qu'il peut déterminer après dessiccation à l'étuve à 105 °C de 10 ou 20 g selon la capacité de rétention en eau de sol.

a. Destruction de la matière organique

- Peser 20 g de sol tamisé à 2mm et les mettre dans un bécher
- Ajouter 50 ml d' H_2O_2 à 20 volume
- Porter au bain-marie au sur un plaque chauffante une température de 85-90°C jusqu'à disparition de l'effervescence.
- Ensuite, chauffer encore pour éliminer l' H_2O_2 en terminant par 10 min d'ébullition.
- Vérifier l'absence de H_2O_2 par $KMnO$
- Laisser refroidir

b. Décarbonatation

- Ajouter 100ml d'une solution d'Hcl préparé à partir Hcl 12N
- Porter à ébullition pendant 15 min et laisser refroidir
- Ajouter de l'eau distillée jusqu'au $\frac{3}{4}$ du bécher, agiter et laisser décanter.
- Siphonner le liquide clair en évitant les pertes des particules -Effectuer environ trois lavages par décantation
- la décalcification de l'échantillon.
- Ajouter 100ml de Hcl 0,1N autant de fois si nécessaire, laisser reposer puis verser sur le filtre ; répéter l'opération deux autres fois.

- Faire passer toute la terre sur le filtre à l'aide De Kcl 0,1N après la troisième décantation, continuer le lavage avec Kcl N/100 jusqu'à avoir 500ml de filtrat.

c.Dispersion

- Transvaser la terre dans un flacon d'un litre et ajouter l'eau distillée jusqu'à 500ml
- Ajouter 40ml de la solution dispersante d'hexametaphosphate de sodium
- Ajouter 1ml d'ammoniaque pure
- Agiter mécaniquement à l'agitateur rotatif pendant 2 heures.

d.Séparation des fractions granulométriques

- La suspension est transvasée dans une allonge ; après plusieurs rinçages du flacon d'agitation, on complète le volume avec de l'eau distillée. Les différentes particules se sédimentent plus ou moins rapidement selon leurs diamètres

❖Calculs

P : prise d'essai

P_1 : Poids d'argile+limons fins+hexamétaphosphate prélevé et pesé a sec

P_2 : Poids d'argil +hexamétaphosphate prélevé et pesé a sec

P_r : Surcharge du dispersant (hexamétaphosphate)

P_4 : Poids des sables grossiers

v : volume de la pipette

V : volume total de la suspension

M.O :% de matière organique

H : % de l'humidité

caco_3 :% de calcaire

Les différentes fractions se calculent ainsi :

$$\% \text{Argile} = \frac{(P_2 - P_r) \times V \times 100}{v [P - P / 100 (MO + H + CaCO_3)]}$$

$$\% \text{Limon fins} = \frac{(P_1 - P_2) \times V \times 100}{v [P - P / 100 (MO + H + CaCO_3)]}$$

$$\% \text{Sables fins} = \frac{P_3}{[P - P / 100 (MO + H + CaCO_3)]}$$

$$\% \text{sables grossiers} = \frac{P_4 \times 100}{[P - P / 100 (MO + H + CaCO_3)]}$$

$$\% \text{Limon grossiers} = 100 - (\%A + \%LF + \%SF + \%SG)$$

Déterminer alors le type de texture en utilisant le diagramme (figure 09) et interpréter les résultats en relation avec les propriétés physiques du sol

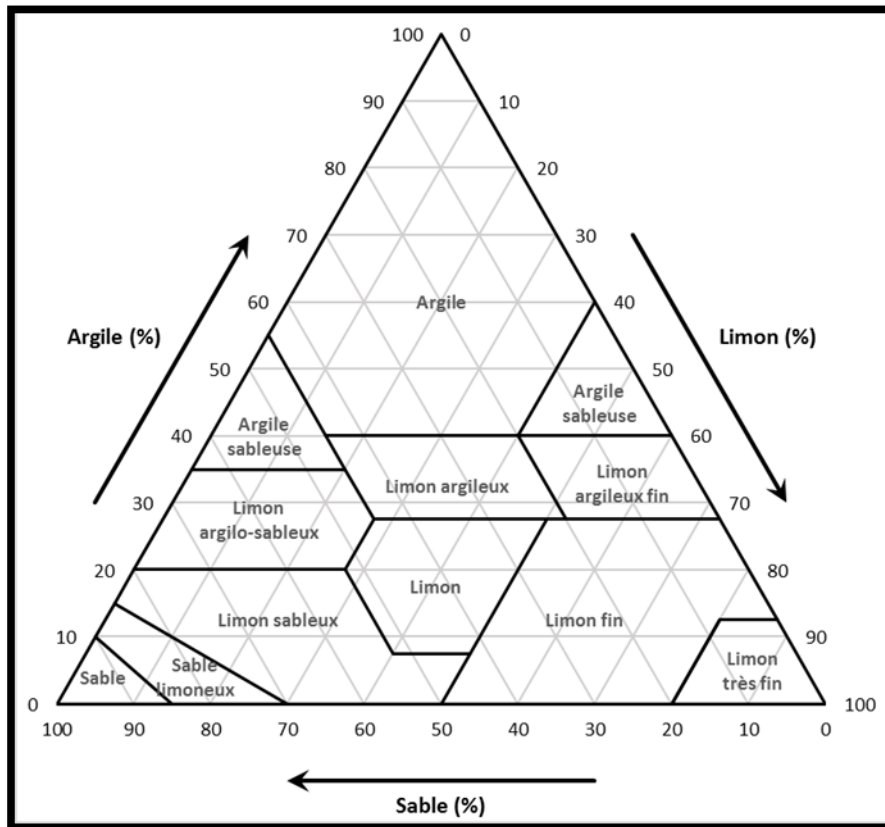


Figure 09: Le Triangle de texture

II.3. Étude anatomique

L'étude histologique de deux espèces nécessite une liste de matériels et un ensemble de solution chimique. (Annexe08)

➤Préparation des coupes anatomiques :

La confection des coupes minces est notre premier souci, afin de pouvoir bien déterminer les différents tissus. Les feuilles choisies doivent être parfaites, autrement dit, elles ne doivent pas être altérées

Les feuilles choisies ne doivent pas être très anciennes, ni même trop jeunes. Notre choix a porté sur des feuilles ayant un âge moyen.

Les échantillons à couper sont frais ou conservés dans un fixateur (comme exemple Alcool).

Pour notre cas, on prend les parties à étudiées (Feuille, tige, racine) pour obtenir des bonnes coupes, on a choisi les meilleures parties, on les plonge dans l'eau distillée quelques instants afin d'avoir de bonne coupes.

Après nous avons suivi les étapes suivantes :

Réaliser des coupes transversales, avec une lame de rasoir neuve au niveau de la tige , la feuille et la racine de *Carthamus tinctorius L.* Déposer les coupes sur un tamis dans les verres de montre rempli d'eau distillée.

Les coupes les plus fines sont sélectionnées à l'aide d'une pince afin de pouvoir les colorer par la suite.

a. La double coloration des coupes

Parmi les techniques de coloration de membrane cellulaire seule, une des plus utilisées et qui permet de mettre en évidence les deux types de tissus existants dans la structure histologique est la technique dite double coloration au vert de méthyle – rouge de congo. (**Langeron ,1934**).

L'étude comparative de différentes coupes permet, sans aucun doute, d'élucider les stratégies adaptatives de ces espèces.

- Vert de méthyle permet de colorer les parois lignifiées en vert et les tissus suberifiés en marron
- Le rouge de Congo permet de colorer parois pectocellulosiques

➤La technique

- Les coupes ainsi obtenues sont nettoyés pendant 10 à 20 mn dans l'hypochlorite de Sodium (eau de javel) afin de détruire le contenu cellulaire et blanchir les membranes.
- Rince les coupes avec de l'eau de robinet plusieurs fois pour éliminer l'excès de l'eau de javel.
- Traitement des coupes par l'acide acétique à 0,01% pendant 2 minutes, cet acide détruira les traces d'hypochlorite et facilitera la fixation ultérieure des colorants sur les membranes. (**Deyson, 1965**).
- Rincer les coupes avec de l'eau de robinet plusieurs fois pour éliminer l'excès de l'acide acétique

Le traitement par la double coloration au rouge de congo et vert de méthyle est effectué comme suit :

- On trempe ces coupes dans le vert de méthyle pendant 20minutes pour colorer les tissus lignifiés en vert et les tissus suberifiés en marron
- On rince soigneusement les coupes avec l'eau distillée afin d'en éliminer l'excès du colorant.
- Laisser les coupes trempés dans l'eau pendant 5 mn
- Tremper les coupes dans le deuxième colorant (Rouge de congo) pendant 5minutes ce réactif colorera en rose les tissus cellulosiques.
- Par la suite, on rince soigneusement les coupes qui doivent rester dans de l'eau distillée, sinon elles se dessèchent rapidement.

b. Montage des coupes

On a pris chacune délicatement à l'aide d'une pince, les mettre sur une lame, et on a déposé dessus une goutte d'eau ensuite on couvre avec une lamelle pour enfin les observer au microscope optique avec des différents grossissements.

Chapitre III :
Résultats et
Discussion

I. Etude phytochimique

I.1. Détermination de la teneur en eau

Nous avons utilisé le protocole de (ZERRAD et al ; 2006) pour calculer la teneur en eau de la partie aérienne et souterraine de l'espèce étudiée.

Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau suivant :

Tableau 08 : Teneur en eau de *Carthamus tinctorius L*

	Localité de Bougara		localité de Tablat	
	racines	feuilles	racines	feuilles
Teneur en eau (%)	24,05	68,90	22,13	66,51

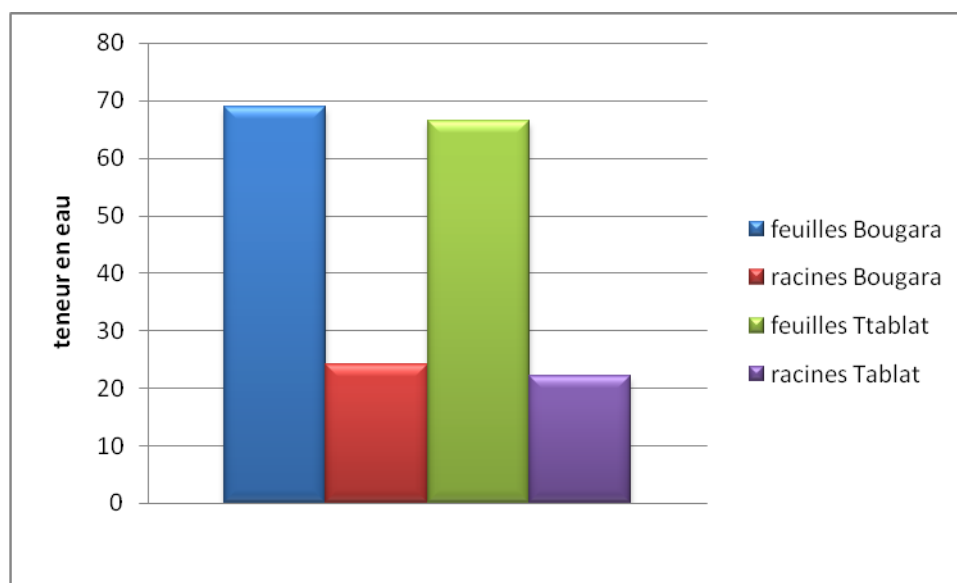


Figure10 : histogramme représente le pourcentage en teneur en eau

D'après l'histogramme montré ci-dessus, on observe que les valeurs de la partie aérienne sont élevées comparées à celles de la partie racinaire, les pourcentages de teneur en eau des feuilles des plants collectés à Bougara et à Tablat sont presque similaires, avec des valeurs de 68,90% et 66,51% respectivement. Pour la partie racinaire les valeurs obtenues sont respectivement de 22,13% pour la région de Tablat et 24,05% pour Bougara.

I.2. Screening phytochimique

Le screening phytochimique nous a permis en premier lieu de se renseigner sur les familles chimiques des métabolites secondaires présents dans les feuilles et les racines de *Carthamus tinctorius L.* L'ensemble des résultats du screening phytochimique des deux parties de la plante sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 09 : Composition phytochimique des racines et des feuilles du *Carthamus tinctorius L.* provenant des deux régions étudiées.

Composé chimique	Station de Bougara		Station de Tablat	
	racines	feuilles	racines	feuilles
Anthocyane	(±)	(++)	(±)	(+)
Tanins totaux	(+)	(+++)	(++)	(+++)
Tanins gallique	(-)	(-)	(-)	(-)
Tanins catechiques	(+)	(++)	(+)	(+++)
Flavonoides	(±)trace	(+)	(+)	(+++)
Saponines	(+++)	(++)	(++)	(++)
Alcaloides	(+++)	(++)	(+++)	(++)
coumarines	(-)	(++)	(+)	(+++)

(-) : absence ; (+) : faible teneur ; (++) : teneur moyenne ; (+++) : forte teneur

Le screening phytochimique réalisé sur la poudre et l'infusé des feuilles du *Carthamus tinctorius L.* a révélé que les feuilles de la plante sont caractérisées par une forte proportion de tanins (totaux et catechique) de saponosides,

anthocyanes, coumarines, alcaloïdes, Elles présentent cependant une faible proportion des flavonoïdes et une absence totale des tanins galliques.

En ce qui concerne les racines de *Carthamus tinctorius* L., ils se sont révélés très riches en saponosides, alcaloïdes. Ils présentent cependant, une faible teneur en tanins totaux et catechique, une trace des anthocyanes, et flavonoïdes et une absence totale des coumarines et tanins gallique

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par certains auteurs, (**Takimoto et al., 2001 ; Roh et al., 2004**) et plus récemment, les travaux de (**Vuong et al., 2013**) ont montré que les graines de la même espèce (*Carthamus tinctorius* L.) utilisée en médecine traditionnelle en Asie et en Corée étaient riches en composés phénoliques dont les flavonoïdes. (**Kuşoğlu et kahraman 2015**) ont par ailleurs, mis en évidence chez cette espèce la présence de flavonoïdes dans des extraits éthanoliques de feuilles séchées.

I. 3.dosage des polyphénols totaux

- **Préparation de la droite d'étalonnage**

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique tracée pour le dosage des flavonoïdes totaux est montrée dans la figure 11

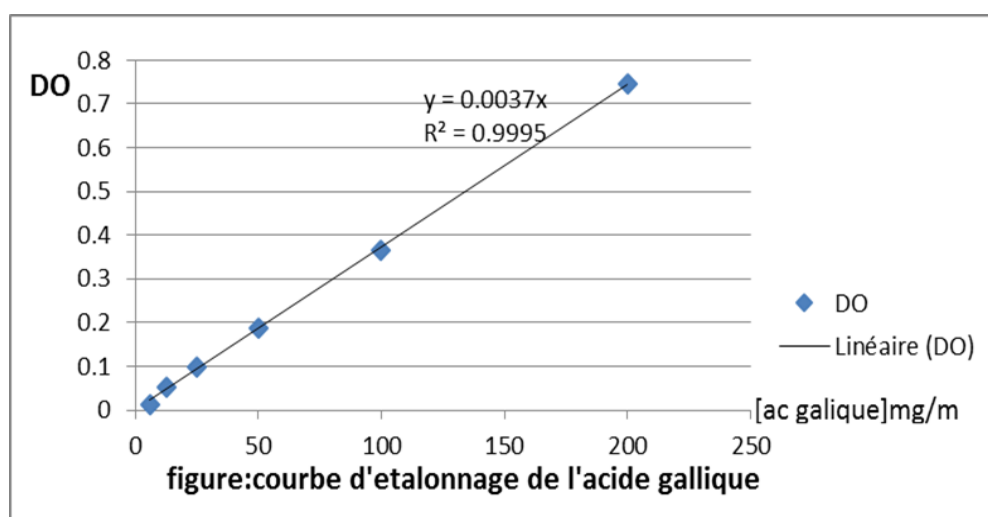


Figure 11 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Le dosage des composés phénoliques totaux ont été effectués sur des échantillons de la partie aérienne et de la partie racinaire. Les résultats obtenus sont consignés dans le (tableau10) .

Tableau 10 : Teneur en polyphénols des racines et des feuilles de *Carthamus tinctorius L.* provenant des deux régions d'étude.

		Essais	Longueurs d'ondes	Concentration [C] Mg/EAG	Concentration moyenne en Mg/EAG
Station Bougara	feuilles	1	760	25.51	24.45± 1,06
		2		23.39	
		3		29.93	
	racines	1	760	04.96	5.72±0 ,58
		2		05.83	
		3		06.39	
Station Tablat	feuilles	1	760	35.86	33.36±2,13
		2		33.65	
		3		30.59	
	racines	1	760	11.72	10.49±1,33
		2		11.13	
		3		08.64	

Les concentrations ont été déterminées par rapport à 100 mg de matière végétale sèche de la partie racinaire et 100 mgde la partie aérienne. Nous constatons que les feuilles des plants de la région du Tablat et Bougara sont plus riches en polyphenols (33.36±2,13mg/EAG, et 24.45± 1,06 mg/EAG) (**Tableau 10**) .

Pour la partie racinaire, les plants de de la région de Tablat se caractérisent par des taux plus elevés de polyphénols par rapport à ceux de la region de Bougara avec une concentration de (10.49±1,33mg/EAG, et 5.72±0 ,58mg/EAG) (figure12).

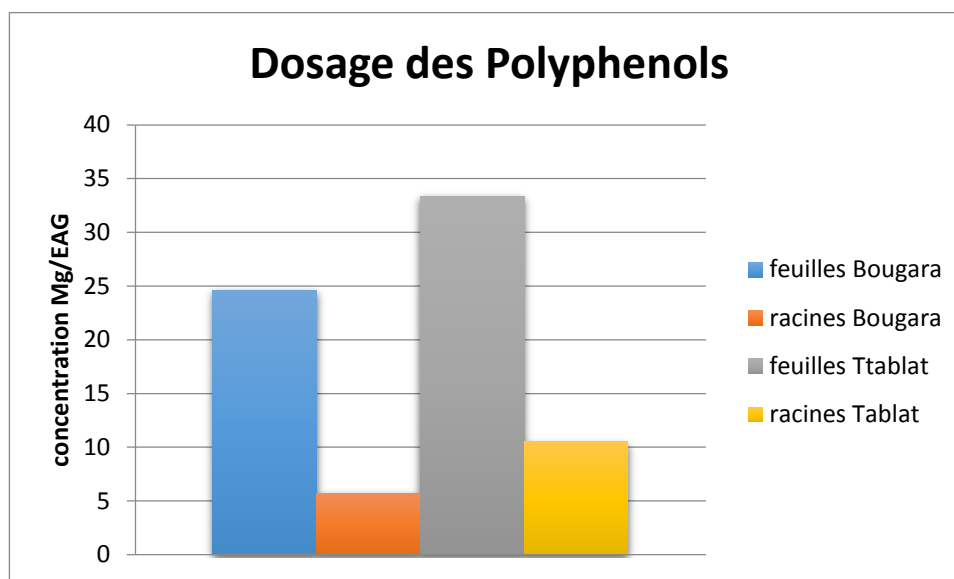


Figure 12: Concentration des polyphénols dans les deux parties de la plante (feuilles et racine) des deux régions d'étude.

En comparant nos résultats aux résultats obtenus dans l'étude réalisés par **Djellouli et Bedrouni (2016)** sur le même genre *Carthamus* (espèce *carthamus caeruleus L.*) prélevée dans la région de Chlef, nous constatons que nos teneurs sont largement inférieures à celles rapportées par l'étude réalisée à Chlef. Cependant, cette large différence peut s'expliquer par les facteurs climatiques tels que la pluviosité, la température et la force des vents et aussi par la nature biologique du sol et la disponibilité des éléments nutritionnels qui jouent un rôle important dans la croissance des différentes parties de la plante et la présence de certaines substances biologiques. Mais elle peut être aussi expliquée par la nature du solvant utilisé lors du dosage.

Les résultats obtenus des composés phénoliques ont été signalés également par **Wojdylo et al. (2007)** qui ont remarqué que la famille des Asteraceae présente des teneurs élevées en composés phénoliques comparée aux autres familles botaniques. **Kamkar et al. (2013)**.

I.3.1. Dosage des flavonoïdes

□ Préparation de la droite d'étalonnage

A partir des solutions mères de 200ppm, des dilutions sont préparées avec le solvant utilisé pour la solubilisation des extraits. Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux, ils sont montrés dans le (tableau 1, annexe 09).

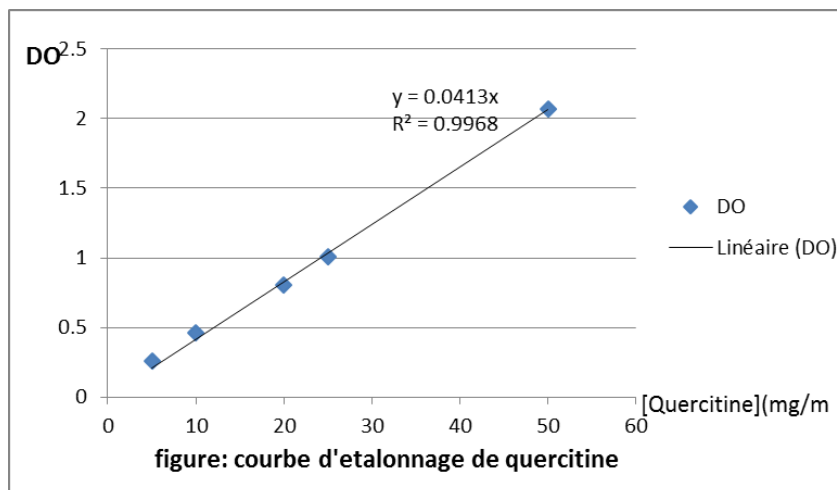


Figure 13: courbe d’etalonnage de l’acide gallique pour le dosage

Les résultats enregistrés lors du dosage des flavonoïdes, à partir des feuilles et des racines du *Carthamus tinctorius L.* de deux régions, sont représentés dans le (tableau11)

Tableau 11 : valeurs du dosage des flavonoïdes au niveau des racines et des feuilles

		Essais	Longeurs d’ondes	Concentration [C] Mg/EQ	Concentration moyenne en Mg/EQ
Station Bougara	feuilles	1	440	01.45	1.43±0,057
		2		01.36	
		3		01.50	
	racines	1	440	0.39	0.38±0,008
		2		0.37	
		3		0.38	
Station Tablat	feuilles	1	440	01.17	1.2±0,029
		2		01.24	
		3		01.19	
	racines	1	440	0.43	0.40±0,024
		2		0.41	
		3		0.37	

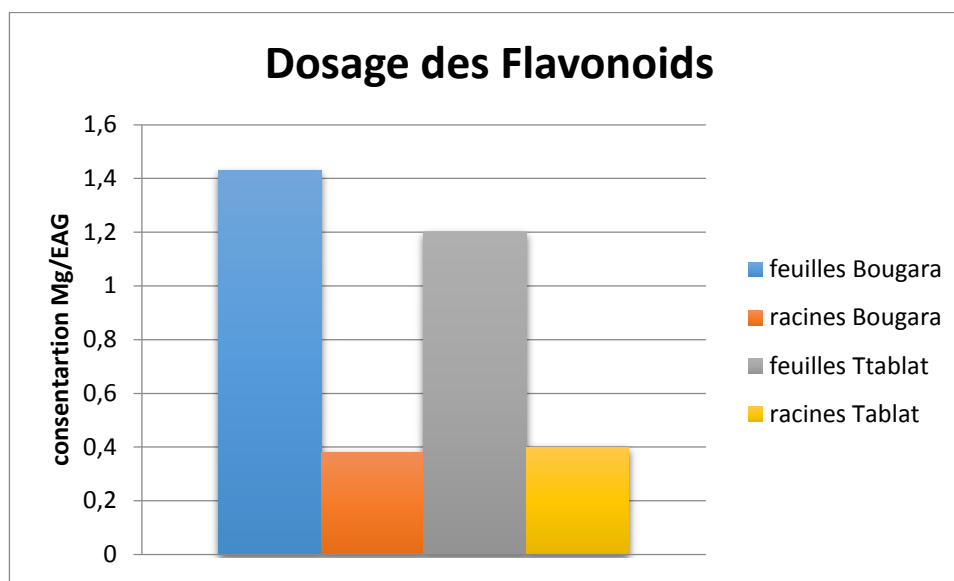


Figure14: Concentration des flavonoïdes

Les concentrations ont été déterminées par rapport à 100mg de matière végétale sèche de la partie racinaire et 100mg de la partie aérienne. Nous constatons que la concentration des flavonoïdes de la partie aérienne (feuilles) de la région du Ttablat et Bougara sont les plus élevées ($1.43\text{mg}\pm 0,057/\text{EAG}$, et $1.20\pm 0,029\text{ mg/EAG}$) (**figure 14**). Pour la partie racinaire les valeurs sont presque similaire avec des valeurs de ($0.38\text{Mg}\pm 0,008/\text{EAG}$ pour Bougara , et $0,40\pm 0,024\text{Mg/EAG}$ pour Ttablat.

plusieurs études ont été réalisées sur le même genre *Carthamus* (l'espaces *Carthamus caeruleus L.*) ; ces dernières on rapporté des valeurs nettement supérieures par rapport aux valeurs rapportées par notre étude (**Allouache et Ghernoub, 2017**).

Selon **Allouache et Ghernoub 2017** , des teneurs allant de $10,37\text{mg/EQ}$ à $11,15\text{mg/EQ}$ et $0,53\text{mg/EQ}$ et $0,54\text{mg/EQ}$ ont été enregistrées respectivement à partir d'extrait des racines et de feuilles du *Carthamus caeruleusL.*

I.3.2.Dosage des anthocyanes totaux

La figure et le tableau représentent les concentrations obtenues dans les deux parties de la plante (feuilles et racine) de deux régions.

Tableau 12 : les concentration d'anthocyane de *Carthamus tinctorius L* dans les deux régions .

	Localité de Bougara		Localité de Tablat	
	Feuille	Racine	Feuille	Racine
Concentration en (Mg/ g.MVS)	0,244	0,127	0,421	0,211

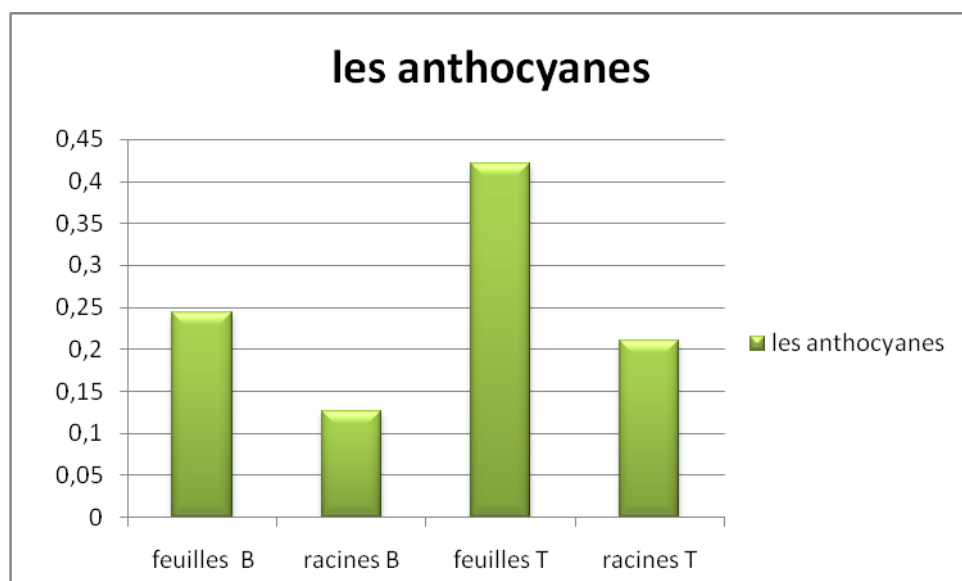


Figure 15 : concentrations des anthocyanes

la figure ci-dessus montre que les feuilles des plants de la région du Tablat présentent un taux élevé d'anthocyane avec une valeur de (0,421Mg/ g .MVS),et les racine de la région de Bougara enregistre la plus faible concentration avec un taux de (0,127Mg/ g.MVS)

Nous remarquons aussi que les concentrations les plus importantes sont notées chez les feuilles par rapport aux les racines.

I.4 Activité antioxydant

La technique du 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est une technique spectrophotométrique (Cuended et al., 1997; Burits et Bucar, 2000), basée sur la réduction du radical stable (DPPH) par des antioxydants donneurs des protons d'hydrogène. Une solution du DPPH dans le méthanol est caractérisée par une couleur violette intense qui absorbe la lumière à 517 nm. L'absorbance diminue et la couleur disparaît progressivement en accord avec la réduction du DPPH par ces antioxydants. Donc le pouvoir antioxydant des extraits des racines et des feuilles du *Carthamus tinctorious* L. évalué par cette technique, est inversement proportionnel à la disparition de la couleur violette du DPPH. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (réduction) du DPPH (tableau 13 et figure 16)

D'après les résultats obtenus, la variation du pouvoir antioxydant des différents extraits pourrait s'expliquer par leur richesse différentielle en polyphénols. Le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations différentes des extraits issues à partir des racines et feuilles de *Carthamus tinctorious* L. est représenté par la (figure 16). La comparaison de l'activité de piégeage du DPPH des extraits des racines et des feuilles des plantes des deux régions avec celle exprimé par le BHT a montré que nos extraits présentent une activité antioxydante modérée. La plus faible activité de piégeage des radicaux libres est obtenue par les racines de Bougara (68.26 %) suivie par les racines du Tablat (70.52 %), et une concentration plus importante chez les feuilles de Tablat (85.74 %)

%) suivi par les feuilles de Bougara (78.68%) à la concentration de 400 µg/mL, alors que l'activité la plus forte est obtenue par le BHT (64.69 %) à la concentration (25 µg/mL).

Tableau 13: Pourcentage d'inhibition (%) du DPPH en fonction des concentrations de *Carthamus tinctorius L* et du BHT à différentes concentrations

Echantion	Activiteantioxydant								
	Concentrati on (µg/mL)	50	100	150	200	300	400		
Feuilles de la station de Bougara	Pourcentage d'inhibition du DPPH(%)	17.7	39.84	52.09	60.61	70.3	78.68		
	DPPH IC50 (µg/mL)	142							
	Concentrati on (µg/mL)	50	100	150	200	300	400	600	
Racines de la station de Bougara	Pourcentage d'inhibition du DPPH(%)	11.23	27.93	38.58	49.34	60.84	68.26	81.56	
	DPPH IC50 (µg/mL)	209							
	Concentrati on (µg/mL)	50	100	150	200	300	400	600	
Feuilles de la station de Tablat	Pourcentage d'inhibition du DPPH(%)	29.4	40.4	65.6	70.8	75.2	85.74		
	DPPH IC50 (µg/mL)	119							
	Concentrati on (µg/mL)	50	100	150	200	300	400	600	
Racines de la station de Tablat	Pourcentage d'inhibition du DPPH(%)	12.41	29.01	41.32	51.84	62.41	70.52	84.72	
	DPPH IC50 (µg/mL)	198							
	Concentrati on (µg/mL)	50	100	150	200	300	400	600	
BHT	Pourcentage d'inhibition du DPPH(%)	18.5	30.4	35.95	55.85	64.69	71.3	75.4	80.54
	DPPH IC50 (µg/mL)	17.36							
	Concentrati on (µg/mL)	2	5	10	20	25	30	60	100

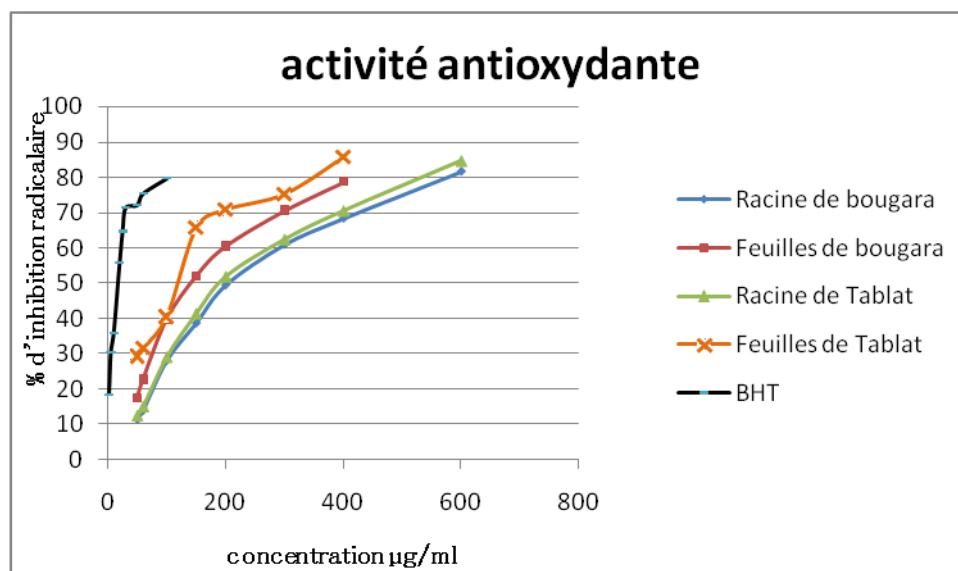


Figure 16 : Activité anti radicalaire (DPPH) des extraits méthanoliques obtenus à partir des extraits FT FB RT RB comparé avec le BHT.

Discussion :

La méthode DPPH est une méthode rapide, simple et non coûteuse pour mesurer la capacité antioxydante. Elle implique l'utilisation du radical libre, 2,2Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Le DPPH est largement utilisé pour évaluer la capacité des composés agissant comme des scavengers des radicaux libres ou donateurs d'hydrogènes et pour évaluer l'activité antioxydant des aliments. Il a aussi été utilisé pour quantifier les antioxydants dans les systèmes biologiques complexes (Prakash, 2001). D'après nos résultats nous remarquons que les différents extraits ont la capacité de réduire le radical libre DPPH de la couleur violette au radical stable jaune DPPH-H, d'une manière dose-dépendante. Les pouvoirs réducteurs des extraits des feuilles des plants des deux régions sont les plus importants parmi les quatre extraits. Cet effet peut être expliqué par la présence des taux relativement élevés de flavonoïdes dans ces deux extraits. En comparaison avec les résultats par Benhaoua (2016) nous distinguons que les feuilles de *Carthamus caeruleus* L. montrent un effet moins puissant que les effets de nos extraits ainsi que celui de BHT comme un contrôle positif.

L'activité antioxydante des différents extraits de *Carthamus tinctorius L.* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm, cette activité anti radicalaire (capacité d'éliminer le DPPH) est évaluée par la détermination de la concentration correspondante à 50% d'inhibition (CI50). La valeur de IC50 la plus faible correspond à l'activité antiradicalaire la plus importante. Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau14

Tableaux 14 :Les valeurs des IC50 des feuilles, des racines et du produits de référence (BHT)

	Tablat		Bougara		BHT
La plante	Racine	feuille	racine	feuille	
IC50	198	119	209	142	17.36

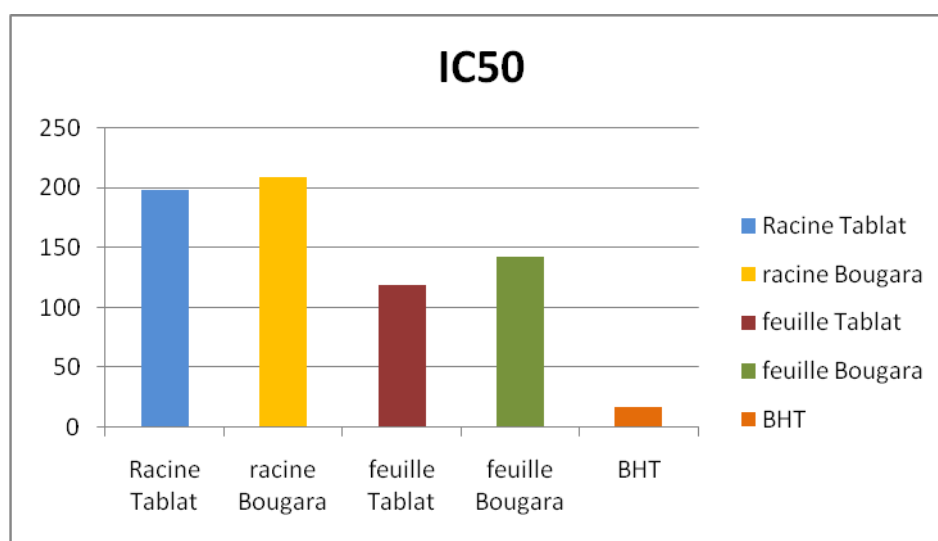


Figure17 : Activité antiradicalaire (DPPH) (exprimée en CI50 mg/ml) des extraits méthanolique obtenus à partir des extraits FB, FT, RB, RT.

Les résultats obtenus montrent que tous les extraits et le standard réduisent d'une manière dose-dépendante le radical DPPH, le pourcentage de réduction (ou d'inhibition) du DPPH augmente avec la concentration des extraits, jusqu'à un seuil où le pourcentage d'inhibition se stabilise avec l'élévation de la concentration des extraits.

l'extrait des feuilles de la plante du Tablat semble avoir l'effet inhibiteur le plus puissant sur le radicale DPPH, parmi les différents extraits des deux régions, avec une IC50 de 119µg/ml, suivi par l'extrait des feuilles de la plante de Bougara (IC50=142µg/ml) puis l'extrait des racines de la plante de Tablat(IC50=198µg/ml) puis les racine de la plante de bougara (IC50=209µg/ml). Les valeurs des IC50 des différents extraits (Tableau 14) montrent que les pouvoirs inhibiteurs des extraits des racines des deux régions sont les plus faibles et presque similaires.

Cependant, les deux autres extraits des feuilles expriment des inhibitions plus au moins importantes et proches (IC50= 119 et 142 µg/ml) .

En comparaison avec le BHT comme contrôle positif, l'effet inhibiteur des différents extraits des deux plantes est nettement moins important que l'effet du BHT (**figure16**)

II. Analyse du sol

Le sol est un des facteurs externes qui peuvent influencer sur le développement de la plante et sur la variabilité et les pouvoirs biologiques de ces composants chimiques

le tableau 15 résume les résultats des analyses du sol obtenus pour les 2 régions étudiées, il montre que l'humidité de sol de Bougara et Tablat sont presque similaires avec respectivement 22 ,56% et 21,02%.

On observe aussi que les valeurs de pH sont de 7.2 (localité de Bougara) et 7.7 (Localité de Tablat). Selon les normes d'interprétation présentées par Calvet et Villemin (1986), les deux échantillons sont légèrement alcalins. Ces résultats concordent très bien avec ceux obtenus par **Djili (2000)** qui a montré que les pH des sols de nord de l'Algérie sont supérieurs à 7.

D'après les résultats nous pouvons dire que le sol de Tablat est le plus alcalin par rapport au sol de Bougara.

Concernant la matière organique (tableau 14), elle représente une valeur de 5,92 pour le sol de Bougara et une valeur de 3,38 le sol de Tablat. Selon l'échelle d'interprétation (Tableau 05) les deux sols sont riches en matière organique.

Selon l'échelle montrée dans le tableau 6 on déduit que le sol de Bougara est un sol humifère et le sol de Tablat est dit normal .

Tableau 15: Résultats des analyses physico-chimiques des échantillons de sol de 2 régions étudié

Paramètres	Localité de Bougara	Localité de Tablat
Pourcentage d'humidité (%)	22 ,56	21,02
pH Appréciation	7,2 légèrement alcalins	7,7 légèrement alcalins
Matière organique% Quantité Nature de sol	5 ,92% riche en MO. Sol humifère	3,38% riche en MO. Sol normal
CaCo3 % Quantité	54 % Fort	41 ,48 % fort
Granulométrie% Argile Limos fins Limos grossier Sables fins Sables grossiers Type de texture	 31 28 14 17 11 Limono-argileux	 35 25 19 17 09 Limono-argileux

À propos du calcaire du sol et selon les appréciations du tableau **07** (Échelle d'interprétation du calcaire total) (**BAISE, (2000)**), les deux stations se caractérisent par des sols riches en calcaire avec respectivement un pourcentage de (CaCo₃ de 54%) pour localité de Bougara et (CaCo₃ de 3 41,48%) pour Tablat.

La texture est limono-argileuse au niveau des deux régions étudiées.

D'après l'ensemble des résultats, nous constatons que les sols des deux localités sont presque similaires, nous notons cependant une différence du taux de la matière organique (5,92% pour Bougara et 3,38% pour Tablat), et de la teneur en CaCo₃ (54% pour Bougara et 41,48% pour Tablat), d'autre part, et selon les résultats de dosage des différents composés (polyphénols, flavonoïdes et anthocyanes) nous distinguons des différences en teneurs des composants évalués

Les feuilles et les racines des plants collectées à Tablat sont plus riches en polyphénols (33,36% et 10,49%) et en anthocyanes (0,421% et 0,211%) par rapport à celles de Bougarra (24,54% et 5,7%) et (0,244% et 0,127%) respectivement,

Concernant les flavonoïdes se sont les feuilles des plants de Bougarra qui sont plus riches (1,43% contre 1,2%) (Tableau 10 et 11)

Cela peut être expliqué par la différence en teneurs en matières organiques et en CaCo₃ du sol

Selon certains auteurs, les plantes du genre carthamus poussent mieux dans les régions où le sol est bien alimenté en eau (**Alaoui, 2015**)

III. Étude anatomique

➤ Analyse des résultats et observation

Les meilleures coupes anatomiques ont été choisies pour déterminer les différents tissus, et à travers les résultats obtenus, on a pu constater une différence dans l'épaisseur des tissus des coupes histologiques pour l'espèce étudiée.

III .1.Étude anatomique de la tige de *Carthamus tinctorius L* :

L'observation, au microscope photonique, des coupes de la tige de *Carthamus tinctorius L* a permis d'examiner les tissus suivants :

- **L'épiderme (Tissu de revêtement)** : L'épiderme constitue la couche de cellules la plus externe recouvrant la plante, d'où son importance pour la protection des tissus internes.
- **Collenchyme** : est un tissu qui fait partie des tissus mécaniques de soutien d'une tige
- **Le parenchyme cortical (Tissu fondamental)** : Tissu constitué de cellules vivantes à paroi mince pectocellulosique, qui sont intimement liées aux activités physiologiques essentielles de la plante (photosynthèse et stockage des réserves)
- **Sclérenchyme** : Tissu soutien primaire formé de cellules mortes, à paroi secondaire entièrement lignifiée. Il assure la protection mécanique du végétal contre les agressions par les grains de sable, il est bien développé.
- **Xylème (Tissu ligneux)** : (Du grec xylon =bois) contient :
Le protoxyleme : formé par les petits vaisseaux
Le metaxyleme : formé par les grands vaisseaux
- **Phloème (Tissu criblé)** : Le phloème, conduit la sève élaborée, qui est la solution de substances organiques riches en glucides, des feuilles vers les autres organes (colorées en rose) (**Douzet, 2007**).
- **Le parenchyme médullaire** : Tissu parenchymateux à méats à parois pectocellulosiques,

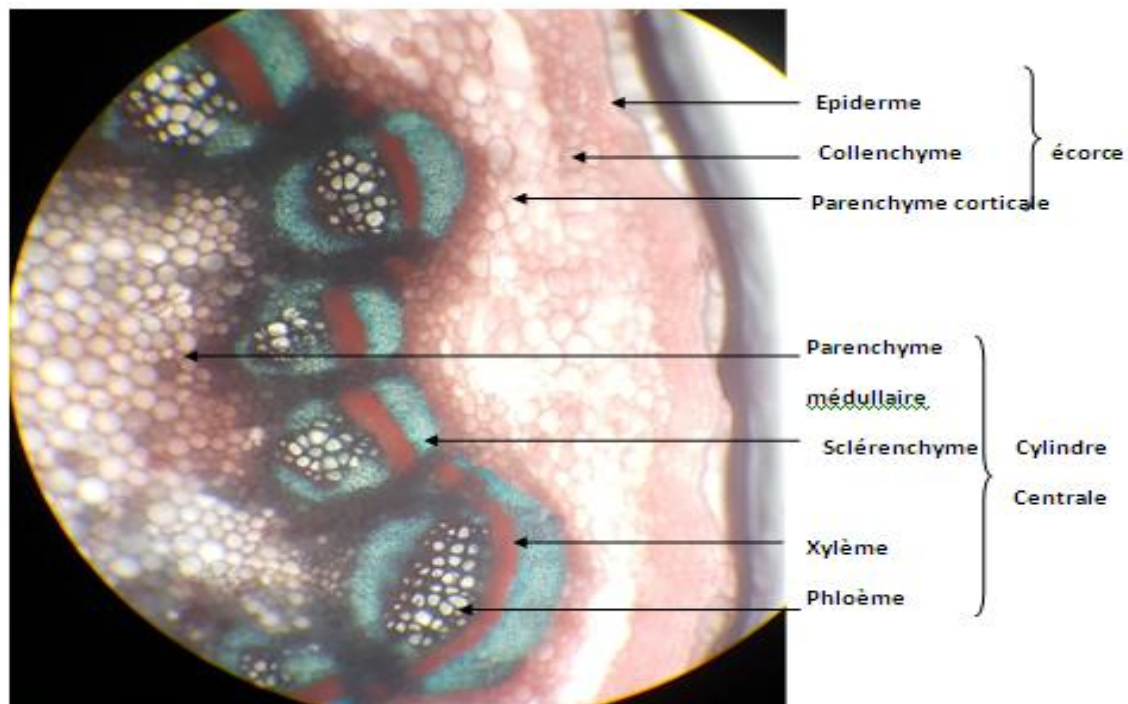


Figure 18 : Coupe transversale de la tige de *Carthamus tinctorius L* ($\times 400$).

III.2. Étude anatomique de la feuille :

L'observation des coupes de feuilles de *Carthamus tinctorius L* sous microscope permis d'observer les tissus suivants :

- **Épiderme** : Tissu protecteur des feuilles jusqu'au moment où leur croissance secondaire est devenue importante. La plupart des cellules épidermiques forment un ensemble compact qui procure aux organes de la plante une protection mécanique efficace contre l'évapotranspiration avec une paroi couverte, Avec une présence d'une substance imprenable appelé la cutine.
- **Collenchyme** : Le collenchyme est donc un tissu de soutien des organes jeunes en croissance, capable de résister à la tension d'élongation.
- **Parenchyme** : Tissu de forme sphérique à paroi mince, c'est un tissu de soutien et de réserve les cellules de ce colorées en rose (par le rouge carmin).

- **Sclérenchyme** : Composé de cellules mortes dont la membrane s'est épaissie suite à la présence d'une substance appelée lignine qui se colore en vert (par le vert d'iode).
- **Le phloème** : Riche en substances organiques synthétisées par le parenchyme chlorophyllien **Douzet (2007)**. Il assure la circulation de la sève élaborée, solution minérale du sol ayant pénétré dans le végétal.
- **Le xylème** : Assure la circulation de la sève, brute, solution minérale du sol ayant pénétré le végétal au niveau de l'assise pilifère

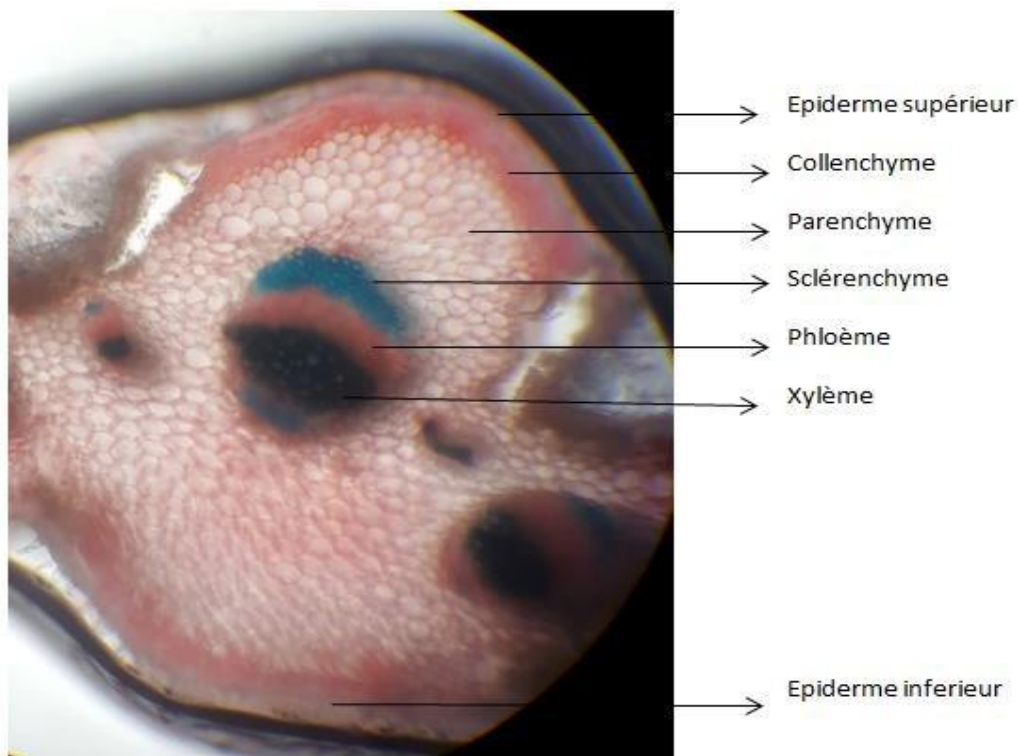


Figure 19 : coupe transversale de la feuille de *Carthamus tinctorius L* (×400)

III.3. Étude anatomique de la racine de *Carthamus tinctorius* L :

L'observation des coupes de racine de *Carthamus tinctorius* L au microscope a permis d'observer les tissus suivants :

Assise subereuse : L'assise subéreuse, elle aussi tissu primaire, est présente dans les racines de dicotylédones. Elle assure la protection de la zone pilifère après la chute des poils absorbants.

- **Xyleme** : permettant le transport de la sève brute dans le mécanisme vital d'une plante .

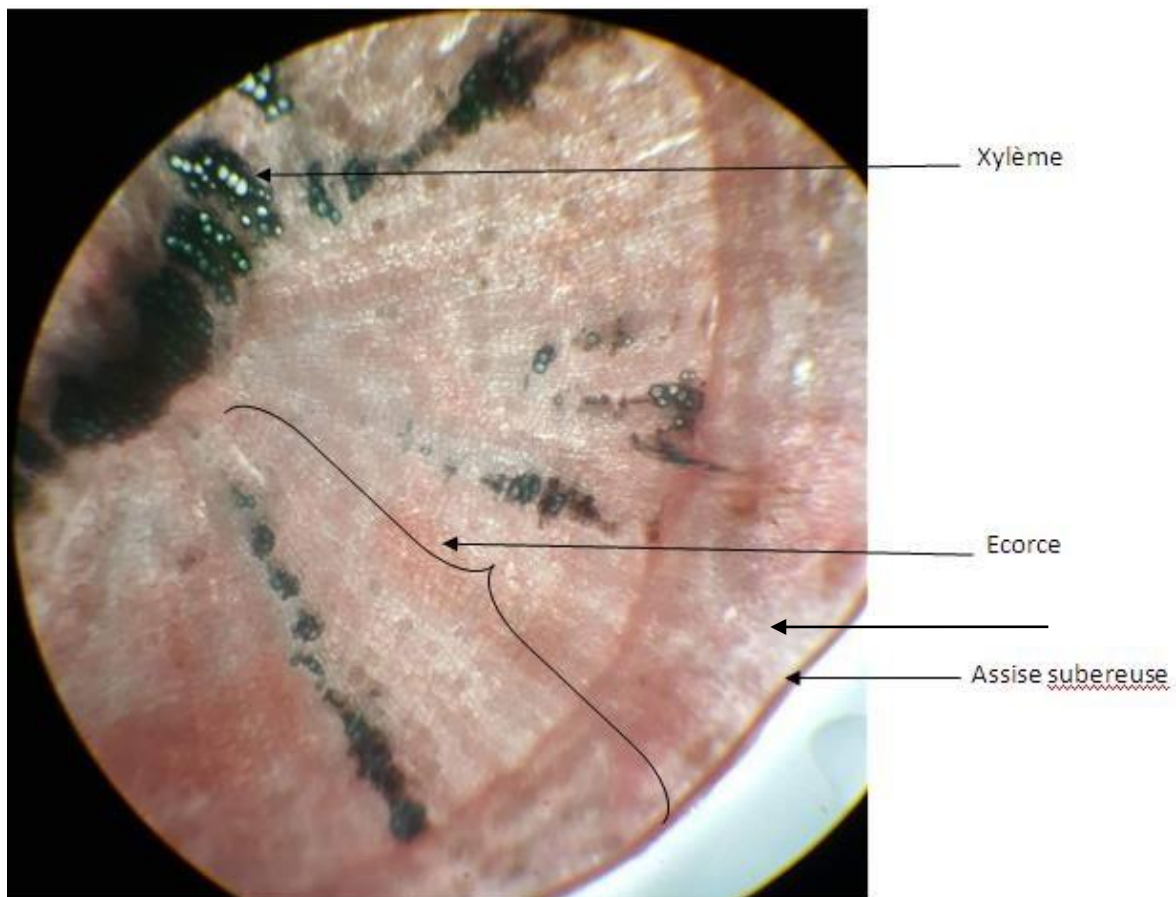


Figure 20: coupe transversale de la racine du *Carthamus tinctorius* (X400)

Conclusion

Cette étude concerne l'investigation phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante d'une plante médicinale, le Carthame, provenant de deux régions différentes (Tablat de wilaya de MEDEA et Bougara de la wilaya de BLIDA). Des analyses du sol des deux régions ont été réalisées dans le but de comprendre l'effet des composants du sol sur le rendement et les activités biologiques de la plante étudiée. Une étude anatomique des différents organes de *Carthamus tinctorius L.*, a été exécutée.

Le screening phytochimique a permis de caractériser les métabolismes secondaires. Les résultats obtenus montrent une biodiversité remarquable en substances bioactives telle que la présence des anthocyanes ; des flavonoïdes, des tanins ; des saponines, des coumarines et des alcaloïdes et l'absence de tanins galliques.

Par ailleurs, les résultats du dosage de la concentration des polyphénols a révélé des teneurs intéressantes, soit une valeur de $33.36 \pm 2,13$ mg/EAG, et $24.45 \pm 1,06$ mg/EAG) pour respectivement Tablat et Bouira ; et pour les racines marquées par une valeur inférieure à celle de la partie aérienne par des valeurs de l'ordre ($10.49 \pm 1,33$ mg/EAG, et $5.72 \pm 0,58$ mg/EAG). Concernant le dosage des flavonoïdes, la partie aérienne (feuilles) de la région de Tablat et Bougara sont les plus élevées avec une valeur de ($1.43 \pm 0,057$ mg/EAG, et $1.20 \pm 0,029$ mg/EAG). Pour les anthocyanes, elles présentent une concentration plus importante au niveau des feuilles qu'au niveau des racines.

Les extraits aqueux de nos plantes ont été testés pour leur pouvoir de piégeage des radicaux libres via la méthode de DPPH. D'après les résultats obtenus, ces deux plantes possèdent une activité antioxydants plus ou moins importante.

On a également étudié l'anatomie de la tige, des feuille et la racine de *Carthamus tinctorius L.*, ce qui nous a permis de bien connaître les différents tissus. En effet, cette étude nous a montré qu'il y a une certaine hétérogénéité structurelle des tissus de la tige et de la feuille.

L'étude a porté aussi sur la caractérisation de deux types de sol, récoltés à Tablat wilaya de Médéa et Bougara wilaya de Blida.

La caractérisation s'est effectuée sur l'humidité, le pH, calcaire totale, la matière organique et le textures de sol des deux régions

Les résultats montrent que les sols étudiés sont de nature légèrement différents.

A la fin de ce travail et comme perspectives, il est intéressant de compléter cette étude par :

- La réalisation des tests sur l'activité antimicrobienne et anti-inflammatoire
- L'extraction, purification et caractérisation par une analyse par CG-SM ou HPLC des différents extraits polyphénoliques et saponosides identifiés pour le *Carthamus tinctorius L.*

Références Bibliographiques

A

A.A.Turgumbayeva, G. O. Ustenova, G. C. Stabayeva and Samir A. Ross., 2014. Phytochemical Screening and Biological Activities of the Camel Thorn (*Alhagikirghisorum*) and Safflower Flowers (*Carthamustinctorius*L.) Grown in Kazakhstan, American-Eurasian J. Agric.&Environ. Sci., 14 (12) : 14871491.

Allouache S, Ghernoub b.,2017. Etude des composé phenolique et terpénique d'une plante médicinal .

Ameenah G. F. 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow Molecular Aspects of Medicine, 27: 1-93.

Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C. et Masella R., 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. AnnalidellIstituto-Superiore-di-Sanità, 43(4) : 348-361.

Alain;1920. Le bon jardinière conseils de culture tradutionelle et écologique .

B

Baba Aissa F. (1999) Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb). Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident, Ed. Edas, 178 p.

Baghiani.et al., 2010. Les composés phénoliques des végétaux

Benhamou A., Fazouane F., 2013. technologie alimentaire université m'hmed BOUGARA

Boumerfeg S. 2010.Antioxidativeproperties of *Tamuscommunis* L., *Carthamuscaeruleus* L. and *Ajugaiva* L. extracts. Thèse de doctorat en BiologieOption: Biochimie. Université Ferhat Abbas Sétif.

Boudiyamina .,2013 .Etude ethnobotanique ,phytochimique et evaluation de l'activité cicatrisante et antimicrobienne du cartham(*carthamustinctorius* L) .P19

BOIZOT N et CHARPENTIER J.P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques del'Inra.* pp79-82. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).

Bloor S. J., 2001. Methods Enzymol, 335, 3-14.

BRUNETON J., 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Edition. Tec & Doc (Ed). Paris.

BezengerL ,etpinkas et francis T1990.Plantes médicinales de regionstemprés. Burits,M .Bucar ;F2000.Antioxydant activity of nigella sattva essential oil phytotherapy recherché 14:323-328.

C

Catier O., Roux D. 2007. Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie. 3^{ème}Édition, Paris, 141p.

Clifford M.N., 1999. Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea Washington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida, 41 (5) : 393397.

Chen C., Pearson AM., Gray JI ., 1992. Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ-like compounds. Food Chem, 43: 177-183.

Cuended ,M.,Hostettemann; k.; and Potterat ,O,1997.iridoid glucosides with free radical scavenging properties from fagravablumei. 1144-1152.

D

Dai J., MumperR ., 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, 15: 7313-7352.

Debuigne;Francois C.2009.petit larousse des plantes médicinaleslarousse P89 .

Dobignard A. et Chatelain C. (2010-2013) Index synonymique de la flore d'Afrique du Nord (4 vol.), Genève, C.J.B.G.

DOUZET R., 2007. Petit lexique de botanique a l'usage du debutant .

Djeddi S., 2012. Les huiles essentielles : des mystérieux métabolites secondaires. Ed. Presses académiques francophones, 64p.

Dutertre J.M. 2011. Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Bordeaux 2-Victor Segalen U.F.R des Sciences Médicales, France, 120p.

E

Elqaj M., Ahami A. et Belghyti D. 2007. La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.

F

Fournier .p ,1947.dictionnaire des plante médicinales et vénéneuses de France .

Francois .C. 2009 , le réglevégétaleplantes sauvage comestibles .sang de terre P404

G

Gustave Planchon et E.colline1896 Les drogues simples d'origine végétale, Volume 2., p32.

Gustave Planchon et E.colline1896 Les drogues simples d'origine végétale, Volume 2., p30.

GRACE K. PEREIRA, PAULO M. DONATE, SERGIO E.

GALEMBECK.,

1996. Electronic structure of hydroxylated derivatives of the flavylumcation, Journal of Molecular Structure (Theochem) .

Gomes C., Lourenc E.L.B., Liuti E. B., Duque A.O., Nihi F., Lourenc A.C., Mendes T.C., Junior A.G., Dalsenter P. R. 2012. Evaluation of subchronic toxicity of the hydroethanolic extract of *Tropaeolum majus* in Wistar rats. Journal of Ethnopharmacology 142, 481-487.

H

Hamadi F.,Boudif K., Gougam H., Djouab A., Allane T. ,Benmounah A.,

Benamara S. 2014. Caractérisation d'une préparation semi-solide traditionnelle et anti-brûlure. *Phytothérapie*, 12 : 149-155

HansW.Kothe;2007 .1000 plants aromatique et médicinalstoulouse P79.

I

Iserin P. 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. Édition Larousse, 335p.

J

JAIME A. YANEZ., 2007. Preston K. Andrews, Neal M. Davies, Methods of analysis and separation of chiral flavonoids, *Journal of Chromatography B*, 848 159– 181.

K

Kukic J., Petrovic S., Niketic M., 2006. Antioxidant activity of four endemic *Stachys taxa*. *Biol. Pharmaceut. Bull.* 29: 725-729.

KING A., and YOUNG G., 1999. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals.*Jof the American dietetic association.*99:213-218. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).

L

Lejoly J., 2005-2006. Systématique des plantes à fleurs en relation avec les principales plantes médicinales, Biologie végétale, Biol-J-1-02, Université Libre de Bruxelles, Institut de pharmacie, Vol. I, pp. 251-252.

Lhuilier,A., 2007. Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauriasalicifolia*Hook.f ex Oliver, *Agauriapolyphylla*Baker (Ericaceae), *Tambourissatrichophylla*Baker (Monimiaceae) et *Embeliaconcinna*Baker (Myrsinaceae). Thèse de Doctorat. Université Toulouse, France, 214p.

LUGASI A., HOVARI J., SAGIK., and BIRO L., 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases.*J.Acta.biologica.szegediensis.* 47 (14):119-125.(Cited in Mohammadi Z, 2005).

LUTGE U., KLUGE M., BAUER G., 2002. Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier .Paris. 211p.

M

Mioulane P. 2004. Encyclopédie universelle des 15000 plantes et fleurs de jardin. 2^{ème} édition : Larousse. ISBN, Paris, 1104p

Miolane .p.2008.le grand larousse des 15000plantes et fleur de jardin .protea P83

Q

Quezel P, Santa S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tomes 2, ED. Centre nationale de la recherche scientifique, Paris.

(Qin Yuehao 1990) (Qu Chun 1990).

S

Saffidine K., 2015. Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamuscaeruleus*L. et de *Plantago major* L., Thèse doctorat, Université de Tlemcen, pp. 59-60.

Selles C., 2012.Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen : *Anacycluspyrethrum*L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux H₂SO₄ 0,5 M. Thèse de Doctorat d'état. Université de Tlemcen.

Singer, A.J. and R.A. Clark, 1999. Cutaneous wound healing. N Engl J Med 341(10): p. 738-46. T

SEYOUM A., ASRES K., and El-FIKY F.K., 2006. Structure– radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*. **67**: 2058–2070.

T

TAPIERO H., TEW K.D., NGUYEN B.G., and MATHÉ G., 2002. Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? *Biomed.pharmacother*. **56**: 200-207. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).

(Nadkarni KM., 1976.) (Usmanghani K, et al ., 1997) (Zhou Wenyu, 1986).

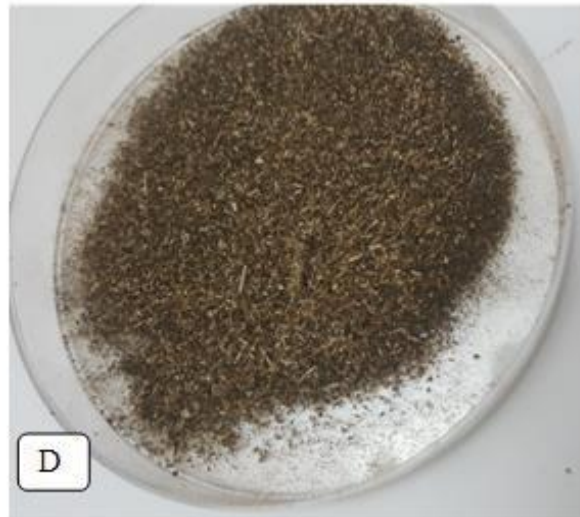
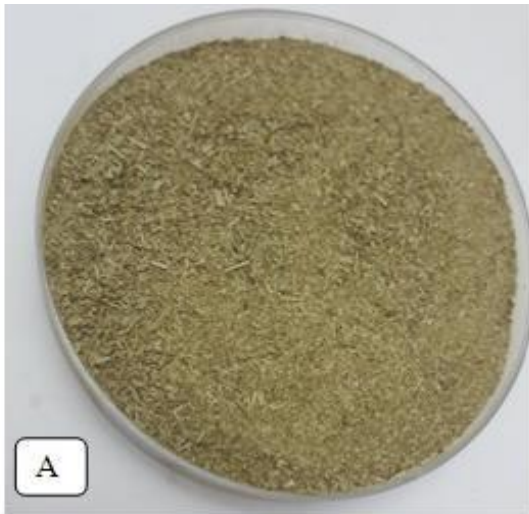
Y

Yakhlef,G., Laroui.S., Hambaba,L., Aberkane,M.C. Et Ayachi,A.

(2011).Evaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Ethnopharmacologie*, 9 : 209-218.

Annexes

Annexe 01 :



A): poudre du FB du carthamus.T .

C): poudre du RB du carthamus.T .

B): poudre du RT du carthamus.T.

D): poudre du FT du carthamus.T .

Annexe 02 :

- boites en carton
- sachets
- bocaux
- tamis à 2 mm.
- mortier
- étuve

Annexe 03 :

- Boîtes à humidité.
- Balance à précision.
- Etuve réglée à 105°C.
- Dessiccateur.

Annexe 04 :

➤ Matériels

- pH mètre
 - béchers 150 ml
 - agitateur magnétique

➤ Réactifs

- solutions étalon
- eau distillée bouillie (faire bouillir l'eau 15mn environ, refroidir et boucher)
- solution de KCL 1N (74.5 g/l)

Annex 05

- Solution de bichromate de potassium à 8%
- Acide sulfurique concentré
- Diphylénylamine
- Solution de fluorure de sodium NaF à 3%
- Solution de sel MOHR 0.2N
- Sable calciné exempt de carbone

Annex 06

➤ Réactifs

- Solution d'acide chlorhydrique au demi .
- Solution d'acide chlorhydrique N/20.

- Carbonate de calcium (poudre)

Annex 07

➤ Réactifs :

- Solution d'eau oxygénée à 5% (20 volumes, H_2O_2)
- Solution d'hexametaphosphate de sodium $Na_6P_6O_{18}$
- Solution de permanganate de potassium $KMnO_4$
- Solution de chlorure de potassium KCl N /10 et N/100
- Ammoniaque pure
- Acide chlorhydrique HCl 12N

Annex 08

➤ Solutions :

- Pour le rinçage (eau de javel, eau distillé)
- Réactifs (vert de méthyle, rouge congo)
- Fixateur (Acide acétique à 1%)

❖ Matériels

: Sur terrain

Ciseaux.

Sécateur.

-Sur laboratoire :

- Échantillons végétaux à étudier (feuilles, Tige) .□verres de montre et boites de pétri □Une bande de papier filtre.
- Des lames (porte objets).
- Des lamelles (couvre objets).
- Une pince fine et un chiffon.
- Un tamis pour filtrer les coupes fines.
- Des lames de rasoir neuves.
- Un microscope optique à grossissement multiple.
- Un micromètre pour effectuer les mesures histométriques.
- Appareil photo.

Annex 09

Tableau 01 : Dilutions des solutions mères de quercitine.

Dilution	Concentration [quercitine]	volume
1* (SM)	200	
2*	100	2ml SM /2 ml ED
4*	50	1 ml SM / 3 ml ED
8*	25	0.5ml SM / 3.5ml ED
10*	12.5	0.25ml SM /3.75 ml ED
20*	6	100 ul SM/3.9ml ED

SM : solution mère

ED : eau distillé

Tableau 02 : Dilutions des solutions mères d'acide gallique .

Dilution	Concentration [Acide gallique]	Volume
1* (SM)	200	
2*	100	2ml SM /2 ml ED
4*	50	1 ml SM / 3 ml ED
8*	25	0.5ml SM / 3.5ml ED
10*	12.5	0.25ml SM /3.75 ml ED
20*	6	100 ul SM/3.9ml ED

SM : solution mère

ED : eau distillé