

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire
Abdelhafid Boussouf Mila

المركز الجامعي
عبد الحفيظ بوالصوف ميلة



www.centre-univ-mila.dz

Thèse

Présentée pour l'obtention du Diplôme de Doctorat 3^{ème} Cycle – LMD

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biodiversité et valorisation des ressources naturelles

Comparaison de l'accumulation des métabolites secondaires sous les effets climatiques et des phytohormones chez *Mentha rotundifolia* L.

Par
KECIS Hadjer

Membres du Jury

BOUBENDIR Abdelhafid	Professeur	Président	Centre Univ. de Mila
YAHIA Abdelouhab	Professeur	Rapporteur	Centre Univ. de Mila
BENBOTT Amel	M.C.A	Examinatrice	Univ. Larbi Ben Mhidi OEB
BOUCHEKRIT Moufida	M.C.A	Examinatrice	Centre Univ. de Mila
KADRI Mounira	M.C.A	Examinatrice	Univ. Echahid hamma lakhder Eloued

Année universitaire : 2022/2023

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF – MILA
✉ BP 26 RP Mila 43000 Algérie
☎ 031 450041 📠 031 450040

المركز الجامعي عبد الحفيظ بوالصوف - ميلة -
✉ ص.ب رقم 26 . ميلة 04300 الجزائر
☎ 031 450040 📠 031 450041

Remerciements

Tout d'abord je tiens à remercier Allah le tout puissant et miséricordieux, qui m'adonné la force, la santé et la patience pour réaliser ce travail.

Ma thèse a été réalisée au sein du laboratoire de science et matériaux ('LSNM') de centre universitaire de Abdelhafid boussouf Mila, sous la direction du Professeur Yahya abdelouhab que Je tiens à exprimer ma gratitude pour sa disponibilité, ses conseils, son encadrement et son soutien moral tout au long de ces années de coopération. Je tiens également à le remercier pour sa grande patience lors de la rédaction de mon thèse .

*Je remercie également tous les membres du jury pour leur temps et leur Implication. Mes remerciements et toute ma gratitude sont pour Monsieur **Boubendir abdelhafid** : Professeur au Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila, pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

Je tiens à remercier Mme BENBOTT Amel : Maître de Conférences Class A à l'université Larbi Ben 'Mhidi (OEB) pour avoir accepté d'examiner mon travail et pour l'intérêt qu'il y a porté.

*Mes sincères remerciements vont à Mme **Bouchakrit moufida** : : Maître de Conférences Class A au Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir y participer en tant qu'examineurs à l'évaluation de ce travail.*

*Je tiens également à présenter mes remerciements à **Kadri Mounira** : Maître de Conférences Class A à l'université Univ.Echahid hamma lakhde Eloued d'avoir accepté d'être examinatrice de ce mémoire de doctorat malgré la distance*

*Je remercie également le Professeur **BENSSOUICI Chawki**, Docteur et directeur du laboratoire de biochimie dans le centre de recherche en biotechnologie (CRBT) de Constantine, pour le soutien et l'aide que lui nous avez apportés lors de notre travail au laboratoire. Leur expertise et leur dévouement ont été d'une grande aide pour notre travaille et ont contribué à la réussite de notre projet de recherche. Aussi, je voudrai exprimer cette reconnaissance à les Professeur **Kameleddine Nagaz** et le docteur Mohammed **bagues** responsables au Laboratoire d'Agriculture et Cultures Oasiennes, Institut des Régions Arides de Médenine, Université de Gabès, Tunisie.pour l'aide qu'il m'a donné pour faire les analyses chromatographiques (LCE-ESI/MS) et m'ont toujours aidé chaque fois que je désirais avancer dans la recherche de différentes solutions. Par ailleurs, je tiens à remercier ici le profe sseur **Kadi kenza**, Professeur à l'Université ABBES Laghrour - Khanchela- et aussi **Fatiha brahmi**, Maître de Conférences Class A à l'université Abderrahmane Mira de Béjaïa et Mme **Gali Lynda**, chercheuse dans le Laboratoire de biochimie au Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine (CRBT) pour leur expertise, expérience, connaissances ont été des éléments clés dans l'avancement de notre recherche. Nous sommes très reconnaissants de leur disponibilité pour répondre à nos questions et nous guider tout au long du processus.*

je suis reconnaissant envers mes parents pour leur confiance, leur soutien et leur motivation infaillibles tout au long de ma vie.

J'aimerais exprimer mes sincères remerciements à mes collègues Wiam Alloun et Khadidja Guici el Kouacheur pour leur soutien moral constant tout au long de la réalisation de ce travail. Leur

contribution a été inestimable. J'aimerais finalement exprimer ma gratitude envers tous mes enseignants qui m'ont soutenu pendant mes études universitaires. Leurs connaissances et leurs conseils ont considérablement contribué à rendre mon parcours académique plus enrichissant.

Résumé

L'accumulation des métabolites secondaires, nécessaires pour extraire des composés pharmaceutiques futurs, peut varier considérablement au sein d'une même espèce des plantes médicinales. Cette variation est due à plusieurs facteurs, notamment le lieu de croissance de la plante et les stratégies agricoles utilisées, qui peuvent être soutenues par l'application d'hormones de croissance (PGR). Dans cette optique, nous avons mené une étude comparative sur l'accumulation de polyphénols entre des plantes poussant naturellement et des plantes cultivées en serre, qui ont été traitées avec des phytohormones ; l'acide indole-3-acétique (IAA) et la 6-benzylaminopurine (BAP). On a procédé à collectés simultanément des plantes poussant naturellement provenant de Mila et Jijel, ainsi que des plantes ayant été préalablement cultivées dans une serre et traitées par deux phytohormones exogènes, l'auxine (IAA) et la cytokinine (BAP) à différentes concentrations, la partie aérienne et les racines ont été séparées, les contenus phénoliques (PTC, FTC, FloC) ont été déterminés par des méthodes colorimétriques, les composés phénoliques individuels ont été identifiés et quantifiés à l'aide de la LC-ESI-MS, différents échantillons ont été soumis à des essais *in vitro* afin d'évaluer leur bioactivité.

Pour la *M. rotundifolia* poussant naturellement, nous avons observé que les racines de la plante de site Mila contenaient le teneur en phénols totaux le plus élevé avec une valeur de $241.52 \pm 2.83 \mu\text{g EAG/mg}$, tandis que la partie aérienne de la plante enregistrait le plus grand teneur en flavonoïdes ($77.026 \pm 1.61 \mu\text{g ER/mg}$ d'extrait), en flavones et flavonols ($54.85 \pm 0.35 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait). Au total, seize composés phénoliques ont été identifiés, dont des acides phénoliques et des flavonoïdes. L'acide rosmarinique, l'acide quinique et l'acide salviolinique étaient les principaux composés phénoliques avec les quantités les plus élevées (de 3.996 à 125.411 $\mu\text{g/g}$ d'extrait). La plupart des composés présentent des niveaux plus élevés dans la plante de Mila que dans celle de Jijel. Tous les extraits ont montré une activité antioxydante remarquable, qui variait selon l'origine et l'organe de la plante. Les racines de la plante de la région de Mila ont montré la plus forte d'inhibition de l'AChE ($\text{IC}_{50} = 36.89 \pm 0.25 \mu\text{g/ml}$) et de l' α -glucosidase ($\text{IC}_{50} = 17.29 \pm 0.09 \mu\text{g/ml}$).

Concernant les plantes traitées par l'IAA et la BAP, nous avons enregistré que l'application individuel de la BAP et leur inter actés avec l'IAA a augmenté les teneurs en phénols totaux dans les parties aérienne et les racines de *M. rotundifolia* L. respectivement, Également, la BAP à 20 mg/L stimule l'accumulation considérable des flavonoïdes des extraits des parties aériennes, tandis que l'IAA a augmenté de manière significative la quantité des flavonoïdes dans les racines. Alors que la teneur en flavones et flavonols a été augmentée après l'application conjointement de deux hormones dans les deux parties. De plus, la composition phénolique enregistrés dans les deux parties des plantes traités varie quantitativement en fonction de type d'hormone appliqué et leur concentration. Le traitement avec l'IAA et la BAP a provoqué un changement remarquable dans la quantité de composés phénoliques individuels. L'augmentation la plus importante a été observée pour les acides salviolinique et rosmarinique dans les parties aériennes des plantes traitées avec 20 mg/l ou 10 mg/l de BAP. Dans ces conditions, la teneur en acide salviolinique a été multipliée par sept (73.651 $\mu\text{g/g}$ d'extrait) dans les parties aériennes des plantes recevant 20 mg/l de BAP par rapport à la teneur initiale de la plante non traitée (17,336 $\mu\text{g/g}$ d'extrait). En outre, le niveau d'acide rosmarinique a augmenté de 17.336 $\mu\text{g/g}$ (Témoin) à 66.265 et 62.566 $\mu\text{g/g}$ avec le traitement avec 10 et 20 mg/l de BAP, respectivement. L'acide salviolinique présente la plus forte augmentation dans les racines des plantes traitées à 10 mg/l de (18.232 à 41.317 $\mu\text{g/g}$ d'extrait). Le traitement inter acté des IAA et BAP à une concentration de 20 mg/l a entraîné une accumulation considérable de la teneur en acide quinique dans la partie aérienne et l'acide rosmarinique dans la partie racinaire par apport au témoin. Une légère stimulation a été observée pour les autres composés dans les deux parties. Des effets antioxydants et d'inhibition d'enzymes plus importants ont été observés dans les plantes traitées par rapport aux plantes non traitées.

Concernant la comparaison entre les plantes poussantes naturellement et les plantes traitées par des phytohormones, nous notons que le traitement hormonal a donné des meilleurs résultats dans les teneurs en polyphénols totaux et les concentrations des composés phénoliques individuels, en particulier les plus prédominants dans la plante dont l'acide rosmarinique, l'acide salviolinique, l'acide quinique, l'acide caféique et la naringénine, et ce uniquement dans les parties aériennes.

Mots clé: *M. rotundifolia* L., plantes traitées, IAA, BAP, LC-ESI-MS, effet antioxydant, effets inhibiteurs d'enzymes

Abstract

The accumulation of essential secondary metabolites necessary for the production of future pharmaceutical compounds can significantly vary within the same species of medicinal plants due to several factors. These factors include the plant's growth location and the agricultural strategies employed, which are further influenced by the application of plant growth regulators (PGR). We are interested in comparing the accumulation of polyphenols between plants grown spontaneously and plants cultivated in greenhouse conditions and treated with phytohormones (indole-3-acetic acid and 6-benzylaminopurine).

Both samples of naturally growing plants were collected in Mila and Jijel and the samples of plant treated previously with two exogenous phytohormones (IAA) and (BAP) at different concentrations in the same times, the aerial part and the roots were separated, the phenolic content was measured using colorimetric techniques, while individual phenolic compounds were identified and quantified using LC-ESI-MS. The bioactivity of the different extracts was evaluated by *in vitro* assays. In the case of the wild-growing *M. rotundifolia*, it was observed that the roots of the Mila plant exhibited the highest total phenolic content, measuring at $241.52 \pm 2.83 \mu\text{g GAE/mg}$. On the other hand, the aerial part of the plant displayed the highest levels of flavonoids ($77.026 \pm 1.61 \mu\text{g RE/mg extract}$) and flavonols ($54.85 \pm 0.35 \mu\text{g EQ/mg extract}$). A total of sixteen phenolic compounds, including phenolic acids and flavonoids, were identified. Among them, rosmarinic acid, quinic acid and salvianolic acid were the predominant phenolic compounds, exhibiting the highest concentrations ranging from 3.996 to 125.411 $\mu\text{g/g}$ of extract, depending on the plant organ and origin. The plant samples from the Mila region generally contained higher levels of these compounds compared to those from Jijel.

All extracts displayed notable antioxidant activity, which varied depending on the origin and organ of the plant. Particularly, the roots of the plant from the Mila region exhibited the strongest inhibition on α -glucosidase (with an IC_{50} value of $17.29 \pm 0.09 \mu\text{g/mL}$) and AChE (with an IC_{50} value of $36.89 \pm 0.25 \mu\text{g/mL}$) and

For plants treated with auxin (indole-3-acetic acid) and cytokinin (BAP), we observed that individual application of BAP and their interaction with IAA increased the contents of total phenols in aerial parts and roots of *M. rotundifolia* L. respectively. Also, BAP at 20 mg/L stimulated considerable accumulation of flavonoids in the extracts of aerial parts, while IAA significantly increased the levels of flavonoids, in the roots. While the content of flavones and flavonols is increased after the combined application of two hormones in both parts. Moreover, the analysis of the phenolic composition recorded in both parts of the treated plants varies quantitatively depending on the type of hormone applied and their concentration. The treatment with IAA and BAP caused a remarkable change in the amounts of individual phenolic compounds. The most significant increase was observed for salviolinic acid and rosmarinic acid in aerial parts treated with 20 mg/ml or 10 mg/ml BAP. Under these conditions, the salviolinic acid content increased seven-fold ($73.651 \mu\text{g/g extract}$) in the aerial parts receiving 20 mg/l BAP compared to the initial content in the untreated plant ($17.336 \mu\text{g/g extract}$). In addition, the level of rosmarinic acid increased from $17.336 \mu\text{g/g}$ (without hormone) to 66.265 and $62.566 \mu\text{g/g}$ with treatment with 10 and 20 mg/l BAP, respectively. Salviolinic acid showed the greatest increase in the roots of plants treated with 10 mg/l (from 18.232 to $41.317 \mu\text{g/g extract}$). The treatment interacting IAA and BAP at a concentration of 20 mg/l resulted in almost a considerable accumulation of quinic acid content in the aerial part and rosmarinic acid in the root part compared to the control. A slight stimulation was observed for the other compounds in both parts. Greater antioxidant and enzyme inhibitory effects were observed in the treated plants compared to the untreated plants. Comparing the naturally growing plants with the plants treated with phytohormones, we note that the hormonal treatment gave the best results for total polyphenols and the most predominant individual phenolic compounds in the plant, including rosmarinic acid, salviolinic acid, quinic acid, caffeic acid and naringenin, and this only in the aerial parts.

Keywords: *Mentha rotundifolia* L., plant treated, IAA, BAP, LC-ESI-MS analysis, Antioxidant effect, enzyme inhibitory effects

ملخص

يمكن أن يختلف تراكم المستقلبات الثانوية الضرورية لإنتاج المركبات الصيدلانية المستقبلية بشكل كبير داخل نفس الأنواع من النباتات الطبية لعدد من العوامل منها موقع نمو النبات، أيضا تعد الاستراتيجيات المستخدمة عند الزراعة والتي يتم دعمها بهرمونات النمو (PGR) أهم هذه العوامل، مع وضع ذلك في الاعتبار، أجرينا دراسة مقارنة حول تراكم مادة البوليفينول بين النباتات التي تنمو بشكل طبيعي والنباتات المزروعة في البيوت البلاستيكية والمعالجة بنوعين من الهرمونات النباتية وهما حمض الاندول-3-أسيتيك (IAA) و 6-بنزويل أمينوبيرين (BAP)، وعلى هذا الأساس تم جمع في نفس الوقت عينات من النباتات التي تنمو بشكل طبيعي من منطقتين مختلفتين (جيجل وميله) وعينات من النباتات التي عولجت من قبل بتركيزات مختلفة من ال IAA و BAP، تم فصل الجزء الهوائي والجذور كل على حدا، تم قياس تراكم الفينولات بطرق المقاييس الطيفية، وتم تحديد المركبات الفينولية الفردية وقياسها عن طريق LC-ESI-MS، تم تقييم النشاط الحيوي للمستخلصات في المختبر. بالنسبة إلى المستخلص الايثانولي لنبات *M. Rotundifolia L.* الذي ينمو بشكل طبيعي لاحظنا أن جذور نبات موقع ميله تحتوي على أعلى محتوى إجمالي من الفينولات بقيمة 2.83 ± 241.52 ميكروغرام معادل حمض الغاليك /ملغ من المستخلص، بينما سجل الجزء الهوائي من النبات أعلى نسبة من مركبات الفلافونويد (1.61 ± 77.026 ميكروغرام معادل الريتين /ملغ من المستخلص) و مركبات الفلافون والفلافونول (0.35 ± 54.85 ميكروغرام معادل الكرسيتين/ملغ من المستخلص).

تم تحديد ستة عشر مركبًا فينوليًا بما في ذلك الأحماض الفينولية والفلافونويد حيث كانت أحماض الروزمارينيك والكينيك والسلفيولينييك هي المركبات الفينولية الرئيسية الغالبة بتركيبة من (3.996 إلى 125.411 ميكروغرام / جرام من المستخلص) بكميات عالية ارتكزت أساسا في نبات موقع ميله أكثر منها في نبات موقع جيجل. يتركز حمض الكينيك في الجزء الهوائي أكثر من تركيزه في الجذور عكس حمضي الروزمارينيك والسلفيولينييك الذان يترامان أساسا في الجزء الهوائي. أظهرت جميع المستخلصات نشاطاً مضاداً للأكسدة ملحوظاً، والذي اختلف وفقاً لموقع الحصاد وعضو النبات. أظهرت جذور النبات من منطقة ميله أقوى نشاط تثبيطي لأنزيم أستيل كولين استيراز ($IC_{50} = 36.89 \pm 0.25 \mu\text{g/ml}$) وتثبيط أنزيم ألفا جليكوزيداز ($IC_{50} = 17.29 \pm 0.09 \mu\text{g/ml}$)

بالنسبة للنباتات المعالجة بالأوكسين (IAA) أو السيتوكينين (BAP)، لاحظنا أن التطبيق الفردي لـ BAP أو المتداخل مع IAA زاد من محتويات الفينولات الكلية في الأجزاء الهوائية وجذور *M. rotundifolia L.* على التوالي. أيضاً حفز BAP عند 20 ملغ / ل تراكمًا كبيرًا في مركبات الفلافونويد في مستخلصات الأجزاء الهوائية، بينما زاد تطبيق ال IAA بشكل كبير من كمية مركبات الفلافونويد في الجذور، فيما ارتفع محتوى الفلافون والفلافونول بعد التطبيق المشترك للهرمونين في كلا الجزأين. علاوة على ذلك، أظهر تحليل التركيب الفينولي المسجل في كلا الجزأين من النباتات المعالجة اختلافاً كمياً في الغالب اعتماداً على نوع الهرمون المطبق وتركيزه. تسبب العلاج بـ IAA و BAP في حدوث تغيير ملحوظ في كميات المركبات الفينولية الفردية، لوحظت أكبر زيادة في حمض السلفيولينييك وحمض روزمارينييك في الأجزاء الهوائية المعالجة بـ 20 ملغ/ل أو 10 ملغ / ل من BAP. في ظل هذه الظروف، زاد محتوى حمض السلفيولينييك سبعة أضعاف (73.651 ميكروغرام / جرام من خلاصة) في الأجزاء الهوائية في النبات الذي تلقى 20 ملغ / ل من BAP مقارنة بالمحتوى الأول في النبات غير المعالج (17.336 ميكروغرام / جرام مستخلص). بالإضافة إلى ذلك، ارتفع مستوى حمض الروزمارينيك من 17.336 ميكروغرام / غ (الشاهد) إلى 66.265 و 62.566 ميكروغرام / جرام مع العلاج بـ 10 و 20 ملغ / ل من BAP على التوالي. أظهر حمض السلفيولينييك أكبر زيادة في جذور النباتات المعالجة بـ 10 ملغ / ل (من 18.232 إلى 41.317 ميكروغرام / غ). نتج عن العلاج المتداخل بين IAA و BAP بتركيز 20 ملغ / ل تراكمًا كبيرًا تقريباً لمحتوى حمض الكينيك في الجزء الجوي وحمض الروزمارينيك في الجذور مقارنةً بالمجموعة الضابطة. لوحظ تحفيز طفيف للمركبات الأخرى في كلا الجزأين. أيضاً لوحظت تأثيرات مثبطة للأكسدة والإنزيم أكبر في النباتات المعالجة مقارنة بالنباتات غير المعالجة. مقارنة تراكم مركبات الفينول بين النباتات التي تنمو بشكل طبيعي والنباتات المعالجة بالهرمونات النباتية أن العلاج الهرموني أعطى أفضل النتائج من حيث كميته البوليفينول الكلي والمركبات الفينولية الفردية السائدة في النبات، بما في ذلك أحماض الروزمارينيك والسلفيولينييك و الكينيك والكافيين والنارينجينين، وهذا فقط في الأجزاء الهوائية.

الكلمات المفتاحية: *Mentha rotundifolia L.*، نبات معالج، IAA، BAP، LC-ESI-MS، تأثير مضاد للأكسدة، تأثيرات مثبطة للإنزيم

TABLE DES MATIERES

Liste des figures

Liste des Tableaux

Liste des abreviations

Introduction générale	1
Première Partie : Partie Théorique	
Chapitre1 : Présentation de la Plante <i>Mentha rotundifolia</i> L.	
I.1.Présentation de la famille des lamiacées	4
I.2. Le genre Menthe	4
I.1.2.1. Description de l'espèce <i>Mentha rotundifolia</i> L.	6
I.1.2.1.1. Nomenclature	6
I.1.2.1.2. Description botanique	7
I.1.2.1.3. Place dans la systématique (Classification)	8
I.1.2.1.4. Répartition géographique et Habitat	8
I.1.2.1.5. Préparation et Usages thérapeutiques traditionnel	8
I.1.2.1.6. Métabolites secondaires bioactifs isolés de l'espèce M. rotundifolia	9
a Huiles essentielles et leur Propriétés pharmacologiques	9
b. Polyphénols et leur Propriétés pharmacologique	11
Chapitre2: Facteurs de variabilité des métabolites secondaires	
II. 1. Les polyphénols et la biosynthèse	16
II. 2. Facteurs de variabilité des métabolites secondaires	18
II.2. 1. Influence des facteurs environnementaux	19
II. 2.2.1.1. Les facteurs abiotiques	19
II.2.2.1.1.1. Les facteurs climatiques	19
II.2.2.1.1.1.1. Température	20
II. 2.2.1.1.1.2. Eau	20
II. 2.2.1.1.1.3. Effet du rayonnement solaire	21
II.2.2.1.1.2. Les facteurs géographique	22
II.2.2.1.1.3. Les facteurs pédologiques	22
II .2.2.1.1.4. Facteur biotique	24
II.2. 2. Influence des pratiques agrivoles	24
II.2.2.1. Effet d'un certain changement nutritionnel	24
II.2.2.2. Précurseurs des acides aminés	24

II.2.2.3. Application des phytohormones	25
II.2. 3.1. Définition	25
II.2. 2.3. 2. Les différents types d'hormones végétales	25
II.2. 2.3. 2.1. Auxines	26
II.2. 2.3. 2.1.1. Définition	26
II.2.2. 3. 2.1.2. Liste des auxines connues	26
a. Auxines naturelles	26
b. Auxines de synthèse	26
II.2. 2. 3. 2.1.3. Influence des auxines sur la physiologie des plantes	26
II.2. 2.3. 2.1.4. Influence des auxines sur l'accumulation des MII	27
II.2. 2.3. 2.2. Les cytokinines (CKS)	28
II.2. 2.3. 2.2.1. Définition	28
II.2.3.2.2.2. Liste des cytokinines connues	28
a. Cytokinines de synthèse	28
b- Cytokinines naturelles	28
II.2. 3. 2.2.3. Influence des cytokinines dans la physiologie des plantes	29
II.2. 3. 2.2.4. Influence des cytokinines dans l'accumulation des métabolites secondaires	29
II.2.2. 3. 3. Effet de synergie Auxine- Cytokinine dans l'accumulation des MII	30
Deuxième Partie: Matériel et Méthode	
Chapitre1. Etude climatique	
I. 1. Présentation des sites d'étude	34
I.1.1. Région de Jijel	35
I.1.1.1. Situation géographique de Jijel	35
I.1.1.2. Caractères climatiques de la région de Jijel	35
I.1.2. La région de Mila	35
I.1.2.1. Situation géographique de la région du MILA	35
I.1.2.2. Caractères climatiques de la région du MILA	35
I.2. Analyse des paramètres climatiques	35
I.2.1. Variation annuelle de deux stations :	36
I.2.1.1. Variation annuelle des précipitations entre les deux stations	36
I.2.1.2. Variation annuelle de température de l'aire entre les deux stations	36
I.2.1.3. Variation annuelle d'humidité entre les deux stations	37
I.2.2. Indices climatiques	38

1.2.2.1. Indice d'aridité de DE MARTONNE	38
1.2.2.2. Diagramme pluviothermique de Bagnouls et Gausсен	39
1.2.2.3. L'indice pluviométrique d'EMBERGER (Les étages bioclimatique)	40
Chapitre2. L'expérimentation agricole pour l'étude de l'impact des phytohormones	
II.1. Station d'expérience (Lieu de l'étude)	42
II.2. Matériel pédologique	42
II.3. Descriptions de l'expérimentation	42
II.4. Préparation des solutions hormonales	43
III.5. Mode d'action	44
II.6. Echantillonnages de biomasses	45
Chapitre3: Analyse pédologique	
III.1. Les analyses physiques	
III.1.1. Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	46
III.1.2. Salinité du sol (ppt en Na Cl) et concentration de chlorure	47
III.2. Les analyses chimiques	
III.2.1. Le pH	47
III.2.2. Calcaire total	47
III.2.3. Le carbone organique	48
III.2.4. Le phosphore	48
III.2.5. Azote total	49
Chapitre4: Préparation des échantillons	
IV.1. Récolte, séchage des échantillons et Broyage)	50
IV.2. Extractions éthanoliques	50
IV.3. Détermination du rendement	50
Chapitre5 : Etude phytochimique	
V.1. Criblage phytochimique	
V.1.1. Polyphénols	51
V.1.2. Flavonoids	51
V.1.3. Anthocyanines	51
V.1.4. Tannins	51
V.1.5. Quinones et Anthraquinones	51
V.1.6. Composés réducteurs	52
V.1.7. Alcaloïdes	52

V.1.8. Stérol et Terpènes	52
V.1.9. Mucilage	52
V.1.10. Protéines	52
V.1.11. Saponines	53
V.1.12. Les composés réducteurs	53
V.2. Dosage phytochimique des extraits	53
V.2.1. Dosage de Phénols totaux	53
V.2.2. Dosage des flavonoïdes (FTC)	54
V.2.3. Dosage des flavones et flavonols (Floc)	54
V.3. Identification des composés phénoliques individuels par LC-ESI-MS	54
V.4. Etude la Bioactivité des extraits des plantes traités	56
V.4.1. Evaluation du pouvoir antioxydant et antiradicalaires	56
V.4.1.1. Mesure de l'effet inhibiteur sur le radical diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	56
V.4.1.2. Mesure de l'effet inhibiteur sur le radical ABTS	57
V.4.1.3. Test d'inhibition de blanchiment du β -carotène	57
V.4.1.4. V.4.1.4. Méthode de réduction le fer (Ferric Reducing Antioxidant Power)	58
V.4.1.5. Méthode de réduction du cuivre (Copper Reducing Antioxidant Capacity) pour évaluer la la réduction du cuivre.	59
V.4.1.6. Méthode de la réduction du fer dans le complexe phénanthroline-Fe ³⁺ (Essais de Phénantroline)	59
V.4.1.7. Test des nanoparticules d'argent (Silver nanoparticules assay NSP)	59
V.4.2 Activités enzymatiques	60
V.2.2.1. Activité d'Inhibition d'acétylcholinestérase	60
V.2.2.1. Activité d'inhibition de l' α -Glucosidase	60
V.5. Traitement statistique des données	61
Troisième Partie : Résultats et Discussion	
Chapitre 1 : Effet des variations des facteurs climatiques sur les paramètres biochimiques	
I.1. Climat, altitude, température moyenne, précipitations et caractéristiques du sol des régions de croissances de <i>mentha rotindifolia</i> L.	64
I.2. Influence de la variation du climat sur les paramètres biochimiques	65
I.2.1. Test phytochimique	65

I.2.2. Rendement et Teneur en Polyphénols totaux des extraits des parties aériennes et racinaires	66
I.2.3. Composition des polyphénols individuels	70
I.4. Activité antioxydant	74
I. 5. Activité inhibitrice des enzymes	81
Chapitre2 : Effet d'application des phytohormones IAA et BAP	
II.1. Les conditions physicochimiques du sol	85
II.1. Effet d'application des phytohormones AIA et PAB sur le poids frais et sec	85
II.2. Effet de l'application des phytohormones sur les paramètres phytochimique	87
II.2.1. Test phytochimique	87
II.2.2. Rendement et Teneur en Polyphénols totaux des extraits des parties aériennes et racinaires des extraits des parties aériennes et racinaires	89
II.2.3. Profile phénolique des extraits des Planté traités	94
II.2.4. Effet des phytohormones sur quelques activités biologiques des extraits de plantes	98
II.2.4.1. Effet d'application AIA et BAP sur les activités antioxydant des extraits de plante	100
II.2.4.1. 1. Mesure de l'effet inhibiteur sur le radical diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	100
II.2.4.1. 2. Mesure de l'effet inhibiteur sur le radical ABTS•+	102
II.2.4.1. 3. Test d'inhibition de blanchiment du β -carotène	103
I.2.4.1. 4. Méthode de réduction du cuivre (Copper Reducing Antioxidant Capacity) pour évaluer la la réduction du cuivre.	105
II.2.4.1. 5. Méthode de réduction le fer (FRAP)	107
I.2.4.1. 6. Méthode de la réduction du fer dans le complexe phénanthroline-Fe ³⁺ (Essais de Phénantroline)	108
II.2.4.1. 7. Test des nanoparticules d'argent (Silver nanoparticules assay NSP)	109
II.2.4.2. Activité inhibitrice des enzymes	114
II.2.4.2.1. Activité α -glucosidase	115
II.2.4.2.2. Activité anticholinestérase	116
Chapitre 3: Comparaison de l'accumulation des polyphénols entre la plante poussée spontanément et les plantes traitées par les hormones de croissance (IAA et BAP)	
III.1. La partie aérienne	123
III.2. La partie aérienne	125

III. 3. Analyse en Composantes Principales (ACP)	127
Conclusion	130
Référence bibliographique	133

Liste des figures

LE TITRE		
FIGURE	Première Partie, chapitre1	Page
Figure1	Les cinq espèces de base qui composent le genre « Mentha	6
Figure2	L'espèce <i>Mentha rotundifolia</i> L.	7
Figure3	Structure morphologique de <i>M. rotundifolia</i> .	7
	Première Partie, chapitre2	
Figure 4	Structures chimiques des principaux constituants de l'HE de <i>M. rotundifolia</i>	10
Figure 5	La structure chimique d'un composé phénolique	16
Figure6	Voies de biogénèse des composés phénoliques par le shikimate et l'acétate-malonate phénylpropanoïdes et acide phénolique.	18
	2ème partie, chapitre1	
Figure 7	Situation géographique des stations d'étude	34
Figure 8	variation annuelle moyenne des précipitations au niveau des deux stations	36
Figure9	variation annuelle moyenne des températures au niveau de deux stations	37
Figure10	variation mensuelle moyenne d'humidité au niveau de deux stations	38
Figure11	Diagramme pluviothermique de Bagnouls et Gausсен de Jijel et Mila (2009-2019)	39
Figure12	Climagramme pluviothermique d'Emberger pour les régions de Jijel et Mila durant la période 2010-2019	41
	2ème partie, chapitre2	
Figure13	Plantation dans un pot	42
Figure14	Arrangement des pots en préparation aux pulvérisations par les hormones végétales	44
Figure15	Pulvérisation Foliaire des plantes par les hormones végétales	44
Figure16	Principe de la méthode 'ESI'	55
	3ème partie, chapitre1	
Figure 17	Caractéristiques climatique et édaphique de l'espèce <i>du Mentha rotundifolia</i> L	65
Figure 18	Rendement (A), phénols totaux (B), flavonoïdes (C) et flavonols totaux (D) de l'extrait de <i>M. rotundifolia</i> provenant de deux régions	68
Figure19	Taux d'inhibition et les valeurs d'IC50 du radical libre DPPH dépendants des concentrations des extraits provenant de la partie aérienne (A) et de la partie racinaire (B) de la plante provenant de deux régions distinctes.	75
Figure 20	Taux d'inhibition et les valeurs d'IC50 ABTS dépendant des concentrations des extraits de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B)de la plante provenant de deux régions.	75
Figure21	Taux d'inhibition et les valeurs d'IC50 du blanchiment β -carotène dépendants des concentrations des extraits de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B)de la plante récoltée de deux régions.	76
Figure22	Taux d'inhibition et les valeurs d'A0.5 du pouvoir réducteur (CUPRAC)en fonction des concentrations des extraits de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B)de la plante provenant de deux régions.	77
Figure23	Taux d'inhibition et les valeurs d'A0.5 du pouvoir réducteur (FRAP)en fonction des concentrations des extraits de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B)de la plante provenant de deux régions.	78

Figure24	Taux d'inhibition et les valeurs d'A0.5 du complexe phénanthroline-Fe ³⁺ en fonction des concentrations des extrais de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante provenant de deux régions	78
Figure 25	Taux d'inhibition et les valeurs d'A0.5 la réduction des ions Ag ²⁺ (SNP) en fonction des concentrations des extrais de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante provenant de deux régions.	79
Figure 26	Taux d'inhibition et les valeurs d'IC50 du α -glucosidase en fonction des concentrations des extrais de la partie aérienne (A) et les racines de la plante provenant de deux régions.	82
Figure 27	Taux d'inhibition et les valeurs d'A0.5 d'acétylcholinestérase en fonction des concentrations des extrais de la partie aérienne (A) et les racines (B) de la plante provenant de deux régions.	82
3^{ème} partie, Chapitre 2		
Figure28	Effet des régulateurs de croissance végétale IAA et BAP sur le poids frais (A), le poids sec (B) dans les parties aériennes et racinaires de <i>M. rotundifolia</i> L.	86
Figure29	Effet des régulateurs de la croissance AIA et PAB sur le rendement (A), la teneur des phénols totaux (B) flavonoïdes(C) et flavonols(D) des extraits des parties aérienne et racinaires de <i>M. rotundifolia</i> L.	90
Figure30	Taux d'inhibition et les valeurs d'IC50 du radical libre DPPH dépendants des concentrations des extrais de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante traitée et non traitées	101
Figure31	Taux d'inhibition et les valeurs d'IC50 d'ABTS dépendant des concentrations des extrais de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante traitée et non traité	103
Figure32	Taux d'inhibition et les valeurs d'IC50 de blanchiment du β -carotène dépendant des concentrations des extrais de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante traitée et non traité.	105
Figure33	Taux d'inhibition et les valeurs d'A0.5 du pouvoir de la réduction du cuivre (CUPRAC) dépendant des concentrations des extrais de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante traitée.	106
Figure34	Taux d'inhibition et les valeurs d'A0.5 du Pouvoir réducteur de fer (FRAP) en dépendant des extrais de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante traitée	108
Figure35	Taux d'inhibition et les valeurs d'A0.5 du complexe phénanthroline-Fe ³⁺ (Phénantroline) dépendant des concentrations des extrais de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante traitée.	109
Figure36	Taux d'inhibition et les valeurs d'A0.5 de réduction des ions Ag ²⁺ (SNP) dépendant des concentrations des extrais de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante traitée.	111
Figure37	Taux d'inhibition et les valeurs d'IC50 d' α -glucosidase des extraits des parties aérienne(A) et racinaire(B) du <i>M. rotundifolia</i> traitées et non traitées.	116
Figure 38	Taux d'inhibition et les valeurs d'IC50 d'acétylcholinestérase des extraits des parties aérienne(A) et racinaire(B) du <i>M. rotundifolia</i> traitées et non traitées.	118
Figure 39	Plan factoriel de l'ACP effectuée sur (A) les teneurs en polyphénols (TPC, TFC, FLoC) et les composés phénoliques individuel,	128

Listes des tableaux

Tableau	Titre	Page
Première Partie, Chapitre1		
Tableau1	Classification d'espèce <i>M.rotundifolia</i>	8
Tableau2	Principaux constituants des huiles essentielles d'espèces <i>Mentha rotundifolia</i> décrite dans la littérature.	9
Tableau3	Composition des composés phénoliques dans <i>M. rotundifolia</i> précédemment rapportée par la littérature	11
Tableau4	Influence des auxines sur l'amélioration les métabolites secondaires de certaines plantes médicinales	27
Tableau5	Influence des cytokines sur l'amélioration les métabolites secondaires de certaines plantes médicinales	30
Deuxième partie, Chapitre1		
Tableau6	Calcul de l'indice de DE MARTONNE pour les 02 stations	39
Tableau7	Calcule d'indice pluviométrique d'EMBERGER de deux stations	40
Deuxième partie, Chapitre2		
Tableau8	Type et concentration des phytohormone utilisé	43
Deuxième partie, Chapitre3		
Tableau 9	Echelle d'interprétation des carbonates	48
Tableau10	Echelle de détermination de la teneur pondérale en matière organique	48
Tableau11	Répartition des classes de phosphore assimilable (P2O5) des sols étudiés du périmètre d'Issen	49
Troisième partie, Chapitre 1		
Tableau 12	Caractéristiques géographiques et pédologiques des deux sites de collecte.	64
Tableau13	Criblage phytochimique des parties aérienne et racinaires de <i>M. Rotundifolia</i>	66
Tableau14	Composition phénoliques individuels de <i>M. rotundifolia</i> (partie aérienne et racines) cultivé en deux région (Jijel et Mila)	72
		74
Tableau16	Les conditions physicochimiques du sol de la serre	85
Troisième partie, Chapitre 2		
Tableau17	Analyse de la variance des poids free et sec des parties aériennes	85
Tableau18	Résultats expérimentaux des tests phytochimiques effectués sur les parties aérienne et racinaires des plantes traitées et non traités	88
Tableau19	Carrés moyens de rendement et la teneur des polyphénols mesurés sur les deux parties aérienne et racinaire de la plante traité	89
Tableau20	Composants phénoliques dans la partie aérienne et les racines de <i>M. rotundifolia</i> traitées avec l'acide indole acétique (IAA) et la N6-benzyladéninepurine (BAP).	96
Tableau 21	Composants phénoliques dans les racines de <i>M. rotundifolia</i> traitées avec l'acide indole acétique (IAA) et la N6-benzyladéninepurine (BAP).	97
Tableau22	Carrés moyens des activités biologiques mesurés sur les deux parties aérienne et racinaire de la plante traité.	99
Troisième partie, Chapitre 3		
Tableau23	Analyse comparative de quelques constituants bioactifs des parties aérienne de <i>M. Rotundifolia</i> poussé naturellement et plante traité	124

Tableau 24	Analyse comparative de quelques constituants bioactifs des parties racinaires de <i>M. Rotundifolia</i> traité et croit naturel	125
-----------------------	---	-----

Liste des abréviations

A.A: Acide ascorbique

A0.50 : concentration indiquant 0,50 d'absorbance

ABTS : sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)

AChE : acétylcholinestérase.

ACI : Acetylcholine iodide.

ACP : Analyse en Composants Principales.

AlCl₃ : trichlorure d'aluminium.

BHA : Butyl Hydroxy Anisole.

BHT : Butyl Hydroxy Toluene.

CaCO₃ : carbonate de calcium

BAP: 6-benzylaminopurine

CKs : Cytokinines

CUPRAC: Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity (la capacité antioxydante évaluée à l'aide du test de réduction du cuivre)

DTNB: Acide 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoïque)

ESI : ionisation par électro-nébuliseur.

FeCl₃ : trichlorure du fer.

FRAP: Ferric reducing antioxidant power

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

HCl : acide chlorhydrique.

HNO₃ : acide nitrique.

HPLC : chromatographie liquide à haute performance.

IAA: Indole acide acétique

IC50 : Concentration permettant d'inhiber 50% du radical libre

K₂Cr₂O₇ : dichromate de potassium

K₃Fe (CN)₆ : ferricyanure de potassium.

K₃Fe (CN)₆ : ferricyanure de potassium.

KH₂PO₄ : phosphate de potassium.

KH₂PO₄ : phosphate de potassium.

LC-MS : Chromatographie Liquide couplée à la spectrométrie de masse.

LC-ESI-MS: chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem avec ionisation par électrospray (LC-ESI-MS)

m/z : masse/ charge électrique.

MeOH : méthanol.

MII : métabolites secondaires.

MROT-JA : Extrait éthanolique de partie aérienne de Jijel

MROT-JM : Extrait éthanolique de partie aérienne de Mila

MROT-JR : Extrait éthanolique des racines de Jijel

MROT-MR : Extrait éthanolique des racines de Mila

MS : matière sèche.

P: Precipitation

P₂O₅: dioxyde de phosphore

PGR: régulateurs de croissance des plantes "Plant Growth Regulators"

pNPG : p-Nitrophénol- α -D-Galactopyranoside

ppt : partie pour trillion

R_t : Temps de rétention

SNP : Silver nanoparticules assay NSP (Test des nanoparticules d'argent)

TM(°C): Temperature

ug EAG/g : ug équivalent acide gallique par mg d'extrait

ug EQ/g : ug équivalent quercétine par mg d'extrait

ug EQ/g : ug équivalent rutine par mg d'extrait

INTRODUCTION

Introduction

Depuis l'Antiquité, les plantes aromatiques ont été reconnues pour leurs capacités thérapeutiques dans le traitement de diverses maladies. La flore algérienne se caractérise par une grande diversité florale, notamment dans les régions méditerranéennes, sahariennes et les zones paléo tropicales, avec plus de 3 000 espèces de plantes de différentes familles botaniques. La plupart de ces espèces se reproduisent spontanément, tandis qu'environ 5% sont endémiques[1]. Ces espèces offrent un potentiel incalculable pour la découverte de nouvelles substances. Parmi celles-ci, les espèces de *Menthe* (Lamiacées) se distinguent par leur développement rapide et leur flexibilité écologique, ce qui les rend adaptées à la culture dans diverses conditions climatiques en Algérie. Elles ont été largement utilisées comme médicaments complémentaires et condiments, grâce à leur richesse en constituants actifs, notamment les monoterpénoïdes et les polyphénols. Ces actions typiques des espèces de *Menthe* ont été attribuées aux dérivés de polyphénols et de monoterpénoïdes [2,3]. En effet, les polyphénols représentent un groupe très important parmi les composés bioactifs des plantes, dérivés des voies pentose phosphate, shikimate et phénylpropanoïdes [5]

Ces dernières années, l'utilisation des composés poly phénoliques naturels en technologie alimentaire a suscité un intérêt croissant, offrant une alternative plus sûre aux molécules synthétiques telles que le butylhydroxyanisole (BHA) et l'hydroxytoluène [4]. La composition phénolique est initialement conditionnée par l'ontogenèse et la phylogenèse, mais en effet, les composés bioactifs qui sont biosynthétisés dans une espèce donnée peuvent varier en composition, quantité et proportion en fonction des différences dans les éléments environnementaux [5]

L'étude des effets de divers facteurs chimiques et physiques sur le développement des plantes et la création de métabolites secondaires est bien documentée, notamment l'influence des minéraux [6], du sel[7], de l'humidité[8] et de la lumière [9]. Étant donné que les plantes récoltées dans la nature sont peu susceptibles de répondre aux normes de qualité requises pour les médicaments à base de plantes [10], La sélection des espèces les plus riches en composés bioactifs à des fins médicinales de manière permanente est une préoccupation majeure dans de nombreux pays en raison de son importance croissante. En outre, la recherche de nouveaux composés médicamenteux d'origine naturelle repose non seulement sur l'exploitation des plantes médicinales, mais aussi sur des méthodes visant à augmenter la concentration de molécules bioactives. Parmi ces approches figurent les techniques traditionnelles qui bénéficient de l'utilisation de bio-stimulants tels que les acides aminés et les phytohormones.

L'amélioration de la production de molécules bioactives à partir de plantes cultivées est ainsi une démarche cruciale pour obtenir des matières premières de qualité supérieure en vue de la découverte de nouveaux médicaments.

Le développement de techniques conventionnelles pour la propagation et l'enrichissement en composés bioactifs des plantes d'importance commerciale à des fins médicinales est une approche importante. Les mécanismes favorisant ces métabolites secondaires (tels que les systèmes de culture, l'élicitation, les conditions nutritives, l'élimination des produits toxiques et l'alimentation en précurseurs, ainsi que l'application des hormones végétales) ont reçu beaucoup d'attention en raison de l'importance pharmacologique de ces métabolites. Dans cette optique, de nombreuses recherches ont été menées pour améliorer les protocoles de production de métabolites secondaires dans la culture *in vitro* et *in vivo* des plantes médicinales. Les applications exogènes de phytohormones, en particulier les régulateurs de croissance végétale (PGR), stimulent la différenciation, le développement et la croissance des plantes, même à de faibles concentrations, et ont suscité un grand intérêt dans ce domaine [11,12].

Il a été suggéré que l'application de phytohormones, en particulier d'auxines et de cytokinines, peut augmenter la production de métabolites spécialisés chez les plantes. Plusieurs études ont montré que l'acide indole-acétique (IAA), l'acide indole-3-butyrique (IBA), l'acide phénylacétique (PAA) et l'acide 1-naphtalène-acétique (NAA) stimulent la croissance de l'algue verte (*Chlorella vulgaris*) ainsi que la production de leur métabolites secondaires [13]. Des effets similaires ont également été observés chez diverses plantes traitées par l'IAA [24, 25]. En outre, les cytokinines comme par exemple la N6-benzyladéninepurine (BAP) a été rapportée pour favoriser la production de composés phénoliques chez *M. piperita* [26]. Il est important de noter que la distribution et l'accumulation des composés phénoliques dans la plante varient en fonction de facteurs tels que les conditions environnementales, les conditions agricoles et l'organe végétal choisi pour l'extraction. Ces variations de composition chimique peuvent considérablement affecter les actions pharmacologiques des plantes. Il est donc crucial de prendre en compte le choix du site de récolte, le type et la concentration des phytohormones appliquées pendant l'agriculture, ainsi que l'organe végétal utilisé pour obtenir un rendement phytochimique et un effet pharmacologique maximal.

Notre travail vise à valoriser une espèce largement utilisée en phytothérapie et en médecine traditionnelle en Algérie, à savoir la *M. rotundifolia* L., appartenant au genre "Mentha". L'objectif principal de notre étude est de mettre au point un protocole efficace permettant de produire de manière industrielle des matières bioactives uniformes destinées à l'extraction de

futurs composés pharmaceutiques. Nous avons choisi une approche agricole traditionnelle, en utilisant différentes concentrations de phytohormones telles que l'acide indole acétique et la 6-benzylaminopurine, afin de comparer leur production de métabolites secondaires, notamment les polyphénols, avec celle des *M. rotundifolia* se développant naturellement sous l'influence des conditions climatiques. Cette comparaison nous permettra de déterminer les effets relatifs des conditions climatiques et des méthodes agricoles sur l'accumulation de métabolites secondaires dans la *M. rotundifolia* L. De plus, nous avons l'intention d'évaluer l'activité antioxydante ainsi que l'effet inhibiteur sur les enzymes acétylcholinestérase et α -glucosidase des plantes étudiées et, par conséquent, Nous avons procédé à :

- La première partie représente une synthèse bibliographique menée sur l'espèce étudiée, (*Mentha rotundifolia* L.), ainsi que les facteurs de variabilités les métabolites secondaires environnementaux tels que les facteurs climatiques, les facteurs des pratiques agricoles avec l'application de biostimulants comme les phytohormones.
- La deuxième partie implique la réalisation d'expériences pratiques visant à obtenir une vue d'ensemble des sites de prélèvement des plantes (Jijel et Mila). Cette étape est suivie d'une étude climatique et d'une expérimentation agricole pour évaluer l'impact des phytohormones appliquées. Dans cette partie, l'objectif est de :
 - ✚ Identification des diverses catégories de familles chimiques par criblage phytochimique des différentes parties de *Mentha rotundifolia* L.
 - ✚ Préparation des extraits bruts éthanolique, détermination des rendements et la quantification de principales classes phénoliques : les phénols totaux, les flavonoïdes et les flavones et flavonols
 - ✚ Identification des composés phénoliques par LC-MS.
 - ✚ Mesure *in vitro* des activités antioxydant des échantillons à l'aide de sept essais
 - ✚ Mesure *in vitro* de l'activité inhibitrice d'enzyme a glycosidase et acétylcholinestérase (AChE)
- ✚ Ces tests ont été réalisés en utilisant les données des échantillons de plantes prélevées sur les deux sites d'échantillonnage, ainsi que sur la plante cultivée en présence de différentes concentrations d'IAA et de BAP. Les tests permettent la validation des résultats obtenus.

PREMIÈRE PARTIE :
PARTIE THÉORIQUE

CHAPITRE 1 :

PRÉSENTATION DE LA PLANTE

MENTHA ROTUNDIFOLIA L.

I.1. Présentation de la famille des lamiales

lamiales (Lamiacées) ou labiales (Labiatae) est une l'une des familles de plantes dicotylédones, qui comprend plus de 7200 espèces réparties en environ 240 genres et 7 sous-familles sur tout le globe, Cette famille a distribuée dans des régions tempérées aux régions tropicales, mais on la trouve principalement dans le bassin méditerranéen. Les membres de cette famille peuvent être des herbes annuelles ou vivaces, des arbustes et des petits arbres. Les Lamiacées sont étroitement liées aux Verbénacées, et, dans une récente révision de la famille, plusieurs genres ont été transférés aux Lamiacées [14]. Leurs traits caractéristiques des majorités de leur espèces sont les tiges qui sont quadrangulaires (carrées) en section transversale et les fleurs bisexuées, zygomorphes à symétrie bilatérale, composées de cinq pétales unis et profondément lobés et de cinq sépales unis ; en général, le pétale inférieur est plus grand que les autres [15]. Le fruit est sec et ligneux, un schizocarpe ou drup. Les feuilles distinctives fortement aromatiques sont opposées avec paires successives à angle droit (c'est-à-dire décussées) avec des marges entières ou lobées. De nombreuses espèces de de cette famille, comme les menthes, ont des utilisations commerciales importantes pour les industries culinaires, pharmaceutiques, l'herboristerie et l'ornementation [14,16]

I.2. Le genre Menthe

Tout au long de l'histoire, de nombreuses espèces de menthe ont été utilisées dans le monde entier pour diverses propriétés. Le plus ancien remède consiste à des huiles de menthe poivrée.

La collection de menthe séchée remonte à au moins 1000 avant JC et son utilisation a été enregistrée dans l'Égypte ancienne, la Grèce et Rome, dans la médecine traditionnelle chinoise l'utilisation d'une menthe locale, *Mentha haplocalyx* Briq. appelé « bo he », est enregistré depuis longtemps [18].

La taxonomie du genre « Mentha » est en pleine évolution, avec plus de 3000 noms publiés depuis 1753, la plupart étant des synonymes ou des noms non résolus [17], se référant souvent à des cultivars. Le genre de la Menthe est presque distribué sur tous les continents. Les centres de variété de ce genre qui regroupent les formes spontanées et cultivées sont l'Europe, l'Australie, l'Asie centrale et l'Afrique du Nord [18].

La plupart des espèces de Menthe poussent mieux dans des environnements et des sols humides. Les menthes atteignent une hauteur de 10 à 120 cm et peuvent s'étendre sur une surface de taille indéterminée. En raison de leur tendance à se propager sans contrôle, les menthes sont considérées comme envahissantes. Toutes les menthes préfèrent les endroits frais

et humides, à l'ombre partielle, et s'y développent. Mais, en général, les menthes tolèrent un large éventail de conditions et peuvent également être cultivées en plein soleil. Elles ont une croissance rapide et étendent leur portée le long des surfaces grâce à un réseau de stolons [19].

Selon le dernier traitement taxonomique, le genre 'Mentha' comprend 61 espèces [20] et environ 100 variétés et cultivars, divisés en cinq sections : Audibertia, Eriodontes, Mentha, Preslia, et Pulegium. La systématique du genre n'est pas totalement élucidée en raison des fortes variations morphologiques, des niveaux de ploïdie ($2n = 2x = 24$ à $2n = 6x = 96$) et des hybridations qui peuvent être intra et interspécifiques et entre formes spontanées et cultivées [18].

Dans la section de Menthe, il a été suggéré que les cinq espèces de base, *Mentha arvensis* L., *Mentha aquatica* L., *Mentha spicata* L., *Mentha longifolia* (L.) Huds, et *Mentha suaveolens* Ehrh. Ont donné naissance à 11 hybrides naturels et nommés.

Cependant, *M. spicata* et peut-être *M. longifolia* sont également d'origine hybride et l'incongruence des phylogénies basées sur l'ADN nucléaire et plastidique indique que toutes les espèces de cette section ont pu connaître une certaine extension du flux génétique réticulé au cours de leur évolution [21]. En Algérie, on compte cinq espèces qui représentent le genre [22].



Figure1: Les cinq espèces de base qui composent le genre « Mentha » [20].

1.2.1. Description de l'espèce *Mentha rotundifolia* L.

1.2.1.1. Nomenclature

L'espèce du *Mentha rotundifolia* est communément appelé « menthe pomme » dont le nom vernaculaire est Domrane, Chachtro, Timijo en langue arabe, En Français : Menthe odorante,

Menthe simple, Il s'agit d'un hybride résultant du croisement entre *M. longifolia* et *M. suaveolens*. Certains botanistes considèrent que les deux menthes sont la même espèce [23].

1.2.1.2. Description botanique

Elle est une herbe à croissance sauvage de 30 à 60cm de hauteur, Toute la plante est recouverte de poils blancs épais et doux au toucher. Elle produit de nombreuses tiges parfumées chaque année. Son parfum puissant rappelle celui des pommes (**Fig.2**)



Figure2: l'espèce *Mentha rotundifolia* L.

(Photo personnelle).

La plante est couverte de très larges feuilles sessiles, ressemblant un peu à des feuilles de sauge, ovales à subarrondies ou elliptiques, obtuses ou subpointues, épaisses, crénelées ou dentées, tomenteuses en dessous, de couleur vert vif, légèrement pelucheuses. [20, 24](**Fig.3**).



Figure3: Structure morphologique de *M. rotundifolia* L. (<https://www.alamyimages.fr/>)

1.2.1.3. Place dans la systématique (Classification)

D'après Quezel et Santa, la classification de l'espèce *Mentha rotundifolia* est la suivante[22](Tab.1):

Tableau1 : Classification d'espèce *M. rotundifolia*

Classe	Nomenclature
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous- classe	Euastéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	Mentha
Espèce	<i>Mentha rotundifolia</i> L.

1.2.1.4. Répartition géographique et Habitat

C'est une espèce spontanée réponde dans toutes les régions humides. Elle se développe sur les terrains, les ruines et les talus, Elle se développe dans le bassin méditerranéen, en Amérique et en Asie occidentale, sous des bioclimats semi-arides et humides, avec des variantes chaudes et tempérées. En Algérie, la *M. rotundifolia* est largement réparti dans le nord de l'Algérie dans les zones subhumides, le long des rivières dans les plaines et les montagnes[26]

1.2.1.5. Préparation et Usages thérapeutiques traditionnel

Cette menthe est utilisée :

- ✚ En infusion des feuilles fraîches ou desséchées, on ajoute le miel et on boit un verre trois fois par jour contre le ballonnement du ventre et l'hypertension.
- ✚ En écrase les feuilles fraîches et on mélange à l'huile d'olive puis on les applique sous forme de compresse contre les hémorroïdes[24].
- ✚ comme condiment mais aussi pour des propriétés médicinales, présentant des toniques, stimulants, stomachaux, antiémétiques, carminatifs, cholérétiques, antispasmodiques, antidiarrhéiques, anti hémorroïdaires, anti-inflammatoires, sédatifs, hypotenseurs, remédiant des hémorroïdes, béchique, pectorie, stimulants, emménagogues, et activités anti catarrhales analgésiques et insecticides[28].
- ✚ La menthe fait disparaître les impuretés du sang et restitue à la peau et au visage, la fraîcheur de la santé, car elle évite la formation des toxines, par son haut pouvoir bactéricide, et antiseptique qui entrave la putréfaction des matières intestinales [29]

1.2.1.6. Métabolites secondaires bioactifs isolés de l'espèce *M. rotundifolia*

De nombreux chercheurs décrivent les substances naturelles comme des composés chimiques qui existent dans de nombreuses espèces végétales qui permet d'utiliser dans diverses industries (pharmaceutiques, agroalimentaires, cosmétiques et parfumeries).

a. Huiles essentielles (HE) et leur Propriétés pharmacologiques

Sont des composés volatils qui sont produits en tant que métabolites secondaires. Ils ont une composition complexe et une odeur distinctive. Généralement sont extraites par distillation à la vapeur ou hydrodistillation de différentes plantes aromatiques. Ils sont fréquemment employés dans la pharmacopée traditionnelle[30].

L'huile de menthe est l'une des huiles essentielles les plus importantes produites dans le monde et leur valeur dépasse les 400 millions de dollars US par an. Par exemple, *M. canadensis* L. produit du menthol de maïs comme source la plus importante de (-) menthol ; *M. piperita* L. produit du menthol, qui comprend le menthol, menthone, et l'acétate de menthyle comme composés principaux ; *M. spicata* ssp., *M. viridis* (menthe verte indigène) et *M. gracilis* (menthe verte écossaise) produisent principalement des huiles riches en carvone, bien que différents constituants aient été signalés ; *M. citrata* est une source de linalol et d'acétate de linalyle ; *M. pulegium* produit une huile appelée pennyroyal, riche en pulegone ; la composition de l'huile *M. aquatica* est principalement du menthofurane [31]; *M. haplocalyx* peut être renferme six chémotypes, dont le linalol, la pulégone, la menthone, la carvone, le menthol et l'oxyde de pipériténone [32]. Beaucoup d'études ont examiné le profile chimique des huiles de *M. rotundifolia* L., qui poussent dans divers endroits du monde (**Tab.2**).

Tableau2: Majoritaires constituants des huiles essentielles d'espèces *Mentha rotundifolia* décrite dans la littérature[20].

Composant	Origine (% dans l'huile)
Carvone	Argentine (43)
Trans-piperitone oxide	Italie (41)
Piperitol	Spain (58)
2,4(8),6-p-Menthatrien- 2,3-diol	Cuba (15)
Cis-piperitone oxide	Algerie (28–31)
Pulegone	Moroc(85), Tunisia (32)
Menthol	Moroc(41)
Piperitenone	Algerie (55)
Piperitenone oxide	Algerie (24–39)
Trans-piperitone epoxide)	Algerie (Bejaia) (30)
Lippione	Sénégal (80)

Une étude décrite par Brada et al. montrent l'existence vraisemblable de deux chémotypes des HEE; l'oxyde de pipéritone et le pipériténone représentant 75% des huiles identifiés dans la *M. rotundifolia* poussé dans trois régions différents en Algérie[3](Fig.4).

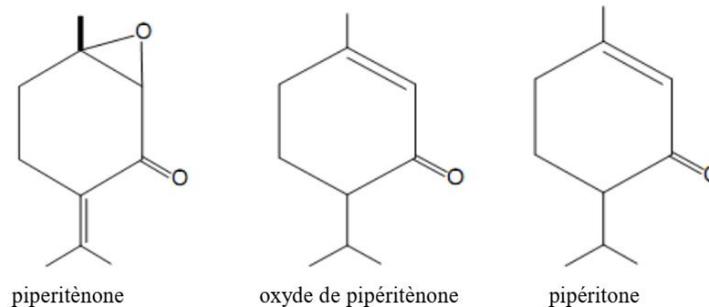


Figure4 : quelques principaux constituants de l'HE de *M. rotundifolia* [17]

Des recherches ont été réalisées afin d'analyser la profile chimique ainsi que la bioactivité des huiles essentielles de *M. rotundifolia*[27, 32]. Parmi les composants identifiés, on retrouve des monoterpènes oxygénés tels que l'oxyde de pipériténone, qui a des effets cardiovasculaires significatifs, a une activité qui affecte les centres nerveux sympathiques en produisant des effets relaxants, stimulants ou dépressants, De plus, elle a des caractéristiques antibactériennes et antifongiques, et contribue à ralentir la propagation du vecteur de la Paludisme (*Anopheles stephensis*)[2,34].

Selon El Arch et al. La *M. rotundifolia* poussé au Maroc est riche en pulégone (85%)[35], cette richesse permet des effets antimicrobiens et insecticides très intéressants. Ainsi, les huiles de *M. rotundifolia* ont montré des effets anti bactériens [27]. En outre étude décrite par Brahmi et al. Les essences de *M. rotundifolia* ont présenté un effet antimicrobien plus fort que les essences de *M. pulegium* contre tous les micro-organismes étudiés[37]. Les essences de *M. rotundifolia* ont démontré des propriétés insecticides contre les adultes de *Rhyzopertha dominica*, dans les essais biologiques de contact et de fumigation et de répulsion [37]. Également est très toxique dans les premières heures (24 h) dans l'essai de toxicité par contact contre le même ravageur[38]

Les huiles essentielles de *M. rotundifolia* présentent des propriétés antioxydantes en termes de capacité à neutraliser les radicaux libres (DPPH)[33], à réduire le fer dans le plasma (FRAP) (FRAP)[33] et à inhiber les radicaux libres (KRL)[37]

b. Polyphénols et leur Propriétés pharmacologiques

Sont des métabolites secondaires distribués de manière omniprésente dans les plantes, comprennent un grand groupe de composés biologiquement actifs, avec plus de 8000 molécules, petites ou grosses et des molécules complexes, présentant au moins un cycle aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyle attachés.

Ces composés apparaissent souvent dans leurs sources naturelles sous forme d'esters et de glycosides[39]. le genre « *Mentha* » est particulièrement riche en acide caféique et ses dérivés (l'acide chlorogénique et rosmarinique) [39,40] ce dernier représentant 60-80% des composés phénoliques totaux. En outre, sept acides salvianoliques ont été décrits dans les plantes de Menthe, comme l'acide salvianolique H/I, l'acide salvianolique E, l'acide salvianolique B et l'acide isosalvianolique A (trimères de caféine) [41]. La majorité des espèces de la Menthe sont riches en flavonoïdes, notamment en flavones et flavanones. La lutéoline et ses dérivés sont les principales flavones décrites dans ces espèces [41]. Les composants eriocitrine, lutéoline-7-O-glucoside, naringénine-7-O-glucoside, isorhoifoline, eriodictyol, lutéoline, et apigénine ont été identifiés dans les extraits aqueux de la Menthe [2]. En outre une étude décrite par Areias et al. ont signalé que le composant principal des extraits aqueux de la Mentha était le glucoside ériocitrine[42]. Concernant la composition phénolique de *M. rotundifolia* rapportée par la littérature a montré des variations des acides phénoliques et des flavonoïdes en fonction de la localisation de la plante (Tab.3)

Tableau3: Composition des composés phénoliques dans *M. rotundifolia* rapportée par la littérature.

Class de polyphenol	Composés phénolique identifier	Origine d' herbe	Reference
Acide phénolique	Acid Caféique, <i>p</i> -hydroxy benzoïque, Acide férulique, Acide <i>p</i> -Coumarique	Espagnol	[43]
Flavonoids	Apigénine, lutéolinidine, pélagonidine, cyanidine, delphinidine, pétunidine, lutéoline.		
Acide phénolique	Nd	La République tchèque.	[44]
Flavonoids	Esculetine		
Acide phénolique	Acid Caffeique, Acid salvianolique Acid L, rosmarinique, acid iso-salvianolique B, acid iso-salvianolic, acid salvianolique B, acid salvianolique W, acid iso-salvianolique A.	Tunisie	[45]
Flavonoids	hesperidine, luteoline, luteolin-7-glucoside,		
Acide phénolique	Acide Chlorogénique, acide hydroxybenzoïque, acide syringique, acid caffeique, acid vanilique acid, acid <i>p</i> -coumarique, acid férulique, acid rosmarinique	Algerie	[46]
Flavonoid	Rutine, quercetine 3-O-galactoside, is quercetine, myrtilline, lutéoline, apigenine, cyanin chloride		
Acide phénolique	Acid Rosmarinique, acid caffeique		
Flavonoids	Eriocitrine, Hesperidine, Narirutine, Luteoline, Isorhoifoline,	Arabie Saoudite	[47]

Les propriétés de piégeage des radicaux de divers types de composés provenant de plantes aromatiques et médicinales les rendent particulièrement dignes d'attention. Les espèces réactives de l'oxygène sont des espèces chimiques formées dans le corps pendant le métabolisme, qui sont très réactives et peuvent avoir un ou plusieurs électrons non appariés. Le stress oxydatif, c'est-à-dire un déséquilibre entre les ROS et les défenses antioxydantes, a des effets délétères. Les antioxydants, a des effets délétères, tels que la peroxydation des lipides membranaires et l'attaque des biomolécules (protéines, protéines de synthèse, etc.). sur les biomolécules (protéines, enzymes membranaires, glucides et ADN) [48].

Il a été démontré que diverses espèces de Menthe et leurs extraits possèdent une activité antioxydante [28]. Les acides phénoliques (par exemple, les acides rosmariniques et caféïques), les flavones (par exemple, les dérivés de la lutéoline) et les flavanones (par exemple, les dérivés de l'ériocitrine) sont probablement les principaux antioxydants. Pour les flavanones (par exemple, les dérivés de l'ériocitrine) sont probablement les meilleurs antioxydants.

Les extraits des espèces de *Mentha* peuvent agir comme des piègeurs de radicaux libres *in vitro*, les extraits éthanoliques de *M. rotundifolia* ont démontré leur capacité à éteindre les radicaux superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) [40]. Cette espèce a également été rapporté pour nombreuses activités antioxydantes dans plusieurs tests fonctionnels ; Le test DPPH a été plus appliqué pour mesurer les capacités antioxydantes des extraits du *Mentha rotundifolia* par différents systèmes de solvants ; ceux-ci comprend les extraits d'éthanoliques[49]; méthanolique [50] et aqueux.

CHAPITRE 2 :

FACTEURS DE VARIABILITÉ DES
MÉTABOLITES SECONDAIRES

Généralité sur les métabolites secondaires (MII)

Sont des molécules bioactives, peuvent avoir des structures chimiques complexes. Ils sont présents en faibles quantités avec une variation considérable selon l'espèce. Il est courant que leur synthèse se produise dans une partie de la plante et que leur stockage ait lieu dans une autre partie. Selon le stade de développement de la plante, ils sont produits à différents endroits de la cellule et se concentrent dans des parties spécifiques de la plante, Le rôle du MII est généralement lié à sa localisation dans la plante[51]. Par exemple, les furanocoumarines, également appelées phytoalexines, agissent en tant que substances antimicrobiennes car elles servent de mécanisme de protection vis-à-vis les bactéries et les champignons.

Les terpènes et les flavonoïdes sont des exemples des métabolites secondaires, ainsi que les polyphénols, les glucosinolates et les alcaloïdes. Ces composés peuvent utiliser des voies de biosynthèse communes pour créer de nouveaux composés [52].

II. 1. Les polyphénols et la biosynthèse

Sont des phénols, un des groupes des MII, couramment présents parmi les espèces végétales. Ces composés se démarquent par leur structure qui comprend au moins un noyau benzénique lié de manière directe à un groupe hydroxyle libre ou impliqué dans une autre fonction (Fig.5)[53]. Les polyphénols jouent un rôle essentiel dans la survie des plantes sur la terre ferme en contribuant à leur protection contre le stress biotique et abiotique, ainsi qu'à leur reproduction. Cependant, en raison de leur nature, ont tendance à se dissoudre facilement dans des solvants polaires.

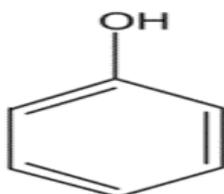


Figure 5 : la structure chimique d'un composé phénolique

La diversité de structures de ces composés résultants des flavonoïdes, les tanins et les coumarines[54]. Ces structures peuvent être représentés par diverses substitutions après la glycosylation, l'estérification, l'acylation, etc.

La majorité des polyphénols sont biosynthétisés chez les plantes vasculaires via la voie du shikimate ou se traduit par la biosynthèse du chorismate, qui peut ensuite servir de précurseur pour la formation des acides aminés aromatiques tels que, la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane. Les flavonoïdes, tels que le flavane-3-ol, sont à la base de la production de tanins et font partie des nombreux composés phénoliques qui sont produits à partir de ces acides aminés. Ces acides aminés servent de précurseurs dans la voie gPP, qui est la voie générale de production des phénylpropanoïdes. Les phénylpropanoïdes sont des dérivés (C6-C3) qui peuvent être étendus avec des chaînes latérales pour former des flavonoïdes (C6-C3-C6), ainsi que certaines quinones[55](Figure6).

La première étape de cette voie est entièrement catalysée par l'enzyme phénylalanine ammoniac lyase (PAL) qui convertit la phénylalanine en acide cinnamique. Ensuite, l'acide cinnamique est hydroxylé par l'enzyme acide cinnamique 4-hydroxylase (C4H) pour produire de l'acide p-coumarique. L'intermédiaire réactionnel essentiel pour former différents phénylpropanoïdes est le 4-coumaroyl-CoA. Par exemple, en utilisant une molécule de 4-coumaroyl-CoA et trois molécules de malonyl-CoA, la chalcone synthase initie la synthèse de certains flavonoïdes tels que la naringénine chalcone[56].

Chez les espèces graminées, comme le maïs, le composé 4- coumaroyl-CoA peut également résulter de la désamination de tyrosine, grâce à quoi, PAL est une enzyme clé de la passerelle dans la voie métabolique secondaire menant à la synthèse de composés phénoliques. Le contrôle de l'activité PAL semble être un facteur clé dans la régulation de cette voie [57].

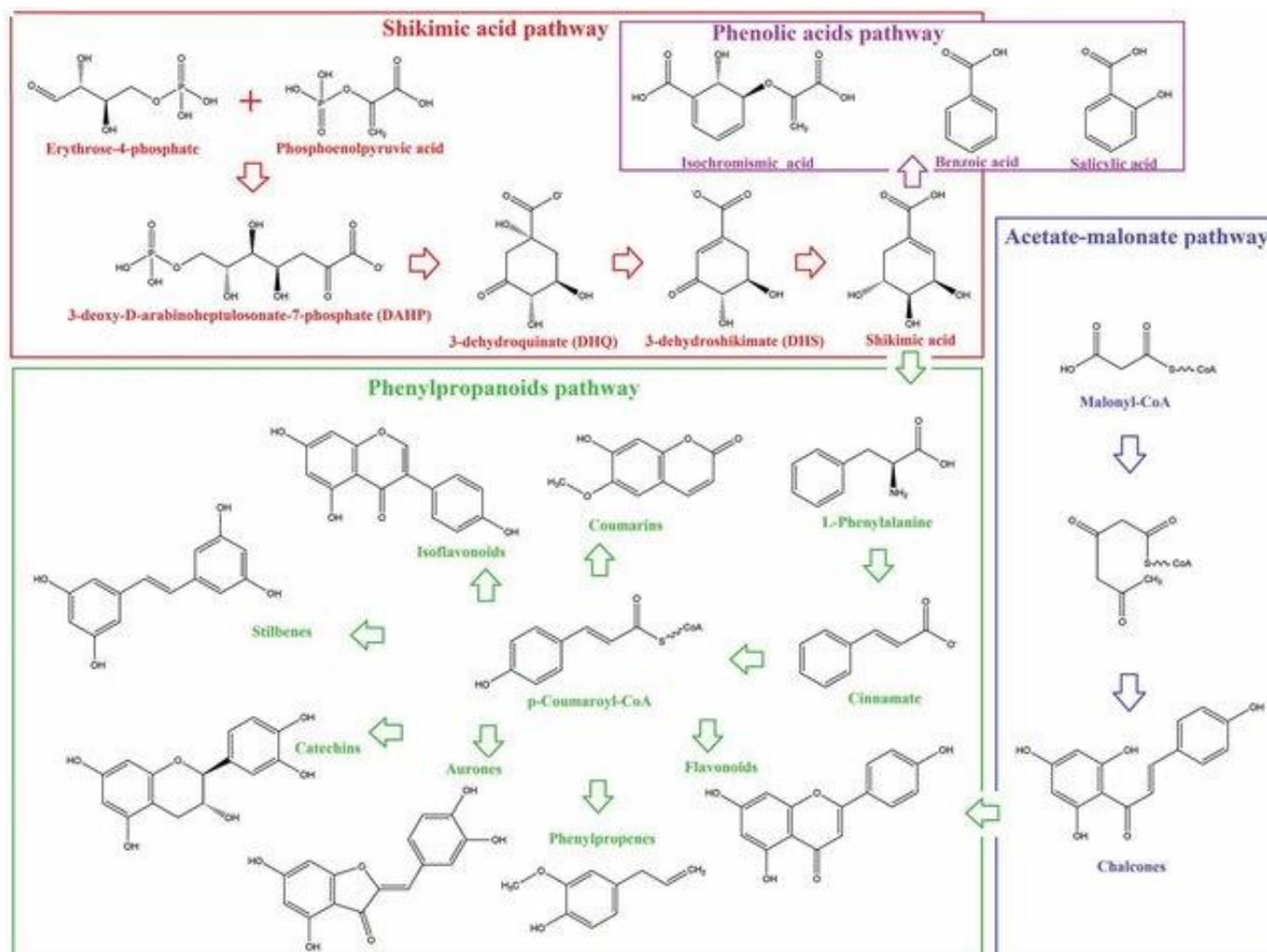


Figure 6: Voies de biogénèse des composés phénoliques par le shikimate et l'acétate-malonate phénylpropanoïdes et acide phénolique.

II. 2. Facteurs de variabilité des métabolites secondaires

La diversité des MII peut être attribuée à plusieurs hypothèses explicatives. La composition des polyphénols est initialement conditionnée par l'ontogénèse et la phylogénèse et la phylogénèse, mais, en effet, les composés bioactifs qui sont biosynthétisés dans une espèce donnée peuvent varier en composition, les quantités et les proportions en fonction des divergences des éléments environnementaux [5]. Ainsi, l'accumulation de constituants bioactifs, y compris les polyphénols des plantes médicinales est corrélée aux conditions de croissance écologique. Ensuite, Leur quantités dépendent le plus souvent non seulement des conditions abiotiques, telles que le climat, la météorologie (température de l'air, etc.), mais aussi des conditions géographiques[5].

D'autre part, les pratiques agricoles ont un impact significatif sur la production et la qualité du produit final. L'utilisation d'engrais et l'effet des variations de N (azote), P (phosphore) et K (potassium) sur différentes espèces ont été étudiés [53]. Ainsi que La méthode agricole utilisée affecte également la croissance des plantes médicinales et l'accumulation de métabolites secondaires. Les techniques agricoles plus étudiées incluent la culture traditionnelle en champ (*in vivo*), la culture *in vitro* et la culture de racines ciliées accompagnée de phytohormones.

les hormones de croissance jouent également un rôle de pivot et de régulation dans le procédés physiologique et biochimique des plantes, tandis que, Un grand nombre d'études ont suggéré que les phytohormones jouent un rôle crucial dans la stimulation de la croissance et du métabolisme secondaire des plantes[58][12].

II.2. 1. Influence des facteurs environnementaux

Les plantes survivent en interagissant avec leur environnement et sont soumises à l'influence de facteurs environnementaux qui contrôlent leur croissance et la production de métabolites secondaires[59]. Et par conséquent, les trois catégories principales d'exigences écologiques des plantes sont climatiques, édaphiques et géographiques. Les plantes ont des exigences écologiques fondamentales qui se répartissent en trois catégories principales : climatiques, édaphiques et géographiques, De sorte que, chaque espèce possède un profil écologique, qui contient les limites de tolérance et l'optimum pour chacun des facteurs écologiques [60].

La condition environnementale intervient dans le processus de biosynthèse des métabolites secondaires. Ainsi qu'il est possible d'observer des variations dans les concentrations de métabolites secondaires entre les plantes de la même espèce qui poussent dans des régions différentes[61].

2.2.1.1. Les facteurs abiotiques

Les plantes interagissent avec divers éléments abiotiques comme température, l'eau, la lumière et les conditions du sol pendant leur croissance. L'accumulation des métabolites secondaires est influencée directement ou indirectement par la disponibilité variable de ces éléments abiotiques.

2.2.1.1.1. Les facteurs climatiques

La répartition géographique des plantes est influencée par les conditions climatiques, notamment la température, l'humidité, la luminosité et le vent

2.2.1.1.1.1. Température

La température intervient dans la croissance et la production des plantes médicinales, Les seuils thermiques varient beaucoup selon l'espèce et l'origine géographiques. Les plantes tropicales peuvent atteindre des températures optimales de 30 à 45°C, tandis que les plantes des zones tempérées peuvent atteindre des températures de 15 à 25°C. De plus, les plantes qui vivent dans des zones tempérées ont des limites de tolérance différentes au froid et à la chaleur. En hiver, elles peuvent tolérer des températures de -2°C à 0°C et en été, de 40°C à 50°C. Cependant, les plantes tropicales ont des limites de tolérance au froid de +5 à +7°C et des limites de tolérance à la chaleur de +50 à -60°C[62].

D'autre part, La variabilité de la température constitue un paramètre abiotique qui a une influence significative sur l'accumulation de MII, elle peut aussi avoir un impact sur leur composition et leurs activités biologiques, La biosynthèse des métabolites secondaires est le résultat de nombreuses réactions biochimiques sensibles à la température [62]. La meilleure teneur en essence est lorsque la plante se développe au milieu de son habitat naturel [60]. les températures supérieures et inférieures à l'optimum (20°C à 25°C, où elles fonctionnent le mieux) diminue la photosynthèse et par conséquent ont un effet néfaste sur le développement des plantes [63]. En outre, de nombreuses études ont montré que la proportion des MII augmente en réaction à des températures fluctuantes élevée ou à basse. Par exemple, la teneur en ginsénosides des racines augmente avec la croissance de la température chez *Panax quinquefolius* [64]. En revanche, la température basse était associée à des niveaux élevés de composés phénoliques [65]. De même, des températures plus basses entraînent une augmentation des composés phénoliques totaux chez *Artemisia annua* [66]. Kumari et al. ont rapporté que les conditions agroclimatiques ont un impact à la fois sur les phénols totaux et sur le potentiel antioxydant de *Aloe vera* (L.) Burm.f.[67] ; Ainsi, en fonction de la température, les plantes accumulent plus ou moins de polyphénols, de flavonoïdes et d'acides phénoliques, qui contribuent finalement à la défense des cellules végétales [68]. Physiologiquement, les molécules phénoliques sont produites par la voie phénylpropanoïde qui implique notamment l'enzyme de la PAL. Le degré de température stimule et régule ces enzymes, mais il a été démontré qu'une température extrêmement élevée empêche l'action de la PAL, réduisant ainsi la biosynthèse de ses métabolites [69].

2.2.1.1.1.2. Eau

Le facteur hydrique (eau) est un élément essentiel pour les activités physiologiques des plantes., dépend non seulement des précipitations totales, mais aussi du rapport précipitations/évaporation. Les plantes sont classées en fonction du facteur hydrique et leur

besoin en eau en plantes Hydrophytes, Mésophytes, Xérophytes, l'eau est un élément nécessaire à la plante au niveau cellulaire, là où se déroulent toutes les réactions métaboliques. C'est le centre où se trouvent divers solutés nécessaires à la vie. Au niveau de l'organisme, il nourrit la sève des plantes, qui contient les nutriments nécessaires à leur croissance. L'eau contribue à la formation des plantes sans tissus de soutien (xylème secondaire, sclérenchyme, etc.), maintient les organes et les cellules, et participe à l'élongation cellulaire [70]. Les précipitations peuvent également être impliquées dans les variations des métabolites secondaires, mais les résultats publiés sont contradictoires. Chez *Arbutus unedo* L., les précipitations plus faibles ont diminué de manière significative la quantité totale de flavonoïdes tels que la quercétine ainsi que l'activité de piégeage du DPPH [71]. En revanche, de fortes précipitations et d'humidité ont induit un considérable concentration des phénol totaux (TPC) et un potentiel intéressant dans les feuilles mexicaines de *Moringa oleifera* Lam. [72]. En accordant avec les recherches précédentes menées sur les espèces de la Menthe, Rahimi et al. indiquent que le manque d'eau semble un négative effet sur la concentration des TPC et FTC, aussi sur la capacité inhibitrice de radical libre DPPH chez la *M. piperita* [73]. Mais, ici aussi, les données sont contradictoires. Par exemple. La culture de *M. piperita* sous stress de sécheresse a conduit à une amélioration du TPC[74]. Chez d'autres plantes, la sécheresse a considérablement augmenté le contenu en flavonoïdes [75].

2.2.1.1.1.3. Effet du rayonnement solaire

La lumière est un élément abiotique indispensable dont les plantes ont besoin pour effectuer la photosynthèse. Elle fournit à la plante le carbone nécessaire ainsi que l'énergie nécessaire à la synthèse des métabolites secondaires.

Lorsque l'intensité lumineuse dépasse la capacité du chloroplaste à fixer le carbone, cela entraîne un stress photo-oxydatif, provoquant la production de radicaux libres. Si le système antioxydant est incapable de les éliminer, ces radicaux libres s'accumulent. Là que, l'accumulation des métabolites secondaire tels que les flavonoïdes, caroténoïdes, des anthocyanes. De même, un certain composé phénolique possède une capacité antioxydante directe et ils interviennent dans les mécanismes de défense contre le stress oxydatif. Il faut savoir que divers facteurs environnementaux varient avec l'altitude, tels que les températures moyennes et extrêmes, les précipitations, les périodes de couverture neigeuse et l'exposition solaire. L'altitude élevé se traduit notamment par un rapport plus élevé entre les UV et le solaire total. Par conséquent, l'augmentation des flavonoïdes antioxydants et des composés phénoliques totaux en fonction de l'altitude.

Les teneurs en flavonoïdes et les phénols totaux peut être, en partie, attribuée à une exposition plus élevée aux UV [75], en effet, Les radiations solaires et UV sont, reconnues comme des éléments externes proéminents qui ont un impact sur la formation des bioéléments. éléments externes importants qui ont un impact sur la formation de composés bioactifs ayant une activité antiradicalaire[72]. En particulier, la chalcone synthase est l'enzyme initiale dans le processus de synthèse des flavonoïdes, et leur transcription est stimulée par la lumière ultraviolette (UV) [82]. Une augmentation substantielle du ratio de flavonoïdes di hydroxy substitués par le cycle B a également été observée dans les parties de plantes exposées à un surplus de rayonnement solaire [75].

2.2.1.1.2. Les facteurs géographiques

Les facteurs climatiques, à leur tour, sont influencés par les caractéristiques géographiques locales[62].

L'altitude est la hauteur d'un emplacement spécifique au niveau de la mer. Certains facteurs environnementaux sont influencés par l'altitude. Cirak et Radusiene décrite que à mesure que l'altitude augmente, la température et la pression atmosphérique diminuent[78]. De même, Les températures moyennes diminuent de manière régulière à mesure que l'altitude s'élève., correspondant à une pente moyenne de $-0,55\text{ °C}/100\text{ m}$. Lorsque les masses d'air humides rencontrent des reliefs, cela entraîne une élévation qui favorise la condensation de la vapeur d'eau atmosphérique, ce qui se traduit par une augmentation des précipitations[79]. L'altitude des sites de croissance en tant qu'influence environnementale important qui influence la composition et la quantité de composés bioactifs dans les plantes. Selon Cirak et Radusiene ont indiqué que l'altitude des sites de croissance des plantes avait fortement stimulé la production des métabolites secondaire ou les températures plus basses et le rayonnement UV-B plus élevé prédominant en altitude[78]. De multiples études indiquent que des teneurs plus élevées de TPC et TFC sont généralement détectées dans les plantes provenant à des altitudes plus élevées. Sur 19 espèces sauvages étudiées, Bautista et al. ont signalé que l'altitude était le principal facteur unique fortement corrélé avec l'augmentation des composés phénoliques et des flavonoïdes antioxydants[75].

2.2.1.1.3. Les facteurs pédologiques

Le sol est une source de nutriments, il est vital pour la croissance des végétaux et a un impact sur leur métabolisme[80].

Les plantes s'enracinent dans le sol pour y trouver l'eau et les minéraux nécessaires à leur synthèse de matière organique[81]. De plus, le sol sert de support physique pour les plantes et

leur fournit des éléments hydrominéraux essentiels tels que l'azote, le phosphore et le potassium, ainsi que du calcium, du magnésium et du soufre. De plus, des oligo-éléments tels que le bore, le fer, le zinc et le manganèse et les éléments organiques, tels que les êtres vivants et leurs débris. La répartition des espèces végétales est fortement influencée par les propriétés physico-chimiques du sol, telles que sa texture, sa structure, son taux d'humidité et le nombre d'horizons[82]. De sorte que, Les plantes peuvent être classées selon les caractères du sol :

- ♣ Oxylophytes : les plantes qui s'installent sur les sols acides (*Camellia japonica* L.)
- ♣ Halophytes : les plantes qui s'installent sur les sols salins (Tamarix).
- ♣ Psammophytes : les plantes qui s'installent sur les sols sablonneux (*Panicum turgidum* L.).
- ♣ Lithophytes : les plantes qui s'installent sur les roches (*Asplenium ceterach* L.)

La croissance des plantes et l'amélioration de l'accumulation de leurs MII sont favorisés par un type de sol demande une bonne terre nutritive [60]. De nombreuse recherche confirme que le rôle du sol dans la variabilité des métabolites secondaires, une étude sur la plante de *Hibiscus sabdariffa* L. en Malaisie indique que le contenu phénolique total dépend fortement du type de sol dans lequel l'espèce est récoltée [83]. Les valeurs les plus élevées de TPC, de l'acide gallique et de potentiel anti-radicalaire ont été enregistrées dans les feuilles de *Moringa oleifera* Lam. Mexicaines cultivées dans un sol riche en matière organique, NH_4^+ , P et K. Une carence en certains composants du sol a une influence négative sur le métabolisme et les composés bioactifs de la plante. Cela s'explique par le fait que le NH_4^+ et la matière organique sont impliqués dans toutes les réactions enzymatiques et métabolique[72]. Fletcher et al. montre que la teneur en acide rosmarinique (AR) de la menthe verte du Canada est renforcée par les conditions environnementales et physiologiques locales[84]. En outre, le type de sol peut jouer un rôle dans les quantités d'acide rosmarinique accumulées dans les menthes. En revanche, les plantes cultivées sur des sols pauvres en nutriments accumulent des contenus phénoliques plus élevés que celles cultivées sur des sols fertiles [85].

2.2.1.1.4. Facteur biotique

Les plantes peuvent subir des dommages physiques causés par divers agents biologiques tels que les insectes, les champignons, les virus, les bactéries et les nématodes. Cependant, ces agents peuvent également induire des réponses de défense chez les plantes, ce qui peut entraîner une augmentation de la production de MII. Certains de ces métabolites secondaires possèdent des propriétés antimicrobiennes qui renforcent le système de défense des plantes contre les pathogènes.

II.2. 2. Influence des pratiques agricole

La culture des plantes médicinales joue un rôle considérable dans la conservation des habitats naturels vis à vis leur dégradation par l'exploitation commerciale continue et permet d'une sélection des plantes qui détiennent un potentiel prometteur pour la production de MII.

Il est crucial de renforcer les connaissances sur les techniques de la stimulation ou la modification l'accumulation de différents métabolites secondaires par l'agissant sur divers paramètres. Cela peut être accompli en utilisant des précurseurs des molécules ciblées, en utilisant des éliciteurs et en effectuant des transformations génétiques sur les plantes afin d'augmenter les flux au sein des voies de biosynthèse des composés ciblés.

Il est envisageable de fournir aux plantes des précurseurs des composés d'intérêt dans certaines circonstances afin d'accélérer les processus métaboliques et stimuler la biosynthèse de composés spécifiques.

Dans cette optique, de nombreuses recherches ont été largement intéressés pour améliorer des protocoles de la formation de MII dans la culture *in vitro* et *in vivo* des plantes médicinales. A titre d'exemple, mise en œuvre des changement nutritionnels, biostimulants, dont les acides aminés ou bio régulateurs (phytohormones) [11,101]

Plusieurs recherches ont étudié les impacts des pratiques agricoles sur les MII des plantes médicinales et aromatiques. Ils ont été démontré que l'application d'azote et de phosphore an un impact sur la quantité d'huile essentielle d'*Artemisia pallens* [90]. De plus, L'application accrue d'engrais (NPK) dans la culture de *Chamaemelum nobile* L. conduit à une augmentation de la quantité des composés sesquiterpénique (germacrene D, α -bisabolol) [91]. En revanche, l'utilisation une concentration maximum d'azote atteint 1,2 g N pour 10 kg-1 de sol a entraîné des résultats optimaux en termes de rendement et de quantité et qualité d'huile essentielle chez *Origanum vulgare* L. [92]. Selon les résultats de Zheljzakov et al., l'obtention du rendement maximal en huile de *Ocimum basilicum* L. nécessite une application d'environ 50 à 60 kg d'azote par hectare. De plus, l'azote a un impact significatif sur les pourcentages de linalol, d'eugénol, d'acétate de bornyle et d'eucalyptol, modifiant ainsi la composition de l'huile essentielle[93].

II.2.2.1. Précurseurs des acides aminés

De nouvelles découvertes ont fourni que l'utilisation de biostimulants comme les acides aminés en agriculture peut augmenter le rendement, le métabolisme et la biosynthèse de métabolites végétaux dans le thé, la mélisse, le basilic et le romarin [94,95]. Une étude menée par Tarasevičienė et al. ont déclaré que l'application foliaire de L-phénylalanine, L-tryptophane

et L-tyrosine a conduit à des taux élevés de phénols totaux et certains composés individuels chez certaines espèces de la menthe[86].

L-phénylalanine, L-tyrosine et L-tryptophane peuvent être utilisés comme précurseurs pour augmenter la teneur en métabolites secondaires des plantes. Ces acides aminés interviennent dans la voie du shikimate contribuant ainsi à la production de divers composés: alcaloïdes, glucosinolates d'indole, flavonoïdes, acides hydroxycinnamiques, lignines et lignanes[96].

Les principaux composés phénoliques aromatiques synthétisés par la phénylalanine et la tyrosine sont l'acide cinnamique, les coumarines, les phénylpropènes, les chromones, les stilbènes, les anthraquinones, les chalcones, les flavonoïdes, les isoflavonoïdes, les néoflavonoïdes et leurs dimères et trimères, respectivement, les lignanes, les néolignanes, les polykétides aromatiques et les diphénylheptanoïdes[97].

II.2.2.2. Influence d'application des phytohormones sur l'accumulation des métabolites secondaires

II.2. 2.2.1. Définition

Les hormones végétales, également appelées phytohormones(PGR), sont définies comme des molécules organiques, Contrairement aux hormones animales animaux, qui ont généralement un spectre d'action très étroit, les phytohormones ont généralement une diversité structurelle moindre et régulent de nombreux processus physiologiques des plantes en synergie, notamment la différenciation, le développement et la croissance, à de faibles concentrations[98].

II.2. 2.2. 2. Les différents types d'hormones végétales :

Dans les tissus végétaux et les cultures cellulaires, les phytohormones ont été classées en cinq grandes catégories [auxines, cytokinines, éthylène et gibbérellines (GA)]et elles sont connues comme des molécules de signalisation nécessaires à de nombreux processus de développement des plantes [99].

Bien qu'une interaction entre les auxines et les cytokinines soit principalement nécessaire pour réguler les processus physiologiques normaux des plantes [12].

Plus récemment, les brassinostéroïdes, les jasmonates, les polyamines et le salicylate ont été reconnus comme de nouvelles classes d'hormones végétales en raison de leurs rôles régulateurs dans le développement des plantes [100].

Volontairement, nous focaliserons le plus souvent nos études sur les phytohormones en particulier les auxines et cytokinines.

II.2. 2.2. 2.1. Auxines

II.2. 2 .2. 2.1.1. Définition

Les auxines sont une classe de phytohormones impliquées dans de différentes facettes physiologiques, tant au niveau moléculaire qu'au niveau de l'ensemble de la plante. Les auxines naturelles, telles que l'acide indole-3-acétique, l'acide phénylacétique et l'acide indole-3-butyrique régulent la division cellulaire, la croissance cellulaire, la biosynthèse de l'éthylène, le développement des racines, la formation des feuilles, la dominance apicale et la différenciation des tissus vasculaires et la nouaison. la différenciation des tissus vasculaires et la nouaison des fruits[101].

Les auxines synthétiques telles que l'acide 1-naphtalène-acétique (NAA) induisent des réponses physiologiques similaires à celles des auxines naturelles dans les tests biologiques [102].

II.2.2. 2. 2.1.2. Liste des auxines connues

Les auxines sont divisées en deux groupes de base, à savoir les analogues naturels et les analogues synthétiques des auxines. Il existe cinq naturellement présentes dans les plantes, En plus des auxines endogènes, de nombreux composés synthétiques ayant une activité auxinique, appelés auxines synthétiques[103].

a. Auxines naturelles

- Acide indole-3-acétique (IAA)
- Acide 4-chloroindole-3-acétique (4-Cl-IAA)
- Acide phényl acétique (PAA)
- Acide indole-3-butyrique (IBA)
- Acide indole-3-propionique (IPA)

b. Auxines de synthèse

- Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D)
- Acide α -naphtalène acétique (α -NAA)
- Acide 2-méthoxy-3,6-dichlorobenzoïque (dicamba)
- Acide 4-amino-3,5,6-trichloropicolinique (tordon ou picloram)
- Acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique (2,4,5-T)

II.2. 2. 2. 2.1.3. Influence des auxines sur la physiologie des plantes

la division cellulaire, la prolifération et la différenciation des tissus, la modification des tissus vasculaires altérés, les réponses aux stimuli de lumière et de gravité, l'architecture des racines et des pousses, la germination des graines et des tubercules, la différenciation des organes, la régulation des périodes de floraison, la synthèse de l'éthylène, les processus de croissance végétative, ainsi que le développement et le vieillissement des fruits[104]

L'auxine, notamment l'indole acide acétique(IAA) affecte également la fluorescence et la photosynthèse, la formation de pigments, la biosynthèse de divers métabolites et la résistance aux conditions de stress[87]

Villacorta et al.[105] ont signalé que l'IAA est l'hormone végétale la plus abondante et qu'elle est associée au développement végétatif et reproductif des plantes de houblon (*Humulus lupulus*).

De plus, des chercheurs ont été largement confirmé le rôle des auxines dans la croissance des plantes, par exemple, les effets d'acide indole-3-acétique (IAA) sur l'enracinement, l'amélioration de la biomasse et l'accumulation de composés volatils chez l'espèce de thym (*T. vulgaris* L.) poussé in vitro a été hautement observable[58] , Également, selon karalidja et al. Le plus grand nombre de pousses de thyme (*Thymus vulgaris* L.) a été obtenu par la culture sur le milieu MS contenant de l'auxine acide indole-3-butyrique(IBA)[106].

II.2. 2.2. 2.1.4. Influence des auxines sur l'accumulation des métabolites secondaires

Des études précédentes ont rapporté que l'application exogène des auxines est une approche utile pour améliorer la production de divers métabolites secondaires[107].

Il existe une documentation solide sur l'application exogène d'IAA dans la production de divers métabolites secondaires dans différents espèces (Tab.4).

Tableau4: Influence des auxines sur l'amélioration les métabolites secondaires de certaines plantes médicinales

Auxine	La plante	Métabolite secondaires	Reference
IAA	Racines de <i>Hypericum perforatum</i> L.	Phénols totaux et de flavonoïdes	[108]
IAA	Racines de <i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer	Composés phénoliques	[109]
IAA	Racines de <i>Linum album</i> LYR2.	Lignanes de type aryltétraline (p. ex., podophyllotoxine et 6 méthoxypodophyllotoxine)	[110]
IAA	Racine de <i>T. vulgaris</i> L.)	Huile essentiel(thymol)	[58]
IAA	La mélisse	Huile essentiel (Le géraniol et nérol)	[111]
IAA	Sarrasin de Tartarie (Hokkai T10)	Anthocyanes	[112]
IBA	-chou chinois - <i>Vitis rotundifolia</i> Michx	-composés phénoliques glucosinolates -Anthocyanes et flavonols	[113]
2,4-dichlorophenoxyacetic -	Sarrasin de Tartarie (Hokkai T10)	Anthocyanes	[112]
Acide naphthaleneacétique	Sarrasin de Tartarie (Hokkai T10)	Anthocyanes	[112]

II.2.2. 2.2.2. Les cytokinines (CKs)

II.2. 2.2. 2.2.1. Définition

Les cytokinines (CKs) sont des composés de faible poids moléculaire appartenant à un groupe de phytohormones. Intervient essentiellement dans divers processus biologiques à chaque étape de la vie d'une plante, [114]. Les CKs régulent la division cellulaire et la morphogenèse, et donc l'activité des tissus méristématiques ; elles retardent l'apparition de la sénescence ; elles sont impliquées dans la dominance apicale ; elles influencent le développement des fleurs et des graines, la germination des graines et l'absorption de nutriments et d'assimilant dans les organes récepteurs.

On pensait auparavant que la biosynthèse des CKs était limitée aux racines, les CKs étant ensuite distribuées aux autres organes de la plante. De façon intéressante, les connaissances actuelles suggèrent que chaque cellule végétale est capable de synthétiser des CK[115]. Par exemple, une isoforme de la TPI (Triose Phosphate Isomerase)est exprimée et fonctionne spécifiquement dans les organes reproducteurs et les grains du maïs pendant la maturation[116]. Cependant, les profils d'expression temporels et spatiaux des gènes du TPI ont montré leur contribution significative à la production de CK dans tous les autres tissus du maïs [117].

II.2. 3. 2.2.2. Liste des cytokinines connues

Du point de vue de leur structure, les cytokinines (CK) sont des dérivés de l'adénine avec des substitutions en position N6. Parmi les CK, les plus importants sont

a. Cytokinines de synthèse

-Benzyl adénine.

-Benzylaminopurine

-Kinétine

_ Thidiazuron

b- Cytokinines naturelles

- zéatine.

- isopentényladénine (IPA)

II.2. 3. 2.2.3. Influence d'une certaine cytokinine dans la physiologie des plantes

Les cytokinines sont des phytohormones (PGR) importantes et des composants critiques utilisés dans la culture des cellules végétales.

- Les cytokinines dynamisent la division normale des tissus végétaux cultivés et favorisent l'augmentation du volume des cellules, inhibition le développement en longueur et stimule le développement latéral[118].

- D'autre part ils induisent la formation de nouvelles pousses et font régresser l'inhibition produite par la dominance apicale ; au lieu de cela, elles limitent le développement des racines et libèrent de nombreuses graines de la dormance, ce qui entraîne le développement d'embryons de fleurs chez certaines espèces dans des conditions de photopériode défavorables et stimule la transformation des préplastides en chloroplastes, ralentit le renouvellement de la chlorophylle et retarde la sénescence des feuilles [119].
- Également, l'application du BAP diminue l'effet négatif du Na Cl sur le taux des chlorophylles dans les tissus foliaires de quelques espèces et augmente l'activité photochimique dans le contrôle du stress hydrique [120].
- La cytokinine a des effets sur les paramètres photosynthétiques directement par exemple, la synthèse des protéines de la chlorophylle, la composition des chloroplastes et leurs structures, le transport des électrons, l'ouverture des stomates, ou indirectement par exemple changement dans la croissance morphologie et anatomie [121].
- De nombreuses études ont décrit l'établissement réussi de calli de régénération de bourgeons, de culture de bourgeons et de plantes entières de *S. altissima* et *S alpina* [122,123]
- L'ajout de Benzyl-aminopurine (BAP) en particulier stimule l'ouverture des stomates et la transpiration [118].

II.2. 3. 2.2.4. Influence des cytokinines dans l'accumulation des métabolites secondaires

Les CKs sont capables d'influencer l'accumulation de plusieurs classes de métabolites tels que les acides aminés (proline, acide -aminobutyrique, alanine et glycine), les glucides (sucrose, fructose, maltose et ribose) et les acides organiques qui sont principalement impliqués dans le cycle de l'acide citrique [124].

La régulation et la production de polyphénols impliquent une matrice de signaux et d'indices de régulation qui peuvent se chevaucher [97] et les PGR tels que les CK peuvent influencer la composition phytochimique de différentes espèces de plantes cultivées dans des systèmes d'essai *in vitro*. Dans cette optique, des études suggèrent l'influence de l'application exogène des cytokinines dans la production de divers métabolites secondaires dans différents espèces (Tab.5).

Tableau 5: Influence des cytokines sur l'amélioration les métabolites secondaires de certaines plantes médicinales

Cytokinine	Plante	Métabolite secondaire	Referencee
BAP	<i>Mentha piperita</i> L.	Modifié la composition chimique des huiles essentielle	[125]
Kinetine	<i>Mentha arvensis</i>	Rendement des huiles	[107]
Kinetine	<i>Thymus leucotrichus</i>	Thymol	[126]
Benzyladenine (BA)	<i>T. mastichina</i>	Rendement des huiles	[127]
benzyladenine (BA)	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Huiles essentiel, Polyphenol	[128]
Thiazolidinedione	<i>Scutellaria alpina</i>	Production des polyphenol	[129]
Thidiazuron	<i>Thymus leucotrichus</i>	carvacrol	[126]
Isopentenyladenine	<i>Thymus leucotrichus</i>	Acide rosmarinique	[126]

II.2. 3. 3. Effet de synergie Auxine- Cytokinine dans l'accumulation des métabolites secondaires

Les auxines et les cytokinines (CK) sont considérées comme les PGR les plus importants ayant une forte capacité à affecter des aspects critiques de la croissance des plantes.

Il existe un ensemble considérable de connaissances sur les auxines et les CK, y compris la base moléculaire de leur influence sur les processus de développement (Santner and Estelle, 2009), bien que les mécanismes impliqués dans la diapasonie auxine-CK ne soient pas complètement élucidés [132]

Comme l'illustrent plusieurs protocoles de propagation in vitro, la diapasonie potentielle entre l'auxine et le CK détermine les réponses organogénétiques. D'un point de vue physiologique, l'organogénèse in vitro fournit un système puissant pour étudier les mécanismes de diapasonie hormonale pendant l'organogénèse des plantes [133]. Les cytokinines induisent l'activation de la division cellulaire lorsqu'elles sont combinées à l'auxine. Alors que les cytokinines facilitent la séparation des chromosomes, les auxines stimulent la duplication de l'ADN. Elle a une action sur l'organogénèse, est un antagoniste entre l'auxine, hormone déterminante dans la rhizogénèse et les cytokinines, déterminantes dans la collagénases (néoformation des rameaux) [134].

Les auxines et les cytokinines sont des facteurs cruciaux pour la croissance et la production des MII dans les cultures cellulaires. Par exemple, ils ont remarqué que les auxines et cytokinines influencent à la fois l'indice de croissance et l'accumulation d'acide rosmarinique chez *Coleus blumei* [135] ou encore la production de glycosides cardiaques dans *Digitalis lanata* [136]

Les altérations de type et de la proportion d'auxine ou de cytokinine, ainsi que le rapport auxine/cytokinine, ont de fortes sur la croissance et la formation de métabolites chez les plantes [137]

Le rapport auxine/cytokinine semble être le principal facteur contrôlant la croissance et la morphologie, tandis que les effets sur la formation de métabolites secondaires varient et dépendent des espèces végétales [138]. Les pousses cultivées dans un milieu MS complété par 0,57 mM d'IAA et 2 mM de BAP ont produit des quantités importants métabolites secondaires (baicaline, wogonoside, lutéoline, lutéoline-7- O-glucoside, verbascoside)[139]. De plus, Une expérience menée avec de la mélisse cultivée dans un milieu supplémenté d'auxine et de cytokinine (IAA 11,42 $\mu\text{mol L}^{-1}$, BA 8,87 $\mu\text{mol L}^{-1}$ et IAA+BA) a révélé une augmentation de l'huile de nérol de 1,4 fois et de l'huile de géraniol de 4,1 fois[111].

DEUXIÈME PARTIE :

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Objectif scientifique

Ce thèse est consacré à comparer l'accumulation des métabolites secondaire en particulier les polyphénols entre la plante (espèce *Mentha rotundifolia* L.) poussé dans deux régions caractérisées par des étages bioclimatiques différents dans Algérie et la plante cultivé dans la serre et subit par un traitement par les hormones végétales qui appartient de groupe activatrice de la croissance incluent l'indole acide acétique (type d'auxine) et la 6-benzylaminopurine, type des cytokinine), l'espèce étudié appartient de la famille lamiacée est retenu pour son action pharmacopée traditionnelle. Divers aspects ont été pris en compte lors de la sélection de cette plante, parmi lesquels se trouvent les éléments suivants : l'origine géographique, l'utilisation traditionnelle, la simplicité de culture et la vitesse de la croissance végétative de cette plante

Identification botanique

L'espèce a été identifiée par le botaniste Khanuf Hanan (Département de biologie, Université de Mohamed Seddik Ben Yahia (Jijel).

Notre recherche est axée vers les étapes suivant

- ✚ Analyse physico-chimique des sols de différentes stations d'étude.
- ✚ Analyse climatique de deux localités d'étude : Mila, Jijel afin de déterminer

Le type de climat de chaque région (Précipitations, Températures, Humidité, Indice d'Emberger, indice de Gaussen

- ✚ Expérimentation d'agriculture et la pulvérisation des phytohormones
- ✚ Préparation des extraits bruts de deux parties de la plante (aérienne et racinaire)
- ✚ Caractérisation qualitative des différents extraits par un screening

Phytochimique

- ✚ Détermination quantitative des différents extraits en dosant les teneurs des polyphénols totaux, flavonoïdes, flavones et flavonols par des méthodes spectrophotométriques
- ✚ Identification des composés phénolique individuel à l'aide d'un LC-ESI-MS
- ✚ Evaluation des activités biologiques des extraits *in vitro* ; à savoir : Le pouvoir antioxydant par sept test différents et l'effet inhibitrice des enzymes d'Acétylcholinestérase et de l' α -glucosidase
- ✚ Les analyses statistiques

Laboratoire de recherche

- ✚ Les extractions ainsi que les analyses qualitatives (l'investigation phytochimique) et quantitatives ont été réalisées au niveau du laboratoire des Sciences de la Nature et des Matériaux (LSNM)
- ✚ Les activités biologiques au Laboratoire du centre de recherche en biotechnologie CRBT (Costentine -Algérie)
- ✚ L'analyse du sol a été effectuée au laboratoire d'analyses environnementales du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT).
- ✚ Identification et quantification des composés phénoliques à l'aide d'un LC-ESI-MS au Laboratoire d'Agriculture et Cultures Oasiennes, Institut des Régions Arides de Médenine, Université de Gabès, Tunisie.

CHAPITRE 1 :

ETUDE CLIMATIQUE

I.1. Présentation des sites d'étude

Pour mettre en avant les répercussions des éléments climatiques sur la production des métabolites secondaires, les deux plantes d'étude ont été récoltées dans 02 régions en Algérie qui présentant des étages bioclimatiques différents (figure7) ; la région de Jijel (humide), la région de Mila (subhumide)

Nous avons pris en compte les éléments climatiques clés tels que la température, les précipitations et l'humidité relative pour calculer les moyennes annuelles de ces variables. Cela nous a permis d'obtenir une estimation globale des conditions climatiques pour l'année de récolte (2018).

L'Algérie est caractérisée par un climat méditerranéen, nous avons fait une synthèse climatique des régions d'étude sur deux stations représentatives :

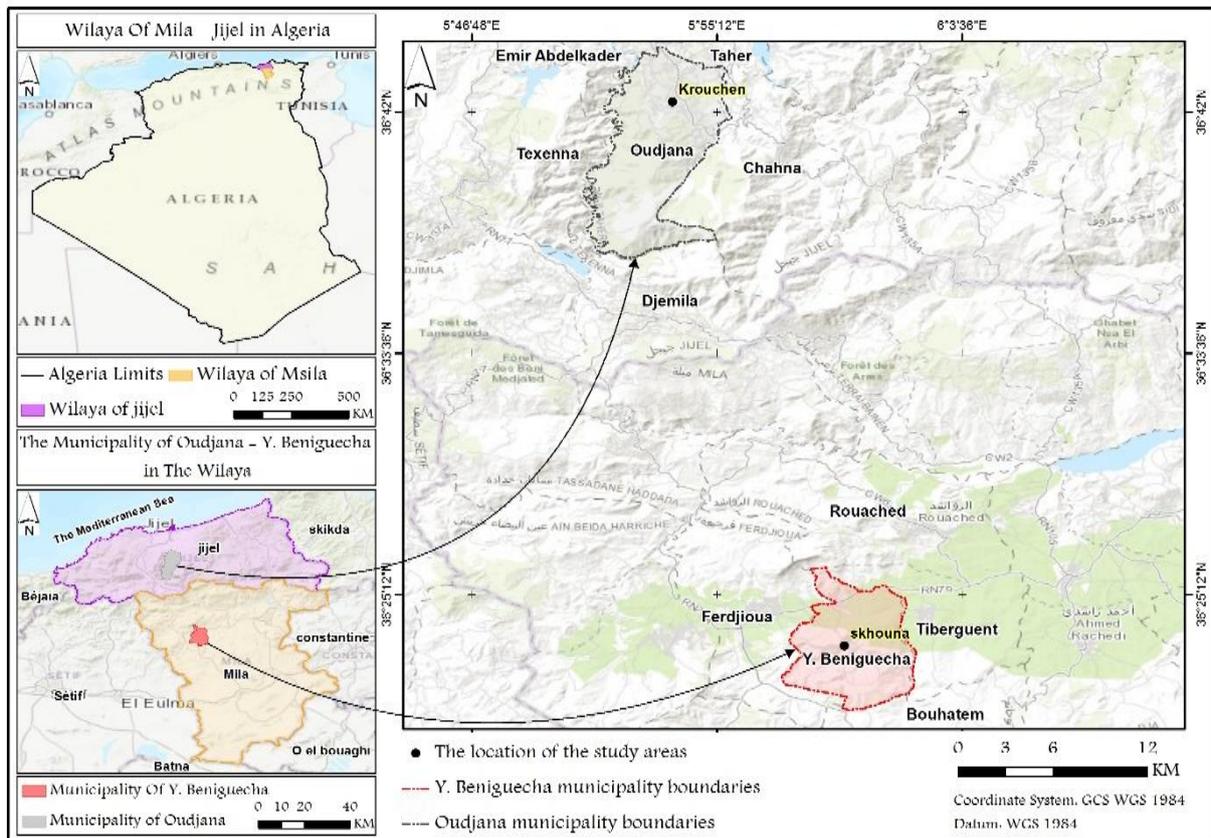


Figure 7 : Situation géographique des stations d'étude
(Carte établie à l'aide du logiciel ArcGIS, Version 10.8).

I.1.1. Région de Jijel

I.1.1.1. Situation géographique

Située dans le Nord-Est de l'Algérie, la région côtière de Jijel se trouve entre les latitudes 36° 10 et 36° 50 Nord et les longitudes 5° 25 et 6° 30 Est. Située sur une superficie de 2.398 km² et avec une frontière maritime de 120 km, Jijel est localisé dans la zone hydrogéologique des massifs métamorphiques kabyles, qui sont des montagnes plissées du littoral méditerranéen. Elle appartient à la petite Kabylie et abrite trois massifs anciens : les Babors, le massif de Collo et le massif de l'Edough, qui possèdent des formations plissées datant du Mésozoïque et du Cénozoïque. La zone est incluse dans le domaine Nord atlasique, également connu sous le nom de chaîne des Babors à proximité. Au nord, la mer Méditerranée la borde, la wilaya de Skikda à l'est, la wilaya de Bejaia à l'ouest et les wilayas de Sétif et Mila au sud.

I.1.1.2. Caractères climatiques de la région de Jijel

Le climat à Jijel est méditerranéen et il est classé dans la zone côtière (zone A). Il a un été chaud et humide et un hiver pluvieux et froid. Les températures estivales sont généralement de 20 à 35 °C, tandis que les températures hivernales sont généralement de 5 à 15 °C. La quantité importante de précipitations pendant les saisons pluvieuses est due à la présence des hautes montagnes des Babors.

I.1.2. La région de Mila

I.1.2.1. Situation géographique

La région de Mila couvre une superficie de 3.480,54 km², localisée dans le Nord-Est de l'Algérie. Elle se trouve à mi-chemin entre les coordonnées 36° 27' Nord et 6° 16' Est. Elle est bordée par la wilaya de Jijel au nord, la wilaya de Skikda au nord-est, la wilaya de Constantine à l'est, la wilaya de Sétif à l'ouest et la wilaya d'Oum El Bouaghi au sud. Le relief de la région La région se démarque par la présence de massifs montagneux telliens au nord, tandis que la zone centrale est caractérisée par des piémonts et des collines qui font partie du piémont sud tellien. Au sud, on trouve une étendue de hautes plaines, situées à une altitude moyenne de 800 à 900 mètres.

I.1.2.2. Caractère climatique de la région de Mila

Le climat de la région du Mila est caractérisé par un été sec chaud et hiver froid et humide, la précipitation est décroît du nord au sud de la région, varie entre 700 mm/an dans la zone montagneuse, 400 à 600 dans le centre et 350 au sud.

I.2. Analyse des paramètres climatiques

Cette étude vise à donner un aperçu du climat de deux régions d'où les échantillons ont été prélevés Pour analyser les paramètres climatiques, deux stations ont été choisies : station

climatique de l'ONM (Office National Météorologique) de l'Echouât située à Jijel et Ain tine située à Mila. Les deux stations ont enregistré des données sur une période de 10 ans, allant de 2009 à 2019.

I.2.1. Variation annuelle de deux stations :

1.2.1.1. Variation annuelle des précipitations entre les deux stations

La quantité d'eau reçue annuellement reste un facteur essentiel pour les fonctions Physiologiques végétales, et la valeur maximale des précipitations est cruciale pour le sol. En effet, elle accentue les processus d'érosion hydrique et favorise la migration des éléments les plus solubles comme les sels, le gypse et le calcaire.

Une comparaison des précipitations annuelle montre une différence entre les deux stations (Fig.8), la pluviométrie de la station de Mila est presque la moitié du Jijel avec des valeur annuelle est d'environ 755 et 1171 mm respectivement, à la station de Jijel nous observons que une pluviométrie maximale répartie sur les deux mois février et Novembre avec des valeur annuels égalent 186 mm et 222 respectivement, tandis que la station du Mila est caractérisé par une précipitation maximal atteint une ordre de 150 mm a mois de janvier et 83 mm pendant le mois de novembre.

Le taux de précipitations a été très faible au mois de juillet dans les deux régions avec l'ordre de 2 mm dans la station de Jijel et 32 dans la station de Mila.

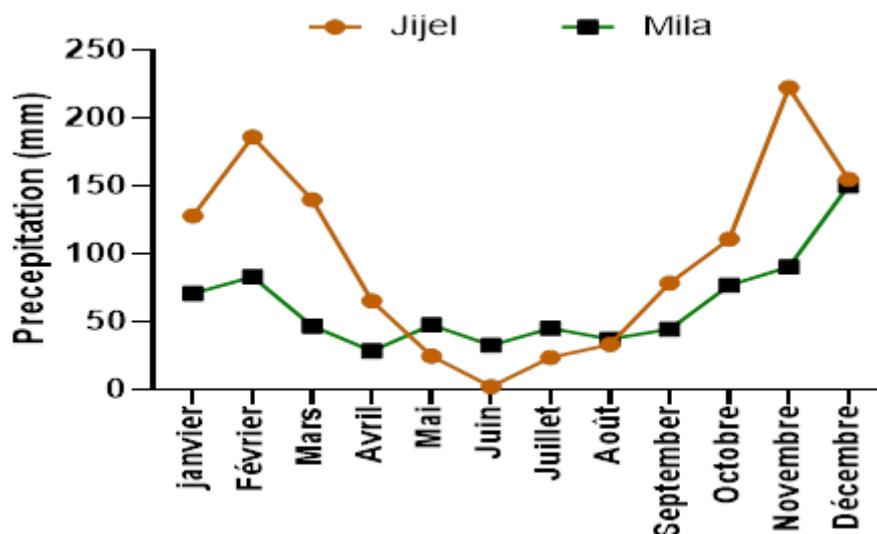


Figure8 : variation annuelle moyenne des précipitations au niveau des deux stations(2009-2018)

1.2.1.2. Variation annuelle de température de l'aire entre les deux stations

En raison de son impact sur le déficit d'écoulement, en particulier l'évapotranspiration, la température de l'air est importante pour le bilan hydrologique.

Les plantes sont plus sensibles aux températures minimales et maximales et à leurs variations. En effet, ces facteurs sont les plus précis pour déterminer le fonctionnement thermique d'un endroit donné.

D'après les données de la température illustré dans la figure 9. Nous constatons une différence légère entre les deux stations. La moyenne annuelle s'élève à environ de 17,16°C à Mila jusqu'à 19,09°C à Jijel. Pendant la période de décembre à avril, il fait relativement froid, avec un minimum en janvier 12,06 °C dans la station de Jijel et 8,90 dans la station du Mila), La période chaude s'étend de mai à octobre, avec un pic enregistré en août (25,56 °C) à la station de Jijel et en juillet (28,60 °C) à la station de Mila.

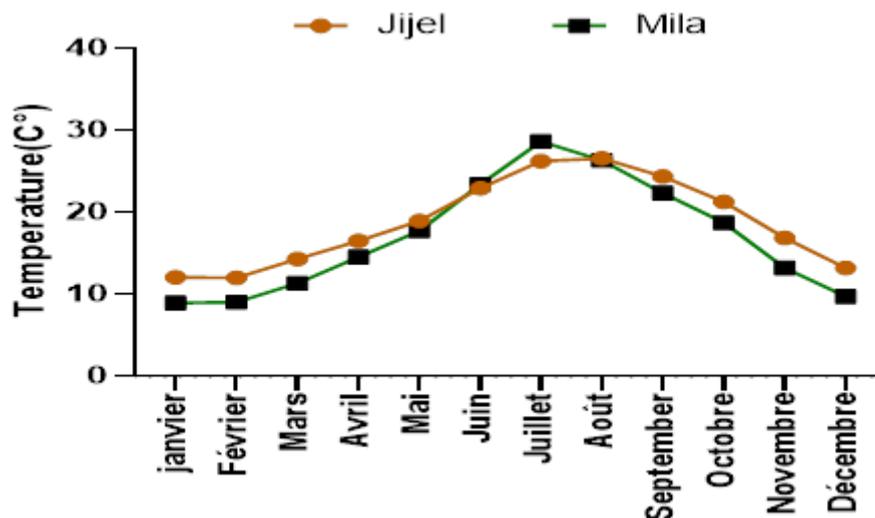


Figure 9 : variation annuelle moyenne des températures au niveau de deux stations (2009-2018)

I.2.1.3. Variation annuelle d'humidité entre les deux stations

La comparaison de l'humidité annuel entre les deux stations indique que la région du Mila caractérisé par une Humidité basse avec l'ordre de 64% en comparaison à l'humidité celle-là Jijel qui atteint 74%. Encore, Nous remarquons que l'humidité dans la station de Jijel a tendance à être stable tous les mois de l'année, tandis qu'elle considérablement réduit en de mois Juillet et Aout dans la région du Mila (Fig.10).

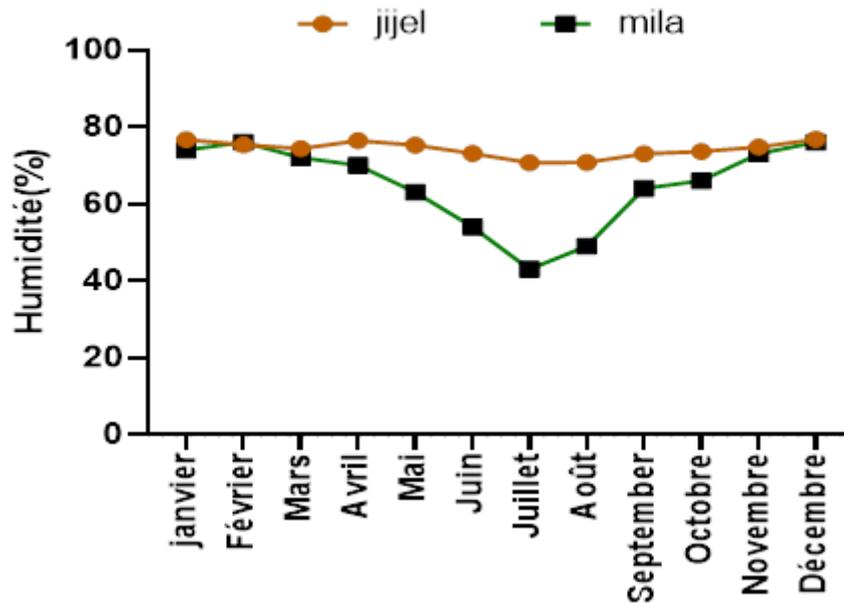


Figure10 : variation mensuelle moyenne d'humidité au niveau de deux stations
Analyse climatique (2009-2018)

I.2.2. Indices climatiques

Les indicateurs les plus fréquemment utilisés pour décrire les climats et les bioclimats en région méditerranéenne sont le quotient pluviométrique d'Emberger (1930) et le diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen (1957)[140].

1.2.2.1. Indice d'aridité de DE MARTONNE

Elle est facilitée l'évaluation de la sécheresse pour chaque station, La simplicité de cette formule réside dans l'ajout du chiffre 10 à la température, ce qui évite l'obtention d'un indice négatif. La formule suivante est utilisée pour calculer cet indice :

$I = P / (T + 10)$, P indique la précipitation annuelle (mm) tandis que T indique la température moyenne annuelle (C°). L'indice obtenu est proportionnel à l'humidité du climat, où des valeurs plus élevées indiquent un climat plus humide. La classification du climat est la suivante [141]:

- ✚ Lorsque $0 < I < 5$: Climat hyper-aride
- ✚ Lorsque $5 < I < 10$: Climat aride
- ✚ Lorsque $10 < I < 20$: Climat semi-aride
- ✚ Lorsque $20 < I < 30$: Climat subhumide
- ✚ Lorsque $30 < I < 50$: Climat humide

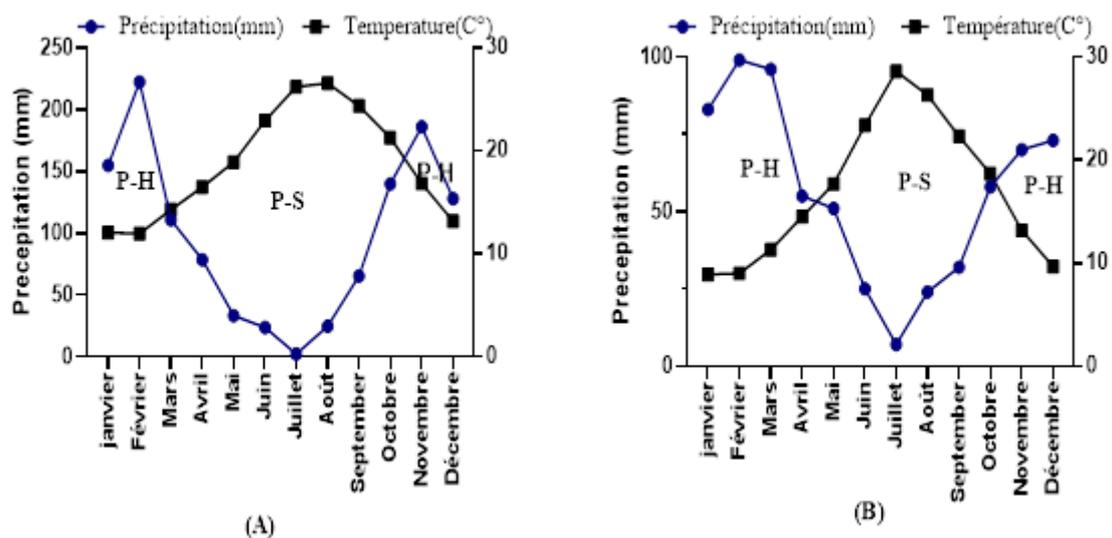
Tableau 6: Calcul de l'indice de DE MARTONNE pour les 02 stations

Station climatique	Indices	Etage bioclimatique
Mila	25,21	Sub-Humide
Jijel	40,73	Humide

I.2.2.2. Diagramme pluviothermique de Bagnouls et Gausсен

Le diagramme pluviothermique, qui vise à identifier la saison sèche et humide, peut être créé en utilisant les données des précipitations et des températures mensuelles sur la même période d'observation. un diagramme pluviothermique peut être créé. Ce diagramme représente les températures à une échelle double des précipitations. La saison est caractérisée par un manque d'eau lorsque la courbe des températures est supérieure à la courbe des précipitations ($P < 2T$). Cependant, lorsque la courbe des précipitations est supérieure à la courbe des températures ($P > 2T$), la saison est considérée comme humide. À partir de ces deux graphiques (figure 11), il est évident que les deux régions étudiées ont des saisons distinctes au cours de l'année hydrologique.

L'indice xérothermique de Bagnouls et Gausсен de la station de Jijel, montre que la période sèche à Jijel s'étale du début du mois de Mars à mi- Octobre (Fig11-A). Tandis que les mois hors de cette période sont appelés période humide ($P > 2T$).



P-H: période humide, P-S : période sèche

Figure11 : Diagramme pluviothermique de Bagnouls et Gausсен de Jijel et Mila (2009-2018)

A travers le diagramme ombrothermique de la station du Mila (Fig11-B), On a découvert que la période de sécheresse comprend cinq mois (Mai jusqu'à Octobre), Alor que la période humide ($P < 2T$) correspondant à mois de janvier, février, mars, novembre, décembre

I.2.2.3. L'indice pluviométrique d'EMBERGER (Les étages bioclimatique)

L'utilisation du quotient pluviothermique Q2 d'Emberger est nécessaire pour déterminer l'étage bioclimatique d'une station, il s'intéresse aux extrêmes thermiques M et m entre les quelles se déroule la période végétative, Cet indice ne concerne que les climats méditerranéens. Le Q2 est calculé en prenant en compte la combinaison de trois facteurs climatiques majeurs. Il est donc par l'équation suivant :

$$Q2 = \frac{3,43 P}{M - m}$$

Q2= Quotient pluviométrique d'Emberger.

P= Précipitation annuelle moyenne (mm).

M= Température des maximas du mois le plus chaud (°K).

m= Température des minima du mois le plus froid (°K)

Tableau7 : Calcule d'indice pluviométrique d'EMBERGER de deux stations

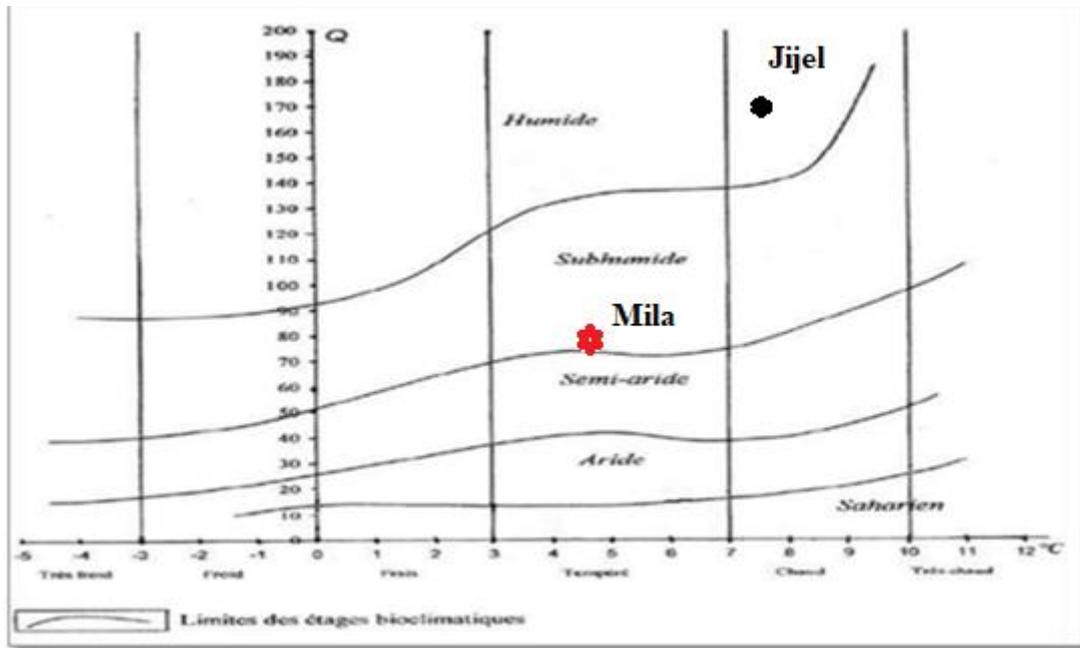
Station étudié	Pluviométrie annuelle en (mm)	Températures		Q2	Etage bioclimatique
		Maximale	Minimale		
Jijel	1108,38	30.7	7.6	164,57	Humide
Mila	598.28	34.8	4.7	68.17	Sub-humide

Plus le quotient pluviothermique Q2 est faible, plus le climat est sec. En observant le climagramme d'Emberger, nous pouvons situer les deux stations d'étude de la manière suivante :

- Mila appartient à l'étage bioclimatique de végétation subhumide à hiver doux.
- Jijel appartient à l'étage bioclimatique de végétation humide à hiver doux.

En se basant sur les relevés de précipitations et de températures des stations météorologiques locales durant la période 2010-2019., nous avons estimé les valeurs du quotient d'Emberger pour les régions de Jijel et Mila. Nous avons obtenu les valeurs respectives de Q2=179.32 et 86,10. Ces résultats ont sélectionné le climat de la région de Jijel comme étant humide à hiver tempéré et celui de la région de Mila comme étant subhumide à hiver tempéré, La figure 12 illustre la classification bioclimatique correspondante pour chacune des régions.

Figure12: Climagramme pluviothermique d'Emberger pour les régions de Jijel et Mila durant la période 2008-2018



CHAPITRE 2 :

L'EXPÉRIMENTATION AGRICOLE POUR
L'ÉTUDE DE L'IMPACT DES
PHYTOHORMONES

II.1. Station d'expérience (Lieu de l'étude)

La mise en œuvre de l'expérimentation agricole pour cette étude a été effectuée pendant la saison de 2017/2018 dans les conditions de la serre au niveau du centre universitaire d'Abdelhafid Boussouf Mila. La serre est caractérisée par une température entre (30°- 35 °) pendant la journée et entre 15 °-18° pendant la nuit, tandis que l'humidité relative estimée entre (75-80°).

II.2. Matériel pédologique

La plantation a été faite en sol transporté devant la serre, Le sol a été tamisé afin de se débarrasser des pierres et des impuretés, pour être prêt homogène pour la culture, sans ajout d'humus ou d'une matière organique.

II.3. Descriptions de l'expérimentation

L'expérimentation a été réalisée en utilisant un plan complètement randomisé (CRD) dans des essais en pot. Des semis aléatoires ont été prélevés sur un champ et transplantés le 15 avril 2018 dans des pots en plastique contenant environ 2 kg de sol argileux homogène. Chaque pot, de 26 cm de hauteur et 22 cm de diamètre, a été ensemencé avec une seule plante (Fig. 13). Au total, 45 pots ont été utilisés répartis en neuf groupes de cinq répétitions. Chaque groupe a été traité avec une concentration spécifique de phytohormone, ce qui nous a donné un total de 45 unités expérimentales pour les neuf traitements différents (Fig.14). Les caractéristiques physiques et chimiques du sol ont été déterminées avant le début de l'expérience. Les pots ont été placés sous les conditions de la serre. Pendant toute la durée de l'expérience, aucun engrais chimique ou pesticide n'a été utilisé et les mauvaises herbes ont été éliminées manuellement. De plus, l'irrigation a été effectuée quotidiennement avec de l'eau du robinet.



Figure13 : Plantation dans un pot (Photo personnelle)

II.4. Préparation des solutions hormonales

Cette étude consiste à préparer des concentrations de deux hormones végétales activatrices de croissance en question, à trois niveaux (0,10 et 20p.p.m.) pour chacune. De plus, quatre niveaux pour leur interaction (Tab.8):

Il s'agi

Les Auxines : acide indole-3-acétique (IAA)

Les cytokinines : 6-benzylaminopurine (BAP)

Tableau 8 : Type et concentration des phytohormone utilisé

Hormone	Individuel		Interaction AIA × BAP
	IAA	BAP	
Concentration	0mg /l(Témoin)	0mg /l(Témoin)	0 mg/l IAA × 0 mg/l BAP(Témoin)
	10mg/l(T1)	10 mg/l(T3)	10 mg/l IAA × 10 mg/l BAP(T5)
	20mg/l(T2)	20 mg/l(T4)	10 mg/l IAA × 20 mg/l BAP(T6)
	-	-	20 mg/l IAA × 10 mg/l BAP(T7)
	-	-	20 mg/l IAA × 20 mg/l BAP(T8)

Les concentrations de la solution d'indole acide acétique obtenus par dissolution de 10, 20mg d'hormone dans 1ml de NaOH puis réajustement des volumes jusqu'au 1000ml d'eau distillée, tandis que la concentration de la solution de la BAP a été obtenus par la dissolution de 10, 20 mg directement dans l'eau distillée. De même manière nous avons préparés les concentrations des interactions suivantes:

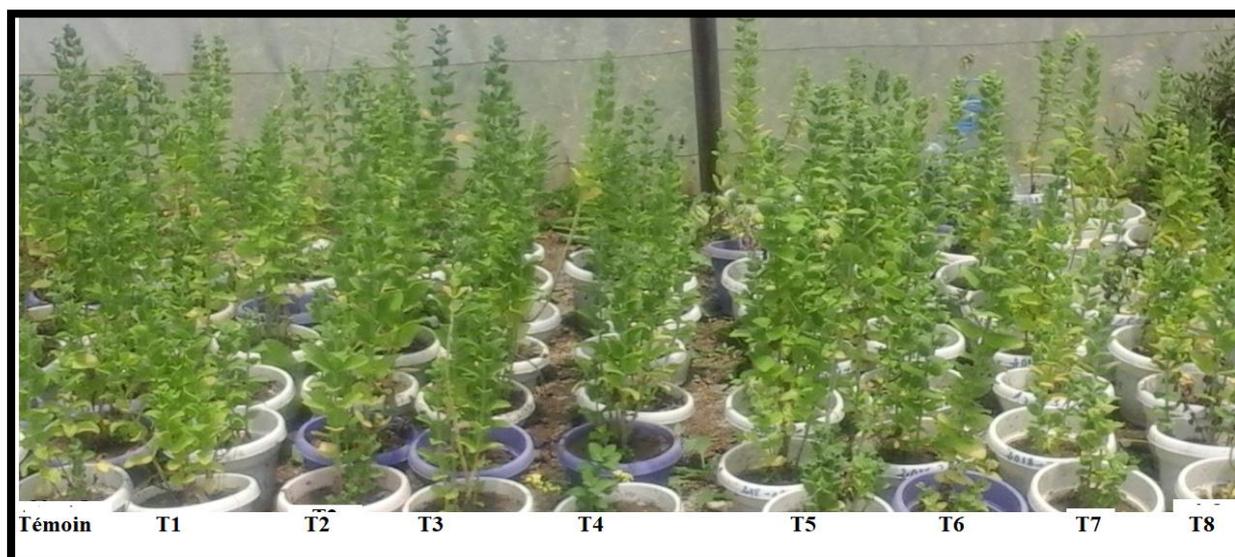
10 mg/l IAA × 10 mg/l BAP

10mg/l IAA × 20 mg/l BAP

20mg/l IAA × 10 mg/l BAP

20mg/l IAA × 20 mg/l BAP

Après avoir la solubilité totale d'hormone, les solutions hormonales sont conservées dans des flacons en verre opaque (pour éviter leur oxydation par la lumière) à un endroit relativement frais.



T0 : témoin ; T1 : 10 mg/l IAA ; T2 : 20 mg/l IAA ; T3 :10 mg/l BAP ; T4 :20 mg/l BAP ;
T5 :10mg/IAAx10mg/lBAP ; T6 :10mg/l IAAx20mg/l BAP ; T7 : 20mg/l IAAx10mg/l BAP ; T8 :20mg/l
IAAx20mg/l BAP

Figure14 : Arrangement des pots en préparation aux pulvérisations par les hormones végétales (Photo personnelle)

II.5. Mode d'action

Les plantes ont été pulvérisées séparément avec un pulvérisateur manuel à pression (80 ml chacun) pendant le coucher du soleil sur les jeunes plantules avant le stade floraison en se concentrant sur les feuilles et la tige jusqu'à ce que la solution s'égoutte des extrémités des plantes. Les pulvérisations foliaires avec différentes concentrations d'IAA et de la BAP a été appliquées en deux phases (une fois tous les 15 jours) :

-La première en date du :1/07/2018

-La deuxième en date du: 15/07/2018 (Fig.15)



Figure15: Pulvérisation Foliaire des plantes par les hormones végétales (Photo personnelle)

II.6. Echantillonnages de biomasses

Les plantes ont été récoltées le 25 août 2018, après une période de 133 jours de culture agricole. Trois plantes ont été choisies au hasard et récoltées pour chaque traitement. Les parties racinaires et aériennes ont été séparées et lavées soigneusement. Après avoir mesuré le poids frais, les échantillons ont été séchés pendant 15 jours à température ambiante et à l'abri de la lumière. Ensuite, on a mesuré le poids sec. Pour faciliter l'extraction, les échantillons ont été soumis à un broyage à l'aide d'un broyeur électronique afin d'obtenir une fine poudre.

CHAPITRE 3 :

ANALYSE PÉDOLOGIQUE

Le sol est une source d'éléments nutritifs, et il est vital pour la croissance des plantes et influe sur leur métabolisme [80]. La disponibilité des nutriments dans le sol est donc essentielle pour les processus agricoles. Les changements climatiques prévus en termes de température, de précipitations et d'évaporation entraînent des modifications significatives dans la transformation de la matière organique et la dynamique du CO₂, ce qui a un impact majeur sur la fertilité du sol[142]. Des études ont confirmé l'effet considérable du type de sol sur les quantités de métabolites secondaires accumulés dans les plantes. Il est donc crucial de réaliser une analyse approfondie du sol pour identifier les caractéristiques édaphiques de notre zone d'expérimentation. Les prélèvements ont été réalisés de manière aléatoire en creusant des fosses pédologiques d'une profondeur de 15 à 40 cm dans les régions de Jijel, Mila et la Serre le 25 août 2018. Afin de préparer les échantillons pour notre étude, plusieurs étapes ont été suivies : tout d'abord, les échantillons ont été séchés pour éliminer l'humidité. Ensuite, les agrégats de sol ont été réduits en petites particules pour faciliter le tamisage. Enfin, la terre fine a été séparée par tamisage. Ces étapes sont nécessaires pour garantir que les échantillons soient homogènes et représentatifs de la région étudiée.

- **Le séchage** : L'opération de séchage doit être effectuée à l'air libre, en couche mince, à température ambiante. Pendant le processus de séchage, l'eau est éliminée, y compris l'eau capillaire et une partie de l'eau liée[143].

- **Réduction des agrégats et tamisage** : ont broyé le sol à l'aide d'un mortier pour fractionner les agrégats, ensuite on procède au tamisage de la terre séchée sur un tamis de 2 mm, pour séparer la terre fine < 2 mm (Sable grossier, Sable fine, Argiles et limons) de la terre grossière (gravier 2 à 5 mm et de cailloux). L'analyse des paramètres du sol s'effectue sur la fraction de terre fine du sol (< 2 à mm) qui sont les suivants :

III.1. Les analyses physiques

III.1.1. Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)

Est un indicateur de la fertilité et de la salinité du sol. La salinité du sol est corrélée à la conductivité électrique du sol. Par conséquent, la mesure de la conductivité électrique permet d'évaluer à la fois la fertilité et la salinité du sol...

Méthode

On prend deux cuillères de sol de 2 ml de niveau et on placez-les dans le récipient à échantillon, en suite on ajouter l'eau déminéralisée jusqu'à 10 ml, on mélange la solution doucement pendant 1 minute, on Transfère le mélange échantillon / eau de 10 ml au capuchon du capteur de poche multiparamétrique (Palintest), on sélectionne le mode de mesure du pH et en enregistre la lecture.

III.1.2. Salinité du sol (ppt en Na Cl) et concentration de chlorure

Pour exprimer les résultats en parties pour mille (ppt) sous forme de Na Cl, on passe le mode de mesure de conductivité à sel, le résultat de la salinité est multiplié par 0,61 pour obtenir une valeur de concentration de chlorure en g / L (ppt) Cl.

III.2. Les analyses chimiques

III.2.1. Le PH : C'est la concentration en ions hydrogène libres dans la solution du sol, c'est la clé pour déterminer la disponibilité des éléments nutritifs du sol, Selon Baize , il existe sept "domaines" de pH dans l'eau, chacun associé à des qualificatifs spécifiques [144] :

pH inférieur à 3.5 hyper-acide.

pH entre 3.5 et 4.2 très acide.

pH entre 4.2 et 5.0 acide.

pH entre 5.0 et 6.5 peu acide.

pH entre 6.5 et 7.5 neutres.

pH entre 7.5 et 8.7 basique.

pH supérieur à 8.7 très basique

Le pH du sol se situe généralement entre 4 et 8. Les sols neutres ont un pH proche de 7,0, les sols inférieurs à pH 5.0 sont fortement acides et ne supportent que les plantes acidophiles. Une pénurie d'un ou plusieurs oligo-éléments peut être liée au pH, car la disponibilité de la plupart des éléments est liée au pH. Ces pénuries entraînent l'apparition de symptômes dans la plante, tels que des feuilles chlorotiques, bronzées ou marbrées, une modification de l'habitude ou la mort des pointes de croissance, ou il peut n'y avoir aucun symptôme visuel.

Méthode

Pour effectuer cette mesure, on utilise la poche multiparamétrique (Palintest). La même procédure que pour la mesure de la conductivité est appliquée, mais il est nécessaire d'attendre que la lecture se stabilise avant d'enregistrer la valeur de pH.

III.2.2. Calcaire total : Pour déterminer la quantité de calcaire, une méthode consiste à le faire réagir avec des acides forts tels que l'acide chlorhydrique, entraînant ainsi la libération de dioxyde de carbone (CO₂). Le volume de CO₂ dégagé peut ensuite être mesuré en utilisant calcimètre de Bernard, qui permet de comparer la quantité de CaCO₃ impur avec celle de CaCO₃ pur sur le plan chimique.

Tableau 9: Echelle d'interprétation des carbonates [145]

Carbonates (%)	Charge en calcaire
<1 %	Sol non calcaire
1 à 5 %	Sol peu calcaire
5 à 25 %	Sol modérément calcaire
25 à 50 %	Sol fortement calcaire
50 à 80 %	Sol très fortement calcaire
>80 %	Sol excessivement calcaire

III.2.3. Le carbone organique : est déterminée en effectuant son oxydation à l'aide de bichromate de potassium en milieu acide sulfurique (Méthode Wakley et Black). Pour obtenir la teneur en matière organique totale à partir de la teneur en carbone, on utilise généralement un coefficient de conversion de 1.72, supposant que le taux de carbone de la matière organique est égal à 58% suite à la décomposition de la matière organique par l'activité biologique [146]

$$\% \text{ M.O.} = \% \text{ C.O} \times 1.724$$

Tableau 10 : Echelle de détermination de la teneur pondérale en matière organique [147]

Taux de matière en%	Taux de matière en%
<1	Très faible
1 à 2	Faible
2 à 3	Moyenne
3 à 5	Forte
>5	Très forte

III.2.4. Le phosphore : La teneur totale en phosphore présente une variation significative en fonction de la nature du matériau parental allant de 0,2 à 4 g de P₂O₅ / kg pour la plupart des sols. Parmi les méthodes de dosage du phosphore, on peut citer la méthode de fusion alcaline [148], Pour réaliser cette méthode, on commence par peser 1 g de sol et on y ajoute une quantité de charbon actif. Ensuite, on ajoute 20 ml de la solution d'extraction et on agite mécaniquement pendant 30 minutes. On filtre ensuite la solution à travers un papier Wattman jusqu'à l'obtention d'une solution claire. On prélève alors 10 ml du filtrat dans une fiole de 50 ml et on y ajoute 5

ml d'acide sulfurique. On laisse ensuite reposer la solution toute une nuit ou on l'agite pendant une heure. On ajoute ensuite 10 ml d'eau distillée et 5 ml de molybdate d'ammonium. On ajoute également 0,25 ml de la solution de chlorure stanneux et on ajuste le volume total à 50 ml. Enfin, on agite pour homogénéiser le mélange et on dose la solution obtenue au spectrophotomètre UV-Vis à une longueur d'onde de 660 nm.

Tableau 11: Répartition des classes de phosphore assimilable (P2O5) des sols étudiés du périmètre d'Issen selon les normes Delaunois (2008)[149].

Classe du sol P2O5 (ppm)	Classe du sol P2O5 (ppm)
Très faible	<15
Faible	15-30
Bien pourvu	30-45
Elevé	45-100
Très élevé	>100

III.2.5. Azote total : La méthode utilisée pour mesurer la teneur en azote des échantillons est la méthode de Kjeldhal, qui se compose de deux phases distinctes. Tout d'abord, lors de la phase de digestion, la matière organique azotée de l'échantillon est minéralisée à chaud par de l'acide sulfurique concentré. Au cours de cette étape, le carbone et l'hydrogène sont dégagés sous forme de dioxyde de carbone et d'eau. L'azote est transformé en ammoniac, qui est ensuite fixé sous forme de sulfate d'ammonium par l'acide sulfurique. Dans la deuxième phase, la phase de distillation, l'ion NH_4^+ est déplacé par de l'hydroxyde de sodium et entraîné à la vapeur d'eau. Il est ensuite fixé par de l'acide borique sous forme de borate, qui est ensuite dosé à l'aide d'acide sulfurique titré.

CHAPITRE 4 :

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

IV.1. Récolte, séchage des échantillons et Broyage)

Nous avons ramassé nos échantillons qui sont cultivés dans la serre et qui sont poussés dans les deux stations caractérisées par l'étage climatique différent, la récolte se fait dans le même période, après la floraison en 25 Aout 2018, chaque échantillon subdivise en deux parties :

- La partie aérienne comporte les feuilles, les tiges et les graines
- La partie racinaire comporte les racines

Le matériel végétal est séché pendant 2 semaines à l'abri de lumière. Ensuite, broyé au mortier, puis à l'aide d'un broyeur électronique, Ces poudres sont ensuite conservées dans des flacons en verre, en vue de procéder aux différentes manipulations.

IV.2. Extractions éthanoliques

Les extraits de plantes ont été préparés par la méthode de macération en mélangeant 10 g de poudre de plantes avec 200 ml d'éthanol à 80% (80:20, v/v) à température ambiante pendant 24 heures avec une agitation continue (130 RPM) [150]. Le mélange a ensuite été filtré à travers un papier filtre Wattman Millipore n° 1, et le filtrat a été concentré sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif (BUCHI, R215, Suisse). Les extraits ont ensuite été conservés dans de petites bouteilles à 4°C pour des analyses ultérieures.

IV.3. Détermination du rendement

Le pourcentage en extraits bruts sec éthanolique a été calculé par la formule suivante:

$$\mathbf{R (\%) = M / Mo \times 100}$$

R (%) : Rendement exprimé en%

M : Masse en gramme de l'extrait sec

Mo : Masse en gramme du matériel végétal à traiter

CHAPITRE 5 :

ETUDE PHYTOCHEMIQUE

V.1. Criblage phytochimique

Le screening phytochimique est une méthode couramment utilisée pour identifier les différents groupes de familles chimiques présentes dans les organes des plantes.

Pour identifier les constituants chimiques de la plante *M. rotundifolia*, des tests de caractérisation chimique ont été réalisés sur la poudre obtenue à partir de ses parties aériennes et racinaires, en utilisant des réactifs spécifiques. Ces tests sont basés sur l'analyse qualitative des réactions chimiques, qui peuvent conduire à la formation de complexes insolubles par des réactions de précipitation, ou de complexes colorés par des réactions de coloration.

V.1.1. Polyphénols

La caractérisation des polyphénols est basée sur une réaction au chlorure ferrique (FeCl_3). 0,5 g de l'échantillon en poudre est bouilli dans 20 ml d'eau distillée, puis filtrée à l'aide d'un papier filtre. On ajoute 5 % (p/v) de FeCl_3 aux échantillons filtrés. L'apparition d'une couleur vert brunâtre ou bleu noir indique la présence des polyphénols [151].

V.1.2. Flavonoïdes

La présence des flavonoïdes est testée en ajoutant 0,25 g de tournures de magnésium à un mélange de 2,5 ml d'extrait éthanolique et 0,5 ml d'HCL concentré. Si après 3 minutes, une couleur rose ou rouge apparaît, cela indique la présence de flavonoïdes[152].

V.1.3. Anthocyanines

Pour détecter la présence d'anthocyanes, nous avons ajouté 2 ml d'un extrait aqueux à 2 ml d'HCl concentré, suivi de 1 ml de NH_4OH 25%. Lorsque la solution acide ($\text{pH} < 3$) a été colorée en rouge, nous avons observé que la couleur variait en fonction du pH pour devenir bleu violacé en milieu basique. Cette variation de couleur nous permet de conclure à la présence d'anthocyanes dans l'extrait[153].

V.1.4. Tannins

Une fraction de 0,5 g de l'extrait a été dissoute dans 5 ml d'eau, suivie de quelques gouttes de chlorure ferrique à 10% [154]. Une couleur bleu-vert révèle la présence de tanins catéchiques., De même, une teinte bleu-noire signe l'abondance de tanins galliques.

V.1.5. Quinones et Anthraquinones

➤ Quinones

Dans ce test on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré (1ml) à 1ml d'extrait de plantes. Une couleur rouge indique la présence de quinones[155].

➤ Anthraquinones

Quelques gouttes de HCl 2% ont été ajoutées à 0,5 ml d'extrait éthanolique. La formation d'un précipité de couleur rouge est un indicateur de la présence d'anthraquinones [155].

V.1.6. Composés réducteurs

La détection implique le mélange de 1 ml d'extrait éthanolique avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de liqueur Fehling, suivi d'une chauffe. Un précipité rouge brique indique un test positif[153].

V.1.7. Alcaloïdes

Sont des molécules organiques naturels qui peuvent être caractérisés par l'utilisation de réactifs de Mayer ou de Wagner. Pour préparer un extrait sulfurique à partir de 5 g de poudre, nous avons ajouté 25 ml de H₂SO₄ à 10 %, puis agité la solution et laissé en macération pendant 24 heures à température ambiante. Ensuite, nous avons filtré le macérât sur papier filtre et lavé à l'eau distillée pour obtenir un volume final de 25 ml. Pour détecter la présence d'alcaloïdes, nous avons utilisé 1 ml de ce filtrat et l'avons réparti dans 2 tubes à essai. Par la suite, Le premier tube a reçu cinq gouttes du réactif de Wagner et le deuxième tube a reçu cinq gouttes du réactif de Mayer. L'apparition de précipités brun et blanc respectivement indiquait la présence d'alcaloïdes[156].

V.1.8. Stérol et Terpènes

La recherche des stérols et des terpènes a été effectuée en utilisant la réaction de Liebermann. Pour cela, cinq millilitres d'extrait ont été évaporés, puis un échantillon du résidu a été dissous à chaud dans un millilitre d'anhydride acétique. Ensuite, 0,5 millilitre d'acide sulfurique concentré a été ajouté au mélange. L'apparition d'un anneau pourpre ou violet à l'interface, qui se transforme ensuite en bleu puis en vert, indique une réaction positive[157].

V.1.9. Mucilage

Pour détecter la présence de mucilage dans un décocté (10%), on introduit 1 ml de l'échantillon dans un tube à essai, puis on ajoute 5 ml d'éthanol absolu. Après agitation, le mélange a été reposé pendant dix minutes. La présence de mucilage a été identifié par la présence d'un précipité floconneux[158].

V.1.10. Protéines

La détection des protéines dans un extrait peut être réalisée en utilisant une solution aqueuse de Ninhydrine. Pour cela, on a pris 1 ml d'extrait et on ajoute 2 à 5 gouttes de la solution

de Ninhydrine. Ensuite, le mélange a été maintenu dans un bain d'eau bouillante pendant 1 à 2 minutes. Une couleur violette signifie la présence de protéines.

V.1.11. Saponines

La détermination des saponines repose sur leur propriété à former de la mousse[53]. Pour détecter leur présence, on ajoute 2 ml de l'extrait aqueux à 1 ml d'eau distillée, puis on agite fortement la solution pendant une minute. On laisse ensuite le mélange reposer pendant 2 minutes avant d'évaluer la teneur en saponosides. Les résultats du test sont interprétés comme suit :

Aucune mousse : test négatif (-)

Mousse d'une épaisseur de 1 cm : test faiblement positif (+)

Mousse d'une épaisseur entre 1 et 2 cm : test positif (++)

Mousse d'une épaisseur supérieure à 2 cm : test fortement positif (+++)

V.2. Dosage phytochimique des extraits

La quantification des extraits de plantes permet d'obtenir une estimation de la concentration des phénols totaux (PTC), des flavonoïdes (FTC), des flavones et flavonols (FLoC) dans les extraits. La teneur en TPC a été déterminée au moyen du réactif de Folin-Ciocalteu [20], les FTC ont été quantifiés à l'aide d'une méthode colorimétrique basé sur la formation d'un complexe aluminium-flavonoïdes [20]. La détermination des teneurs en FLoC a été effectuée par la méthode au chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) décrite par **Kosalec et al**[159].

V.2.1. Dosage des phénols totaux (PTC)

Le Folin-Ciocalteu, qui oxyde les composés phénolique est utilisé pour mesurer la quantité totale de phénols, cette réaction entraîne un complexe bleu de molybdène-tungstène, qui peut être mesuré à une longueur d'onde de 765 nm. En fait, 200 μ l d'extrait de plantes (1,0 mg/ml) ou l'acide gallique (10-100 μ g/ml), ensuite ont été ajoutés 1,0 ml de Folin-Ciocalteu (1:10) pendant 4 min à température ambiante, suivi de l'ajout de 800 μ l de solution aqueuse de Na_2CO_3 (7,5 %, p/v). Le mélange a été placé dans l'obscurité et incubé pendant de 2 heures., puis l'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 765 nm. Les résultats ont été présentés en μ g d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (μ g EAG/g Ex), calculés en utilisant une courbe d'étalonnage avec l'équation $y = 0,0086x - 0,0249$ et un coefficient de détermination (R^2) de 0,99.

V.2.2. Dosage des flavonoïdes (FTC)

La méthode de quantification des FTCs repose sur la réaction de ces composés avec l'ion aluminium-trichlorure, qui forme un complexe jaune à orangé. Pour réaliser cette méthode, un volume de 1,0 ml d'extrait (1,0 mg/ml) ou de rutine (2,5-77,5 µg/ml) est mélangé avec 1,0 ml de solution méthanolique d'AlCl₃ (2,0 %, p/v). Après avoir été incubé à température ambiante pendant 15 minutes, la couleur du complexe formé est mesurée en absorbance à 430 nm. Le FTC est calculé à l'aide d'une courbe d'étalonnage ($y = 0,0118x + 0,0009$, $R^2 = 0,99$) (Annexe2.2), et Les résultats sont présentés en termes de ug d'équivalent de rutine par gramme d'extrait (ug RE/g d'extrait).

V.2.3. Dosage des flavones et flavonols (FLoC)

Cette méthode repose sur la réaction des composés (FLoC) avec l'ion aluminium-trichlorure, qui forme un complexe coloré(jaune). Les quantités de flavones et flavonols dans les extraits éthanoliques ont été déterminées en dissolvant l'extrait (1,0 mg/ml) ou la solution standard (1-100 µg/ml) dans 1,5 ml d'éthanol à 95% (v/v). Ensuite, 100 µL d'AlCl₃ (10%, p/v), 100 µL d'acétate de potassium (1M) et 2,8 ml d'eau ont été ajoutés à la solution. Le mélange a été incubé pendant 30 min à température ambiante dans l'obscurité, puis l'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 415 nm. La valeur de la Floc a été déterminée en utilisant l'équation de régression linéaire de la courbe standard de quercétine ($y = 0,0058x + 0,0018$, $R^2 = 0,99$) (annexe2.3) et elle est estimé en équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (µg QE/mg d'extrait).

V.3. Identification des composés phénoliques individuels à l'aide de LC-ESI-MS

L'identification des composés phénoliques dans un extrait peut être effectuée par plusieurs méthodes, notamment la LC-MS. Cette technique a été développée il y a environ 20 ans grâce à l'avènement de nouvelles techniques d'ionisation en spectrométrie de masse, telles que l'ESI et l'APCI. La LC-MS offre une détection plus sensible et ne nécessite pas de techniques de dérivation pour la préparation des échantillons, ce qui la rend plus rapide et plus simple à mettre en œuvre. En utilisant la spectrométrie de masse en tandem, on peut améliorer la richesse d'informations et la spécificité de la technique. La méthode d'ionisation ESI est souvent utilisée en LC-MS. Elle consiste à conduire l'échantillon à travers une aiguille ESI et à appliquer un champ électrique pour accumuler des charges dans l'échantillon liquide. L'aiguille pulvérise ensuite l'échantillon en fines gouttelettes chargées électriquement, qui perdent leur solvant sous l'effet d'un gaz sec. Les gouttelettes explosent en gouttelettes plus petites contenant

un unique ion, qui est éjecté dans la phase gazeuse. Le système ESI permet la production d'ions pseudo-moléculaires à faible tension d'orifice, ce qui est une information importante pour l'identification de molécules (fig.16).[160].

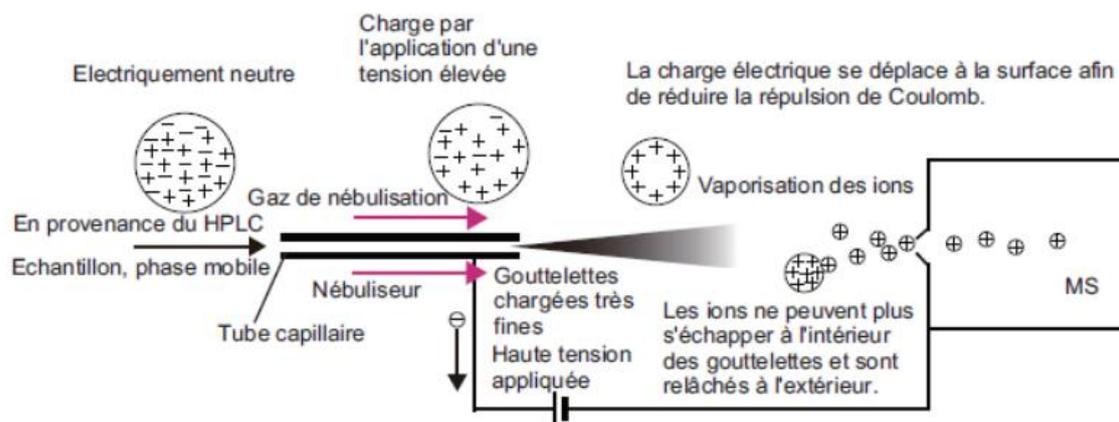


Figure16: Principe de la méthode 'ESI'

➤ Dispositif et condition chromatographique

L'identification individuelle des composés phénoliques des échantillons *de M. rotundifolia* a été déterminée à l'aide d'un spectromètre de masse LCMS-2020 (Shimadzu, Kyoto, Japon) équipé d'une source d'ionisation électro spray (ESI), d'un système de pompe binaire LC-20AD XR, d'un échantillonneur automatique SIL-20AC XR, d'un four à colonne CTO-20AC et d'un dégazeur DGU-20AS (Shimadzu, Kyoto, Japon). Les enregistrements des spectres ont été réalisés en utilisant le mode ion négatif, puis ils ont été contrôlés et traités à l'aide du logiciel LC-MS. Une colonne Aquasil C18 (150 mm, 3 mm, 3 μ m), maintenue à une température de 40 °C, a été utilisée pour la séparation des composés phénoliques, avec une colonne de garde Aquasil C18 (10 mm, 3 mm, 3 μ m). La phase mobile était composée d'acide formique (solvant A) (0,1% dans H₂O, v/v) et d'acide formique solvant B (0,1% dans le méthanol, v/v). Le programme de cet instrument a suivi avec 10-100% B pendant 0-45 min, 100% B pendant 45-55 min avec un débit de 0.4 ml/min et 5 μ l de chaque échantillon ont été injectés. L'azote de haute pureté a servi de nébuliseur et de gaz auxiliaire. La tension du spray ionique était réglée à -3,5 V en mode négatif. Les paramètres suivants ont été configurés : le débit de gaz du nébuliseur a été réglé à 1,5 L/min, le débit de gaz sec à 12 L/min, la température de la ligne de dissolution à 250°C, la température du bloc source à 400°C, et un détecteur de tension de 1,2 V a été utilisé.

Protocole de préparation d'extraits

1mg de l'extrait sec est pesée dans un tube Eppendorf de 2 ml auquel on ajoute un volume 1mL de solvant de solubilisation (méthanol brute). Ce mélange est agité fortement au Vortex trois fois pendant 1 minute, après filtration (0,2µm). 10 µl d'extrait est injecté directement en HPLC.

Dans le but d'identifier et de quantifier les phénols présents dans les extraits, une analyse comparative a été réalisée incluant le temps de rétention et les données spectrales UV-Vis à une série de 27 standards préalablement injectés en parallèle avec les extraits(annexe7).

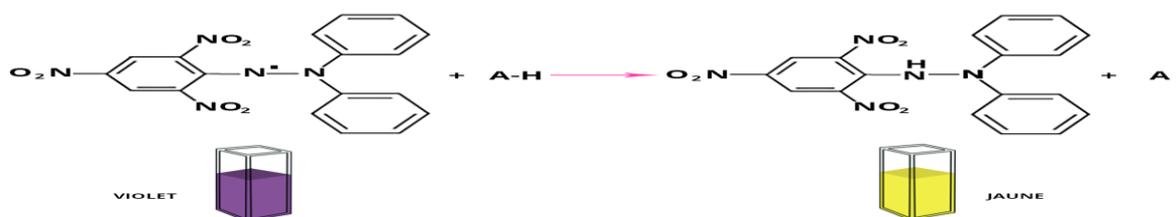
V. 4. Evaluation de la bioactivité des extraits des plantes

V.4.1. Analyse du pouvoir antioxydant et des propriétés antiradicalaires

L'activité antioxydante (AA) des extraits a été estimée en utilisant diverses méthodes chaque méthode est basée sur un mécanisme antioxydant différent. Un mécanisme mixte comprenant un transfert d'électrons et d'hydrogène est impliqué dans les tests de DPPH et ABTS, tandis qu'un transfert unique d'hydrogène est considéré comme le principal mécanisme impliqué dans le test β-carotène et un transfert unique d'électron est généralement impliqué dans la réduction des ions métalliques[161]. Les solutions des extraits des échantillons sont préparées par dissolution 0.5 mg ou 4mg d'extrait dans 1mLde MeOH.

V.4.1.1. Mesure de l'effet inhibiteur sur le radical diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

On a procédé à l'évaluation de l'activité de capture du radical DPPH• selon la méthode décrites par Benguedouar et al[162].



➤ Méthode d'étude

Pour préparer la solution de DPPH, un volume de 4 mg/ml a été dissous dans du méthanol (absorbance = $0,7 \pm 0,02$). Par la suite, 160 µL de cette solution ont été mélangés avec 40 µL de différentes concentrations de chaque échantillon. Après une incubation de 30 minutes dans l'obscurité à température ambiante, on a mesuré l'absorbance à 517 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits. Chaque test a été répété trois fois et les résultats ont été présentés en moyenne.

Une diminution de l'absorbance dans le mélange indique une activité de capture plus élevée des radicaux libres. La concentration qui provoque une inhibition de 50% (IC50) peut être

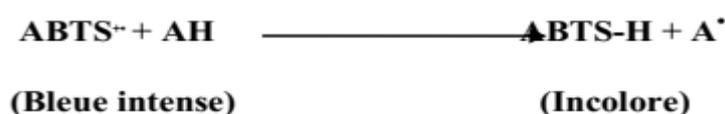
déterminée en examinant la relation entre la concentration des extraits et leur activité antiradicalaire. La puissance de l'extrait vis-à-vis des radicaux libres augmente avec la faible valeur de CI50.

Le calcul de la capacité de capture du radical DPPH a été effectué en utilisant l'équation suivante:

$$(\%) \text{ d'Inhibition} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

V.4.1.2. Mesure de l'effet inhibiteur sur le radical ABTS

Cette méthode est utilisée pour évaluer comment une molécule est capable de neutraliser le radical ABTS^{•+} en la comparant à une molécule de référence [163].



➤ Méthode

Le piégeage d'ABTS a été mesurée par le protocole décrit par **Boussadia et al.**[161], en prépare la solution d'ABTS par le mélange de 7 d'ABTS avec 2,45 mM de dans l'obscurité à température ambiante pendant 16h. La solution ABTS^{•+} a été diluée de manière à obtenir une absorbance de 0,700 ± 0,020. En suite 40 µl de différentes concentrations (12,5-800 µg/ml) de la solution testée (échantillon ou standard) ont été ajoutés à 160 µl de solution ABTS^{•+} et après 10 min, l'absorbance a été enregistré à 734 nm.

Les taux d'inhibition ont été calculés graphiquement par les régressions linéaires, et les résultats ont été rapportés en tant que la concentration inhibitrice de 50 % (IC50) en µg/ml, en utilisant l'équation suivante :

$$(\%) \text{ d'Inhibition} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

Le contrôle positif est représenté par la solution d'antioxydant standard (BHT), dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons.

V.4.1.3. Test d'inhibition du blanchiment du β-carotène

On a évalué l'AA en utilisant la méthode du β-carotène/acide linoléique, en mesurant l'inhibition du blanchiment du β-carotène causé par les peroxydes produits lors de l'oxydation

de l'acide linoléique[164]. La capacité des échantillons à inhiber les radicaux peroxydes a été évalué en utilisant la méthode décrite par Bensouici et al.[165].

Méthode

La solution β -carotène/acide linoléique avec du tween 80 comme agent émulsifiant a été préparée. Du peroxyde d'hydrogène a été ajouté à l'émulsion pour initier le processus d'oxydation(annexe1.2), l'absorbance du mélange d'émulsion a été ajustée entre 0.8-0,9, Ensuite, 160 μ l de l'émulsion sont mélangés immédiatement avec 40 μ l d'extrait. La lecture de l'échantillon est effectuée immédiatement à une longueur d'onde de 470 nm (T0). Après avoir incubé la solution dans l'obscurité à 45°C pendant 120 minutes, une deuxième lecture est effectuée à la même longueur d'onde (T120).

Les résultats ont été exprimés en concentration inhibitrice de 50% (IC50) en μ g/ml et comparés à celle du BHT. Les taux de suppression du blanchiment du β -carotène ont été calculés par la formule suivant:

$$AA(\%) = \left[1 - \frac{AH_0 - AH_t}{AC_0 - AC_t} \right] \times 100$$

Dont :

- AA (%) : Taux d'activité antioxydante ;
- AH0 : L'absorbance initiale en présence de l'extrait à l'instant t = 0
- AC0 : L'absorbance initiale du β -carotène en présence en présence du contrôle négatif à t = 0 ;
- AHt : l'absorbance en présence de l'extrait à t = 120 min ;
- ACt : l'absorbance en présence du contrôle négatif à t = 120 min.

V.4.1.4. Test de réduction du cuivre (Copper Reducing Antioxidant Capacity) pour évaluer la la réduction du cuivre.

La capacité antioxydante réductrice des ions cuivriques, également connue sous le nom de méthode CUPRAC, repose sur la mesure de la réduction de l'absorbance du complexe néocuproïne (Nc) et du cuivre (Cu²⁺) [Nc²⁻ - Cu²⁺]. Lorsqu'il y a un agent antioxydant, le complexe cuivre-néocuproïne est réduit. Ce complexe est ensuite quantifié à l'aide d'un lecteur de microplaques à une longueur d'onde de 450 nm.



➤ Méthode d'étude

Le test de réduction des ions Cu^{2+} (CUPRAC) a été évalué selon la méthode décrite par **Apak et al.**[166]. Une solution de mélange de 50 μL de CuCl_2 (10 mM), 60 μl de tampon acétate d'ammonium (1 M, PH 7,0) et 50 μl de Néocupronine (7,5 mM)(annexe 1.2), suivie de l'ajout de 40 μl d'extrait ou BHA (200-3. 12 $\mu\text{g/L}$), Les mesures d'absorbance ont été prises à une longueur d'onde de 450 nm après une période d'incubation de 60 minutes. Les résultats ont été exprimés en valeurs $A_{0,5}$ ($\mu\text{g/ml}$), qui indiquent la concentration à laquelle l'absorbance atteint 0,50.

V.4.1.5. Test de réduction le fer (Ferric Reducing Antioxidant Power)

La présence d'agents réducteurs dans les extraits végétaux réduit le complexe Fe^{3+} /ferricyanure à la forme de fer (Fe^{2+})[167]

➤ Méthode

L'estimation du pouvoir réducteur du fer a été réalisée en utilisant la méthode décrite par Benguedouar et al.[213].

De ce fait, Un volume de 10 μl d'un échantillon ou de standard (acide ascorbique) à différentes concentrations (200_3,12 $\mu\text{g/L}$) a été mélangé avec 40 μl de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 50 μl de ferricyanure de potassium (1 %, p/v), le mélange a été incubé à 50 °C pendant 20 min. La solution a été ajoutée à 50 μl de solution d'acide trichloracétique (10 %, p/v) et 40 μl d'eau distillée, puis 10 μl de solution de chlorure ferrique (0,1 %, p/v), ensuite Les mesures d'absorbance ont été prises à 700 nm et les résultats ont été rapportés en termes de valeurs $A_{0,5}$ ($\mu\text{g/ml}$), représentant la concentration à laquelle l'absorbance atteint 0,50.

V.4.1.6. Méthode de la réduction du fer dans le complexe phénanthroline- Fe^{3+} (Essais de Phénanthroline)

La réduction du fer dans le complexe phénanthroline- Fe^{3+} a été examinée à l'aide d'un processus rapporté par Szydłowska-Czerniak et al[168].

➤ Méthode

L'incubation d'un mélange de composé de 10 μl d'extrait, 50 μl de FeCl_3 à 0,2%, 30 μl de phénanthroline à 0,5% (voir annexe 1.2) et 110 μl de méthanol à l'obscurité à 30 °C pendant 20 min. La lecture est réalisée à 510 nm. L'acide ascorbique est utilisé comme standard.

V.4.1.7. Test des nanoparticules d'argent (Silver nanoparticules assay NSP)

L'activité de chélation des métaux (NSP) a été utilisée pour évaluer la conversion des ions argent (Ag^+) en nanoparticules d'argent sphériques Ag_0 comme décrit par Mustafa Özyürek,[169]

Procédure

L'évaluation de l'activité antioxydante vis-à-vis des nanoparticules d'argent a été effectuée.

Pour réaliser cette méthode, un volume de 50 ml d' AgNO_3 (1,0 mM) est chauffé pendant 10 minutes, puis 5 ml de citrate trisodique (1%) sont ajoutés goutte à goutte jusqu'à ce que la couleur se transforme en jaune pâle (voir annexe 1.2). Ensuite, la solution est laissée à température ambiante pour se refroidir. Ensuite, 20 μl d'extrait végétal ou d'un étalon (acide ascorbique) sont mélangés avec 130 μl de la solution de nanoparticules d'argent (SNP) et 50 μl d'eau. Après une période d'incubation de 30 minutes à une température de 25 °C, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 423 nm.

V.4.2. Activité inhibitrice des enzymes

V.4.2.1. Activité d'inhibition de l'acétylcholinestérase

➤ Méthode

En résumé, pour cette étape, 150 μL de tampon de phosphate de sodium (100 mM, pH 8,0), 10 μL d'extrait végétal ou de solution standard à différentes concentrations (3,125-200 $\mu\text{g/L}$) et 20 μL de solution d'acétylcholinestérase ont été mélangés et incubés pendant 15 minutes à 25 °C. La réaction a été initiée en ajoutant 10 μL de DTNB (0,5 mM) et 10 μL de substrat d'iodure d'acétylthiocholine (0,71 mM). Le mélange a été soumis à deux lectures d'absorbance, une à $t = 0$ min et une autre après une incubation de 20 minutes, à une longueur d'onde de 412 nm. Le taux d'inhibition I (%) a été mesuré en utilisant la formule suivante :

$$\text{AChE inhibition (\%)} = [(\text{Absorbance du Contrôle} - \text{Absorbance d'Extrait}) / \text{Absorbance du contrôle}] \times 100$$

V.4.2.2. Activité d'inhibition de l' α -Glucosidase

L'enzyme α -glucosidase est cruciale dans le processus de dégradation des hydrates de carbone alimentaires, et est l'une des principales cibles thérapeutiques pour le traitement du diabète de type 2.

➤ Méthode

La technique d'évaluation de l'inhibition de l' α -glucosidase a été réalisée selon la méthode de Asghari et al.[170] en utilisant le p-Nitrophénol- α -D-Galactopyranoside (pNPG) comme substrat. Brièvement, 50 μl d'extrait ou d'acarbose utilisé comme standard positif ont été

mélangés avec 100 µl de la solution d'α-glucosidase (0,1 U/ml) dilué dans un tampon phosphate (0,1 M, pH 6,9) suivi d'une incubation à 37 °C pendant 15 minutes. Ensuite, 50 µl de p-Nitrophénol-α-dGalactopyranoside (pNPG) ont été ajoutés pour démarrer la réaction (annexe 1.3). Pour créer un échantillon de contrôle, les réactifs de réaction ont été ajoutés à un extrait dépourvu d'enzyme (pNPG). La quantité de p-nitrophénol (pNP) résultant de l'action de l'enzyme a été quantifiée en mesurant l'absorbance à 405 nm. Les inhibitions rapportées ont été calculées en utilisant l'équation suivante :

$$(\text{A Contrôle} - \text{Echantillon} / \text{A Contrôle}) \times 100$$

V.5. Traitement statistique des données

Les données numériques obtenues à partir de tous les paramètres étudiés pour l'étude climatique et l'étude de l'effet des phytohormones ont été analysées en premier lieu à l'aide d'une méthode d'analyse de variance, a permis le calcul des moyennes et des écarts types, Cela a simplifié la comparaison des valeurs entre les différents groupes caractéristiques.

Différents tests ont été réalisés dans cette étude :

- L'analyse d'ANOVA à un facteur est une approche statistique largement employée pour évaluer les différences de moyennes entre plusieurs populations à partir de données recueillies à partir d'échantillons aléatoires, simples et indépendants [171]. Généralement pour la comparaison des moyennes des différents groupes entre elles on applique le test de Tukey (post hoc).
- L'analyse d'ANOVA à deux facteurs (ANOVA) pour des groupes indépendants est utilisée pour tester si les moyennes de groupe pour une variable dépendante spécifique diffèrent de manière significative suite à l'exposition de chaque groupe à une combinaison unique de niveaux simples de chacun des deux facteurs ou variables indépendantes.

Dans le cadre de notre étude, nous avons appliqué deux types d'ANOVA ;

- Afin de comparer les concentrations de polyphénols et les activités biologiques entre les parties aériennes et les racines des plantes provenant de deux régions différentes, nous avons appliqué une analyse de variance à un seul facteur (ANOVA).
- Pour étudier les effets des traitements aux phytohormones, nous avons suivi d'un plan factoriel aléatoire. L'effet de l'IAA et du BAP sur les variables biochimiques des deux parties de la plante a été mesuré en triplicata pour chaque traitement et les données ont été analysées à l'aide d'une analyse de variance à deux facteurs, deux niveaux pour le facteur organe (parties aériennes et racines) et neuf niveaux pour le facteur traitement (T0 : témoin (plante non traitée), T1 : 10 mg/l IAA, T2 : 20 mg/l IAA, T3 : 10 mg/l BAP, T4 : 20 mg/l BAP, T5 : 10 mg/L AIA 10 mg/L

BAP, T6 : 10 mg/L AIA20 mg/L BAP, T7 : 20 mg/L AIA10 mg/L BAP, T8 : 20 mg/L AIA20 mg/L BAP).

- Pour l'application du test ANOVA, il faut confirmer la normalité à l'aide d'un graphique quantile (QQ-plot) et l'homogénéité des variances en utilisant le test de Levene
- Les groupes homogènes, basés sur la différence significative par le test de Tukey au niveau de 5 %, les données ont été analysés à l'aide de SPSS24.
- Les concentrations d'inhibition à 50 % et les concentrations indiquant 0,50 d'absorbance sont déterminées en utilisant la méthode de régression linéaire à partir de deux courbes distinctes. Une courbe est construite pour établir la relation entre le pourcentage d'inhibition et les concentrations pour calculer la CI50, tandis qu'une autre courbe est utilisée pour établir la relation entre le pourcentage d'inhibition et l'absorbance afin de déterminer la A0.50. Les calculs mentionnés sont réalisés par le logiciel Prism 8 de GraphPad..
- Le test de corrélation de Pearson : Il est également appelé coefficient de Bravais-Pearson, est utilisé pour étudier la relation entre les concentrations des polyphénols et les capacités biologiques de différents échantillons. La relation entre les deux variables est évaluée par ce coefficient, qui oscille entre -1 et +1. Lorsque le coefficient de corrélation est proche de zéro, cela indique que les variables n'ont pas une forte corrélation linéaire. Cependant, plus la liaison linéaire entre les variables est prononcée, plus la corrélation tend vers -1 ou vers +1, Pour réaliser ce test en utilisant le programme SPSS24.
 - Analyse en Composantes Principales (ACP)

C'est une analyse de données multivariées largement utilisée en statistique. Elle permet de visualiser et d'étudier les relations entre les variables, d'obtenir des facteurs non corrélés qui peuvent être utilisés dans des méthodes de modélisation et de représenter les observations dans un espace à deux ou trois dimensions afin de détecter des regroupements homogènes d'observations. L'ACP vise à réduire la dimensionnalité des données en projetant les observations initiales d'un espace de variables à p dimensions vers un espace à k dimensions, tout en conservant un maximum d'informations pertinentes.

Pour le présent travail, Une analyse d'ACP a été utilisé en vue de sélectionner les associations entre les différentes concentrations appliquées des phytohormones (IAA et BAP) et les plantes provenant de deux régions, l'accumulation de polyphénols totaux et individuels ainsi que les effets biologiques dans les deux parties de *M. rotundifolia* L. en utilisant Excel stat 2016.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

CHAPITRE 1 :

EFFET DES VARIATIONS DES

FACTEURS CLIMATIQUES SUR LES

PARAMÈTRES BIOCHIMIQUES

I.1.Climat, altitude, température moyenne, précipitations et caractéristiques du sol dans les deux régions de croissances de *mentha rotundifolia* L.

Le Tableau 12 clarifie les caractéristiques géographiques, climatiques et édaphiques des deux localités (Jijel et Mila) où les plantes étudiées ont été prélevées. En ce qui concerne le climat, la plante prélevée à une altitude de 317 mètres à Jijel se trouve dans une région à climat humide, tandis que celle prélevée à Mila, à une altitude de 835 mètres, se situe dans une région à climat subhumide. Les données physico-chimiques du sol révèlent que le sol de la région de Mila est plus alcalin que celui de la région de Jijel, avec des valeurs respectives de pH de 8,31 et 7,53. Les conductivités électriques mesurées (<2000 µS/ cm) indiquent que les sols des deux régions étudiées ne sont pas salins. les sols des deux localités sont très riches en matière organique, avec des concentrations respectives allant de (4,47±0,84) à (6,40±0,73) pourcent. Pour ce qui est des éléments minéraux, les deux régions sont caractérisées par des concentrations élevées en azote, avec des valeurs de 1,06±0,01 % à 1,18±0,007mg N/100g respectivement, ainsi qu'en phosphore, avec des concentrations de 2,67±0,28 ppm à 1,41±0,01 ppm. Le taux de calcaire total varie entre 48.74±0.08%et 32.62±2.75 %, respectivement.

Tableau 12 : Caractéristiques géographiques et pédologiques des deux sites de collecte

		Jijel	Mila
Caracteristiques Géographiques	Latitude	36°70	36°40
	Longitude	5°89	5°94
	Altitude	317 m	835 m
	Temperature(°C)	18.75	16.87
	Precipitation(mm/anné)	1171.13	777.64
	Indice de Martonne	40.66	28.09
	Climat	Humide	Subhumid
Caracteristiques du Sol	pH	7.53	8.31
	Conductivité (µS/cm)	322	163
	Matière Organique MO (%)	4.47±0.84	6.40±0.73
	Carbon (%)	2.6±0.84	3.72±0.73
	Phosphore(ppm)	2.67±0.28	1.41±0.01
	Azote mg N/100g	1.06±0.01	1.18±0.007
	CaCo3 (%)	48.74±0.08	32.62±2.75

Selon Botanica, 2022 (fig.17), l'espèce *M. rotundifolia* se développe préférentiellement dans des environnements où la matière organique est plus abondante, à pH basique (alcalin) et non salin. Par conséquent, il est probable que les deux régions soit plus propice à la croissance de cette plante.

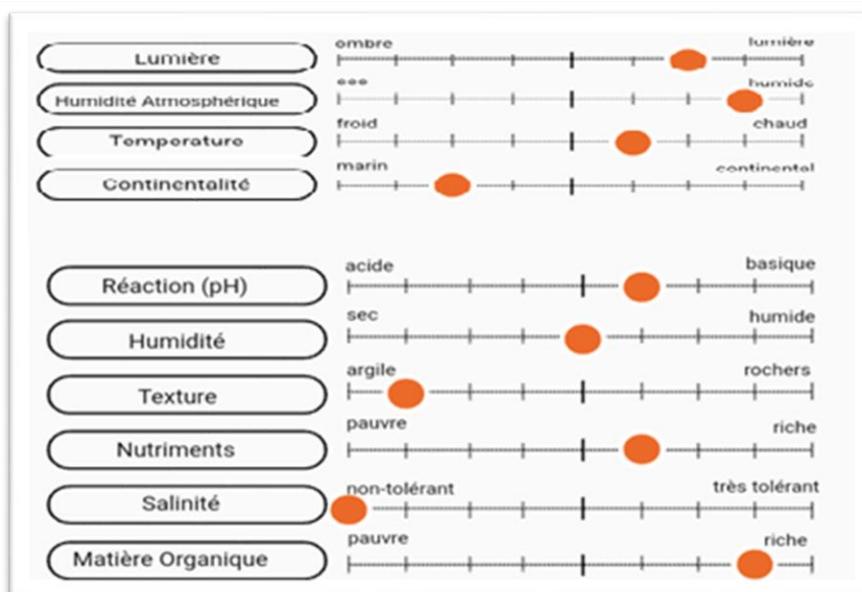


Figure 17 : Caractéristiques climatique et édaphique de l'espèce du *Mentha rotundifolia* L.
(Tela botanica., 2022)

I.2. Influence de la variation du climat sur les paramètres biochimiques

I.2.1. Test phytochimique

Les résultats du criblage phytochimique préliminaire de *M. Rotundifolia* ont indiqué l'existence de polyphénols, de flavonoïdes, de tanins et de terpènes qui étaient essentiellement concentrés dans la partie aérienne. Cependant, les autres groupes chimiques n'ont pas été détectés dans la plante (**Tab.13**).

Le criblage phytochimique a indiqué la même composition chimique avec une légère variation dans l'intensité de la réaction, ce qui permet de conclure que la différence dans les caractères climatique de deux régions n'a pas affecté la composition chimique.

Tableau 13 : Criblage phytochimique des parties aérienne et racinaires de *M. Rotundifolia*

	Jijel		Mila	
	Organe		Organe	
	Aérienne	Racine	Aérienne	Racine
Polyphenols	+++	+	+++	+++
Flavonoids	++	+	++	+
Anthocyanins	-	-	-	-
Tannins	+	+	+	+
Quinones	-	-	-	-
Anthraquinones	-	-	-	-
Composés réducteur	-	-	-	-
Alcaloides	-	-	-	-
Terpènes	++	+	++	+
Steroids	-	-	-	-
Mucilage	-	-	-	-
Protéines	-	-	-	-
Saponines	-	-	-	-

ND : non détecté. (+++) : Très abondant, (++) : Abondant, (+) : Faible, (-) : Absent

I.2.2. Rendement et Teneur en Polyphénols totaux des extraits des parties aériennes et racinaires

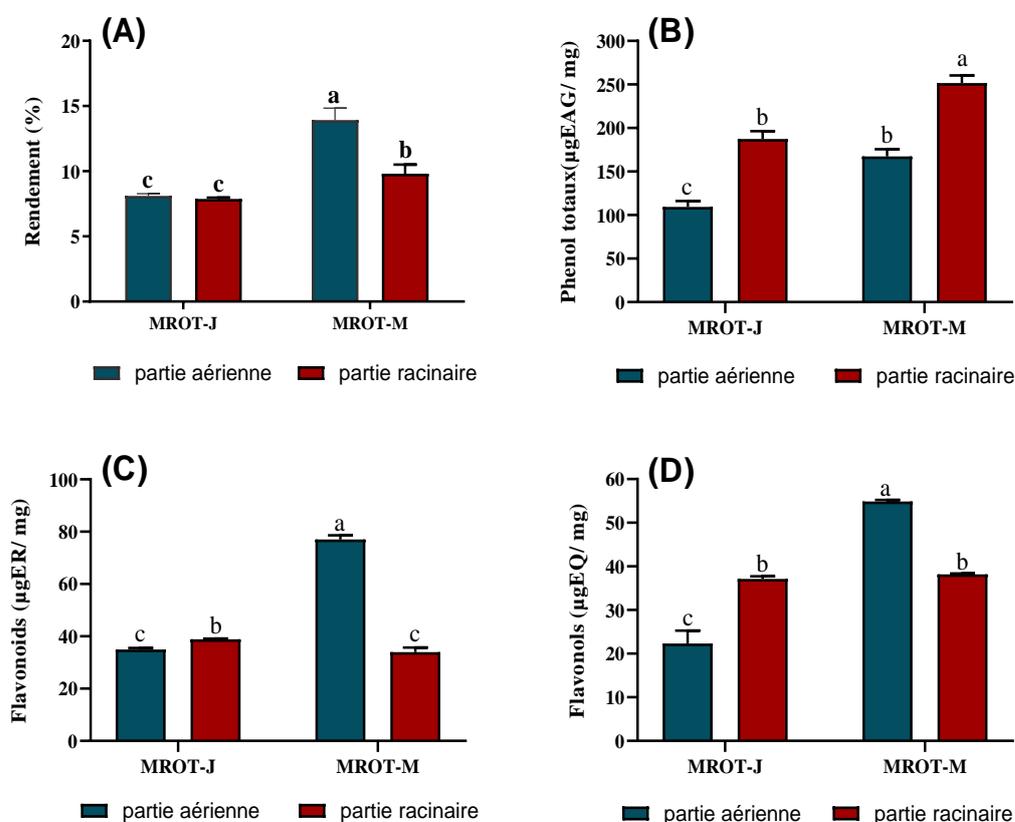
Les résultats ont révélé d'importantes variations de rendement(R) et la concentration de différents groupes des polyphénols d'un site à l'autre et sont présentés dans la Figure18 (annexe 3).

Comme on l'a noté, les rendements d'extraction variaient considérablement en fonction de l'organe et de l'origine de la plante. Alors qu'un excès remarquable dans le rendement d'extrait de *M. rotundifolia* provenant de Mila. Selon l'organe de la plante, la partie aérienne avait des rendements supérieurs en comparaison aux racines quelle que soit l'origine de la plante (Fig. 18A). Ainsi, le site du Mila (subhumide) présente des rendements importants ($14,2 \pm 0,45$ %) pour l'extrait de la partie aérienne et de $9,8 \pm 0,57$ % pour l'extrait des racines de la même plante.

Le site de Jijel (humide) présente à son tour moins de rendement ($8,1 \pm 0,14$ % et $7,87 \pm 0,09$ %) Pour les deux parties, respectivement). Selon les résultats enregistrés, il est observé que l'extrait éthanolique des parties aériennes de la plante présente des rendements supérieurs à ceux rapportés dans les travaux de Brahmi et al. en 2015 et 2017[40] [150], qui étaient respectivement de 4,6 % et 6 %. Néanmoins, Il est complexe de comparer les rendements obtenus avec ceux de la littérature, étant donné que ces derniers sont relatifs et peuvent varier

selon les caractéristiques inhérentes des plantes, leur lieu d'origine, les facteurs environnementaux, la durée de conservation, la saison de récolte et les techniques d'extraction utilisées, telles que le ratio poids de la plante/volume du solvant et les paramètres opérationnels de l'extraction[153].

De même, les concentrations des polyphénols dépendent fortement de la localité où la plante a été récoltée. Les organes aériennes de la plante prélevé à Mila avait la meilleure teneur en TPC ($167.49 \pm 6.84 \mu\text{g EAG/mg}$), TFC ($77.026 \pm 1.61 \mu\text{g ER/mg}$ d'extrait) et FLoC ($54,85 \pm 0,35 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait) par rapport à celles de Jijel ($109.27 \pm 6.84 \mu\text{g EAG/mg}$, $34.98 \pm 0.51 \mu\text{g RE/mg}$, $22.31 \pm 2.96 \mu\text{g EQ/mg}$ extrait respectivement) tandis que l'extrait des racines de *M. rotundifolia* de la région de Mila a donné la valeur le plus élevée de phénol totaux (TPC= $241.52 \pm 2.83 \text{ mg EAG/mg}$ par rapport à celle obtenu de la région de Jijel (TPC= $187.89 \pm 8.92 \text{ mg EAG/mg}$) (Fig. 18B). En revanche, les racines de la plante de Jijel sont plus riches en flavonoïdes ($38.90 \pm 0.23 \mu\text{g ER/mg}$ d'extrait) que celles de la plante de la région de Mila ($33.95 \pm 1.73 \mu\text{g ER/mg}$ d'extrait, respectivement) (Fig.18C). Concernant les FTC, les parties racinaires des plantes de deux régions possèdent presque la même teneur ($37.19 \pm 0,45$ et $38.19 \pm 0.15 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait respectivement) (Fig.18D).



MROT-J: plante provenant de la région de Jijel, MROT-M : plante provenant de la région de Mila

Figure 18: Rendement (A), phénols totaux (B), flavonoïdes (C) et flavonols totaux (D) de l'extrait de *M. rotundifolia* provenant de deux régions

Les données ont été présentées en utilisant la moyenne accompagnée de l'écart type. Pour l'analyse statistique, une analyse de variance à un facteur a été employée, suivie d'un test post-hoc de Tukey.

La variation significative de la teneur en phénols totaux, les flavonoïdes, les flavones et les flavonols, a été observée en fonction de la provenance et de l'organe de la plante. Les différents paramètres de la région, tels que le sol et les caractéristiques géographiques (principalement l'altitude et le climat), peuvent affecter les variations des polyphénols [172].

Plusieurs études ont été menées sur les concentrations des composés phénoliques des extraits des parties aériennes de *M. rotundifolia*, qui pousse spontanément dans différentes régions d'Algérie, confirmant sa richesse en polyphénols. Cependant, il n'y a pas eu d'études sur les quantités de polyphénols présents dans les racines de cette espèce. Selon Bousouf et al[173], les teneurs en PTC et en FTC de *M. rotundifolia* poussant dans la région de Jijel ont été estimées respectivement à 350.10 ± 0.96 ug EA/g CE et $47.61 \text{ } 79.44 \pm 0.76$ ug EQ/g CE. De plus, l'extrait éthanolique (50%) de l'espèce provenant de la localité de Bejaia a montré des

teneurs en phénol totaux de 114.8 ± 1.2 ug EA/g et en flavonoïdes de 11.5 ± 2.0 ug EQ/g [20]. En outre, la plante récoltée dans la localité de Sétif a été estimée avoir une teneur en phénol totaux de valeur atteint 113.7 ± 2 µg EAG/mg d'extrait et en flavonoïdes de valeur atteint 16.275 ± 0.375 µg EQ/mg d'extrait[20]. Ces résultats montrent que la *M. rotundifolia* est une source riche en polyphénols dans les deux parties. En outre, une disparité significative est constatée entre les plantes récoltées dans deux régions différentes d'Algérie. Comme il est possible de l'observer dans les résultats, le site de Mila, présentant un climat subhumide et une composition de sol propice avec une proportion élevée de MO et une salinité faible, favorise la quantité des polyphénols par rapport au site humide (Jijel). En contrastant ces résultats avec ceux obtenus précédemment dans d'autres études, Riahi et al.[174] ont rapporté la variation quantitative des PTC et FTC chez la *M. rotundifolia* (MR) poussé dans deux écotypes tunisiens différents (humide et subhumide), nous avons observé une similitude relative. Leur étude confirme la supériorité du site subhumide en termes de teneur en composés phénoliques. Toutefois, la plante du district de Bizerte, caractérisée par un climat subhumide, présentait des teneurs en PTC (44.5 ± 1.2 ug EAG/extrait) et en FTC (19.9 ± 1.1 ug (ER)/g de matière sèche) plus élevées que celle de Beja, caractérisée par un climat humide, avec des valeurs de $36,1 \pm 1,0$ ug EAG/de matière sèche pour les phénols totaux et $15,9 \pm 0,7$ ug ER/g de matière sèche pour les flavonoïdes[174]. Cela peut être dû à des facteurs Environnementaux et au comportement des plantes face au stress hydrique et thermique. Les données actuelles indiquent que les conditions environnementales ont un impact clair sur les teneurs en composés phénoliques dans la plante provenant de deux régions. En effet, les phénols constituent une remarquable classe de métabolites secondaires des plantes qui peuvent être synthétisés et accumulés de manière différente en fonction des conditions optimales ou suboptimales de croissance[68,175] Comme enregistré pour 12 populations iraniennes de *Mentha pulegium* L., les caractéristiques météorologiques, notamment la température, la pluviométrie moyenne et l'altitude, influencent la teneur en huile essentielle, la composition et la capacité antioxydants[176]. D'autre part, La différence d'altitude entre les deux sites est importante (environ 500 km) et peut jouer un rôle dans la nature des composés synthétisés. La température, la lumière et les radiations subissent des variations en fonction de l'altitude. En des grandes altitudes, les températures sont plus basses et les radiations UV-B sont élevées, ce qui peut stimuler les métabolites secondaires [231].

Padda et Picha ont identifié une corrélation entre la température et les proportions des composés phénoliques dans les plantes, dans laquelle les basses températures sont associées à des niveaux élevés de composés phénoliques[65]. Inversement, Heydari et al. ont rapporté que

le stress thermique affecte de manière significative la quantité d'huile essentielle de *Mentha Piperita* L. et *Mentha arvensis* L. [223].

Généralement la température est facteur essentiel dans l'accumulation des polyphénols, elle intervient dans la régulation et stimulation de la voie des phénylpropanoïdes par l'activation d'enzyme phénylalanine ammonia-lyase (PAL). Cependant, il a été démontré que des températures extrêmement élevées inhibent l'action de la PAL et diminuent la production de métabolites [69]. D'autre part, de nombreuses études ont discutés de l'occurrence de la variation du contenu phytochimique des plantes en réponse aux moyennes de précipitations qui dépendait de l'espèce végétale [72]. Par exemple, les fortes moyennes de précipitations et d'humidité ont induit la teneur la plus élevée des polyphénols dans les tissus foliaires de *Moringa oleifera* Lam. Mexicain. En revanche, la culture de *M. Piperita* dans des conditions de sécheresse a permis d'améliorer le contenu du phénol total [74].

À cet égard, peu de choses sont connues sur la réponse des plantes médicinales sauvages aux différentes conditions de croissance.

D'une manière générale, Les informations sur les caractéristiques environnementales de la croissance des plantes médicinales sont importantes pour la compréhension de la distribution des plantes ainsi que pour connaître les stratégies de préservation et de gestion de cette espèce. Selon Yang et al. ont souligné que les conditions environnementales modifient la synthèse des MII dans les plantes. Par exemple, la photopériode et les journées courtes génèrent régulièrement une diminution de la teneur en phénols, tandis que la forte intensité lumineuse ou l'ombre, la salinité du sol, les températures basses ou élevées, les concentrations élevées d'engrais azotés ou de phosphates, ainsi que la sécheresse et les déficits hydriques augmentent la teneur en phénols. Cependant, la réponse diffère selon les espèces, les formes sauvages ou cultivées, les caractéristiques ontogéniques de la plante et le groupe de composés évalué [69].

I.2.3. Composition des polyphénols individuels

Le profil phénolique des échantillons de *M. rotundifolia* provenant des deux régions sont présentés dans le tableau 14. Un total de seize composés phénoliques, dont huit acides phénoliques et huit flavonoïdes, ont été déterminés dans la *M. rotundifolia* suite à une analyse LC-ESI-MS.

Quantitativement, l'acide quinique, l'acide rosmarinique et l'acide salvianolique constituent les principaux composés phénoliques de deux parties de *M. rotundifolia*. De plus, les acides caféique et syringique ont été trouvés à des niveaux significatifs dans les racines de la plante provenant de deux régions (Jijel et Mila) (10,589 µg/g et 11,321 µg/g), respectivement, tandis que des concentrations très faibles ont été enregistrés pour les acides protocachuique, p-

coumarique et trans-férulique. Les flavones, dont la lutéoline-7-o-glucoside, l'apennine, l'apigénine-7-o-glucoside, le cirsiol et l'acacétine, représentaient les composants de flavonoïdes prédominants dans l'espèce du *M. rotundifolia*. La naringénine (flavanones) et la rutine (flavanol) ont également été identifiés dans la plante.

Le niveau des composés identifiés selon l'origine de la plante et leur distribution dans la même plante dépendaient de la nature de chaque composé individuel. L'acide quinique était plus concentré dans la partie aérienne (35,834 (Jijel) et 33,624 $\mu\text{g/g}$ (Mila) que dans les racines (3,996 et 18,247 $\mu\text{g/g}$ correspondant respectivement aux sites de Jijel et Mila). Au contraire, les niveaux d'acide rosmarinique et d'acide salvianolique étaient représentés des niveaux plus élevés dans les racines par rapport aux tissus aériennes. Dans ce contexte, des quantités d'acide rosmarinique de 69,503 $\mu\text{g/g}$ (Jijel) et 70.170 $\mu\text{g/g}$ (Mila) ont été enregistrées dans les racines, tandis que les valeurs les plus faibles de 21.157 $\mu\text{g/g}$ (Jijel) et 28.586 $\mu\text{g/g}$ (Mila) ont été obtenues dans les parties aériennes. Pour l'acide salvianolique, des valeurs de 13.602 $\mu\text{g/g}$ (Jijel) et 15.239 $\mu\text{g/g}$ (Mila) ont été enregistrées dans les parties aériennes, tandis que des quantités de 49.211 $\mu\text{g/g}$ (Jijel) et 125.411 $\mu\text{g/g}$ (Mila) ont été obtenues dans les racines. En ce qui concerne les flavonoïdes, il a été noté que la naringénine et l'acacétine n'ont été détectées que dans les tissus aériens de *M. rotundifolia*, tandis que la lutéoline-7-o-glucoside n'a pas été trouvée dans la partie aérienne de la plante provenant de l'écotype de Mila. La naringénine était présente des meilleures quantités dans les tissus racinaires par rapport à les tissus aériennes, avec des valeurs la plus grande dans les racines de la plante provenant de site de Jijel (10,219 $\mu\text{g/g}$). Le cirsiol était également plus concentré dans les racines que dans la partie aérienne. Les principaux composés individuels typiquement caractérisés dans diverses espèces de Menthe sont l'acide caféique et ses dérivés (acides rosmarinique et chlorogénique), les acides gallique, p-coumarique, sinapique, férulique, salvianique, 4-hydroxybenzoïque et salicylique, et les principaux flavonoïdes ; la naringénine, l'hésperidine, la diosmine, la lutéoline, la salvigénine, la thymonine et la quercétine[177–181].

Tableau 14 : Composition phénoliques individuels de *M. rotundifolia* (partie aérienne et racines) provenant de la région de Jijel et Mila, Tr : temps de rétention ; ND: non détecté

Composés phénolique (ug/g extrait)	Tr	m/z	Région Jijel		Région Mila	
			MROT-JA	MROT-JR	MROT-MA	MROT-MR
Acide Quinique	2.18	191.00	35.83	3.99	33.62	18.24
Acide Protocachuique	6.95	153.00	1.26	2.26	4.42	0.24
Acide Caféique	15.87	179.00	3.25	10.58	2.73	7.39
Acide Syringique	17.99	197.00	4.47	1.62	4.98	11.32
Acide p-coumarique	22.74	163.00	0.64	0.018	0.99	4.75
Acide Trans férulique	25.56	193.00	0.016	0.050	ND	0.006
Rutin	27.70	609.00	0.12	0.035	0.23	0.046
Luteolin-7-o-glucoside	28.03	447.00	1.48	0.20	ND	0.51
Naringine	29.62	579.00	0.99	ND	0.65	ND
Apigénin-7-o-glucoside	30.80	431.00	0.37	0.095	0.14	0.020
Acide Rosmarinique	29.97	359.00	21.15	69.50	28.58	70.17
Acide Salviolinique	31.55	717.00	13.60	49.21	15.23	125.41
Naringénine	37.07	271.00	0.23	10.21	0.61	2.05
Apigénine	37.60	269.00	0.25	0.30	0.81	0.11
Cirsiliol	38.87	329.00	1.99	5.13	0.52	1.03
Acacetine (flavone)	43.89	283.00	0.37	ND	0.15	ND

En résumé, Bien que le même contenu phénolique ait été identifié dans les plantes de deux sites de prélèvement, mais quantitativement étaient significativement différence. Il convient de souligner que la quantité des composés phénoliques comme les acides rosmarinique, salviolinique, syringique et protocachuique dans la plante du site du Mila est représenté la concentration la plus importante que celle dans la plante de site de Jijel. Alors que l'acide quinique, acide caféique et naringenine sont bien accumulé dans la plante de la région de Jijel. Comme nous l'avons vu, La variation quantitative des composés phénoliques dans la *M. rotundifolia* de deux régions confirmer que l'accumulation des composés phénoliques est fortement contrôlée par les conditions environnementales. Les voies de biosynthèse impliquées dans la production de composés phénoliques sont étroitement affectés par différents stimuli environnementaux, ce qui est considéré comme une stratégie d'adaptation des plantes en réponse aux facteurs de stress abiotiques et biotiques [182]. Dans l'ensemble, les acides caféique, chlorogénique et rosmarinique sont les principaux composés phénoliques du genre *Mentha*. l'acide rosmarinique est accumulé dans la *Melissa officinalis* L. sous stress

thermique[183] et dans la *Dracocephalum kotschyi* Boiss sous stress salin[184]. tandis que, Le rôle actif de l'acide caféique et de ses dérivés dans divers mécanismes de défense des plantes contre les agents de stress biotiques et abiotiques est notable [185].

La composition phénolique de *M. rotundifolia* rapportée par la littérature a montré des variations dans la concentration des acides phénoliques et les flavonoïdes en fonction de la localisation de la plante, L'acide rosmarinique a été signalé dans la plupart des études et peut donc être considéré comme une empreinte digitale dans l'espèce du *M rotundifolia*[43,44,47]

Les rapports précédents indiquaient clairement la corrélation drastique de ces contenus chimiques avec leurs origines géographiques, Par exemple, exclusivement Ben haj Yahia et al. ont trouvés que la *Mentha × rotundifolia* (L.) Huds qui a récoltée dans plusieurs zones bioclimatiques (humides inférieures ou semi-arides supérieures) de Tunisie présentent une différence quantitative et qualitative dans les composés phénoliques identifiés. Une distinction de chimiotype semble, en fait, cohérente avec les facteurs écologiques, ainsi que de fluctuations importantes dans les caractéristiques climatiques peuvent également se produire sur de courtes distances, ce qui soutient notre résultats qui supposer la variance quantitatif dans la composition phénolique observées de deux populations provenant presque la même zones bioclimatique(humide et sub humide)[45]. Par ailleurs, Mehalaine et Chenchouni. ont expliqué en détail comment les variables édaphiques et les facteurs climatiques influencent l'accumulation des huiles essentielles dans les plantes sauvages d'Afrique du Nord[186].

La température peut être considérée comme la principale variable climatique susceptible d'affecter les voies de biosynthèse par le biais de la photosynthèse. Les températures moyennes favorisent la croissance des plantes et leur augmentation entraîne une augmentation des métabolites secondaires[187]. Par contre la température élevée à un certain degré peut favoriser la biosynthèse des acides caféique et coumarique dans les carottes, ces composés sont accumulés en réponse à les dommages oxydatifs[188]. Outre les conditions environnementales, la composition physico chimique du sol est un facteur important dans la production de substances phytochimiques. Tout d'abord, la salinité (à un niveau élevé) est généralement Considérée comme un facteur de stress qui stimule la production de métabolites comme mécanisme d'adaptation. D'autre part, le taux de la matière organique indique le degré de la fertilité du sol. Il est bien connu que la croissance optimale des plantes se produit dans des sols fertiles. Cependant, selon Mónica L. l'accumulation d'acide coumarique, de robinine, de rutine,

de lutéoline-7-glucoside, d'apigénine-7-glucoside et d'acide rosmarinique chez *Ageratina petiolaris* était optimale dans un environnement tempéré et une fertilité du sol réduite [189].

La répartition de chaque composé dans les différents tissus d'une même plante dépend essentiellement du rôle de l'organe dans la physiologie de la plante [190]. Srećković et al. ont rapporté que la plupart des composés phénoliques individuels de *Lythrum salicaria* L est plus élevée dans les tissus aériens que dans les racines »bdeeeeexcrvgbdbl [191]. Également, la distribution des composés phénoliques dans *Symphytum officinale* L. et *Anchusa ochroleuca* M. Bieb s'est avérée dépendre de la nature du composé [192].

I.4. Activité antioxydant

Concernant la bioactivité de la *M.rotundifolia*, nous avons entrepris de tester l'extrait de chaque partie de la plante étudiée afin d'évaluer leur capacité antioxydante. Il est établi par nos résultats que la capacité réductrice est directement proportionnelle à la concentration croissante de l'échantillon, ce qui est en accord avec les travaux précédents [46][153]. Cependant, pour approfondir l'analyse, nous nous concentrerons davantage sur l'activité antioxydante en termes de valeurs IC₅₀ et A_{0,5}. Les valeurs des IC₅₀ ont été calculées pour évaluer l'efficacité de différents extraits. Une valeur plus faible indique une activité antioxydante plus élevée en termes de capture des radicaux libres DPPH, ABTS et l'oxydation de l'acide linoléique.

En examinant les données illustrées dans la figure 19(annexe4.1), on constate que les extraits ont montré une remarquable activité de piégeage le radical DPPH. Cette activité a été fortement influencée par l'organe de la plante étudiée. Les racines étaient plus puissantes que la partie aérienne. Par ailleurs, le site de prélèvement de la plante a également induit un changement dans l'activité des extraits. La valeur IC₅₀ obtenue par la partie racinaire de la plante du Mila (MROT-MR) était de $21,77 \pm 0,06$, suivie par la partie racinaire de la plante du Jijel (MROT-JR) (IC₅₀ = $30,11 \pm 1,83$ µg/ml) tandis que les tissus aériens de la plante prélevée du site de Jijel (MROT- JA) ont la plus grande capacité à réduire les radicaux DPPH (IC₅₀= $36,12 \pm 0,75$ µg/ml) que la partie aérienne de la plante du site de Mila (MROT-MA) (43.30 ± 1.42 µg/ml).

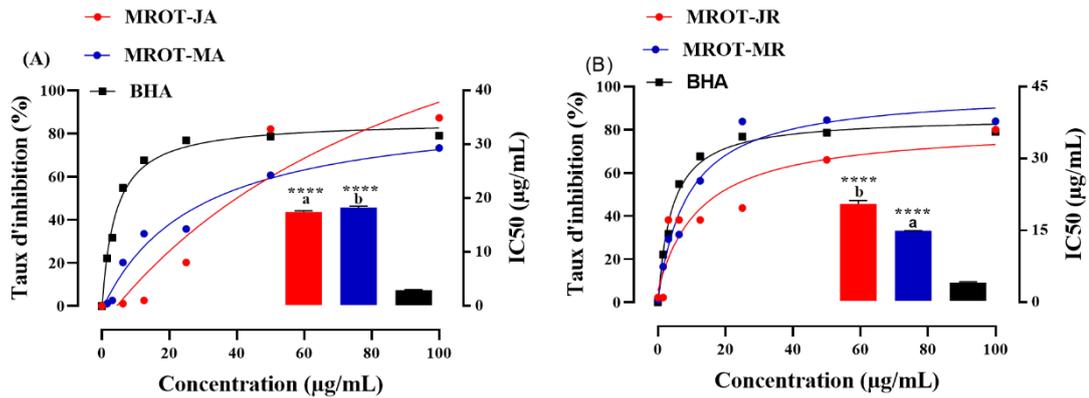


Figure 19 : Taux d'inhibition et les valeurs d'IC₅₀ du radical libre DPPH dépendants des concentrations des extraits provenant de la partie aérienne (A) et de la partie racinaire (B) de la plante récoltée dans deux régions distinctes.

L'analyse de la variance (ANOVA) a révélé un effet significatif confirmé par le test tu key ($P < 0,05$). Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents, (a, b) pour la comparaison entre les échantillons et (*) avec le standard (BHA). MROT-JA : Extrait éthanologique de partie aérienne de Jijel, MROT-JM : Extrait éthanologique de partie aérienne de Mila, MROT-JR : Extrait éthanologique des racines de Jijel, MROT-MR : Extrait éthanologique des racines de Mila

Les extraits de *M. rotundifolia* ont également montrés une activité antiradicalaire significative vis-à-vis le radical ABTS avec des valeurs IC₅₀ allant de $7,73 \pm 0,16$ et $24,99 \pm 0,28$ µg/ml. Les résultats ont montré une variation de l'activité en fonction de l'organe de la plante et de site de prélèvement de la plante. De même, les racines ont exercé une capacité plus puissante à piéger l'ABTS⁺ que la partie aérienne. De plus, les extraits de la plante Mila étaient plus puissants que Ceux de la plante Jijel. Les extraits peuvent alors être classés en fonction de leur effet décroissant comme suit : MROT-MR > MROT-JR > MROT-MA > MROT-JA (Fig.20, annexe 4.2)

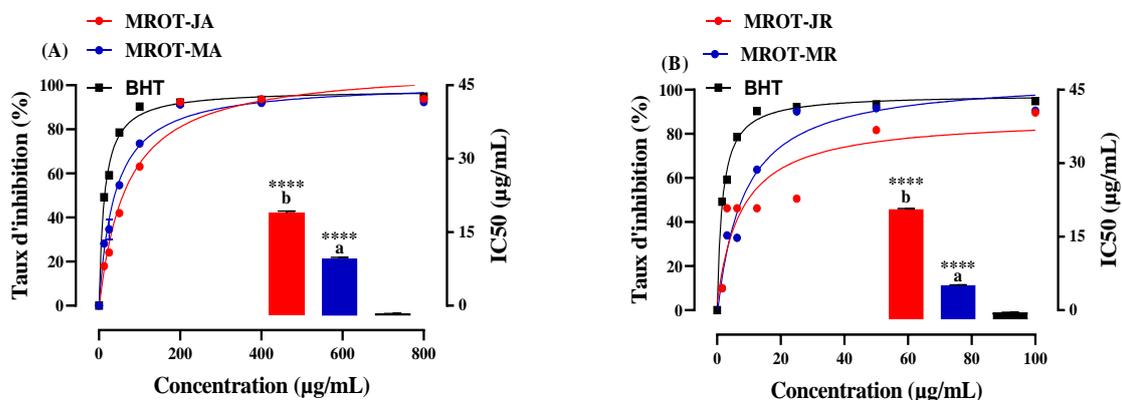


Figure20 : Taux d'inhibition et les valeurs d'IC₅₀ ABTS dépendant des concentrations des extraits de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante récoltée de deux régions.

L'analyse de la variance (ANOVA) a révélé un effet significatif confirmé par le test tu key ($P < 0,05$). Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents, (a, b) pour la comparaison entre les échantillons et (*) avec le standard (BHT)

L'activité antioxydante des extraits évalués par le système β -carotène/acide linoléique a montré que la partie aérienne a un effet plus important d'inhibition le blanchiment du β -carotène que les racines. En comparant les régions, il semble que la plante poussant à Mila s'avère une action plus forte que celle de Jijel. Parmi les échantillons étudiés, celui l'extrait de partie racinaire de la plante collectée à Mila (MROT-MA) est le plus actif avec un IC_{50} la plus basse de l'ordre de $48,41 \pm 1,05 \mu\text{g/ml}$, alors que des valeurs d' IC_{50} plus élevées ont été obtenues par les autres échantillons MROT-JA, MROT-MR, MROT-JR ($145,66 \pm 1,15$, $198,71 \pm 6,97$, $276,20 \pm 4,08 \mu\text{g/ml}$, respectivement) (fig.21, annexe 4.3).

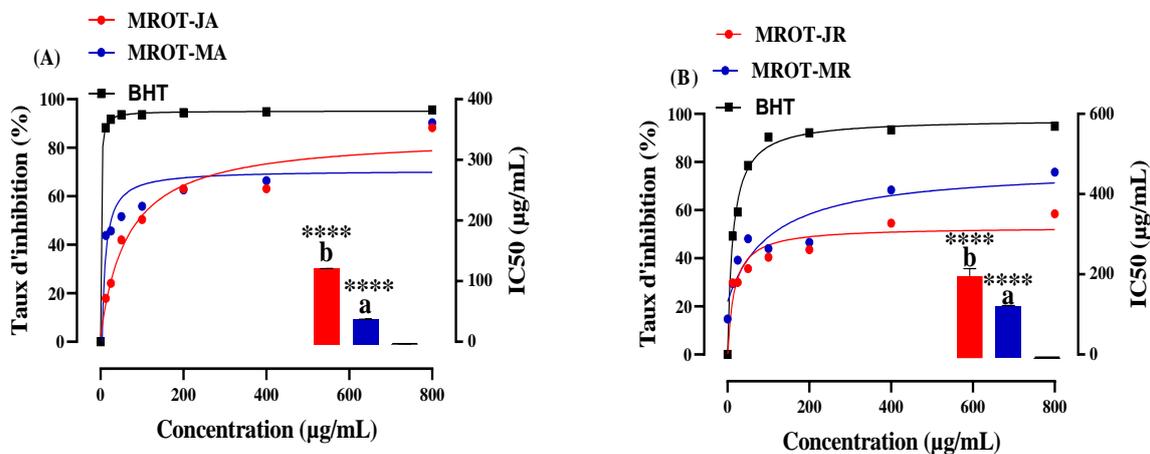


Figure 21: Taux d'inhibition et les valeurs d' IC_{50} du blanchiment β -carotène dépendants des concentrations des extraits de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante provenant de deux régions.

L'analyse de la variance (ANOVA) a révélé un effet significatif confirmé par le test Tukey ($P < 0,05$). Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents, (a, b) pour la comparaison entre les échantillons et (*) avec (BHT).

Divers modèles pour examiner la capacité à réduire les métaux ont été utilisés, notamment le pouvoir réducteur (FRAP) et le test à Phénantroline pour la réduction des ions de fer (Fe^{3+}), le CUPRAC, pour tester la réduction des ions cuivre (Cu^{2+}) et le test des nanoparticules d'argent (SNP) qui évalue la capacité à réduire les ions argent (Ag^{2+}). Chaque échantillon d'extrait a révélé une action réductrice efficace de ces ions à de faibles concentrations aune proximité à celle montrée par les standards. L'examen des résultats obtenus pour chaque activité révèle une variation significative de leur efficacité en fonction de la nature de l'organe et de la provenance de la plante. En effet, l'efficacité de ces activités varie entre les plantes de deux sites, en effet, Dans presque la majorité des tests, la plante collectée de la région du Mila décèlent la meilleure

activité en comparaison avec la plante de Jijel, sauf le test de CUPRAC, concernant ce test, nous avons observé que les extraits d'espèce de *M. rotundifolia* s'avéraient très efficaces à réduire les ions Cu^{2+} , avec une supériorité (MROT-JA) ($A_{0.5}=10.49\pm 0.43 \mu\text{g/ml}$). Cette valeur est plus proche que celle obtenus par le composé synthétique, à savoir : BHT= $8.97\pm 3.94\mu\text{g/ml}$ (fig.22, annexe4.4)

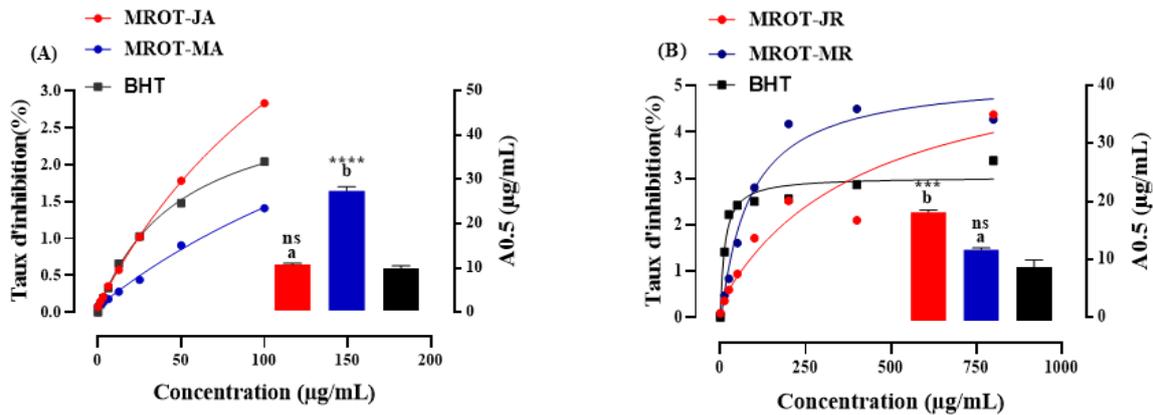


Figure22 : Taux d'inhibition et les valeurs d'A0.5 du pouvoir réducteur (CUPRAC) en fonction des concentrations des extraits de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante provenant de deux régions.

L'analyse de la variance (ANOVA) a révélé un effet significatif confirmé par le test de Tukey ($P < 0,05$). Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents, (a, b) pour la comparaison entre les échantillons et (*) avec le standard (BHT).

Considérant la nature de l'organe, La partie aérienne de la plante quel que soit l'origine de croissance a donné une meilleure capacité à réduire les ions de fer (Fe^{3+}) testé par la méthode du pouvoir réducteur (FRAP), tandis que la plante de la région de Mila est enregistrée un bon potentiel inhibiteur dans les deux parties (MROT-MA ($A_{0.5}= 4,89 \pm 0,05 \mu\text{g/ml}$ et $15.14\pm 0.34 \mu\text{g/ml}$ respectivement) par rapport à celle de Jijel ($A_{0.5}= 5.14\pm 0.0\mu\text{g/ml}$ et $57,31\pm 0,75 \mu\text{g/ml}$ respectivement) (Fig.23 annexe 4.5). Nous enregistrons également que l'organe aérienne de la plante poussée dans la localité de Mila (MROT-MA) est très actif à réduire les ions de fer (Fe^{3+}) par rapport à l'acide ascorbique (standard) ($9.01\pm 1.46 \mu\text{g/ml}$).

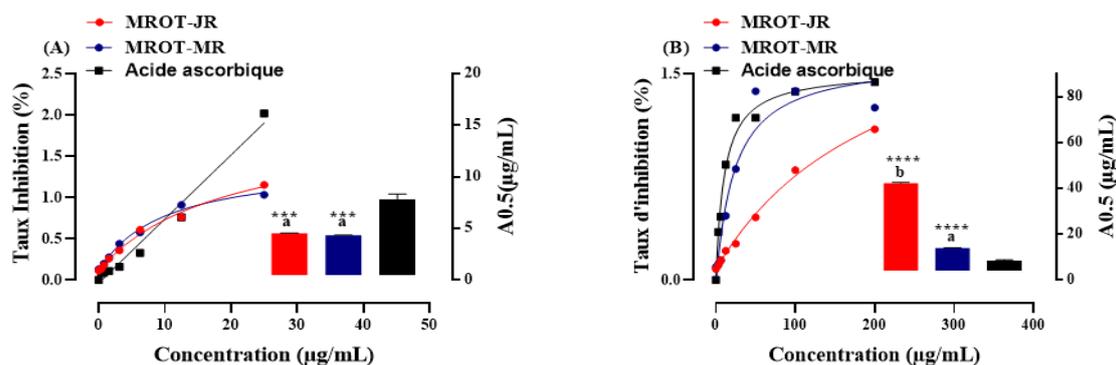


Figure23: Taux d’inhibition et les valeurs d'A0.5 du pouvoir réducteur (FRAP) en fonction des concentrations des extraits de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante provenant de deux régions.

L'analyse de la variance (ANOVA) a révélé un effet significatif confirmé par le test de Tukey ($P < 0,05$). Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents, (*) pour la comparaison avec le standard (Acide ascorbique).

Les résultats obtenus dans la figure25(annexe 4.6) démontrent une capacité réductrice du fer dans le complexe phénanthroline- Fe^{3+} (Test de Phénantroline). La plante de deux régions présente une activité moyenne comparés aux contrôles positifs ($A0,5 = 2.24 \pm 0.11 \mu\text{g/ml}$), avec une supériorité de la partie racinaire. Tandis que La partie racinaire de la plante de la région de Mila (MROT-MR) affiche une la meilleure activité dans la réduction des ions Fe^{3+} de l'ordre $A0,5 = 7,93 \pm 0,55 \mu\text{g/ml}$

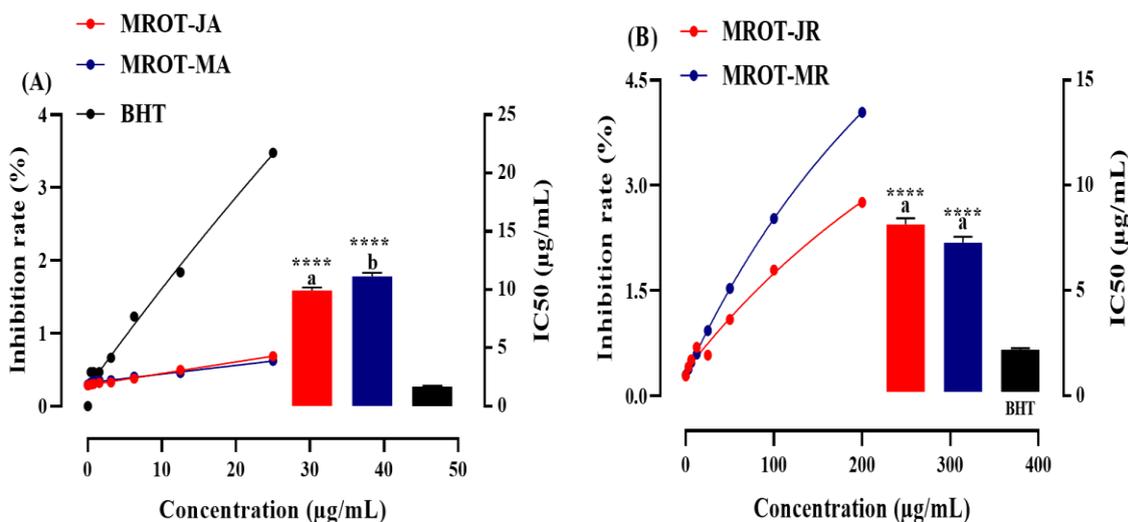


Figure24 : Taux d’inhibition et les valeurs d'A0.5 du complexe phénanthroline- Fe^{3+} en fonction des concentrations des extraits de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante provenant de deux régions

L'analyse de la variance (ANOVA) a révélé un effet significatif confirmé par le test de Tukey ($P < 0,05$). Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents, (*) pour la comparaison avec le standard (BHA)

D'après la figure 24(annexe 4.7), nous pouvons constater que l'extrait brut de la partie aérienne de la plante récoltée dans le site de Mila s'est avéré être le plus efficace pour réduire les ions Ag^{2+} ($A0.5=2,17 \pm 0,006 \mu g/ml$), suivi par l'extrait de la partie aérienne de la plante du site de Jijel ($A0.5=2.17 \pm 0.006 \mu g/ml$). Les deux valeurs sont inférieures à celle de l'acide ascorbique ($A0.5=7.14 \pm 0.05 \mu g/ml$), ce qui témoigne d'une bonne activité. En revanche, les extraits de la partie racinaire des plantes récoltées dans les deux régions présentent un potentiel d'inhibition faible.

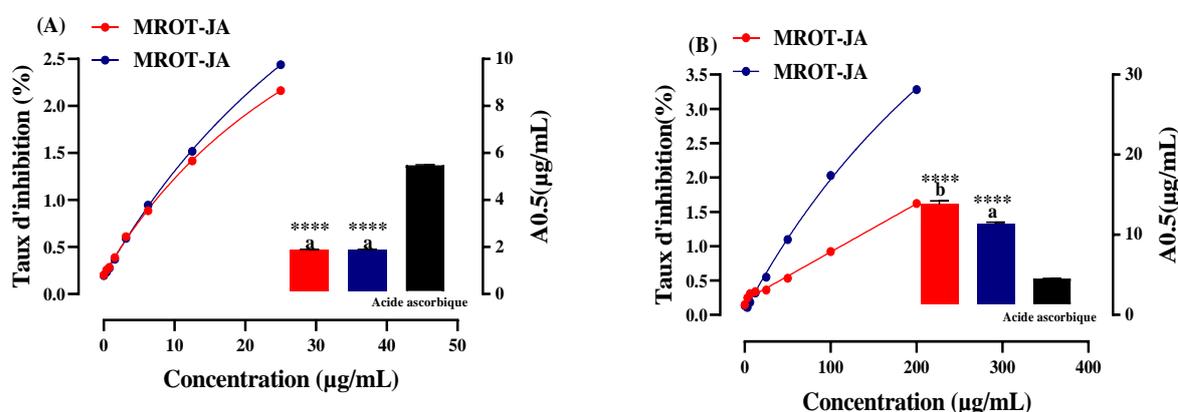


Figure 25 : Taux d'inhibition et les valeurs d'A0.5 la réduction des ions Ag^{+2} (SNP) en fonction des concentrations des extraits de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante provenant de deux régions.

L'analyse de la variance (ANOVA) a révélé un effet significatif confirmé par le test de Tukey ($P < 0,05$). Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents, (*) pour la comparaison avec le standard (BHA)

Les fluctuations de la composition chimique des extraits impliquent une variation de l'effet biologique présenté. Une variation remarquable de la capacité antioxydante a été observée dans les extraits en fonction de la méthode utilisée. Les racines ont exercé l'effet de piégeage le plus prononcé contre le DPPH et l'ABTS, quelle que soit l'origine de la plante, tandis que pour les autres tests, les extraits ont affiché des comportements différents.

En effet, de nombreux facteurs peuvent affecter l'activité antioxydante comme la nature des composés phénoliques présents dans chaque extrait mais aussi la nature des interactions entre les différents constituants. D'autre part, chaque essai est basé sur un mécanisme antioxydant différent. Un mode mixte impliquant un transfert d'électron/hydrogène est impliqué dans les tests DPPH et ABTS, tandis qu'un transfert d'hydrogène unique est considéré comme

le principal mécanisme impliqué dans le test β -carotène et qu'un transfert d'électron unique est généralement impliqué dans la réduction des ions métalliques[161].

La fluctuation de l'activité antioxydante a déjà été signalée pour la *M. rotundifolia* dans plusieurs articles. Une étude récente a fait état d'une variation de l'effet antioxydant de la plante provenant de différentes localités, évaluée par DPPH (allant de 25,2 à 60,1 %) [59]. Notre travail pourrait être le premier rapport sur l'activité des extraits de *M. rotundifolia* a réduit le fer par le test de phénantroline et a réduit les ions Ag^{2+} par le test de SNP. Les populations de *M. rotundifolia* de notre étude ont montré une excellente inhibition de fer par le test de FRAP, avec des valeurs d'A0.5 plus faibles par rapport aux valeurs de $18.809 \pm 0.369 \mu\text{g/ml}$ et $25.83 \pm 0.208 \mu\text{g/ml}$ obtenues par Seladji et al.(2015)[153] dans les extraits aqueux et acétique, respectivement de *M. rotundifolia* de la région de Tlemcen, Alors que Ferdjoui et al. (2019)[46] a estimé la capacité d'inhibition de β -carotène de différents extraits et variant entre 0.12 ± 0.03 à $2.89 \pm 0.02 \text{ mg/ml}$.

Dans une étude similaire, Benabdellah et al. (2016)[50] est rapporté la capacité d'inhibition de β -carotène dans l'extrait méthanolique de l'espèce *M. rotundifolia* avec la valeur de $(763.00 \pm 0.70 \text{ ug/ml})$ cette valeur est plus faible par rapport au celle estimé dans la plante de notre étude. Cependant, les résultats actuels corroborent l'efficacité antioxydant de la plante, quelle que soit la méthode de test utilisée. Mais en même temps, elle a montré une variation remarquable entre les populations de deux régions de récolte. Cette variation est attribuée à la région et aux facteurs écologiques tels que la qualité du sol, l'altitude, la température et les précipitations qui affectent la composition chimique. En effet, de nombreux auteurs ont mis en évidence une relation entre les conditions environnementales et la production de polyphénols et l'activité antioxydante comme la température [68], les précipitations[71,72], l'altitude[75], ainsi que La localisation géographique [193].

Les corrélations entre les mesures évaluant la capacité antioxydante et le TPC, le TFC et le FLoC ont varié de -0.517 à -0.864 ($p < 0,05$) (annexe6). Le TPC présentait des corrélations avec le DPPH ($r = -0.713$), phénantroline ($r = -0.836$). Le TFC et le FLoC ont montré des relations fortes avec le pouvoir réducteur du fer ($r = -0.958$ et $r = -0.972$, respectivement), le SNP ($r = -0.897$, $r = -0.850$ respectivement), ainsi que des relations modérées avec l'activité de blanchiment du β -carotène ($r = -0.743$, -0.650 respectivement) Ces résultats indique la relation étroite peut être observée entre la teneur en composés phénoliques totaux et l'effet antioxydant de *M. rotundifolia* et est en accord avec celui obtenu par Ben Haj Yahia et al.[45], qui a

également montré une forte corrélation entre la concentration de phénols des extraits de différentes populations de *M rotundifolia* tunisiennes et leur activité antioxydante.

Les caractères physicochimiques du sol peuvent jouer un rôle déterminant dans la qualité et la quantité des métabolites secondaires produits. Cette variation influencera par conséquent l'effet antioxydant des plantes. Il a été précédemment rapporté que l'augmentation de la salinité, de la conductivité et de l'acidité du sol affecte négativement l'activité antioxydante de *Scrophularia striata* Boiss [194],

En outre, la matière organique augmente l'absorption de l'azote et améliore la solubilité du phosphore en augmentant son absorption par les plantes, Vazquez-Leon et al. (2017) a indiqué que les feuilles mexicaines de *Moringa oleifera* Lam. Cultivées dans un sol riche en matière organique, NH_4^+ , phosphore et potassium ont montré les niveaux les plus élevés de phénoliques totaux, d'acide gallique et d'effet antiradicalaire[72].

Selon les résultats obtenus, on peut supposer que la salinité, la conductivité et l'alcalinité plus faibles du sol à Mila ont entraîné un effet antioxydant plus élevé des plantes par rapport à celles de Jijel.

I. 5. Activité inhibitrice des enzymes

L'effet inhibiteur des extraits sur l'acétylcholinestérase et l' α -glucosidase a été représenté dans la Fig.26,27(annexe 4.8-9).

Comme le montre la Figure 26, la plante de site Mila a montré un effet plus puissant dans l'inhibition de l' α -glucosidase que les extraits de la plante de Jijel. En comparant l'organe de la plante, les racines étaient plus puissantes que la partie aérienne. Les extraits peuvent être classés selon leur effet en termes de valeurs IC_{50} comme suit : MROT-MR > MROT-JR > MROT-MA > MROT-JA avec des valeurs IC_{50} de $17,21 \pm 0,11$, $42,61 \pm 2,09$, $107,176 \pm 1,49$, $181,253 \pm 3,02$ $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectivement. De plus, tous les extraits se sont révélés statistiquement plus puissants que le contrôle (Acarbose) ($\text{IC}_{50} = 275,43 \pm 1,59$ $\mu\text{g}/\text{ml}$).

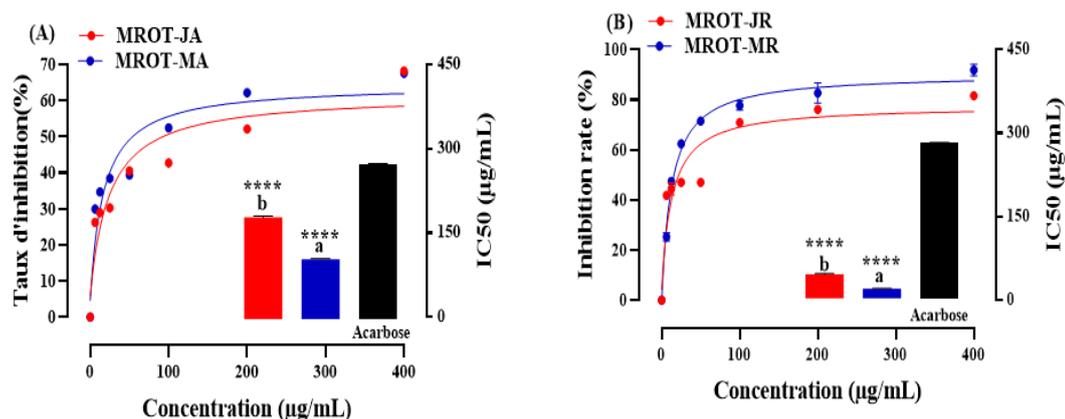


Figure 26 : Taux d'inhibition et les valeurs d'IC50 du α -glucosidase en fonction des concentrations des extraits de la partie aérienne (A) et les racines de la plante provenant de deux régions.

L'analyse de la variance (ANOVA) a révélé un effet significatif confirmé par le test de Tukey ($P < 0,05$). Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents, (*) pour la comparaison avec le standard (Acarbose).

Les résultats de l'inhibition d'enzyme acétylcholinestérase ont montrés que l'origine de prélèvement de la plante a influencé l'activité inhibitrice des extraits dans le cas des racines où *M. rotundifolia* de Mila était plus fort que la plante récoltée à Jijel, tandis que pour la partie aérienne, le site de la plante a un léger effet. En outre, une grande différence dans l'effet présenté a été enregistrée uniquement entre les tissus aériennes et les racines de la plante de Mila, tandis que les deux parties de la plante de Jijel ont montré un effet similaire avec une légère différence (Fig. 27). La valeur IC50 la plus basse a été obtenue avec le MROT-MR ($IC_{50} = 37,12 \pm 0,05$ µg/ml) suivi par le MROT-JA, le MROT-MA, et enfin le MROT-JR, respectivement.

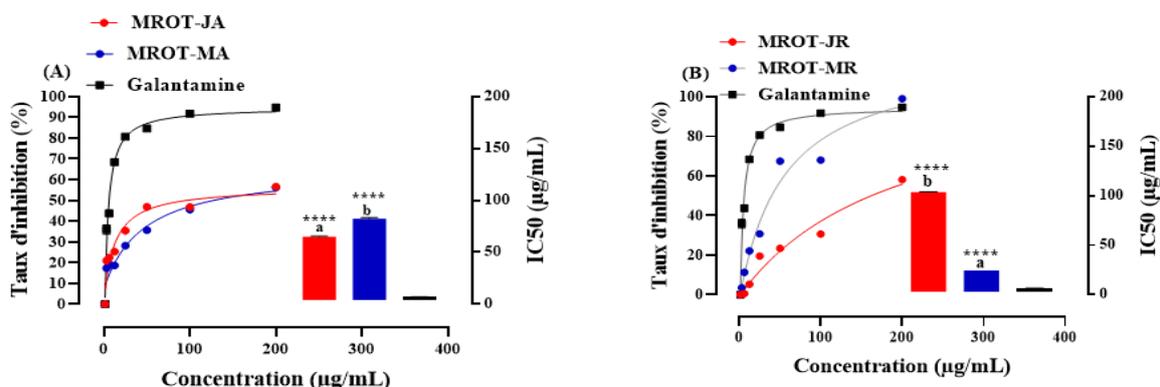


Figure 27 : Taux d'inhibition et les valeurs d'IC50 d'acétylcholinestérase en fonction des concentrations des extraits de la partie aérienne (A) et les racines (B) de la plante provenant de deux régions.

L'analyse de la variance (ANOVA) a révélé un effet significatif confirmé par le test de Tukey ($P < 0,05$). Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents, (*) pour la comparaison avec le standard (Galantamine).

Le taux d'inhibition de l' α -glucosidase et de l'acétylcholinestérase par les extraits de *M. rotundifolia* a également été affecté par la variation de la composition des extraits. Les racines de la plante du Mila ont les effets les plus importants sur les deux enzymes, probablement en raison de leurs niveaux élevés d'acide rosmarinique et d'acide salvianolique.

Ces suggestions peuvent être soutenues par les résultats obtenus par Thomas et al. qui ont décrit une inhibition significative de l' α -glucosidase dans l'infusion de *Glandora diffusa* (Lag.) qui est caractérisé par une composition phénolique consiste principalement à l'acide rosmarinique [195]. Ce travail pourrait être le premier rapport sur l'activité anti- α -glucosidase de *M. rotundifolia*. Quelques espèces du genre de la Menthe ont été testées pour l'inhibition de l' α -glucosidase, comme *M. Spicata* et *M. Longifolia*, montrant une inhibition significative de l'enzyme, qui a été attribuée à leurs acides phénoliques et flavonoïdes[177,196].

De plus, la capacité d'inhibition de l'acétylcholinestérase par *M. rotundifolia* collectée sur différents sites en Tunisie a également montré une fluctuation avec des valeurs IC_{50} comprises entre 0,21 et 2,16 mg/ml [45]. De nombreux auteurs ont précédemment discuté de l'association de l'inhibition de l'acétylcholinestérase des espèces de la *Menthe* avec la présence des composés spécifiques, tels que l'acide rosmarinique[49,197,198], l'acide salvianolique B, l'hésperidine [199], la lutéoline[200]et la diosmine [45,201]. Comme discuté précédemment, les caractéristiques géographiques et pédologiques des deux sites de récolte ont conduit à des différences dans la quantité de contenus phénoliques individuels, qui affectent directement l'effet inhibiteur des enzymes sélectionnées.

Outre ses objectifs initiaux, cette étude permettra de découvrir de nouvelles molécules présentant des propriétés anticholinestérase et anti α -glucosidase, Cela suscite l'espoir qu'une purification plus rigoureuse permettrait à ces principes actifs de rivaliser avec les médicaments spécialisés sur le marché pharmaceutique.

CHAPITRE 2 :
EFFET D'APPLICATION DES
PHYTOHORMONES IAA ET PAB

II.1. Les conditions physicochimiques du sol de l'expérimentation

Après l'analyse des résultats présentés dans le tableau 16, il est possible de constater que le sol utilisé pour l'expérience est neutre avec un pH alcalin de 7,72. Il convient de noter que le pH est un indicateur très important de l'acidité ou de l'alcalinité du sol, qui peut affecter l'absorption des éléments nutritifs. En général, la valeur souhaitable se situe entre 6,5 et 7,5 pour la plupart des sols et cultures. De plus, selon l'échelle de salinité du sol. Le sol de culture présente une faible salinité, avec une conductivité électrique d'environ 0,192 ms/cm, En ce qui a trait à la quantité de MO du sol, les résultats du tableau indiquent un taux moyen de 1,3 %, qui est considéré comme pauvre selon les normes naturelles du sol fertile. Le phosphore est Un nutriment minéral essentiel de première importance pour la croissance des plantes, notamment pour Le développement du système racinaire, la photosynthèse et la reproduction végétale. Sa concentration dans le sol varie en fonction de ses propriétés physico-chimiques [15]. Selon les normes Delaunois. (2008) [197], le sol étudié se caractérise par une faible concentration en phosphore assimilable P₂O₅, avec une moyenne de 1.03 ppm.

Tableau 16: les conditions physicochimiques du sol

Paramètre	Concentration
pH	7.72±0.05
Conductivité (mS/cm)	0.192
Matière Organique (%)	1.3±0.43
Carbon (%)	0.6±0.28
Phosphore(ppm)	1,03±0,56
CaCo3 (%)	41,90± 0,86

II.2. Effet d'application des phytohormones AIA et PAB sur le poids frais et sec

La lecture du tableau (17) indique la présence des effets partie, traitement et interaction partie x traitement hautement à très hautement significatives sur le poids free et sec. Ce qui traduit l'existence des différences remarquables entre les valeurs moyennes de ce paramètre mesurée sur les différents traitements.

Tableau 17: Analyse de la variance des poids free et sec des parties aériennes

Source	DDL	Poids free	Poids sec
Effet de partie de plante	1	36.671***	15.790**
Effet de traitement	8	965.598***	146.908***
Effet de l'interaction (P x T)	8	38.378***	12.052***
Résiduels	36	4.35	1.73

DDL : Degré de liberté ns, Non significatif. **très significatif at p<0.01. *** la significativité très haute à p < 0.001.

La pulvérisation des plantes avec l'un des phytohormones (auxine (IAA), BAP) a occasionné une augmentation marquée du poids frais et sec des organes aériens et les racines. L'analyse de la variance révèle une variance très hautement significative entre les différents traitements hormonaux ($p < 0.001$) (Tableau 14). D'après la figure 1, nous observons que Les parties aériennes et racinaires des plantes pulvérisés par la combinaison de deux hormones avec la dose la plus forte (20mg/l IAAx20mg/l BAP) sont enregistrés les poids frais et sec le plus élevé en comparaison avec le témoin. Alors que, le traitement par Le facteur de croissance BAP avec les doses 10 et 20 mg/ml induisant une augmentation de deux à trois fois du poids frais des parties aériennes et des racines par rapport au contrôle (T0) (Fig.28A). De même, les plantes poussant en présence de 20 mg/ml de BAP ont montré une multiplication par trois de leur poids sec pour les parties supérieures de la plante, tandis que le poids sec des racines était deux fois plus élevé par rapport aux racines des plantes témoins (Fig. 28B) avec la même concentration. Le traitement individuel par l'IAA n'a induit qu'une légère augmentation de ces deux paramètres dans les deux parties et non significative ($p < 0,05$) pour le poids sec.

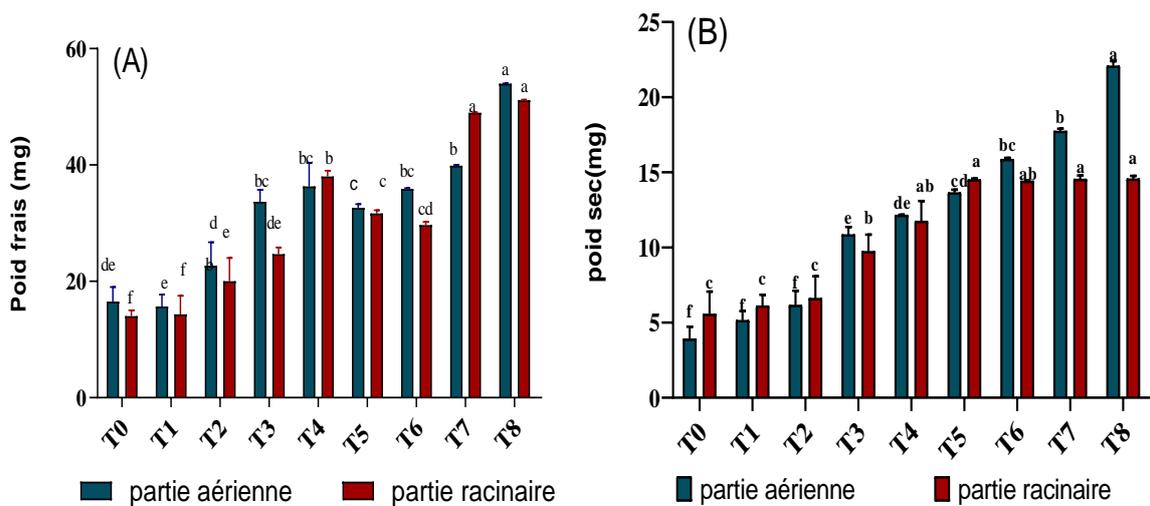


Figure 28 : Effet du traitement par les régulateurs de croissance végétale IAA et BAP sur le poids frais (A), le poids sec (B) dans les parties aériennes et racinaires de *M. rotundifolia* L.

T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8 correspondent à 10 et 20 mg/ml IAA, 10 et 20 mg/ml BAP, 10mg/IAAx10mg/l BAP, 10mg/l IAAx20mg/l BAP, 20mg/l IAAx10mg/l BAP, 20mg/l IAAx20mg/l BA respectivement. T0 : correspond aux échantillons non traités (Contrôle). Les valeurs des colonnes avec des lettres différentes sont significativement différentes à $p < 0,05$, selon la différence la moins significative (LSD5%).

ous avons observé une augmentation significative du poids des plantes (fraîches et sèches) après avoir traité avec le BAP. Ces résultats sont en partie cohérents avec des études antérieures qui ont démontré que le BAP favorise une production optimale de biomasse dans *Thymus leucotrichus* Hal. Shoots [126] et une multiplication par trois de la production du poids sec des

racines de *M. piperita* [11]. Les auteurs de ces études ont émis l'hypothèse que le BAP pourrait intervenir dans le contrôle de la division cellulaire, du développement des pousses et des racines, de la dominance apicale et du développement des bourgeons latéraux, ce qui pourrait expliquer les résultats observés [11].

II.2. Effet de l'application des phytohormones sur les paramètres phytochimique

II.2.1. Test phytochimique

Qu'elles aient été traitées par des phytohormones ou non, la présence de certains types de métabolites secondaires dans les parties aériennes et racinaires des plantes est l'objectif de l'analyse qualitative des extraits de plantes. Cette méthode utilise des réactifs chimiques spécifiques pour créer des réactions de coloration et de formation de précipités.

Tableau18 : Résultats expérimentaux des tests phytochimiques effectués sur les parties aérienne et racinaires des plantes traitées et non traités

Métabolites secondaires	Témoin		IAA (10mg/l) (T1)		AIA (20mg/l) (T2)		BAP (10mg/l) (T3)		BAP (20mg/l) (T4)		10mg/IAIAx10mg/IBAP (T5)		10mg/IAIAx20mg/IBAP (T6)		20mg/IAIAx10mg/IBAP (T7)		20mg/IAIAx20mg/IBAP (T8)	
	PA	PR	PA	PR	PA	PR	PA	PR	PA	PR	PA	PR	PA	PR	PA	PR	PA	PR
Polyphenols	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Flavonoïdes	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+
Anthocyanes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tanins	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Quinones	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anthraquinones	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcaloïdes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Terpénoides	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+
Stéroïdes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Composés réducteurs	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Protéines	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mucilages	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ND : non détecté. (+++) : Très abondant, (++) : Abondant, (+) : Faible, (-) : Absent

Les résultats du criblage phytochimique préliminaire de *M. Rotundifolia* ont indiqué aucune différence entre les plantes traitées par les phytohormones et non traitées (Témoins) au niveau de la présence d'importants des métabolites secondaires comme : les polyphénols, flavonoïdes, saponines, triterpènes et stéroïdes, tanins dans les deux parties. En effet, nous avons bien détectés la présence des flavonoïdes et terpenoïdes dans la partie aérienne par rapport à la partie racinaire. En revanche, les autres groupes chimiques comme les anthocyanes, quinones, alcaloïdes, stéroïdes, composés réducteurs, protéines mucilages et saponines n'ont pas été détectés dans tous les échantillons, La présence abondante de métabolites secondaires dans cette plante justifie ses nombreuses indications thérapeutiques et nous permet de conclure que l'application de phytohormones n'a pas d'impact sur la qualité de ces métabolites secondaires.

II.2.2. Rendement et Teneur en Polyphénols totaux des extraits des parties aériennes et racinaires des extraits des parties aériennes et racinaires

La lecture du tableau (19) indique la présence des effets partie, traitement et interaction partie x traitement hautement à très hautement significatives sur l'ensemble des variables mesurées (le rendement et les teneurs des polyphénols). Ce qui traduit l'existence des différences remarquables entre les valeurs moyennes de ces paramètres mesurées sur les différents traitements.

Tableau19: Carrés moyens de rendement et la teneur des polyphénols mesurés sur les deux parties aérienne et racinaire de la plante traité

Source de la variance	DDL	Rendement	Phénol totaux	Flavonoïde	Flavonols
Effet de partie de plante	1	741.78***	31623.69***	8027.355***	547.395***
Effet de traitement	8	6.53***	6236.6***	72.87***	52.739***
Effet de l'interaction ((P	8	7.03***	5666.53***	91.076***	73.288***
Résiduels	36	0.33	25.76	2.823	3.8

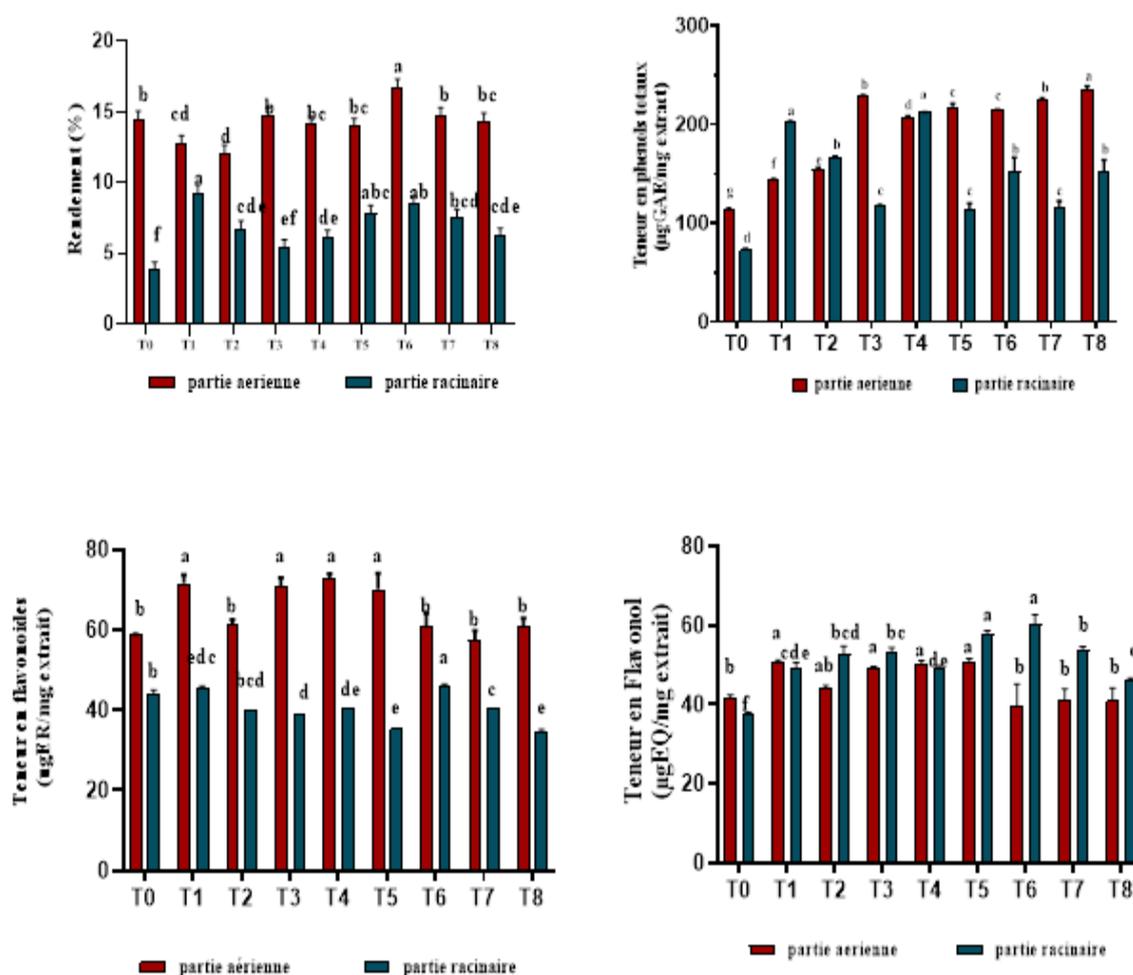
DDL : Degré de liberté ns, Non significatif. **très significatif at $p < 0.01$. *** la significativité très haute à $p < 0.001$.

Les rendements des extraits bruts ont été déterminés grâce à l'extraction brute à l'aide d'éthanol de deux parties des plantes étudiées (**fig.29A**).

Nous remarquons un accroissement prononcé du rendement (16.73 ± 0.44) enregistré chez les extraits des parties aériennes des plantes traités par la combinaison de deux hormones avec la dose de 10mg/IAAx20mg/l BAP (T6) par rapport au traitement T0 (témoin), par contre, l'application individuel par la BAP ou l'AIA n'induit pas aucun effet significatif en comparaison avec le témoin. Constatons que les parties racinaires des plantes traités par AIA

avec la dose 10 mg/l induit le rendement le plus élevé avec une valeur est égale 23,40% suivi par celui des traitement (10 mg/l IAA et 20 mg/l BAP mg/ml), (10 mg/l IAA et 10 mg/l BAP mg/ml) et (20 mg/l IAA et 10 mg/l BAP mg/ml) (9.25%, 8.45 et 7.87respectivement) ensuite vient l'extraits des plantes traitées par 20 mg/l IAA avec une valeur de 6,71% (fig.29B).

Les résultats des analyses quantitatives des extraits de deux parties de de *M. rotundifolia*. Traités effectués à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, sont présentés ci-dessous : figure29 (annexe 3).



T0 : Témoin, T1: 10 mg/l IAA, T2: 20 mg/l IAA T3 : 10mg/l BAP, T4 : 20 mg/l, T5

10mg/lIAAx10mg/lBAP,T6:10mg/lIAAx20mg/lBAP,T7 :20mg/lIAAx10mg/lBAP, T8: 20mg/lIAAx20mg/lBAP

Figure29 : Effet des régulateurs de la croissance AIA et PAB sur le rendement (A), la teneur des phénols totaux (B) flavonoïdes(C) et flavonols(D) des extraits des parties aérienne et racinaires de *M. rotundifolia* L.

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± écart type. L'ANOVA à un facteur a été utilisée pour l'analyse statistique suivie du test post-hoc de Tukey.

L'apport des acide Indole acétique et la 6- Benzyle-amino purine individuel ou combiné avec de différents concentrations (10 et 20 mg/l) a créé une différence importante dans les moyennes des dosages des polyphénols mesurés. Ces apports ont provoqué des augmentations en teneurs des composés phénoliques par rapport au témoin (T0) (fig.29B).

Selon l'analyse de la variance, les résultats indiquent que le type de traitement et leur concentration a un effet très hautement significatif sur les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en flavonols ($p < 0,001$) (Tab.19).

Les contenus phénoliques des deux parties dépendent fortement du traitement appliqué. La teneur en phénols totaux oscille entre 72.6 ± 1.22 et 229.59 ± 0.13 $\mu\text{g EAG/mg}$ et les flavonoïdes de 14.16 ± 1.15 à $73.59 \pm 0,68$ $\mu\text{g RE/mg}$, tandis que la teneur en flavonols a varié de $37.45 \pm 0,60$ à $60.44 \pm 2,31$

Les résultats de dosage des phénols totaux ont mis en évidence une augmentation significative de la concentration moyenne de phénols totaux dans les parties aériennes lors du traitement combinant 20 mg/l d'acide indolacétique (IAA) et 20 mg/l de 6-benzylaminopurine (BAP) (T8), atteignant 235.71 ± 2.37 $\mu\text{g EAG/mg}$. Ce traitement a donc été identifié comme le plus efficace pour augmenter la production de phénols totaux.

En revanche, pour les racines, le traitement avec 20 mg/ml de BAP (T4) a produit la teneur la plus élevée en phénols totaux (212.3 ± 0.4 $\mu\text{g GAE/mg}$), suivi de près par 10 mg/ml d'IAA (T1) ($202.89 \pm 0,72$ $\mu\text{g EAG/mg}$) (Fig. 23B). Les autres traitements ont montré une tendance croissante des concentrations de phénols totaux, avec $T3 > T7 > T5 > T6 > T4 > T1 > T2 > T0$ pour les parties aériennes, et $T2 > T8 > T6 > T3 > T7 > T5 > T0$ pour les racines.

Les résultats de l'étude illustré dans la figure (23.B) ont démontré que les traitements à base d'acide indolacétique (IAA) à une concentration de 10 mg/l (T1) ainsi que de 6-benzylaminopurine (BAP) à des concentrations de 20 mg/l et 10 mg/ml (T3 et T4) ont significativement augmenté la production de flavonoïdes dans les parties aériennes de la plante. Les concentrations obtenues étaient de 72.80 ± 1.2 , 71.62 ± 2.12 et 70.8 ± 2.3 et 70.12 ± 4.03 $\mu\text{g ER/mg}$ respectivement, par rapport au témoin (58.82 ± 0.17 $\mu\text{g ER/mg}$). De plus, l'apport combiné de 10 mg/l d'IAA et 10 mg/l de BAP (T5) a également montré une augmentation significative de la production de flavonoïdes dans les parties aériennes.

Les résultats ont révélé que les plantes traitées avec une combinaison de 10 mg/l d'acide indole acétique (IAA) et 20 mg/l de 6-benzylaminopurine (BAP) (T6) ont présenté la concentration la plus élevée des flavonoïdes dans leurs racines (46.17 ± 0.34 $\mu\text{g ER/mg}$), suivies

des plantes traitées uniquement avec 10 mg/l d'IAA (T1) qui ont affiché une concentration des flavonoïdes de 45.57 ± 0.54 $\mu\text{g ER/mg}$ (**Fig.29C**).

Des variations significatives ont été enregistrées dans la teneur en flavonols de la plante *M. rotundifolia* L. suite à des traitements hormonaux. La teneur la plus élevée en flavonols a été observée chez les plantes traitées avec une combinaison de 10 mg/l d'acide indole acétique (IAA) et 10 mg/ml de 6-benzylaminopurine (BAP) (BAP) (T5) dans la partie aérienne, avec une valeur moyenne de 50.94 ± 0.72 . Des valeurs de 50.68 ± 0.58 et 50.23 ± 0.99 ont également été enregistrées chez les plantes traitées avec 10 mg/l d'IAA et 20 mg/l de BAP, respectivement, tandis que la valeur minimale a été observée chez les plantes traitées avec les autres combinaisons d'hormones ainsi que le témoin (41.80 ± 0.70).

En ce qui concerne la partie racinaire de la plante *M. rotundifolia* L., les résultats montrent que la quantité la plus élevée de flavonols a été obtenue avec un traitement synergique d'IAA et de BAP. Les plantes traitées avec une combinaison de 10 mg/l d'IAA et 10 mg/l de BAP ont enregistré une teneur en flavonols de 60.44 ± 2.31 $\mu\text{g EQ/mg}$, tandis que les plantes traitées avec une combinaison de 10 mg/l d'IAA et 20 mg/ml de BAP ont enregistré une teneur de 57.77 ± 1.01 $\mu\text{g EQ/mg}$, par rapport au témoin qui avait une teneur moyenne de 37.45 ± 0.60 $\mu\text{g EQ/mg}$ (**Fig.29D**). Ces observations indiquent que l'application individuel de la BAP et leur inter actés avec l'IAA a augmenté les teneurs en phénols totaux dans les parties aérienne et les racines de *M. rotundifolia* L. respectivement, Également, la BAP stimule l'accumulation considérable des flavonoïdes des extraits des parties aériennes, tandis que l'IAA a augmenté de manière significative la quantité des flavonoïdes dans les racines. Alors que la teneur en flavonol est augmentée après l'application combiné de deux hormones dans les deux parties.

En résumé, l'étude a démontré que les traitements hormonaux (PGRs) peuvent significativement affecter la production de composés phénoliques chez la plante *M. rotundifolia* L.

En général, bien que les effets de l'auxine et de la cytokinine sur la synthèse des polyphénols ne sont pas encore bien compris, il est courant qu'une seule hormone végétale puisse réguler un large éventail de processus physiologiques et de croissance[11]. Les CKs sont des hormones de croissance qui régulent la division cellulaire et la morphogenèse des plantes, retardent la sénescence, De plus, elles sont impliquées dans la dominance apicale et influencent le développement des fleurs, des graines et l'absorption de nutriments dans les organes récepteurs. Les CKs sont également capables d'influencer l'accumulation de plusieurs classes de métabolites, notamment les acides aminés (proline, acide aminobutyrique, alanine et glycine), les glucides (sucrose, fructose, maltose et ribose) et les acides organiques impliqués

principalement dans le cycle de l'acide citrique [181], En outre, les cultures in vitro pour la production de métabolites secondaires dans les systèmes de pousses sont généralement établies en favorisant une production élevée de biomasse par la manipulation par différents concentration des cytokinines.. Le 6- benzyl-adeninopurine (BAP) est l'une des cytokinines synthétiques les plus utilisées à cet effet.

Cependant, le mécanisme sous-jacent de régulation de la voie de biosynthèse du métabolisme secondaire des plantes par la BAP n'a pas encore été élucidé. Il a été prouvé que la kinétine (un autre type de cytokinine) peut se lier à l'ARNt, ce qui peut influencer à la fois la création des acides aminés et la production des protéines. Il est envisageable que cette interaction puisse altérer l'expression génétique des enzymes clés impliquées dans le processus de développement de la plante, et potentiellement impacter la production de polyphénols. [202]. Dans ce contexte, Deikman et ses collaborateurs ont réalisé une étude en 1995 suggérant que l'accumulation d'anthocyanes chez *Arabidopsis thaliana* pouvait être accrue par l'exposition à la benzyladénine (BA). Cette hormone végétale a été montrée pour induire l'expression de la phénylalanine ammonia-lyase (PAL), une enzyme clé impliquée dans la biosynthèse de l'acide cinnamique, qui est un précurseur important dans la voie de biosynthèse des anthocyanes [203].

Les auxines sont une autre classe de phytohormones essentielles pour la croissance et le développement des plantes, agissant à la fois au niveau moléculaire et global. Lorsqu'une plante est exposée à une source de lumière, par exemple, les auxines sont impliquées dans la voie de transduction du signal qui produit des messagers secondaires. Ces messagers secondaires activent immédiatement les H⁺ATPases préexistantes et stimulent l'expression de plusieurs gènes impliqués dans la croissance et le développement. En particulier, l'indole acide acétique (IAA) joue un rôle clé dans la division cellulaire, l'élongation et la différenciation dans les plante [204]. Shah et al. (1975) ont constaté que la synthèse des polyphénols commençait après que les cellules aient entamé la phase de croissance la plus rapide dans les tissus de *Cassia* cultivés in vitro en présence des auxines. Il est logique de supposer qu'en favorisant la prolifération cellulaire dans un certain milieu hormonal qui encourage les cellules dérivées à produire davantage de polyphénols, il peut avoir un impact sur la production de polyphénols [202]. Il est suggéré que l'expression génétique d'enzymes clés au cours du processus de développement de la plante pourrait avoir une incidence sur la production de polyphénols [202].

Généralement, Les effets d'IAA et la BAP ont été largement étudiés dans les cultures in vitro, où ils ont montré leur capacité à stimuler la production de divers métabolites secondaires en affectant les voies métaboliques et en augmentant la sensibilité aux régulateurs de croissance endogènes. Toutefois, il a également été observé que l'utilisation de ces hormones végétales

peut entraîner une grande variabilité et plusieurs événements imprévisibles dans la production de ces métabolites, limitant ainsi leur application pratique [246]. Selon une étude menée par Shah et al. (1975), l'IAA a stimulé la production de polyphénols dans les cultures de *Cassia in vitro* [242]. De même, le niveau de composés phénoliques a augmenté dans les racines velues de *Panax ginseng* C. A. Meyer cultivées sur un milieu supplémenté avec une faible concentration d'IAA [109]. Dans les cultures de racines velues du cultivar de sarrasin *Tartarian*, l'IAA a augmenté la production d'anthocyanes [112]. De même, le BAP a augmenté les phénols totaux et les flavonoïdes dans *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* et a amélioré les composés phénoliques dans les parties aériennes de *M. piperita* [106,190]. Il est important de noter que les résultats peuvent varier selon les espèces et les conditions de culture. Cela suggère que l'effet des hormones végétales sur la production de métabolites secondaires peut être spécifique à chaque espèce et peut être influencé selon le type et leur concentration

Bien que le rôle précis de l'IAA ou du BAP dans la voie de biosynthèse des substances phytochimiques reste encore à déterminer, des études ont mis en évidence l'influence de ces hormones végétales sur l'accumulation de certains métabolites chez les plantes cultivées en plein champ. Par exemple, Li et al. ont montré que l'IAA pouvait significativement augmenter l'accumulation de flavonoïdes chez *Glycyrrhiza uralensis* [248]. De même, Mirheidari et al. ont observé une augmentation significative de la teneur en phénols chez *Hibiscus sabdariffa* L. suite à l'application exogène d'IAA [204], ce qui confirme les résultats du présent travail. Mais ces résultats suggèrent que l'utilisation d'IAA ou de BAP pourrait être une stratégie prometteuse pour améliorer la production de métabolites d'intérêt commercial chez certaines plantes. Toutefois, une exploration plus approfondie est requise pour mieux appréhender les mécanismes sous-jacents de cette régulation hormonale et pour évaluer les effets de ces hormones végétales sur la qualité et la sécurité des produits issus de ces plantes.

II.2.3. Profil phénolique des extraits des plantes traités

Les compositions chimiques des polyphénols présents dans les parties aériennes et racinaires des plantes ont été analysées et les résultats sont présentés dans les tableaux 15 et 16 pour les plants traités et non traités (témoin).

L'analyse par LC-MS a permis d'identifier un total de 17 composés, comprenant des acides phénoliques et des flavonoïdes dans les extraits de deux parties de *M. rotundifolia*. Les traitements ont entraîné des augmentations significatives dans la teneur des composés phénoliques comparés au contrôle. L'acide quinique, l'acide rosmarinique et l'acide salvianolique ont été identifiés comme les principaux composés phénoliques dans la partie aérienne, avec des quantités respectives de 59.535, 62.566 et 73.651 µg/g (Tab.20). Dans les

racines, les principaux composés phénoliques étaient l'acide salviolinique (41.317ug/g), l'acide rosmarinique (32.132ug/g), l'acide quinique (17.104ug/g) et l'acide caféique (14.397ug/g), qui représentaient ensemble la majorité des composés phénoliques identifiés dans les racines (Tab.21).

La partie aérienne de la plante semble être plus sensible au traitement individuel au BAP, qui a montré un impact significatif sur la quantité et la qualité des composés phénoliques produits. En effet, les valeurs d'acide salviolinique a enregistré des variations importantes, passant de 10,436 ug/g (T0) à 73,651 ug/g dans la partie aérienne traitée avec 20 mg/l de BAP (T4), ce qui représente la plus forte augmentation. De même, la quantité d'acide rosmarinique a considérablement augmenté avec les traitements T3 et T4 (10 et 20 mg/l de BAP), passant de 17,336 ug/g dans la plante non traitée à 66.265 et 62.566 ug/g, respectivement. En revanche, l'acide trans-férulique n'a pas été détecté dans la partie aérienne de la plante non traitée, mais après la stimulation par des facteurs de croissance, des quantités allant de 0.029 à 0.058 ug/g ont été observées, Alors que Le traitement interagissant l'IAA et le BAP à une concentration de 20 mg/m a entraîné presque une multiplication par deux de la teneur en acide quinique, passant de 35.52 ug/g dans le groupe témoin à 64.318 ug/g.

Concernant les racines, L'analyse de la composition phénolique varie quantitativement en fonction de type d'hormone appliqué et leur concentration, nous observons que la quantité d'acide salviolinique a augmenté de façon considérable après le traitement par 10mg/l(T3), passant de 28.232(T0) à 41.31ug/g, alors qu'une modeste augmentation a été observée pour les autres traitements. Tandis que, l'acide rosmarinique a enregistré de bonne quantité après un traitement combiné par les deux hormones (20mg/l IAAx20mg/l BAP) avec de l'ordre atteint 47,107 ug/g, en comparant avec qu'il lui obtenus par le témoin (30.979) (Tab.20).

Des observations complémentaires ont été faites, révélant une augmentation significative de la teneur de manière notable en acide protocachuique, passant de 4.99 mg/l (témoin)à 8.75 mg/l, après le traitement avec 10 mg/l de BAP. De plus, une légère augmentation des concentrations d'acide caféique et d'acide syringique a été enregistré par rapport au témoin. En ce qui concerne les flavonoïdes, une augmentation remarquable de la concentration de naringénine a été observée après le traitement avec 20 mg d'IAA, passant de 1.73 mg/l (témoin) à 5.93 mg/l.

Tableau20: Composants phénoliques dans la partie aérienne et les racines de *M. rotundifolia* traitées avec l'acide indole acétique (IAA) et la N6-benzyladéninepurine (BAP). ... Les valeurs représentent les quantités de composés phénoliques individuels en ug/g d'extrait.

Tr : temps de rétention ; ND : non détecté

Composés extrait)	phénolique(ug/g	Tr	Témoïn (T0)	IAA		BAP		Interaction AIA*PAB			
				10mg/l (T1)	20mg/l (T2)	10 mg/l (T3)	20 mg/l (T4)	10AIA*10BAP (T5)	10AIA*20PB (T6)	20AIA*10PB (T7)	20AIA*20 AP(T8_)
A.Quinique		2.474	35.52	37.042	42.548	59.535	46.249	54,858	44,658	27,463	64,318
A.Gallique		2.258	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,061	ND
A.Protocachuique		2.258	2.472	6.291	1.292	1.834	1.202	1,231	1,014	1,400	0,283
A.Caféique		7.016	1.689	14.813	2.754	1.883	3.351	3,735	2,914	2,272	2,850
A.Syringique		15.989	3.384	6.131	3.032	3.321	2.463	3,374	3,317	4,194	0,575
A. p-coumarique		18.094	0.692	1.394	0.197	0.188	0.207	0,274	0,148	0,584	0,130
A.trans-ferulique		25.551	ND	0.058	0.029	0.031	0.030	ND	ND	0,102	0,047
Rutin		22.801	0.253	0.147	0.341	0.409	0.729	0,498	0,288	0,050	ND
Luteolin-7-o-glucoside		25.510	1.449	0.147	1.718	2.693	3.065	3,823	3,268	1,301	9,790
Naringine		27.863	1.749	0.866	1.119	1.431	1.891	2,216	1,462	-	8,21
Apegenin-7-o-glucoside		28.076	0.466	0.180	0.537	0.575	0.695	0,750	0,593	0,508	2,480
A.Rosmarinique		30.823	17.33	25.944	42.509	66.265	62.566	51,752	44,658	23,997	33,823
A.Salviolinique		30.011	10.46	36.595	20.218	37.46	73.651	37,492	37,04	63,01	63,661
Naringénine		31.220	0.320	0.611	0.819	0.608	0.713	0,594	2,914	0,769	3,869
Apigénine		37.027	0.186	0.586	0.430	0.273	0.399	0,267	0,106	0,653	1,443
Cirsiliol		37.578	0.079	1.037	1.119	1.966	1.987	1,173	0,523	2,664	4,647
Acacétine		38.818	0.171	0.236	0.602	0.700	0.654	0,570	0,375	0,668	8,810

Tableau 21: Composants phénoliques dans les racines de *M. rotundifolia* traitées avec l'acide indole acétique (IAA) et la N6-benzyladéninepurine (BAP). Tr: temps de rétention ; ND : non détecté

Composés phénolique (ug/g extrait)	Tr	Partie racinaire								
		Without PGR	IAA		BAP		Interection AIA*PAB			
			10mg/l	20mg/l	10 mg/l	20 mg/l	10IAA*10PAB	10IAA*20PAB	20IAA*10PAB	20IAA*20 PAB
Acide quinique	2.474	21.343	8.906	9.648	17.104	15.906	17.883	16.181	26.417	25.643
Acide Gallique	2.258	0.221	0.441	1.002	0.487	0.182	0.578	0.411	ND	ND
Acide Protocachuique	2.258	4.998	7.050	5.453	8.754	6.004	5.804	6.241	1.179	1.532
Acide caféique	7.016	12.517	11.130	10.843	14.397	10.013	2.569	7.260	9.354	7.040
Acide syringique	15.989	4.618	5.547	3.128	6.714	3.751	4.484	3.501	0.590	1.326
Acide p-coumarique	18.094	0.028	0.027	0.014	0.063	0.041	0.004	0.047	0.007	0.023
Acide trans frulique	5..551	0.043	0.040	0.033	0.058	0.038	0.005	0.037	0.040	0.037
Rutin	22.801	0.055	0.077	0.083	0.059	0.097	0.031	0.058	ND	0.014
Luteolin-7-o-glucoside	25.510	0.034	0.014	0.032	0.041	0.035	0.034	0.046	0.050	0.061
Apegenin-7-o-glucoside	27.863	0.023	0.026	0.011	0.033	0.022	0.025	0.036	0.029	0.037
Acide Rosmarinique	28.076	30.979	23.965	28.618	31.703	32.132	20.325	34.427	34.081	47.107
Acide Salviolinique	30.823	28.232	20.810	23.283	41.317	25.962	12.020	26.492	24.714	21.520
Naringenine	30.011	1.738	1.527	5.931	1.475	2.432	1.289	4.101	1.490	4.516
Apegenin	31.220	0.126	0.098	0.401	0.122	0.482	0.213	0.276	0.033	0.130

Dans cette étude, le traitement par l'IAA et la BAP a augmenté de manière significative les acides salviolinique, rosmarinique et quinique parmi des autres composés phénoliques. Ces résultats sont cohérents avec la littérature sur l'utilisation de facteurs de croissance pour stimuler la production de métabolites secondaires dans les cultures cellulaires. Weremczuk-Jeyna et al. (2018) ont constaté une augmentation des teneurs en acides salviolinique et rosmarinique dans les pousses de *Dracocephalum forrestii* cultivées dans un milieu supplémenté avec différentes concentrations d'IAA et de BAP[205].

Grzegorzcyk-Krolak et al. (2016) ont également observé une stimulation de la production de flavones (baicaline, wogonoside, lutéoline, lutéoline-7-O-glucoside, verbascoside) dans des cultures de pousses de *Scutellaria altissima* supplémentées avec différents facteurs de croissance tels que le BAP[129]. Selon Taha et al., les facteurs de croissance influencent la biosynthèse des métabolites en régulant l'expression des enzymes impliquées dans les réactions de biosynthèse et en contrôlant le taux de protéines exprimées[206].

II.2.4. Effet des phytohormones sur quelques activités biologiques des extraits de plantes

Afin de mieux comprendre l'effet des phytohormones sur la production de nouveaux composés naturels ayant des propriétés biologiques potentielles, nous avons étudié les propriétés antioxydantes et enzymatiques des extraits de plantes traitées. Étant donné qu'il n'existe pas de méthode normalisée pour la détermination de ces propriétés, il est fortement recommandé d'utiliser plusieurs tests pour évaluer la capacité des plantes traitées par les phytohormones. Dans cette étude, nous avons utilisé sept tests d'activité antioxydante, ainsi que deux tests d'activité enzymatique couramment utilisés dans notre équipe. Cette approche nous permettra d'obtenir une précision complète de l'efficacité antioxydante et enzymatique des plantes traitées. Elle nous permettra également de mieux comprendre l'effet des phytohormones sur ces propriétés biologiques. Les résultats de cette étude pourront aider à améliorer la production de composés antioxydants et anti-enzymatiques plus efficaces pour des applications en médecine, en cosmétique ou en alimentation.

Les résultats des activités biologique (antioxydant et enzymatique) mesurés sont soumis à une analyse de variance à deux facteurs étudiés (facteur : partie de la plante ; avec deux niveaux Partie aérienne et partie racinaire et le facteur du traitement ; avec 9 niveaux 10mg/l IAA, 20mg/l IAA, 10mg/l BAP, 20mg/l BAP, 10mg/lIAAx10mg/lBAP ; T6,10mg/l IAAx20mg/l BAP ;T7, 20mg/l IAAx10mg/l BAP; T8, 20mg/l IAAx20mg/l BAP et le contrôle) après avoir vérifié les conditions d'application de ce test.

Tableau22 : Carrés moyens des activités biologiques mesurés sur les deux parties aérienne et racinaire de la plante traité

Source de la variance	DDL	DPPH	ABTS	B-carotene	FRAP	CUPRAC	Phénantroline	SNP	Glucoside	AChE
Effet de la partie de la plante	1	.430 ^{NS}	22335.76***	2193609.27***	4970.690***	29.28***	216.50***	8953.661***	175662.667	46147.740
Effet de traitement	8	589.170***	876.9***	48373.099***	583.862***	471.2***	114.70***	238.015***	50012.506	2509.714
Effet de l'interaction ((P x T)	8	161.769***	906.7***	39746.81***	68.073***	123.15***	54.44***	243.476***	35043.193	1747.147
Résiduels	36	1.297	0.94	16.3	1.2	.373	0.299	0.52	0.757	6.240

DDL : Degré de liberté ns, Non significatif. **très significatif at $p < 0.01$. *** la significativité très haute à $p < 0.001$.

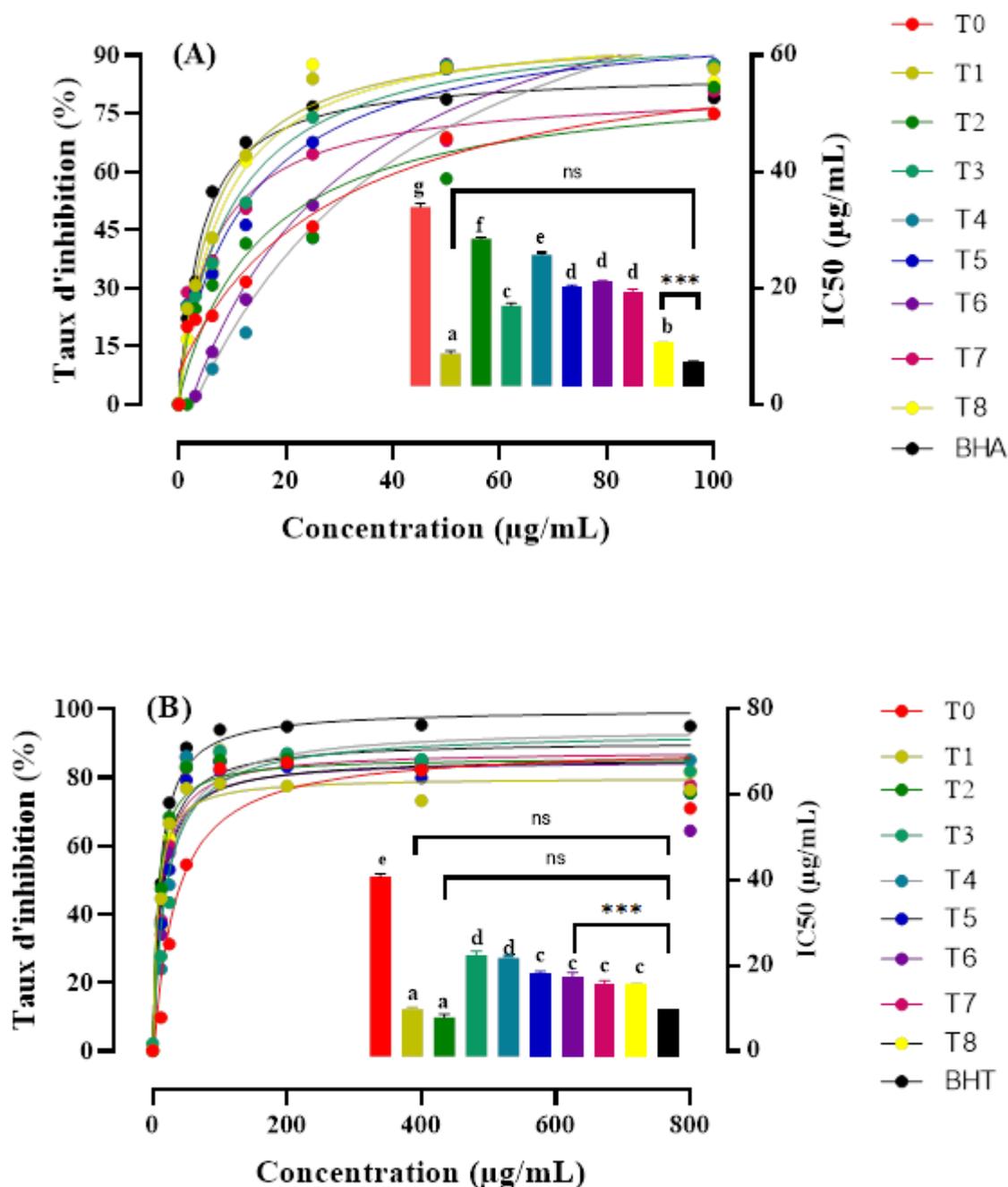
II.2.4.1. Effet d'application IAA et BAP sur les activités antioxydant des extraits de plante

L'effet des hormones végétales IAA et BAP sur l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de deux parties de la plante *M. rotundifolia* L. a été étudié à l'aide de différentes méthodes. Les extraits ont montré des niveaux d'activité variables, exprimés en valeurs IC₅₀ et A_{0,5}, lesquels indiquent l'activité antioxydante de l'extrait, une IC₅₀ et un A_{0,5} plus faibles étant associés à une activité antioxydante plus élevée (annexe 4). L'analyse d'ANOVA à deux facteurs a démontré que le traitement avec les hormones végétales, la partie de la plante et l'interaction entre les deux (Traitement*partie) ont tous un effet significatif sur l'activité antioxydante, avec une p-value inférieure à 0,001 (Tableau 22).

II.2.4.1. 1. Mesure de l'effet inhibiteur sur le radical diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Les données présentées dans la figure (30) ressortent que le type de phytohormone utilisé, sa concentration ainsi que le tissu végétal ont une influence significative sur l'activité antiradicalaire DPPH. Les parties aériennes ont montré une activité antioxydante plus élevée que les racines, avec une valeur IC₅₀ passant de 42.42±1.46 µg/ml (contrôle) à 8,41 µg/ml avec le traitement T1. Lorsqu'il s'agit d'évaluer l'effet du traitement sur la réduction du DPPH, l'ordre décroissant d'efficacité est le suivant : T1 > T8 > T3 > T7 > T5 > T6 > T4 > T2 > T0. Notons que le traitement T1 (10mg/ml AIA) a présenté la meilleure activité antioxydante et était similaire au standard BHT (5.73±0,41 µg/ml) (**Fig.30A**).

Concernant les racines, la valeur IC₅₀ a également diminué de 49,69±1,45 µg/l (contrôle) à 11,88±1,39 µg/ml (T2) avec un ordre d'effet suivant : T2 > T1 > T7 > T8 > T6 > T5 > T4 > T3 > T0 µg/ml. Les extraits obtenus après application de l'IAA, quelle que soit la concentration (10mg/l ou 20mg/l), ont montré une augmentation de la capacité d'inhibition du DPPH avec des valeurs respectives de 13.14±0.40 et 11.88±1.39 µg/ml et ont été rapprochés du standard BHT (13.00±0.41 µg/ml) (Fig.30B).



T0 : Témoin, T1: 10 mg/l IAA, T2: 20 mg/l IAA T3 : 10mg/l BAP, T4 : 20 mg/l, T5

10mg/lIAAx10mg/lBAP,T6:10mg/lIAAx20mg/lBAP,T7 :20mg/lIAAx10mg/lBAP, T8: 20mg/lIAAx20mg/lBAP

Figure30 : Taux d'inhibition et les valeurs d'IC50 du radical libre DPPH dépendants des concentrations des extraits de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B)de la plante traitée et non traitées

Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents à un seuil de $p < 0,05$, selon le test de Tukey ($P < 0,05$), (a, b ...) pour la comparaison entre les échantillons et (*) avec les standards (BHA ou BHT)

II.2.4.1. 2. Mesure de l'effet inhibiteur sur le radical ABTS

La figure (31) illustre les résultats des essais d'activité antiradicalaire vis-à-vis des ABTS pour les échantillons étudiés. Les concentrations d'inhibition à 50% (IC50) pour les parties aériennes de *Mentha rotundifolia* varient de 20.57 ± 0.02 (T2) à 94.55 ± 0.22 ug/ml (contrôle). L'échantillon traité avec T2 (20mg/l IAA) est le plus actif avec une excellente capacité de piégeage des radicaux ABTS, suivi du traitement combiné de deux hormones avec la grande concentration (20AIA*20PAB) avec une valeur de 25.16 ± 0.45 ug/ml (**Fig.31A**).

De plus, Les extraits des parties racinaires de *Mentha rotundifolia* traitées avec les phytohormones ont également montré une activité antiradicalaire significative par rapport au plante non traité. (**Fig.31B**).

De plus, il est essentiel de souligner que le traitement combiné (20AIA*10PAB) a un effet significatif sur l'activité antiradicalaire des racines avec un IC50 de 6.13 ± 0.34 ug/ml, une valeur proche de celle obtenus par l'antioxydant standard (BHT= $1,59 \pm 0,02$ ug/ml). Les autres traitements présentent un ordre décroissant d'activité antiradicalaire, comme suit : T8 > T2 > T4 > T5 > T3 > T6> T1> T0.

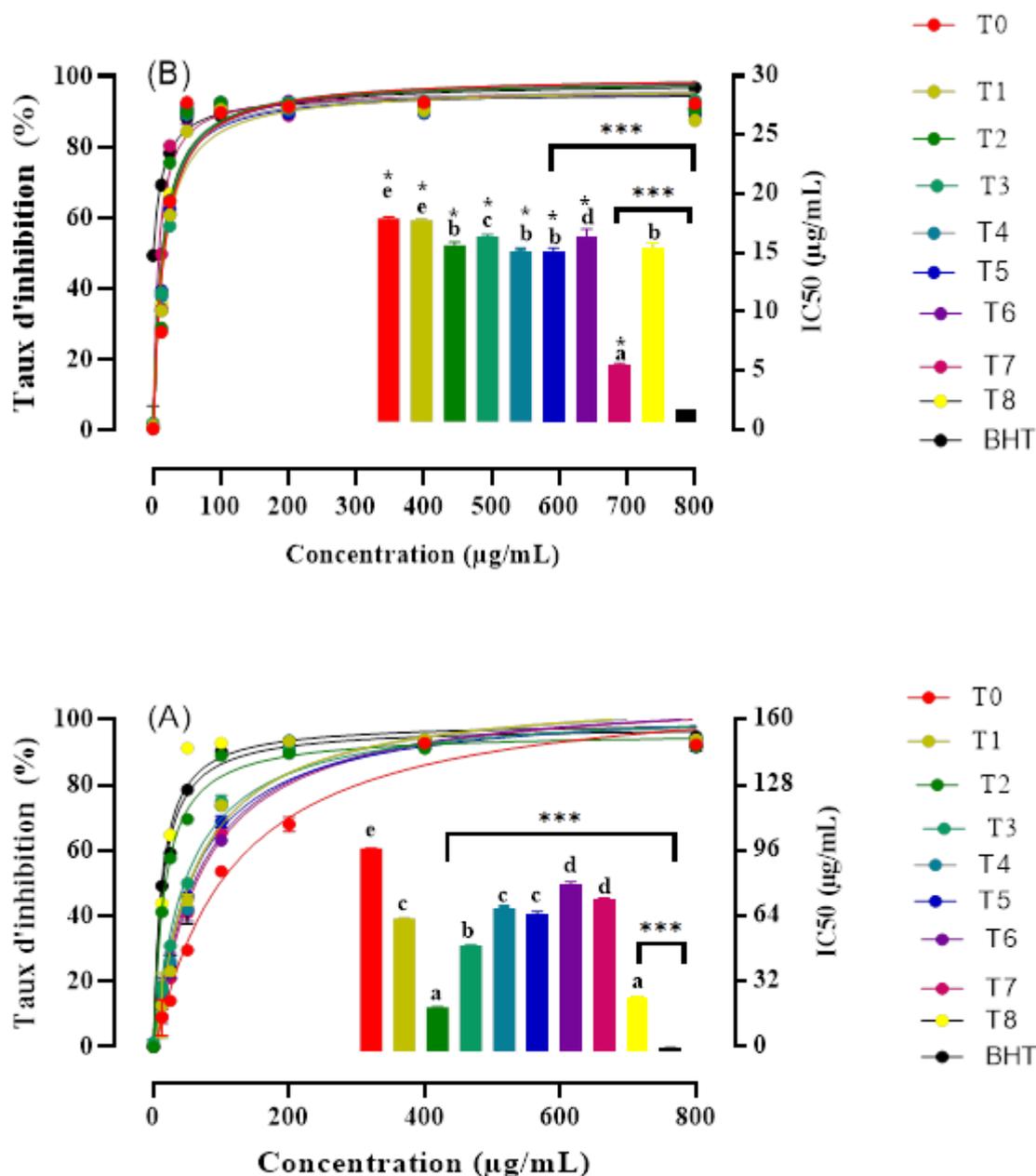


Figure 31 : Taux d'inhibition et les valeurs d'IC50 d'ABTS dépendant des concentrations des extraits de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante traitée et non traitée

Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents à un seuil de $p < 0,05$, selon le test de Tukey ($P < 0,05$), (a, b ...) pour la comparaison entre les échantillons et (*) avec les standards (BHT).

II.2.4.1. 3. Test d'inhibition le blanchiment du β -carotène

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante à l'aide du système β -carotène/acide linoléique ont démontré une corrélation directe entre le taux d'inhibition la peroxydation d'acide linoléique et la concentration de l'extrait de plante testé.

Chaque extrait présente un effet inhibiteur sur la décoloration du β -carotène, mais à des niveaux variables.

Le type de traitement a significativement influencé l'activité antioxydante de tous les organes testés, mais les parties aériennes des plantes ont montré une inhibition significativement plus élevée du blanchiment du β -carotène que les racines (Figure 32). Comparativement aux plantes non traitées, tous les traitements, sauf le traitement combiné (20mg/L IAA*20 mg/L BAP) ($93,48 \pm 0,41$), ont amélioré l'activité d'inhibition du blanchissement du β -carotène. L'extrait obtenu à partir du traitement T5 a induit l'effet le plus élevé ($IC_{50} = 23.95 \pm 0.36 \mu\text{g/ml}$), suivi par T7(20AIA*10PAB) ($25.33 \pm 2.59 \mu\text{g/l}$), 10AIA(T1) ($IC_{50} = 28.18 \pm 0,51 \mu\text{g/l}$), 10PAB T3 ($36.89 \pm 0.51 \mu\text{g/ml}$), 10AIA*20PAB (T6)($38.41 \pm 0.81 \mu\text{g/ml}$), 20PAB (T4) ($48.08 \pm 0.47 \mu\text{g/ml}$), et enfin 20AIA(T2) ($73.65 \pm 0.64 \mu\text{g/ml}$)(Fig.32A). Cependant, en comparaison avec le standard (BHT), les échantillons sont moins actifs.

En ce qui concerne les racines, celles-ci ont montré un effet plus faible que les parties aériennes, avec des valeurs de CI_{50} élevées. Les traitements T3, T2, T4, T7 et T6 ont amélioré l'activité des racines, tandis que les traitements T1, T8 et T5 ont provoqué une diminution de l'activité ($IC_{50} = 650.57 \pm 8.25 \mu\text{g/ml}$, $625.44 \pm 1.83 \mu\text{g/ml}$ et 580.3 ± 3.42 , respectivement) par rapport au contrôle ($IC_{50} = 571,31 \pm 5,95 \mu\text{g/ml}$) (Fig.32B). En revanche, le BHT a montré un pouvoir prévenir le blanchissement du β -carotène à celui des différents échantillons testés.

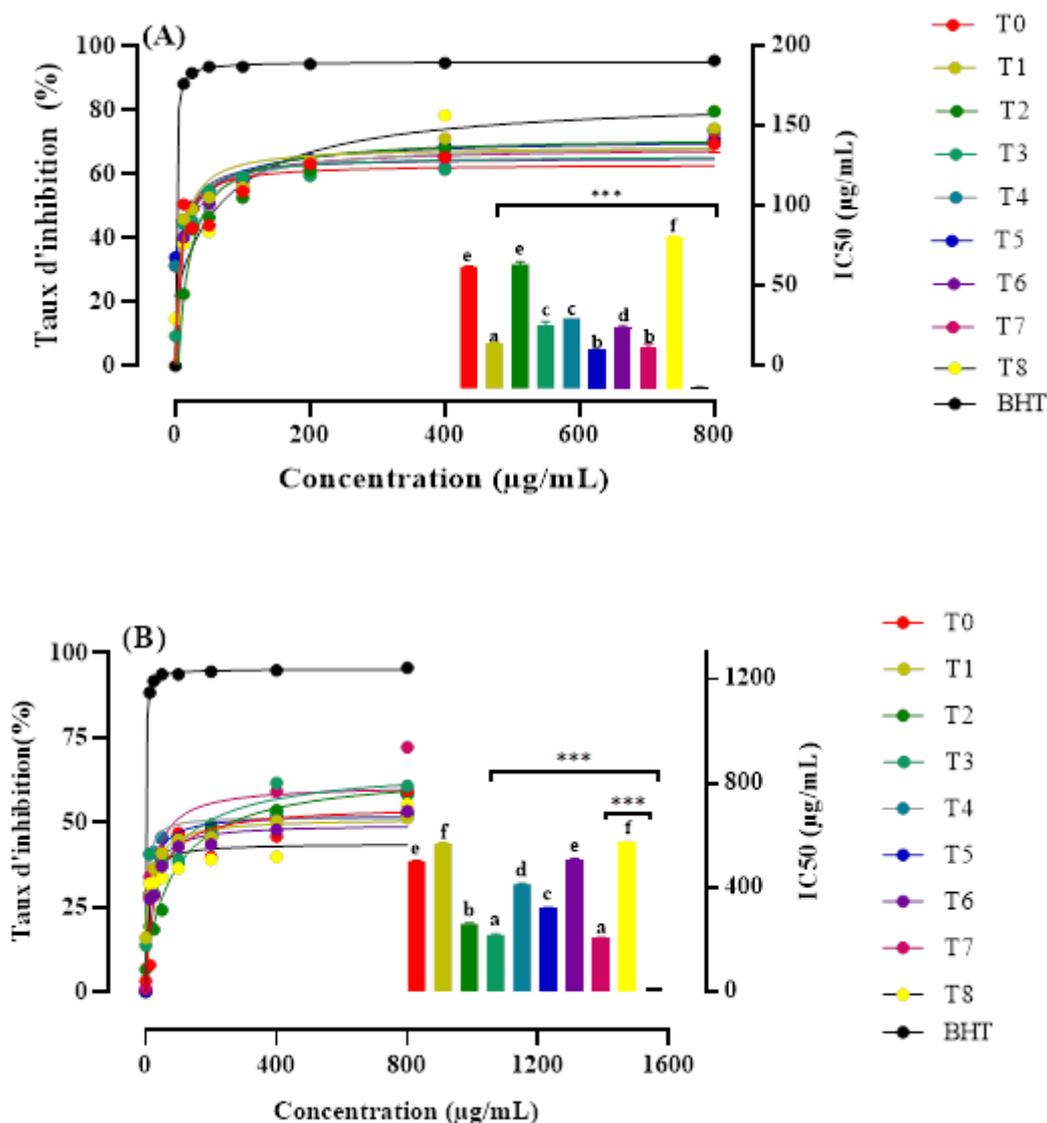


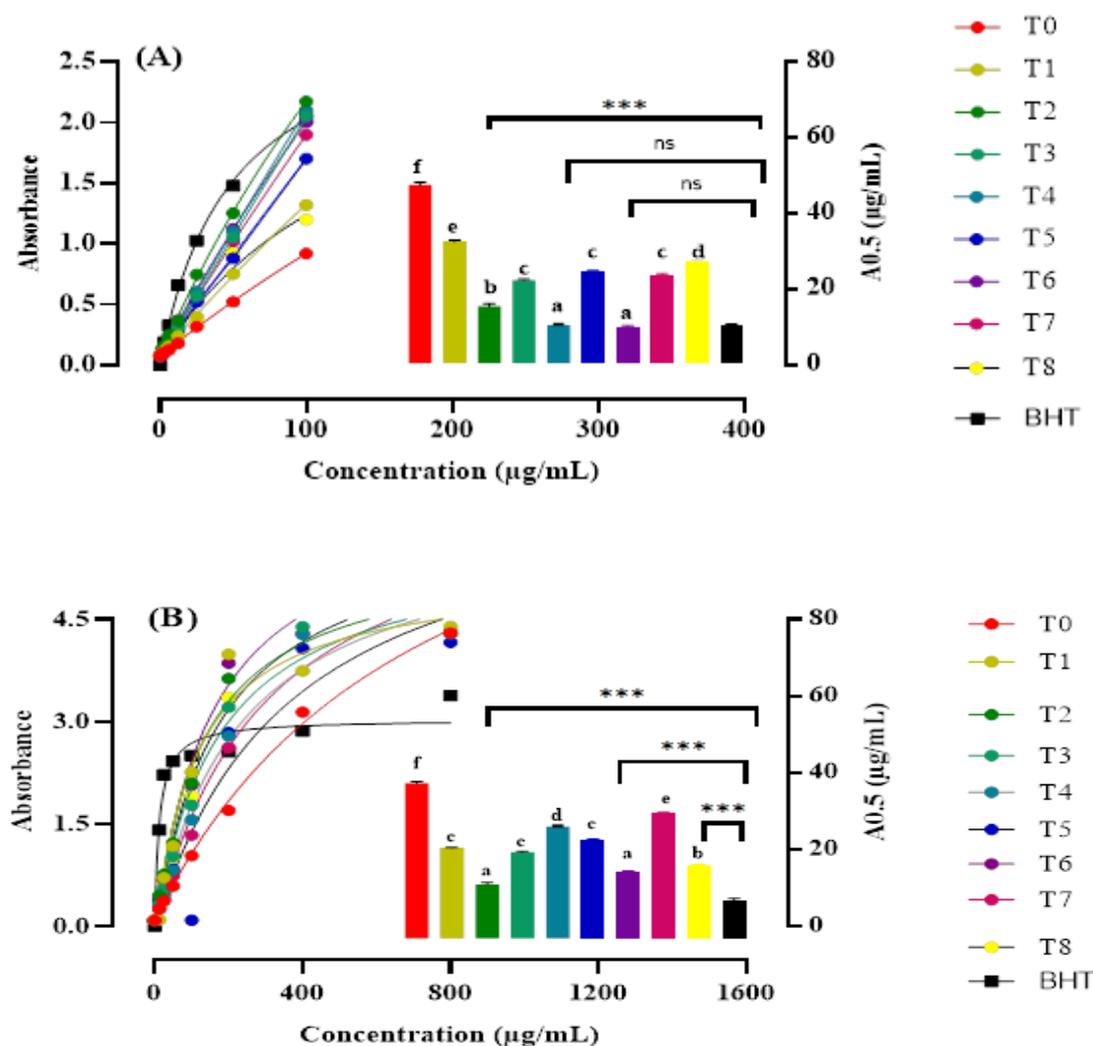
Figure32 : Taux d'inhibition et les valeurs d'IC50 de blanchiment du β -carotène dépendant des concentrations des extraits de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante traitée et non traitée.

Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents à un seuil de $p < 0,05$, selon le test de Tukey ($P < 0,05$), (a, b ...) pour la comparaison entre les échantillons et (*) avec le standard (BHT).

I.2.4.1. 4. Méthode de réduction le cuivre (CUPRAC)

Les données illustrées dans la figure(33) suppose que tous les traitements ont eu un effet bénéfique sur la réduction de la concentration d'ions de cuivre. Les traitements T4 (20mg/L BAP) et T6 ((10 mg/L IAA*20 mg/L BAP) dans la partie aérienne, ainsi que T2 (20 mg/L IAA*20 mg/L BAP) dans les racines, ont montré les plus grandes capacités de réduction, avec des valeurs A0.5 de $9,46 \pm 0,32 \mu\text{g/ml}$, $10,58 \pm 0,36 \mu\text{g/ml}$ et $14,48 \pm 0,26 \mu\text{g/ml}$, respectivement, comparativement au témoin. Les autres traitements ont également réduit les ions de cuivre avec

des capacités allant de modérées à bonnes. Les valeurs A0.5 pour T3, T7, T8 et T1 dans la partie aérienne étaient respectivement de $21,60 \pm 0,30 \mu\text{g/ml}$, $22,80 \pm 1,35 \mu\text{g/ml}$, $26,33 \pm 0,16 \mu\text{g/ml}$ et $31,73 \pm 0,48 \mu\text{g/ml}$ (fig. 33A). Concernant les racines, les valeurs étaient de $13,82 \pm 0,41$, $18,47 \pm 0,41$, $22,01 \pm 0,4 \mu\text{g/ml}$ pour les plantes traitées avec T6, T8, T3, respectivement (fig. 33B). En comparant aux résultats obtenus avec le standard BHT, Il est remarquable de constater que les traitements T4 et T6 sont les seuls à avoir des valeurs d'A0.5 les plus proches de ce standard, parmi tous les échantillons testés.



ui

Figure33 : Taux d'inhibition et les valeurs d'A0.5 du pouvoir de la réduction du cuivre (CUPRAC) dépendant des concentrations des extrais de la partie aérienne (A)et la partie racinaire (B) de la plante traitée.

Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents à un seuil de $p < 0,05$, selon le test de Tukey ($P < 0,05$), (a, b ...) pour la comparaison entre les échantillons et (*) avec le standard (BHT).

II.2.4.1. 5.Méthode de réduction le fer (FRAP)

La figure (34) montre que l'application des phytohormones IAA et BAP avec différents doses favorise le pouvoir réducteur des extraits des parties aériennes et racinaires.

Le pouvoir réducteur ferrique diminue dans la partie aérienne dans l'ordre suivant : T1 > T8 > T6 > T3 > T2 > T5 > T7 > T0, Les plantes traitées avec 10 mg/l d'IAA (T1) ainsi qu'avec l'interaction entre IAA et BAP à une concentration de 20 mg/L IAA*20 mg/L BAP présentent une forte puissance a réduit le fer comparativement au témoin, leur A0.5 est de 9.77 ± 0.15 et $8.56 \pm 0,07$ $\mu\text{g/ml}$ respectivement (**fig. 34A**). Cette A0.5 n'est pas différente de celle de l'acide ascorbique.

Selon la figure (34B), les différents traitements ont augmenté l'activité de réduction des extraits des parties racinaires par rapport au témoin, avec l'ordre suivant : T8 > T3 > T4 > T6 > T2 > T7 > T5 > T0. Cependant, l'application de 10 mg/ml de BAP (T3) a induit une forte action vis-à-vis de Fe^{3+} avec une valeur de $A0.5 = 29.32 \pm 1.06$ mg/l. Cette valeur reste toutefois néanmoins moins active que l'antioxydant de synthèse

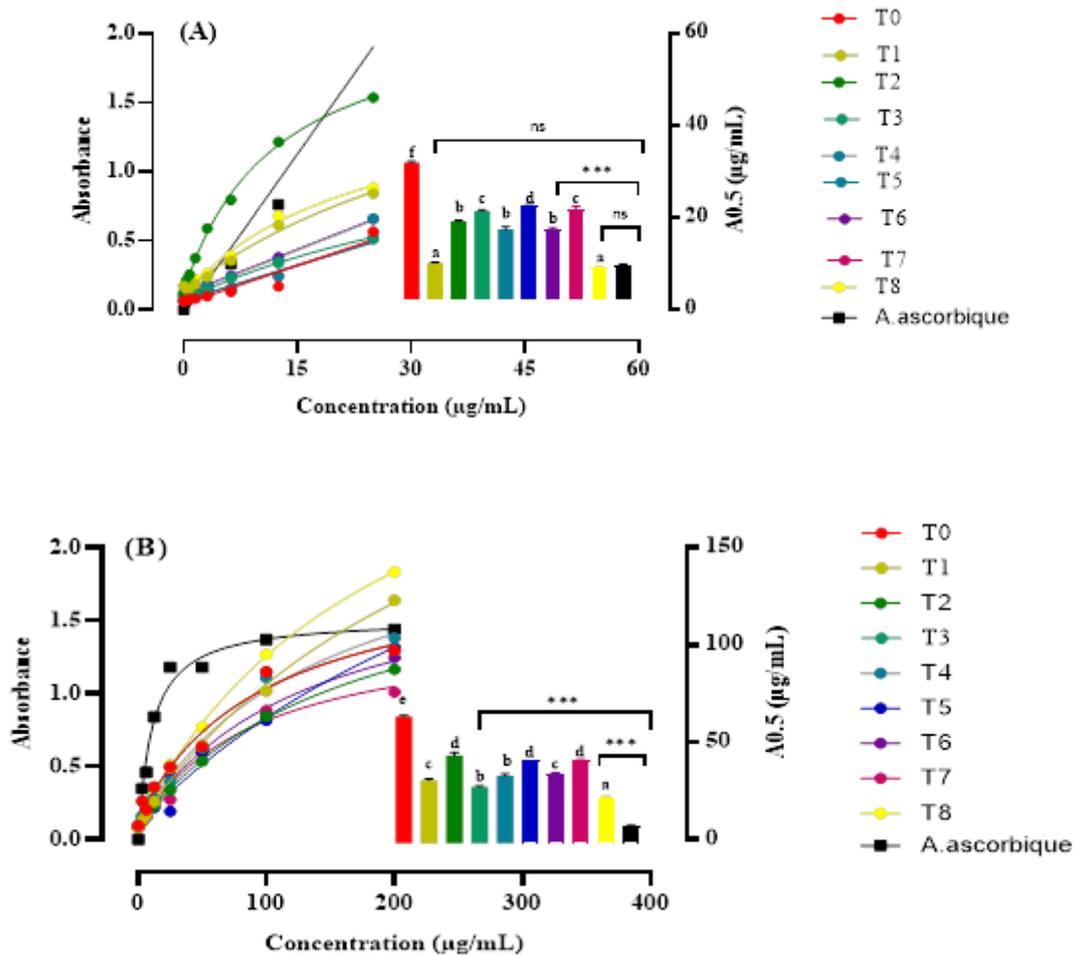


Figure 34 : Taux d'inhibition et les valeurs d'A0.5 du Pouvoir réducteur de fer (FRAP)

en dépendant des extraits de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante traitée

Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents à un seuil de $p < 0,05$, selon le test de Tukey ($P < 0,05$), (a, b ...) pour la comparaison entre les échantillons et (*) avec le standard (Acide ascorbique).

1.2.4.1. 6. Méthode de la réduction du fer dans le complexe phénanthroline- Fe^{3+} (Test de Phénantroline)

Le test de réduction des ions de fer par la méthode de phénantroline a mis en lumière des capacités remarquables dans tous les extraits (**Fig.35**). Les traitements par les régulateurs de croissance ont produit une amélioration significative de la capacité de réduction du fer par les extraits comparativement au groupe témoin (T0). Il convient de noter que les parties aériennes ont montré un effet plus marqué que les racines, En excluant le traitement spécifique T2 (20 mg/ml), on observe que celui-ci présente le plus faible A0,5 ($4.48 \pm 0,13 \mu\text{g/ml}$) dans les racines.

Les extraits des parties aériennes des plantes traitées avec différentes phytohormones ont présenté les capacités d'inhibition les plus élevées, avec des valeurs variant de 5.68 ± 0.04 (T1)

à 10.11 ± 0.71 (T6) par rapport au contrôle ($15.25 \pm 0.41 \mu\text{g/ml}$) (Fig.35A). Dans les racines, ces valeurs ont varié de 4.48 ± 0.13 (T2) à 18.90 ± 0.33 (T5) $\mu\text{g/ml}$ par rapport au contrôle ($A_{0,5} = 24.35 \pm 0.39 \mu\text{g/ml}$) (Fig. 35B).

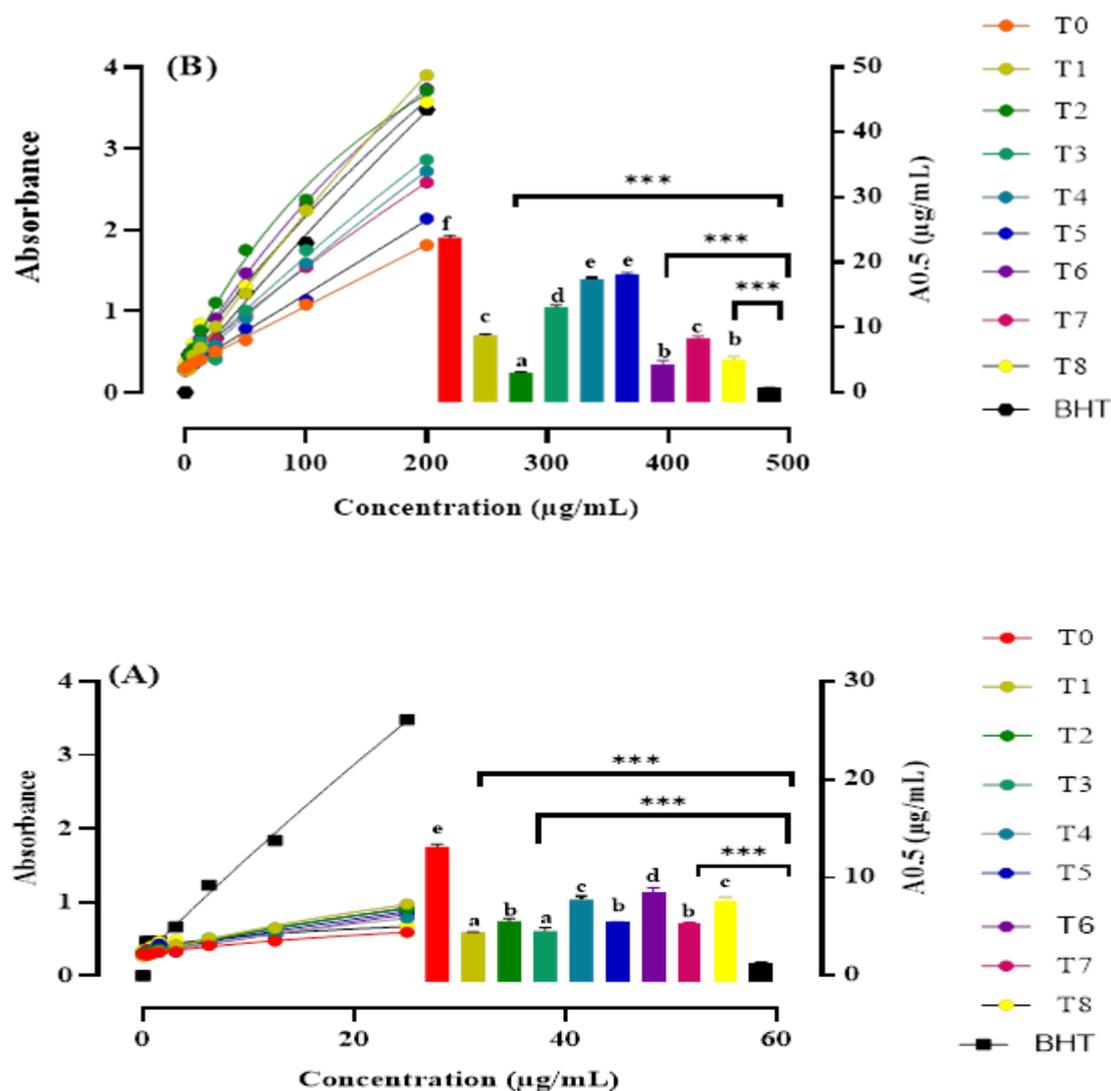


Figure35 : Taux d'inhibition et les valeurs d'A0.5du complexe phénanthroline-Fe³⁺ (Phénanthroline) dépendant des concentrations des extraits de la partie aérienne (A)et la partie racinaire (B) de la plante traitée.

Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents à un seuil de $p < 0,05$, selon le test de Tukey ($P < 0,05$), (a, b ...) pour la comparaison entre les échantillons et (*) avec le standard (BHT).

II.2.4.1. 7. Test des nanoparticules d'argent (Silver nanoparticules assay NSP)

L'étude de l'effet des phytohormones sur le pouvoir des extraits à réduire les ions Ag⁺ était illustrée dans la figure (36, annexe5).

Tous les extraits ont montré des capacités réductrices efficaces vis-à-vis les ions Ag^{2+} à des concentrations faibles, comparables à celles du standard. Les parties aériennes ont montré une plus grande efficacité que les racines dans la réduction des ions Ag^{2+} . L'effet variait selon avec le tissu de la plante utilisée, le type de phytohormones et de leur concentration. Parmi les traitements appliqués, nous avons observé que l'application de l'interaction AIA et BAP à une dose de (20 mg/ml AIA + 10 mg/ml BAP) induisait la meilleure réduction des ions Ag^{2+} présents dans l'extrait de la partie aérienne ($A_{0.5} = 1.97 \pm 0.04$), supérieure à celle de l'acide ascorbique standard (7.14 ± 0.03) (Fig. 36A). Les autres traitements ont présenté des capacités de réduction dans l'ordre décroissant suivant : $T7 > T3 > T5 > T2 > T4 > T6 > T1 > T0 > T5$. En ce qui concerne les racines, la valeur de l' $A_{0.5}$ a également diminué de manière significative, passant de $42.92 \pm 0.84 \mu\text{g/ml}$ (contrôle) à $8.83 \pm 0.57 \mu\text{g/ml}$ après l'application du traitement T1, qui est proche de la valeur obtenue avec l'acide ascorbique. Les différents traitements ont été classés par ordre décroissant de leur efficacité, comme suit : $T1 > T2 > T6 > T5 > T3 > T8 > T4 > T7 > T0$ (Fig. 36B).

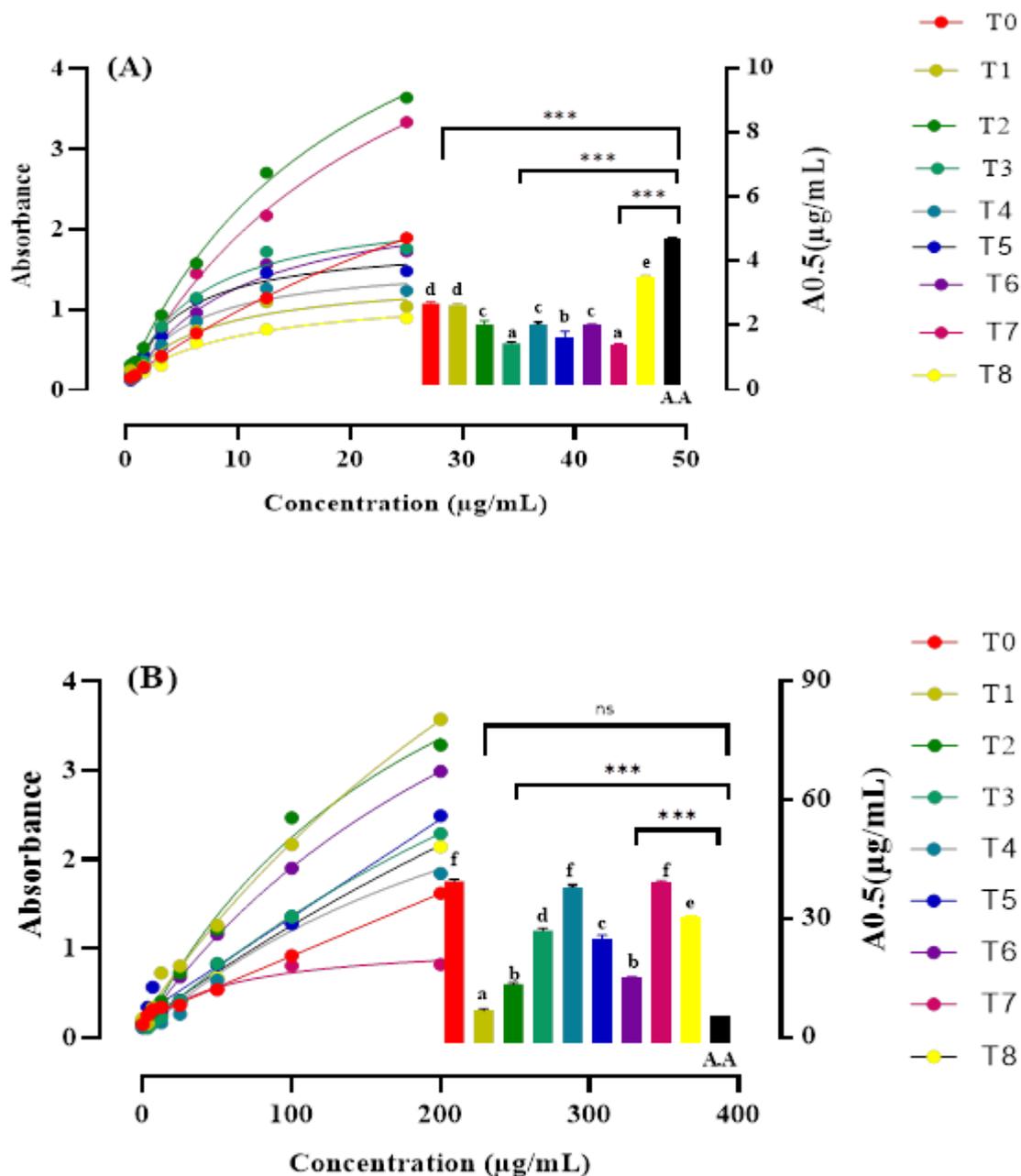


Figure 36 : Taux d'inhibition et les valeurs d'A0.5 de réduction des ions Ag^{2+} (SNP) dépendant des concentrations des extraits de la partie aérienne (A) et la partie racinaire (B) de la plante traitée.

Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents à $p < 0.05$, selon la différence la moins significative (Tukey 5%). (a, b ...) pour la comparaison entre les échantillons et (*) avec les standards (acide ascorbique).

L'étude présentée est la première à examiner l'effet des régulateurs de croissance sur les activités antioxydantes de deux parties de *M. rotundifolia* cultivées dans la serre. En utilisant différentes méthodes, les résultats obtenus révèlent que le pouvoir antioxydant des plantes est

influencée par plusieurs facteurs, notamment le composant végétal utilisée, la concentration et le type de phytohormone appliquée, ainsi que le mécanisme d'action impliqué. Les plantes exposées aux PGR ont montré une capacité antioxydante significativement supérieure à celles non traitées, avec une activité prédominante dans les organes aériennes plutôt que dans les racines.

En ce qui concerne le type d'hormone utilisé, les résultats ont enregistré une variation significative au niveau des différentes activités. Plus spécifiquement, les plantes traitées par l'IAA ont révélé une action anti-radicalaire supérieure contre le DPPH et l'ABTS, ainsi qu'une inhibition du fer par la méthode de phénantroline. D'autre part, le BAP a stimulé l'activité d'inhibition du fer par la méthode de FRAP dans les racines et a inhibé considérablement les ions de cuivre dans les parties supérieures de *M. rotundifolia*. En outre, l'interaction de deux hormones a amélioré l'activité de blanchiment B-carotène et inhibé significativement les ions Ag^+ dans les parties aériennes.

Après avoir examiné la littérature scientifique, il a été constaté que les études des effets de l'IAA et du BAP sur l'activité antioxydante par différentes méthodes des plantes cultivés *in vivo* sont encore limitées, Sachant que, une étude menée par Gruz et Spíchal. a révélé que les cytokinines de type INCYDE avaient la capacité d'améliorer significativement l'activité antioxydante de la laitue cultivée en champ[207]. De plus, des études démontrant le rôle essentiel de différent PGR fournis de manière exogène sur les activités antioxydant résultantes des régénérants dérivés *in vitro* (culture *in vitro*) sont bien documentées, Par exemple, une étude précédente a montré qu'un traitement au BAP avait des effets bénéfiques sur les propriétés antioxydantes du *Mentha piperita*, tels que l'augmentation de l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique et la diminution de la production d'hydroperoxyde[26]. Une étude supplémentaire a été conduite à évaluer l'effet de l'ajout exogène de cytokinine sur les propriétés antioxydantes de cultures de tiges de *Scutellaria alpina*, Cette recherche, menée par Grzegorzcyk-karolak et al. ont évalué la capacité antioxydante par deux méthodes différentes, à savoir le test ABTS et le test FRAP. Les résultats obtenus ont indiqué que les cultures de pousses traitées avec 0,5 μ m Thidiazuron (TDZ) ont présenté les activités antioxydantes les plus élevées pour les deux tests[208], Aussi, Erna Karalija et al. (2017) ont étudié le pouvoir antioxydant de cultures de *Knautia sarajevensis* cultivées dans des milieux supplémentés avec différentes cytokinines. Les résultats ont démontré que l'activité le plus important de capture de radicaux libres ont été obtenues pour les pousses cultivées dans un milieu supplémenté avec 2,0 mg/L de benzyladénine (BA) et 4,0 mg/L de zéatine (ZEA).

La littérature a confirmé que les altérations dans le type et la concentration d'auxine ou de cytokinine, ainsi que le rapport auxine/cytokinine, sont également des facteurs qui influencent la production de métabolites secondaires et leur activité antioxydante. En effet, selon Kousalya et al. l'extrait méthanolique de calus dérivé du milieu MS contenant 0,5 mg/L d'auxine naphthalène acétique (NAA) de *Canscora decussata* a montré une puissance réductrice ferrique plus forte ainsi que des activités antiradicalaires DPPH et ABTS plus élevées[209]. Dans une étude rapportée par Dakah et al. les extraits aqueux et méthanoliques de *Ziziphora tenuior* L. cultivées *in vitro* et traitées par 1,5 et 1 mg/L de kinétine et 0,1 mg/L de NAA ont induit une forte capacité de capture du radical DPPH[210].

Les analyses des coefficients de corrélation entre les mesures évaluant le pouvoir antioxydant et les composés phénoliques trouvant dans les extraits de deux parties de plante traité ont montré des résultats significatifs avec des valeurs allant de -0,358 à -0,811 ($p < 0,05$). Le TPC a été corrélé négativement avec le DPPH ($R^2 = -0,468$), la réduction du fer par la méthode de phénantroline ($R^2 = -0,504$), le B-carotène ($R^2 = -0,358$), le CUPRAC ($R^2 = -0,494$), le FRAP ($R^2 = -0,644$) et le SNP ($R^2 = -0,504$). Les TFC ont montré des relations fortes avec le SNP ($R^2 = -0,811$) et le blanchissement de B-carotène ($R^2 = -0,782$), tandis que les FIC étaient modérément corrélés avec le DPPH et l'ABTS ($R^2 = -0,379$ et $-0,383$, respectivement) (annexe7). En se basant sur cette analyse, il a été établi que la concentration de TPC et FTC avait une incidence significative sur l'activité antioxydante, en particulier dans les tests FRAP, SNP et B-carotène, tandis que les autres tests antioxydants évalués ont montré une corrélation faible. Une telle relation n'est pas surprenante et a été précédemment publiée pour l'espèce *M. rotundifolia* L. [45] et pour de nombreuses autres espèces riches en composés phénoliques [50,211–213]. Certaines relations obtenues dans la plupart de ces découvertes sont largement liées à un composé abondant spécifique, à son potentiel biologique et à sa contribution aux niveaux de métabolites. Cependant, les composés phénoliques individuels peuvent exercer leur effet antioxydant indépendamment ou interagir les uns avec les autres, produisant un effet synergique ou antagoniste [214]. Dans le cas de nos résultats concernant les activités antiradicalaires DPPH et ABTS, cette relation n'est pas toujours évidente et peut même être faible. En effet, l'absence de relation directe entre la concentration des composés phytochimiques et l'activité antioxydante a été largement documentée dans plusieurs espèces végétales[215,216]. Il convient de souligner que la relation entre les composés phénoliques et l'activité antioxydante peut être complexe, car il existe plusieurs facteurs qui peuvent influencer cette relation. Il est souvent attribué que cela ne repose pas exclusivement sur le contenu en polyphénols, mais également de la qualité des composés phytochimiques. En effet, le potentiel antioxydant est

relie de la structure et du motif de substitution des groupes hydroxyle dans les composés phénoliques [217].

La variabilité observée de l'activité antioxydante dans cette étude peut également être attribuée aux variations dans les mécanismes d'action de l'essai utilisé. En effet, Diverses techniques pour évaluer la capacité antioxydante. l'activité antioxydante peuvent révéler que différents radicaux réagissent différemment aux variabilités des composés antioxydants [217]. Les composés phénoliques peuvent neutraliser les radicaux libres et agir en tant que réductions en donnant des électrons pour régénérer une molécule oxydée ou arrêter la réaction en chaîne des radicaux libres [218]. Probablement, La variabilité de l'activité antioxydante observée dans les extraits de la plante traité par différents phytohormones peut s'expliquer par ces mécanismes d'action différents.

Dans l'ensemble, le potentiel antioxydant de diverses plantes médicinales a été démontré être principalement dû à l'accumulation des phénols dans les extraits[240]. Du fait de la présence de groupes hydroxyles (OH-) dans leur structure, les phénols, qui sont des composés naturels, possèdent une activité antioxydante considérable[219]. Les radicaux libres peuvent recevoir un atome d'hydrogène des groupes -OH présents dans les phénols, ce qui forme des radicaux phénoxyles stables et arrête la propagation de la réaction en chaîne les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ainsi, Les phénols ont un rôle déterminant dans la protection contre le stress oxydatif et les maladies associées, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives. En particulier, les flavonoïdes sont une classe importante de polyphénols qui ont des effets pharmacologiques variés sur le corps humain. Ils ont été identifiés comme étant de puissants antioxydants, Les phénols ont la capacité de protéger les cellules contre les dommages provoqués par les ERO. Ainsi que, la quantification des composés phénoliques, y compris les flavonoïdes, est une mesure importante, celle-ci est relié directement à leur activité antioxydante totale [247]

Ces résultats suggèrent que l'utilisation de régulateurs de croissance peut être une stratégie efficace pour améliorer les propriétés antioxydantes des plantes et que des études complémentaires sont nécessaires afin d'approfondir notre compréhension de ces mécanismes.

II.2.4.2. Activité inhibitrice des enzymes

Après l'étude inhibitrice de l'enzyme acétylcholinestérase (AChE) et α -glycosidase, La mesure de l'absorbance est réalisée pour déterminer la concentration inhibitrice (CI₅₀) des divers extraits, En comparaison avec l'acarbose et la galantamine respectivement.

Jusqu'à présent, aucune étude n'a été entreprise pour évaluer l'activité inhibitrice de l'AChE et l' α -glycosidase des extraits bruts pour les deux parties de *M. rotundifolia* traités par les phytohormones.

Les résultats de l'inhibition de l'AChE et de l' α -glycosidase ont été représentés dans la Fig.31 et 32(annexe 4) sous forme de valeurs IC50.

L'analyse des valeurs de CI50 nous a permis d'évaluer l'efficacité de nos différents extraits en termes d'activité inhibitrice des enzymes (AChE et α -glycosidase). Une valeur plus faible indique une activité inhibitrice plus élevée.

Selon l'analyse de la variance, les résultats indiquent que tous les facteurs ont un effet très significatif sur l'activité inhibitrice de l'Ache et de l' α -glucosidase ($p < 0,001$) (Tableau 18).

II.2.4.2.1. Activité α -glucosidase

En considérant les résultats mentionnés dans la figure (37) on déduit que l'application individuelle et combinée des phytohormones IAA et BAP à différents concentrations entraîne une légère augmentation de l'inhibition de l'enzyme α -glucosidase par rapport au témoin (T0). Les racines ont montré une meilleure inhibition que les parties aériennes. En particulier, l'extrait de la partie racinaire après le traitement interagit avec la concentration 20 mg/L (T8) a présenté l'effet inhibiteur d'enzyme α -glucosidase le plus élevé, avec un IC50 de $16.33 \pm 0.69 \mu\text{g/ml}$ (Fig.37A), Les autres traitements ont induit une augmentation de l'inhibition, suivant l'ordre décroissant $T6 > T2 > T7 > T4 > T5 > T1 > T3 > T0$. En revanche, la plupart des extraits de parties aériennes ont montré une faible activité, avec un IC50 supérieur à 200 $\mu\text{g/ml}$, à l'exception de l'échantillon traité par 20mg/ml IAA (T2), qui a donné un effet remarquable avec un IC50 de 127 ± 0.24 (Fig.37B). Les données obtenues révèlent également que les extraits ont une action supérieure à celle du composé de synthèse (galantamine = 275.43 ± 1.59).

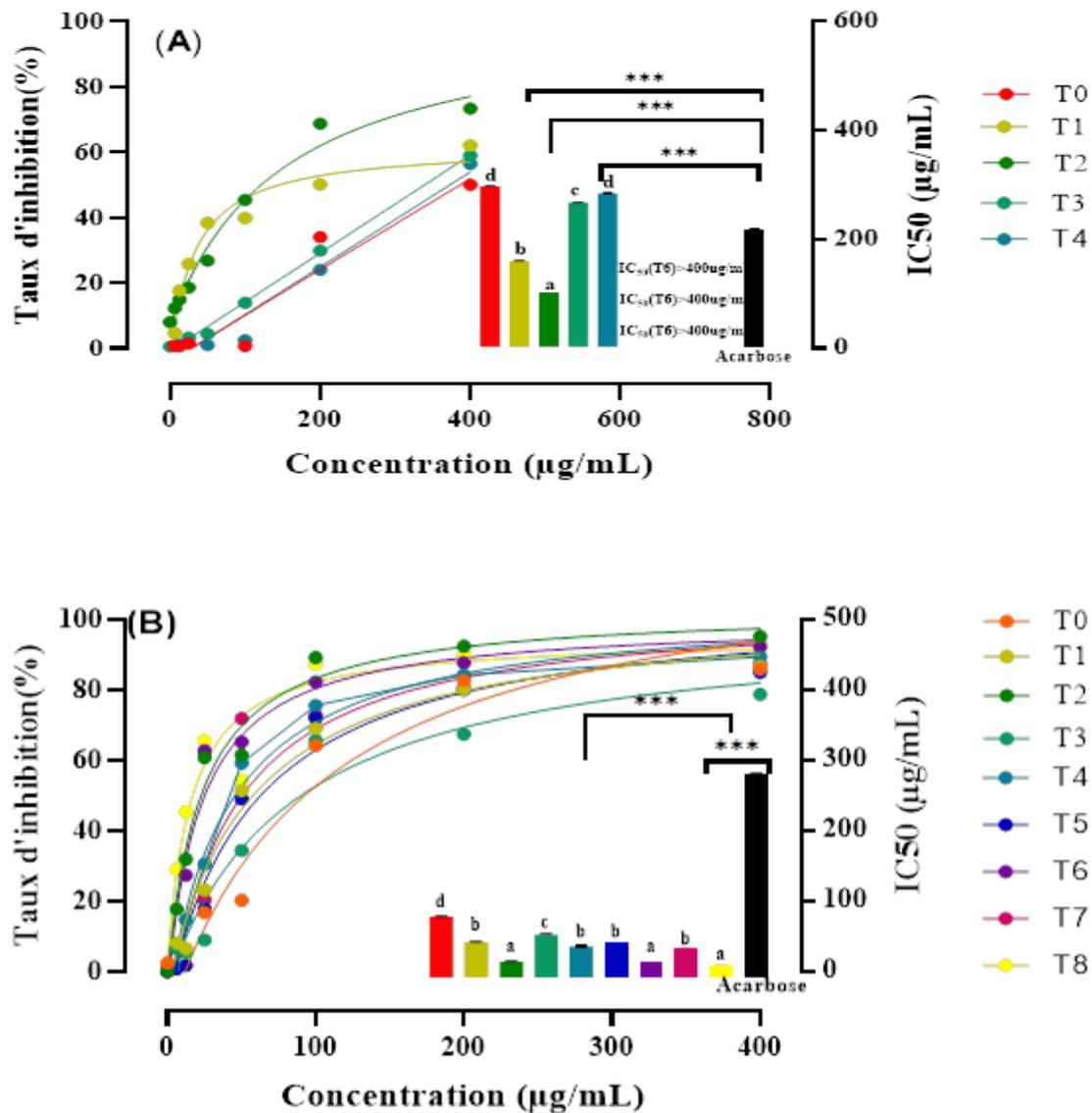


Figure 37 : Taux d'inhibition et les valeurs d'IC₅₀ d' α -glucosidase des extraits des parties aérienne(A) et racinaire(B) du *M. rotundifolia* traitées et non traitées.

Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents à un seuil de $p < 0,05$, selon le test de Tukey ($P < 0,05$), (a, b ...) pour la comparaison entre les échantillons et (*) avec le standard (Acarbose)

II.2.4.2.2. Activité anticholinestérase

L'activité anticholinestérase est l'action d'un composé à inhiber l'activité de l'enzyme acétylcholinestérase (AChE). L'AChE est responsable de la dégradation du neurotransmetteur acétylcholine dans le cerveau, et son inhibition peut conduire à une augmentation des niveaux

d'acétylcholine, qui est importante pour la fonction cognitive. Les composés qui présentent une activité anticholinestérase.

En se basant sur les données présentées dans la figure (38) il est observé que l'application des phytohormones IAA et BAP à différentes concentrations conduit à une légère augmentation de l'effet inhibiteur de l'enzyme acétylcholinestérase (AChE). Les racines présentent une activité supérieure contre l'AChE par rapport aux parties aériennes. Le traitement par BAP a produit l'effet inhibiteur le plus élevé dans les deux parties. Pour ce qui est de la partie racinaire, l'extrait de plante traité par la combinaison des deux phytohormones IAA et BAP à la concentration la plus élevée (20 mg/L) (T8) présente la meilleure activité contre l'AChE, avec un IC₅₀ de $77,76 \pm 0,32 \mu\text{g/ml}$ (Fig38.A), par rapport aux autres traitements. Les valeurs d'IC₅₀ obtenues pour les extraits de plantes traitées suivent l'ordre décroissant suivant : T8 > T3 > T4 > T1 > T2 > T5 > T6 > T7 > T0. En revanche, La capacité inhibitrice la plus puissante des extraits des parties aériennes a été observée avec T3 (IC₅₀ = $133,61 \pm 1,78 \mu\text{g/ml}$) suivi du traitement T5 ($139,00 \pm 0,83 \mu\text{g/ml}$) tandis que le contrôle a montré une faible activité contre l'AChE (Fig.38A). Les extraits présentent des IC₅₀ plus élevés, donc moins actifs, en comparaison au standard galantamine (IC₅₀ = $6,27 \pm 1,15$).

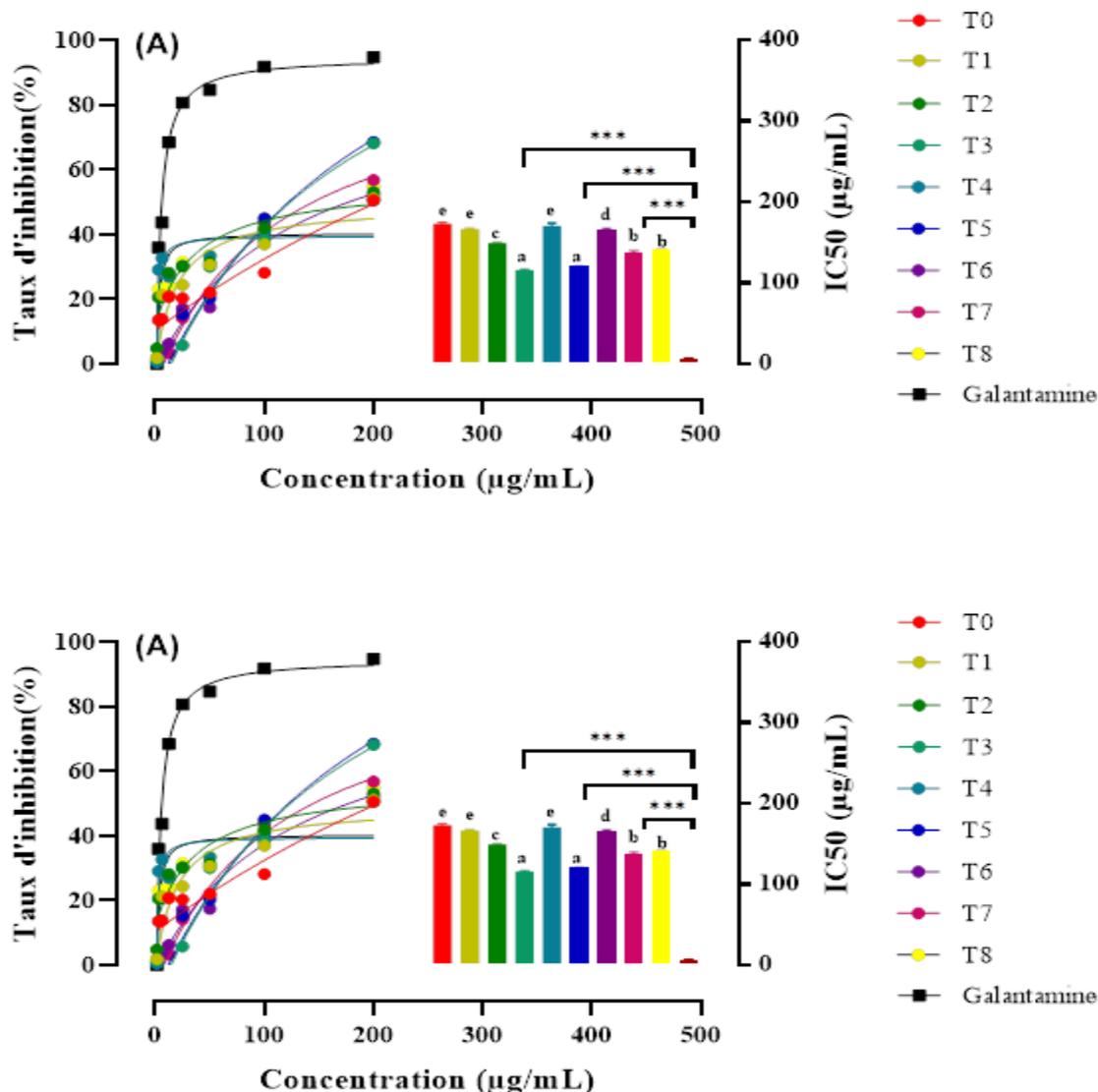


Figure 38 : Taux d'inhibition et les valeurs d'IC50 d'acétylcholinestérase des extraits des parties aérienne(A) et racinaire(B) du *M. rotundifolia* traitées et non traitées.

Les résultats avec des lettres différentes en exposant sont significativement différents à un seuil de $p < 0,05$, selon le test de Tukey ($P < 0,05$), (a, b ...) pour la comparaison entre les échantillons et (*) pour la comparaison avec le standard (Galantamine)

Selon les résultats obtenus, On a été constaté que les plantes exposées à des régulateurs de croissance végétale (PGR) présentaient une capacité d'inhibition significativement plus importante que les plantes non traitées. Bien que l'effet antioxydant des parties aériennes des plantes ait été plus puissant que celui des racines, les racines ont été plus efficaces pour inhiber l'acétylcholinestérase et l' α -glucosidase malgré leur faible teneur en polyphénols. Cela indique la présence de composés spécifiques associés à l'activité anticholinestérase.

L'analyse de corrélation a révélé que l'activité anticholinestérase était associée à des acides phénoliques tels que l'acide gallique (-0,504), l'acide protocatéchuïque (-,0487) et l'acide caféique (-0,363) et ainsi qu'au flavonoïde naringénine (-0,350) (**annexe6**). Parmi tous les traitements appliqués, le traitement combiné de deux hormones avec la concentration la plus élevée (20mg/l) suivi par le traitement de 10mg/l BAP ont induit l'effet le plus substantiel de l'extrait racinaire contre l'AChE. Ces traitements étaient les plus riches en au moins l'un de ces composés. Ces résultats sont conformes aux rapports antérieurs, qui ont trouvé des associations significatives entre l'activité inhibitrice de l'AChE et les concentrations d'acide caféique et de naringénine[221]. En outre, certains auteurs ont lié l'effet anticholinestérasique principalement de *M. rotundifolia* à la présence d'autres composés spécifiques tels que la lutéoline, l'héspéridine et l'acide salvianolique [45,196]. Bien que les deux traitements appliqués aient induit une importante accumulation des acides rosmarinique et salviolinique, il n'y avait pas de corrélation spécifiquement observée entre les deux composés et l'AChE. Toutefois, leur rôle dans l'inhibition de l'AChE et leur éventuel développement en médicaments contre les maladies neurologiques ont été récemment documentés [197].

La littérature indique que le type de PGR et leur concentration peuvent déterminer la qualité et la quantité des métabolites synthétisés. L'influence des auxines et des cytokinines sur l'accumulation de l'acide rosmarinique est bien documentée[126,135]

L' α -glucosidase est une enzyme clé dans la dégradation des glucides alimentaires complexes en sucres simples absorbables. Cette enzyme est une cible principale des médicaments hypoglycémisants dans la gestion du diabète de type 2 (DNID). Dans cette maladie, la capacité de l'organisme à réguler la glycémie est altérée, et les inhibiteurs de l' α -glucosidase sont utilisés pour réduire l'absorption de glucose dans l'intestin et maintenir des niveaux de sucre dans le sang stable. Des études ont montré que certaines plantes médicinales peuvent avoir un effet inhibiteur sur l' α -glucosidase, ce qui en fait une source potentielle de composés bioactifs pour le traitement du DNID.

Dans cette étude, les racines ont montré une excellente activité antidiabétique en comparaison avec les parties aériennes, ce qui indique que la nature des composés phénoliques ou la présence d'autres substances phytochimiques détermine fortement cette activité. Les polyphénols sont connus pour leur capacité à se lier aux protéines et aux hydrates de carbone par de multiples liaisons hydrogène et associations hydrophobes, ce qui entraîne le blocage des sites catalytiques des enzymes [222]. D'après les résultats de l'analyse de corrélation de Pearson, on déduit que l'activité inhibitrice de l' α -glucosidase est certainement corrélée négativement avec l'acide gallique (-0,320) et la naringénine (-0,531). Mes ces observations ne signifient pas que la

présence ou l'absence de certain composé expliquerait toute l'activité. De manière présumée, les activités mentionnées pourraient survenir en raison d'une interaction synergique entre des composés poly phénoliques individuels, comme décrit par Brown et al. [177].

Enfin, quelques espèces de Menthe poussés naturellement ont été testées pour l'inhibition de l' α glycosidase, notamment *M. spicata* et *M. longifolia*, qui ont montré un excellent potentiel dans l'accumulation de polyphénols et de flavonoïdes [176,195]. Cependant, à notre connaissance, il s'agit de la première étude rapportant l'effet des régulateurs de croissance des plantes sur l'activité antidiabétique de *M. rotundifolia* en mesurant leurs capacités à inhiber l' α -glucosidase.

CHAPITRE 3 :

LA COMPARAISON DE

L'ACCUMULATION DES POLYPHÉNOLS

ENTRE LA PLANTE POUSSÉE

NATURELLEMENT ET LES PLANTES

TRAITÉES PAR LES PHYTOHORMONES

(AIA ET BAP)

Cette étude est un Bilan sur les résultats obtenus actuellement, qui est centré effectivement autour de la variation de l'accumulation des polyphénols totaux et la composition phénoliques individuel dans les plantes poussent naturellement et les plantes cultivées dans la serre et traités par les hormones de croissance (AIA et BAP).

3.1.la partie aérienne

L'analyse de la variance montre une différence substantielle significative $p < 0.01$ (Tab.20) en ce qui concerne la concentration de divers constituants bioactifs (phénols totaux, flavonoïdes totaux, flavones et flavonols, acide rosmarinique, acide salviolonique, acide caféique, acide quinique, naringenine) parmi les plantes traitées par différent hormones et les plantes poussent naturellement. Comme la montre clairement le tableau22. La teneur totale en phénol des extraits des parties aérienne des plantes cultivés spontanément dans la région du Jijel et Mila était de $(109,28 \pm 5,27 \mu\text{g EAG/mg})$ et $(167,49 \pm 6,26 \mu\text{g EAG/mg})$ respectivement) et augmenté à $(235,7 \pm 2,38 \mu\text{g EAG/mg})$ dans les plantes cultivées après un traitement combiné par la BAP et l'IAA avec la dose le plus élevé ($20\text{mg/ml IAA} + 20\text{mg/ml BAP}$). En parallèle, il y a eu une augmentation de la teneur en acide rosmarinique et en acide quinique, atteignant respectivement $66,27 \mu\text{g/g}$ et $65,32 \mu\text{g/g}$, par rapport aux concentration enregistrés dans les plantes de la région de Jijel ($21,16 \mu\text{g/g}$ et $36,83 \mu\text{g/g}$) et de la région de Mila ($28,59 \mu\text{g/g}$ et $34,62 \mu\text{g/g}$). Un accroissement prononcé de l'acide salviolinique est enregistré chez les plantes traité par 20 mg/l BAP (73.65 ug/g), Tandis que le traitement par 10 mg/l IAA donné la valeur le plus élevé d'acide caféique. Le traitement avec la combinaison de deux hormones avec la dose de 20mg/ml IAA 20 mg/l BAP a induit une augmentation de la concentration de naringenine à 3.87 ug/g . En revanche, la teneur en flavonoïde ($77,02 \pm 1,09 \mu\text{g ER/mg}$), les flavones et flavonols ($54,85 \pm 0,27 \mu\text{g EQ/mg}$ enregistré dans la plante de la région du Mila ont légèrement diminué à $71,62 \pm 1,41$ $50,68 \pm 0,44 \mu\text{g EQ/mg}$, respectivement dans les plantes traitées par 10 mg/l IAA .

Table23: Analyse comparative de quelques constituants bioactifs plus prédominant dans les parties aériennes de *M. Rotundifolia* poussé naturellement et plante traitée

	Plante traité								Plante poussée naturellement		
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	Contrôle	MROT-JA	MROT-MA
Rendement	12,73±0,44 ^{cd}	12,07±0,44 ^d	14,73±0,44 ^b	14,07±0,44 ^{bc}	13,93±0,44 ^{bc}	16,73±0,44 ^a	14,73±0,44 ^b	14,3±0,44 ^{bc}	14,47±0,44 ^b	8,1±0,13 ^e	13,93±0,62 ^c
TPC	144,77±0,12 ^f	154,40±1,24 ^f	229,5±90,10 ^{ab}	206,64±1,44 ^d	217,96±2,27 ^{cd}	214,86±0,31 ^d	224,6±1,24 ^{bc}	235,7±2,38 ^a	114,400,48 ^g	109,28±5,27 ^g	167,49±6,26 ^e
FTC	71,62±1,41 ^{ab}	61,59±0,70 ^c	70,80±1,73 ^{ab}	72,81±0,79 ^{ab}	70,12±3,03 ^b	60,80±2,64 ^c	57,47±1,81 ^c	61,14±1,39 ^c	58,82±0,11 ^c	34,9±0,38 ^d	77,02±1,09 ^a
FLoC	50,68± 0,44 ^{ab}	44,22±0,45 ^{bc}	49,20±0,34 ^{ab}	50,23±0,75 ^{ab}	50,94±0,54 ^{ab}	39,74±4,21 ^c	41,17±2,18 ^c	41,00±2,41 ^c	41,80±0,4	22,32±2,26 ^d	54,85±0,27 ^a
A.rosmarinique	25.94	42.51	66.27	62.57	51.75	44.66	24.00	33.82	17.34	21.16	28.59
A.salviolonique	36.60	20.22	37.46	73.65	37.49	1.01	.00	63.66	10.44	13.60	15.24
A.cidequinique	38.04	43.55	60.54	47.25	55.86	45.66	28.46	65.32	36.52	36.83	34.62
A. cafeique	14.81	2.75	1.88	3.35	3.74	2.91	2.27	2.85	1.69	3.25	2.73
Naringenine	.61	.82	.61	.71	.59	2.91	.77	3.87	.32	1.24	1.61

Les valeurs avec des lettres différents sur chaque colonne sont significativement différentes selon le test de Tukey au seuil 5%. La barre sur chaque colonne montre

l'erreurs standard

T0 : Témoin, T1: 10 mg/ml IAA, T2: 20 mg/ml IAA T3 : 10mg/ml BAP, T4 : 20 mg/ml, T5 10mg/IAAx10mg/IBAP,T6:10mg/IAAx20mg/IBAP,T7 :20mg/IAAx10mg/IBAP, T8:

20mg/IAAx20mg/IBAP, MROT-JA:Partie aérienne de la plante poussé naturellement dans la région de Jijel , MROT-MA:Partie aérienne de la plante poussé naturellement dans la région de Jijel

3.2. La partie racinaire

Table24: Analyse comparative de quelques constituants bioactifs des parties racinaires de *M. Rotundifolia* traité et croit naturel

	Plante traité								Plante poussée naturellement		
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	Control	MROT-JR	MROT-MR
Rendement	9,25±0,44 ^{ab}	6,71±0,44 ^{d^{eg}}	5,37±0,44 ^{sh}	6,03±0,44 ^{fg}	7,79±0,44 ^{bcd^{ef}}	8,45±0,44 ^{ab}	7,50±0,44 ^{cd^{ef}}	6,18±0,44 ^{ef^g}	3,79±0,44 ^h	7,87±0,09 ^{bcd}	9,80±0,53 ^a
TPC	202,89±0,56 ^b	167,11±0,41 ^d	118,46± 0,2e ⁴	212,30± 0,31 ^{bc}	113,31± 5,3e ²	152,46±10,18 ^d	115,56± 5,2 ^e	252,69±8,89 ^a	72,60±0,89 ^f	187,49± 6,87 ^{cd}	251,60± 6,67 ^a
FTC	45,57±0,41 ^{ab}	40,18±0,00 ^d	38,91± 0,00 ^d	40,43±0,00 ^d	35,35±0,11 ^e	46,16±0,26 ^a	40,60±0,00 ^d	34,59±0,45 ^e	43,91±0,90 ^c	38,91± 0,17 ^d	33,96±1,34 ^e
FLC	49,37±1,33 ^{cde}	52,77±2,10 ^{bc}	53,04±1,40 ^b	49,11±0,76 ^{de}	57,77±1,01 ^a	60,44±2,31 ^a	53,71±0,99 ^b	46,37±0,42 ^e	52,57±0,23 ^{bcd}	37,1± 0,5 ^f	38,2± 0,2 ^f
Acide rosmarinique	23,965	28,618	31,703	32,132	20,325	34,427	47,107	34,081	30,979	69.503	34,081
Acide salviolonique	20,810	23,283	41,317	25,962	12,020	26,492	24,714	21,520	28,232	49.211	21,520
Acide quinique	8.91	9.65	17.10	15.91	17.88	16.18	26.42	25.64	9.34	4.00	18.25
Acide caféique	11,130	10,843	14,397	10,013	2,569	7,260	9,354	7,040	12,517	10.589	7.392
Naringenine	1.527	5.931	1.475	2.432.	1.289	4.101	1.49	4.516	1.738	10.219	2.055

Les valeurs avec des lettres différents sur chaque colonne sont significativement différentes selon le test de Tukey au seuil 5%. La barre sur chaque colonne montre

l'erreurs standard

T0 : Témoin, T1: 10 mg/ml IAA, T2: 20 mg/ml IAA T3 : 10mg/ml BAP, T4 : 20 mg/ml, T5 10mg/IAAx10mg/IBAP,T6:10mg/IAAx20mg/IBAP,T7 :20mg/IAAx10mg/IBAP, T8:

20mg/IAAx20mg/IBAP, MROT-JA:Partie aérienne de la plante poussé naturellement dans la région de Jijel , MROT-JA:Partie aérienne de la plante poussé naturellement dans la région de Jijel

D'après les résultats illustrés dans le tableau 21, il est observé que les plantes traitées par des phytohormones présentent des concentrations plus élevées en phénols totaux, en flavonoïdes, en flavones et en flavonols; le traitement avec 10 mg/L d'IAA stimule l'accumulation des flavonoïdes jusqu'à $45,57 \pm 0,41 \mu\text{g ER/mg}$, dépassant ainsi les concentrations observées dans les plantes cultivées spontanément à Jijel et Mila. De plus, le traitement combiné de deux hormones avec la concentration de (10AIA*20PAB) multiplie par deux la teneur en flavones et flavonols ($60,44 \pm 2,31 \mu\text{g EQ/mg}$) par rapport à celle observée dans les racines des plantes poussant spontanément dans les régions de Jijel ($38,91 \pm 0,17 \mu\text{g EQ/mg}$) et Mila ($33,96 \pm 1,34 \mu\text{g EQ/mg}$). La concentration des phénols totaux la plus élevée est enregistrée dans les plantes traitées avec l'interaction de 20IAA et 20BAP, atteignant $252,69 \pm 8,89 \mu\text{g EAG/mg}$.

En revanche, le profil phénolique des racines des plantes traitées ne montre qu'une augmentation de l'acide quinique ($T6 = 26,42 \mu\text{g/g}$) et de l'acide caféique ($T3 = 14,397 \mu\text{g/g}$) par rapport à ceux observés dans les plantes à croissance naturelle. En outre, les racines de la plante provenant du site de Mila présentent les teneurs les plus élevées en acides rosmarinique et salviolinique. (Tab.23).

De plusieurs études montre l'efficacité d'application exogène des IAA et BAP individuel et combiné sur la variation des métabolites secondaires dans la plante, les mêmes études indiquent que ces phytohormones appliqués de manière exogène modifient souvent les voies métaboliques et la sensibilité des PGR endogènes, ce qui se traduit par des résultats très variables et parfois imprévisibles[12,223,224].

Après avoir effectué une revue de la littérature scientifique disponible, il est évident que peu d'études ont été réalisées pour comparer l'accumulation de métabolites secondaires entre les plantes cultivées de manière naturelle et celles traitées avec des phytohormones pendant la période de croissance. Toutefois, l'étude de Bekircan et *al.* a comparé l'accumulation d'acide rosmarinique entre une plante cultivée spontanément et la culture *in vitro* de cette même plante. Cette étude a confirmé le rôle des phytohormones, en particulier des cytokinines, dans la stimulation de la production d'acide rosmarinique[126], En outre, une étude menée par Kousalya et *al.* a observé que le contenu phénolique total et l'activité antioxydante étaient significativement plus élevés en culture *in vitro*, en particulier après l'ajout d'une auxine de type NAA (0,5 mg/L) au milieu de culture, par rapport aux plantes cultivées sur le terrain. Ces résultats suggèrent que l'utilisation de phytohormones peut augmenter l'accumulation des MII dans les plantes, Cela pourrait avoir des implications potentielles significatives. Dans l'industrie pharmaceutique et alimentaire. Toutefois,

il est nécessaire de mener des études supplémentaires afin de mieux appréhender les mécanismes sous-jacents de cette augmentation et d'évaluer les répercussions à long terme sur la qualité des plantes[208].

III. 3. Analyse en Composantes Principales (ACP)

Une analyse multivariée a été appliquée à tous les jeux de données étudiés. L'ACP a été utilisé pour sélectionnés les associations entre les plantes traité par différentes concentrations de PGR (IAA et BAP) et les plantes provenant de deux régions, l'accumulation de polyphénols totaux et individuels ainsi que les effets biologiques dans les deux parties de *M. rotundifolia* L.

La figure 39A présente le graphique de chargement PCA de chaque indice d'évaluation. Les variables initiales peuvent être réduites en deux composantes principales validées (PC), qui représentent conjointement 53.08% de la variabilité totale de l'ensemble de données.

Le premier cluster regroupe les extraits des parties racinaires de *M. rotundifolia* poussée dans la localité de Mila ainsi que les extraits des racines des plantes traitées TR7 et TR8. Ces plantes ont été caractérisées par une teneur élevée en PTC, en naringénine, en rutine, en acétine, en cirsiolol et en lutéoline-7-O-glucoside.

Le deuxième cluster représente l'association des extraits des parties racinaires des plantes traitées (TR0, TR1, TR2, TR3, TR4) avec les composés phénoliques acide gallique, acide caféique, acide protocachuique et apigénine-7-O-glucoside.

Le cluster III indique la corrélation des extraits des parties racinaires des plantes traitées (TR5, TR7, TR8) avec un seul composé phénolique, l'acide syringique.

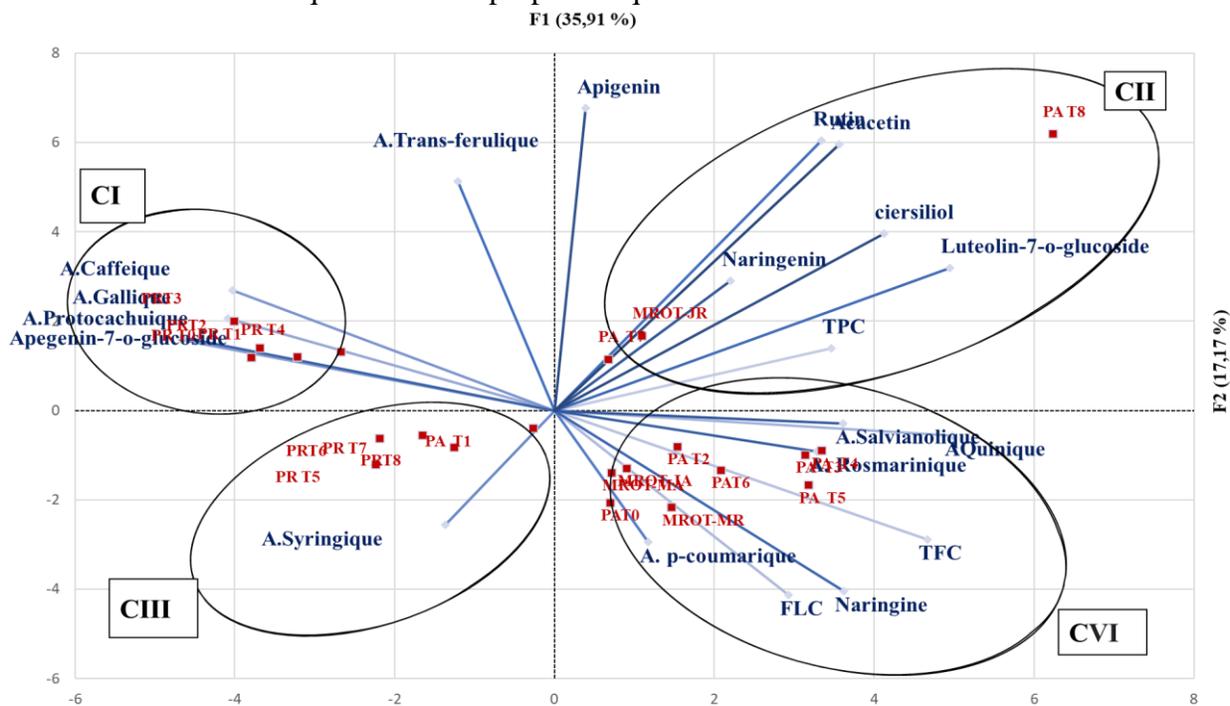
Le dernier cluster rassemble les extraits des parties aériennes de *M. rotundifolia* poussant dans deux régions différentes, ainsi que les plantes traitées (T0, T2, T3, T4, T5, T6). Ces plantes ont été caractérisées par leur accumulation de flavonoïdes, de flavones et de flavonols, ainsi que de composés phénoliques individuels tels que l'acide salvioquinique et l'acide rosmarinique.

Un autre ACP a été effectués en utilisant une matrice de données composée de 220 points de données (16 variables \times 10 observations pour représenter graphiquement la localisation des échantillons de plantes traitées par rapport aux plantes poussant naturellement en fonction de leurs activités biologiques (Fig. 6B). Les deux premières composantes expliquant 64,03% de la variance totale. Ainsi, PC1 et PC2 représentent respectivement 41.24 % et 22.79 % de la variation totale.

La représentation graphique en score de l'ACP a révélé à la fois les points communs et les distinctions des capacités antioxydantes et de l'inhibition d'enzymes (AChE et α -glucosidase) entre

Résultats et discussions Chapitre 3 : La comparaison de l'accumulation des polyphénols entre la plante poussée naturellement et les plantes traitées par les phytohormones (AIA et BAP) dans a serre

les échantillons de *M. rotundifolia* L. récoltés dans deux régions d'Algérie et les plantes traitées par les phytohormones IAA et BAP (Figure 39B). Tous les échantillons ont pu être entièrement discriminés en deux groupes ; un groupe composé de PRT1, PRT3, PRT4, PRT5, PRT7, PRT8, et MROT-JR, qui ont été actifs via le pouvoir réducteur et le SNP, tandis que JA, JM, et PAT4 ont été actifs via l'ABTS et l'ACHé, sont distribués de manière proche. L'effet de la variable "région" et du type de traitement semble important pour le regroupement car il altère probablement un ensemble de caractéristiques liées aux propriétés que nous avons étudiées.



(B)

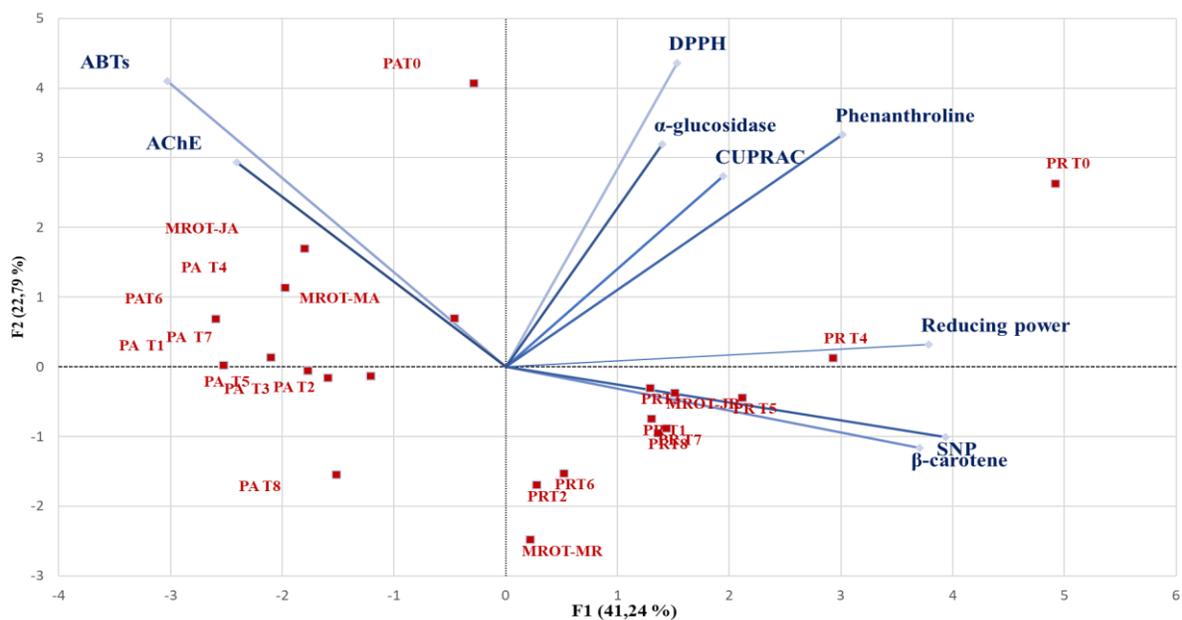


Figure 39: Plan factoriel de l'ACP effectuée sur (A) les teneurs en polyphénols (TPC, TFC, FLoC) et les composés phénoliques individuel, les valeurs d'IC50 et d'A0.5 des activités biologiques testées sur les extraits des parties aérienne et racinaires des plantes poussées naturellement MROT-JA, MROT-JM, MROT-JR, MROT-MR et les plantes traités par les phytohormones (IAA et BAP) (PAT0, PAT1, PAT2, PAT3, PAT4, PAT5, PAT6, PAT7, PAT8, PAT9, PATR0, PRT1, PRT2, PRT3, PRT4, PRT5, PRT6, PRT7, PRT8, PRT9).

CONCLUSION

Conclusion

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales et l'amélioration la production des polyphénols par les moyens de stimuler ou de modifier cette production, nous avons choisi de nous intéresser à l'impact de différents paramètres sur l'accumulation de ces composés. Nous avons ainsi comparé l'accumulation de polyphénols entre des plantes poussant spontanément sous les effets climatiques et les plantes cultivées en serre et traitées avec des bio stimulants d'intérêt, notamment des phytohormones telles que l'acide indole-3-acétique (AIA) et la 6-benzylaminopurine (BAP).

Une étude bibliographique portant sur les plantes médicinales a révélé que des informations de nature chimique et/ou biologique étaient disponibles. Cependant, les moyens d'augmenter l'accumulation de récepteurs secondaires et leur relation avec les activités biologiques impliquent des concepts complexes et vastes. Ainsi, notre objectif était d'enrichir les connaissances à cet égard. Notre travail s'est concentrée sur les analyses qualitative et quantitative, ainsi que sur l'évaluation du potentiel antioxydant et l'activité inhibitrice des enzymes des extraits de plante *M. rotundifolia* L.

Pour mener à bien notre comparaison, nous avons effectué une étude climatique approfondie, suivie d'une description détaillée des données climatiques des années 2010 à 2018 pour les deux régions d'étude (Jijel et Mila). Nous avons utilisé deux indices climatiques à savoir le diagramme pluviothermique de Bagnouls et Gaussen ainsi que le quotient pluviométrique d'Emberger (Q2), Les résultats de l'analyse du climat de chaque région ont révélé que Mila avait un climat subhumide, tandis que Jijel avait un climat humide. En outre, il a été constaté que le sol de Mila se caractérise par une teneur en matière organique et en azote supérieure à celle de Jijel, avec une faible acidité et salinité. Parallèlement, Le focus de notre étude était porté sur l'influence de deux phytohormones de croissance, l'acide indole-3-acétique (IAA) et la 6-benzylaminopurine (BAP), sur les plantes en menant une expérimentation bien structurée. Tous les échantillons ont été soumis à une étude phytochimique comprenant le profile phénolique et la quantification des composés phénoliques, ainsi qu'un criblage de leur potentiel antioxydant et de leur activité inhibitrice des enzymes (acétylcholinestérase et α -glucosidase).

Pour la *M. rotundifolia* poussant naturellement, nous avons remarqués que les racines de la plante Mila contenaient la teneur en phénol totaux le plus élevé, tandis que la partie aérienne de la plante de la même région enregistrait les quantités les plus élevés des contenus des flavonoïdes, flavones et flavonols.

Un total de seize composés phénoliques a été identifiés et quantifiés, dont des acides phénoliques et des flavonoïdes. L'acide rosmarinique, l'acide quinique et l'acide salviolinique étaient les principaux composés phénoliques.

Les niveaux des composés phénoliques sont généralement plus élevés dans les plantes de la région de Mila par rapport à celles de la région de Jijel. Chaque extrait de plante a montré une activité antioxydante remarquable, qui varie en fonction de la provenance et de l'organe de la plante. En outre, les racines des plantes de la région de Mila ont démontré la plus forte inhibition de l'AChE et de l' α -glucosidase. En conclusion, la région de Mila se distingue probablement de la région de Jijel par son climat subhumide, son altitude élevée, sa faible conductivité, sa faible salinité, sa faible acidité et son niveau élevé de matière organique.

Pour les plantes traitées par l'IAA et la BAP au cours de leur croissance, nous avons constaté que l'application individuel de la BAP et leur inter actés avec l'IAA a augmenté les teneurs en phénols totaux dans les parties aérienne et les racines de *M. rotundifolia* L. respectivement, Également, la BAP à 20 mg/L stimule l'accumulation considérable des flavonoïdes des extraits des parties aériennes, tandis que l'IAA a augmenté de manière significative la quantité des flavonoïdes dans les racines. Alors que la teneur en flavones et flavonols est augmentée après l'application combiné de deux hormones dans les deux parties. De plus, la composition phénolique enregistrés dans les deux parties des plantes traités varie quantitativement en fonction de type d'hormone appliqué et leur concentration. Le traitement par l'IAA et le BAP a provoqué un changement remarquable dans les quantités de composés phénoliques individuels. L'augmentation la plus importante a été observée dans les quantités d'acide salviolinique et l'acide rosmarinique dans les parties aériennes des plantes traitées avec 20 mg/l ou 10 mg/l de BAP. Dans ces conditions, la teneur en acide salviolinique a été multipliée par sept (73,651 ug/g d'extrait) dans les parties aériennes recevant 20 mg/l de BAP par rapport à la teneur initiale de la plante non traitée (10,43 ug/g d'extrait). En outre, le niveau d'acide rosmarinique a augmenté de 17,336 ug/g (T0) à 66,265 et 62,566 ug/g pour les plantes traitées par 10 et 20 mg/l de BAP, respectivement. Alors que, Le traitement interagissant l'IAA et le BAP à une concentration de 20 mg/l a multiplié la teneur en acide quinique, De même, Ce traitement induit l'augmentation de certain flavonoïde ; Apegenin-7-O-glucoside, Cirsiliol, Lutéoline-7-O-glucoside, et Acacétine. Concernant les racines, nous avons observés que les quantités des acides salviolinique et protocachuique a augmenté de façon considérable après le traitement par 20mg/l ou 10 mg/l de BAP respectivement, alors que l'application inter acté de deux hormones a augmenté la concentration d'acide rosmarinique dans la plante. De plus, une légère augmentation des

concentrations d'acide caféique et d'acide syringique a été observée par rapport au témoin. En ce qui concerne les flavonoïdes, une augmentation remarquable de la concentration de naringénine a été observée après le traitement avec 20 mg/l d'IAA.

Des effets antioxydants et des inhibitions des enzymes plus importants ont été observés dans les plantes traitées en comparaison aux plantes non traitées. Dans ce regard nous enregistrons que les racines des plantes ont montré une inhibition de l' α -glucosidase remarquable.

Lorsque nous comparons les plantes poussant naturellement avec celles traitées par des phytohormones, nous observons que le traitement hormonal a conduit aux meilleurs résultats en termes d'accumulation des phénols totaux et de leurs composés individuels, notamment l'acide rosmarinique, l'acide salviolinique, l'acide quinique, l'acide caféique et la naringénine, principalement dans les parties aériennes des plantes.

Ces résultats conduisent à trois conclusions principales : premièrement, l'espèce du *M. rotundifolia* peut servir de source puissante de composés bioactifs ayant une variété d'effets biologiques, deuxièmement, les résultats du présent travail peuvent être exploités pour réaliser des cultures *in vitro* de *M. rotundifolia* en sélectionnant l'organe de la plante et les conditions de culture appropriées pour un rendement plus élevé en polyphénols. Troisièmement, les résultats peuvent fournir une base pour le traitement des plantes cultivées naturellement afin d'améliorer leur rendement phytochimique et leur bio activité, ce qui pourrait constituer un intérêt économique pour leur exploitation.

En générale, L'évaluation des propriétés antioxydantes et des inhibitions d'enzymes est une approche a révélé l'effet pharmacologique de nos plantes. Il apparaît que ces plantes, et plus particulièrement les racines représentent des propriétés anti α -glucosidase intéressantes. La pertinence de l'utilisation traditionnelle de ces plantes et leur potentiel dans le domaine de la biotechnologie sont confirmés par cette étude scientifique. Pour les prochaines étapes, il serait intéressant de procéder à l'isolement et à la caractérisation des composés phénoliques présents dans les racines de *M. rotundifolia*. Aussi, Il serait bénéfique de mener des évaluations *in vitro* et *in vivo* de l'activité glucosidase de chaque composé pris séparément afin de mieux comprendre le mode d'action des composés phénoliques. Le principe actif des extraits de plante pourrait être déterminé à l'aide de cette méthode, qui permettrait également d'identifier les synergies potentielles entre les différents composés phénoliques présents dans les extraits. Ces informations nous permettent

d'approfondir notre compréhension du mécanisme d'action des extraits de plantes et d'évaluer leur potentiel thérapeutique.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. P. Ozenda, Flora of the Sahara. (1977).
2. H. J. D. Dorman, M. Koşar, K. Kahlos, Y. Holm, and R. Hiltunen, J. Agric. Food Chem. **51**, 4563 (2003).
3. M. Brada, M. Bezzina, M. Marlier, A. Carlier, and G. Lognay, Biotechnol. Agron. Société Environ. **11**, 3 (2007).
4. S. R. Kanatt, R. Chander, and A. Sharma, Food Chem. **100**, 451 (2007).
5. O. Mykhailenko, Z. Gudžinskas, V. Kovalyov, V. Desenko, L. Ivanauskas, I. Bezruk, and V. Georgiyants, Phytochem. Anal. **31**, 545 (2020).
6. S. Yin, Y. Zhang, W. Gao, J. Wang, S. Man, and H. Liu, Acta Physiol. Plant. **36**, 915 (2014).
7. C. Wan, D. Wang, J. Hou, W. Wang, H. Chen, and F. Liu, Zhongcaoyao= Chinese Tradit. Herb. Drugs **42**, 2312 (2011).
8. W. D. Li, J. L. Hou, W. Q. Wang, X. M. Tang, C. L. Liu, and D. Xing, Russ. J. Plant Physiol. **58**, 538 (2011).
9. J. Hou, W. Li, Q. Zheng, W. Wang, B. Xiao, and D. Xing, Biochem. Syst. Ecol. **38**, 160 (2010).
10. F. Carmona and A. M. S. Pereira, Rev. Bras. Farmacogn. **23**, 379 (2013).
11. V. M. Santoro, F. L. Nievas, J. A. Zygodlo, W. F. Giordano, and E. Banchio, (2013).
12. T. Gaspar, C. Kevers, C. Penel, H. Greppin, D. M. Reid, and T. A. Thorpe, Vit. Cell. Dev. Biol. **32**, 272 (1996).
13. A. Piotrowska-Niczyporuk and A. Bajguz, Plant Growth Regul. **73**, 57 (2014).
14. M. De Judicibus, *Botanical Notebook* (UoM Custom Book Centre, 2011).
15. J.-L. Guignard, (1974).
16. W. S. Judd, C. S. CAMPBELL, E. A. Kellogg, and P. Stevens, Boeck Univ. Paris Bruxelles (2002).
17. B. M. Lawrence, *Mint: The Genus Mentha* (CRC press, 2006).
18. M. Mkaddem, J. Bouajila, M. Ennajar, A. Lebrihi, F. Mathieu, and M. Romdhane, J. Food Sci. **74**, M358 (2009).
19. B. Abbaszadeh, S. A. Valadabadi, H. A. Farahani, and H. H. Darvishi, African J. Plant Sci. **3**, 217 (2009).

20. B. Fatih, K. Madani, M. Chibane, and P. Duez, *Aromat. Med. Plants - Back to Nat.* (2017).
21. B. Šarić-Kundalić, S. Fialová, C. Dobeš, S. Ölzant, D. Tekeľová, D. Grančai, G. Reznicek, and J. Saukel, *Sci. Pharm.* **77**, 851 (2009).
22. P. Quezel and S. Santa, *New Flora Alger. South. Desert Reg.* (1962).
23. H. Hendriks and F. H. L. Van Os, *Phytochemistry* **15**, 1127 (1976).
24. S. Messaoudi, *Dar El Fiker, Tunis Pp 1* (2005).
25. H. J. Coste and C. M. H. Flahault, *Flore Descriptive et Illustrée de La France, de La Corse et Des Contrées Limitrophes. Suppl. 5. Graminées Du No 3910 Au No 4263* (Librairie scientifique et technique Blanchard, 1997).
26. L. EL RHAFFARI, *Fac. Des Sci. Tech. D^e Errachidia*, 161p (2008).
27. S. Ladjel, N. Gherraf, and D. Hamada, *J. Appl. Sci. Res.* **7**, 1665 (2011).
28. L. Moreno, R. Bello, E. Primo-Yúfera, and J. Esplugues, *Phyther. Res.* **16**, 10 (2002).
29. F. Bardeau, *La Pharmacie Du Bon Dieu* (Fernand Lanore, 1977).
30. F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, and M. Idaomar, *Food Chem. Toxicol.* **46**, 446 (2008).
31. S. Sutour, P. Bradesi, D. de Rocca-Serra, J. Casanova, and F. Tomi, *Flavour Fragr. J.* **23**, 107 (2008).
32. D. Zhao, Y. W. Xu, G. L. Yang, A. M. Husaini, and W. Wu, *Ind. Crops Prod.* **42**, 251 (2013).
33. L. Riahi, M. Elferchichi, H. Ghazghazi, J. Jebali, S. Ziadi, C. Aouadhi, H. Chograni, Y. Zaouali, N. Zoghalmi, and A. Mliki, *Ind. Crops Prod.* **49**, 883 (2013).
34. A. K. Tripathi, V. Prajapati, A. Ahmad, K. K. Aggarwal, and S. P. S. Khanuja, *J. Med. Entomol.* **41**, 691 (2004).
35. M. El Arch, B. Satrani, A. Farah, L. Bennani, D. Boriky, M. Fechtal, M. Blaghen, M. Talbi, M. El, B. Satrani, A. Farah, L. Bennani, M. Fechtal, M. Blaghen, and M. T. Composition, **8078**, (2013).
36. M. El Arch, B. Satrani, A. Farah, L. Bennani, D. Boriky, M. Fechtal, M. Blaghen, and M. Talbi, (2003).
37. F. Brahmi, A. Abdenour, M. Bruno, P. Silvia, P. Alessandra, F. Danilo, Y.-G. Drifa, E. M. Fahmi, M. Khodir, and C. Mohamed, *Ind. Crops Prod.* **88**, 96 (2016).

38. N. Benayad and W. Ebrahim, **13**, 27 (2012).
39. E. Pereira, A. I. Pimenta, R. C. Calhelha, A. L. Antonio, S. Cabo, L. Barros, C. Santos-buelga, and I. C. F. R. Ferreira, *LWT - Food Sci. Technol.* **71**, 370 (2016).
40. B. Fatiha, H. Didier, G. Naima, M. Khodir, K. Martin, K. Léocadie, S. Caroline, C. Mohamed, and D. Pierre, *Ind. Crops Prod.* **74**, 722 (2015).
41. K. Kapp, E. Hakala, A. Orav, L. Pohjala, P. Vuorela, T. Püssa, H. Vuorela, and A. Raal, *Food Res. Int.* **53**, 758 (2013).
42. F. M. Areias, P. Valentão, P. B. Andrade, F. Ferreres, and R. M. Seabra, *Food Chem.* **73**, 307 (2001).
43. M. E. Pares, *Circ. Farm* **41**, 133 (1983).
44. P. Dobiáš, P. Pavlíková, M. Adam, A. Eisner, B. Beňová, and K. Ventura, *Cent. Eur. J. Chem.* **8**, 87 (2010).
45. I. B. H. Yahia, Y. Zaouali, M. L. Ciavatta, A. Ligresti, R. Jaouadi, M. Boussaid, and A. Cutignano, *Molecules* **24**, (2019).
46. F. Siham, B. Rachid, and R. M. Al-Zoubi, *Pharmacogn. J.* **11**, (2019).
47. N. K. Alharbi, S. Naghmouchi, and M. Al-Zaban, *Evidence-Based Complement. Altern. Med.* **2021**, (2021).
48. A. Barros, S. Morais, P. Ferreira, Í. Vieira, A. Craveiro, R. Fontenelle, J. Menezes, F. Silva, and H. Sousa, *Ind. Crops Prod.* **76**, 557 (2015).
49. A. T. Mata, C. Proença, A. R. Ferreira, M. L. M. Serralheiro, J. M. F. Nogueira, and M. E. M. Araújo, *Food Chem.* **103**, 778 (2007).
50. A. Benabdallah, C. Rahmoune, M. Boumendjel, O. Aissi, and C. Messaoud, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **6**, 760 (2016).
51. A. M. Zobel and S. A. Brown, *J. Chem. Ecol.* **16**, 693 (1990).
52. D. J. Kliebenstein, *Curr. Opin. Plant Biol.* **16**, 112 (2013).
53. J. Bruneton, (1999).
54. H. Tapiero, K. D. Tew, G. N. Ba, and G. Mathe, *Biomed. Pharmacother.* **56**, 200 (2002).

55. M. Saltveit, *Postharvest Biol. Technol.* **145**, 41 (2018).
56. K. Tyagi, P. Shukla, G. K. Rohela, A. A. Shabnam, and R. Gautam, *Plant Phenolics Sustain. Agric. Vol. 1* 431 (2020).
57. D. H. Jones, *Phytochemistry* **23**, 1349 (1984).
58. V. R. Affonso, H. R. Bizzo, C. L. S. Lage, and A. Sato, *J. Agric. Food Chem.* **57**, 6392 (2009).
59. F. Brahmi, N. Lounis, S. Mebarakou, N. Guendouze, D. Yalaoui-Guellal, K. Madani, L. Boulekbache-Makhlouf, and P. Duez, *Front. Pharmacol.* **13**, 1 (2022).
60. H. Flück, *J. Pharm. Pharmacol.* **7**, 361 (1955).
61. J. Radušienė, B. Karpavičienė, and Ž. Stanius, *Bot. Lith.* **18**, 101 (2012).
62. M. Vilain, *La Production Végétale: La Maîtrise Technique de La Production. 2* (Tec & doc, 1987).
63. S. K. Yadav, *Agron. Sustain. Dev.* **30**, 515 (2010).
64. G. M. Jochum, K. W. Mudge, and R. B. Thomas, *Am. J. Bot.* **94**, 819 (2007).
65. M. S. Padda and D. H. Picha, *Postharvest Biol. Technol.* **47**, 176 (2008).
66. K. O. Ç. Esra, C. İŞLEK, and A. S. Üstün, *Gazi Univ. J. Sci.* **23**, 1 (2010).
67. B. Kumari, B. K. Tiwari, M. B. Hossain, D. K. Rai, and N. P. Brunton, *Int. J. Food Sci. Technol.* **52**, 1432 (2017).
68. A. Sharma, B. Shahzad, A. Rehman, R. Bhardwaj, M. Landi, and B. Zheng, *Molecules* **24**, 2452 (2019).
69. J. Yang, X. Zhang, Q. Jin, L. Gu, X. Liu, J. Li, and Y. Ni, *Nat. Prod. Res.* **31**, 1091 (2017).
70. A. Ghestem, E. Seguin, M. Paris, and A. M. Orecchioni, *Homéopathie. Ed. TEC DOC* (2001).
71. N. Nenadis, L. Llorens, A. Koufogianni, L. Díaz, J. Font, J. A. Gonzalez, and D. Verdaguer, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **153**, 435 (2015).
72. L. A. Vázquez-León, D. E. Páramo-Calderón, V. J. Robles-Olvera, O. A. Valdés-Rodríguez, A. Pérez-Vázquez, M. A. García-Alvarado, and G. C. Rodríguez-Jimenes, *Eur. Food Res. Technol.* **243**, 1593 (2017).
73. Y. Rahimi, A. Taleei, and M. Ranjbar, *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. **237**, 36 (2018).
74. J. Chiappero, L. del Rosario Cappellari, L. G. Sosa Alderete, T. B. Palermo, and E. Banchio, *Ind. Crops*

Prod. **139**, 111553 (2019).

75. I. Bautista, M. Boscaiu, A. Lidón, J. V Llinares, C. Lull, M. Donat, O. Mayoral, and O. Vicente, *Acta Physiol. Plant.* **38**, 1 (2016).

76. H. Kaulen, J. Schell, and F. Kreuzaler, *EMBO J.* **5**, 1 (1986).

77. R. E. Koes, C. E. Spelt, and J. N. M. Mol, *Plant Mol. Biol.* **12**, 213 (1989).

78. C. Cirak and J. Radusiene, *Biol. Futur.* **70**, 198 (2019).

79. S. BELGAT, (n.d.).

80. E. Ronen, *Pract. Hydroponics Greenhouses* (2007).

81. M. Ghestem, G. Veylon, A. Bernard, Q. Vanel, and A. Stokes, *Plant Soil* **377**, 43 (2014).

82. M. Barbero and P. Quezel, *Doc. d'écologie Pyrénéenne* **3**, 49 (1984).

83. M. A. S. Aishah, T. Rohana, M. A. Masni, and L. Jalifah, in *J. Phys. Conf. Ser.* (IOP Publishing, 2019), p. 12003.

84. R. S. Fletcher, T. Slimmon, and L. S. Kott, *Open Agric. J.* **4**, (2010).

85. D. M. Wright, G. J. Jordan, W. G. Lee, R. P. Duncan, D. M. Forsyth, and D. A. Coomes, *Funct. Ecol.* **24**, 52 (2010).

86. Ž. Tarasevičienė, A. Velička, and A. Paulauskienė, *Plants* **10**, (2021).

87. K. Jamwal, S. Bhattacharya, and S. Puri, *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants* **9**, 26 (2018).

88. C. Bienaimé, A. Melin, L. Bensaddek, J. Attoumbéré, E. Nava-Saucedo, and S. Baltora-Rosset, *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* **123**, 523 (2015).

89. Z. Hazzoumi, Y. Moustakime, and K. Amrani Joutei, *Springerplus* **3**, 1 (2014).

90. T. S. Kumar, V. Swaminathan, and S. Kumar, *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.* **8**, 86 (2009).

91. S. F. Hendawy and K. A. Khalid, *Med. Aromat. Plant Sci. Biotechnol.* **5**, 43 (2011).

92. H. A. H. Said-Al Ahl, S. A. Hasnaa, and S. F. Hendawy, *J. Appl. Sci.* **2**, 319 (2009).

93. V. D. Zheljzkov, C. L. Cantrell, M. W. Ebelhar, D. E. Rowe, and C. Coker, *HortScience* **43**, 1415 (2008).

94. J. Thomas, A. K. A. Mandal, R. Raj Kumar, and A. Chordia, *Int. J. Agric. Res.* **4**, 228 (2009).
95. M. S. Reham, M. E. Khattab, S. S. Ahmed, and M. A. M. Kandil, *African J. Agric. Res.* **11**, 1398 (2016).
96. M. Wink, *Medicines* **2**, 251 (2015).
97. V. Cheynier, G. Comte, K. M. Davies, V. Lattanzio, and S. Martens, *Plant Physiol. Biochem.* **72**, 1 (2013).
98. P. J. Davies, *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!* (Springer Science & Business Media, 2004).
99. C. H. Wu, S. M. Bernard, G. L. Andersen, and W. Chen, *Microb. Biotechnol.* **2**, 428 (2009).
100. A. Crozier, *Biochem. Mol. Biol. Plants* (2000).
101. C. Finet and Y. Jaillais, *Dev. Biol.* **369**, 19 (2012).
102. N. Imin, M. Nizamidin, D. Daniher, K. E. Nolan, R. J. Rose, and B. G. Rolfe, *Plant Physiol.* **137**, 1250 (2005).
103. B. De Rybel, D. Audenaert, T. Beeckman, and S. Kepinski, *ACS Chem. Biol.* **4**, 987 (2009).
104. M. Ahemad and M. Kibret, *J. King Saud Univ.* **26**, 1 (2014).
105. N. F. Villacorta, H. Fernández, E. Prinsen, P. L. Bernad, and M. A. Revilla, *J. Plant Growth Regul.* **27**, 93 (2008).
106. E. Karalija and A. Paric, *Biol. Nyssana* **2**, 29 (2011).
107. A. H. A. Farooqi, A. Khan, and S. Sharma, *Indian Perfum.* **47**, 359 (2003).
108. X.-H. Cui, D. Chakrabarty, E.-J. Lee, and K.-Y. Paek, *Bioresour. Technol.* **101**, 4708 (2010).
109. G.-T. Jeong, J.-C. Woo, and D.-H. Park, *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **12**, 86 (2007).
110. S. Farkya and V. S. Bisaria, *J. Biosci. Bioeng.* **105**, 140 (2008).
111. A. Shukla and A. H. A. Farooqi, *Curr Res Med Arom Plants* **12**, 152 (1990).
112. C. H. Park, A. AyeThwe, S. J. Kim, J. S. Park, M. Arasu, N. A. Al-Dhabi, N. Il Park, and S. U. Park, *Nat. Prod. Commun.* **11**, 1934578X1601100924 (2016).
113. A. K. Sandhu, D. J. Gray, J. Lu, and L. Gu, *Food Chem.* **126**, 982 (2011).

114. T. Werner and T. Schmölling, *Curr. Opin. Plant Biol.* **12**, 527 (2009).
115. K. Takei, N. Ueda, K. Aoki, T. Kuromori, T. Hirayama, K. Shinozaki, T. Yamaya, and H. Sakakibara, *Plant Cell Physiol.* **45**, 1053 (2004).
116. N. Brugière, S. Humbert, N. Rizzo, J. Bohn, and J. E. Habben, *Plant Mol. Biol.* **67**, 215 (2008).
117. S. Vyroubalová, K. Vaclavikova, V. Turecková, O. Novák, M. Šmehilová, T. Hluska, L. Ohnoutková, I. Frébort, and P. Galuszka, *Plant Physiol.* **151**, 433 (2009).
118. W. G. Hopkins and N. P. A. Hüner, (1995).
119. R. Heller, *Physiologie Végétale . 2, Développement / René Heller,... Robert Esnault,... Claude Lance,...*, 6e édition (Dunod, Paris, 2004).
120. F. A. Mansour, O. A. El-Shahaby, A. M. Gaber, H. A. M. Mostafa, and A. A. Ramadan, *Egypt. J. Physiol. Sci.* (1994).
121. M. Kamínek, D. W. S. Mok, and E. Zažímalová, *Physiology and Biochemistry of Cytokinins in Plants* (SPB Academic Publishing, 1992).
122. I. Grzegorzczak-Karolak, Ł. Kuźma, and H. Wysokińska, *J Med Plants Res* **7**, 3003 (2013).
123. H. Wysokin and I. Grzegorzczak-karolak, 699 (2015).
124. E. B. Merewitz, H. Du, W. Yu, Y. Liu, T. Gianfagna, and B. Huang, *J. Exp. Bot.* **63**, 1315 (2012).
125. M. V. Santoro, F. Nievas, J. Zygodlo, W. Giordano, and E. Banchio, *Am. J. Plant Sci.* **04**, 49 (2013).
126. T. Bekircan, A. Yaşar, S. Yıldırım, M. Sökmen, and A. Sökmen, *3 Biotech* **8**, 1 (2018).
127. D. Fraternali, L. Giamperi, D. Ricci, M. B. L. Rocchi, L. Guidi, F. Epifano, and M. C. Marcotullio, *Plant Cell. Tissue Organ Cult.* **74**, 87 (2003).
128. F. Reda, E. A. Abdel-Rahim, G. S. A. El-Baroty, and H. S. Ayad, *Int. J. Agric. Biol.* **7**, 735 (2005).
129. I. Grzegorzczak-karolak, Ł. Ku, and H. Wysoki, (2016).
130. H. Motte, D. Vereecke, D. Geelen, and S. Werbrouck, *Biotechnol. Adv.* **32**, 107 (2014).
131. A. Santner and M. Estelle, *Nature* **459**, 1071 (2009).
132. K. Ljung, *Development* **140**, 943 (2013).

133. Y.-H. Su, Y.-B. Liu, and X.-S. Zhang, *Mol. Plant* **4**, 616 (2011).
134. F. Skoog, in *Symp. Soc. Exp. Biol.* (1957), pp. 118–131.
135. J. Qian, L. Guiping, L. Xiujun, H. Xincai, and L. Hongmei, *Nat. Prod. Res.* **23**, 127 (2009).
136. J. Palazón, M. Bonfill, R. M. Cusidó, M. T. Pinol, and C. Morales, *Plant Cell Physiol.* **36**, 247 (1995).
137. S. R. Rao and G. A. Ravishankar, *Biotechnol. Adv.* **20**, 101 (2002).
138. S. Sharafzadeh and M. Zare, *Adv. Environ. Biol* **5**, 2296 (2011).
139. T. Murashige and F. Skoog, *Physiol. Plant.* **15**, 473 (1962).
140. F. Bagnouls and H. Gausson, in *Ann. Geogr.* (JSTOR, 1957), pp. 193–220.
141. L. Gouaidia, (2008).
142. B. Anabaraonye, J. C. Okafor, B. O. Ewa, and C. C. Anukwonke, in edited by D. K. Choudhary, A. Mishra, and A. Varma (Springer International Publishing, Cham, 2021), pp. 607–621.
143. C. Mathieu, F. Pieltain, and E. Jeanroy, *Analyse Chimique Des Sols: Méthodes Choisies* (Tec & doc, 2003).
144. D. Baize, INRA, Paris **257**, (2000).
145. Afnor, Recl. Normes Réglementation, 1 Méthodes D'analyse Chim. (2004).
146. S. A. Waksman, (1936).
147. G. Aubert, *Les Sols de La France d'Outre-Mer* (Imprimerie nationale, 1941).
148. S. R. Olsen and L. E. Sommers, *Soil Sci. Soc. Am. Inc* **581** (1982).
149. A. Delaunois, Y. Ferrie, M. Bouche, C. Colin, E. Adour-garonne, C. A. S. Dar, U. Europ, and A. Cedex, (2008).
150. F. Brahmi, F. Dahmoune, N. Kadri, M. Chibane, S. Dairi, H. Remini, S. Oukmanou-Bensidhoum, L. Mouni, and K. Madani, *J. Complement. Integr. Med.* **14**, (2017).
151. V. M. Rai, V. R. Pai, P. H. Kedilaya, and S. Hegde, *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* **21**, 131 (2013).
152. J. Bruneton, *Pharmacognosie: Phytochimie Plantes Médicinales* (1993).

153. M. Seladji, N. Belmekki, C. Bekhechi, and N. Bendimerad, *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* **26**, 228 (2014).
154. E. Trease and W. C. Evans, Billiare Tindall London, UK (1987).
155. R. Vijayalakshmi and R. Ravindhran, *Asian J. Plant Sci. Res.* (2011).
156. A. Daoudi, M. Sabiri, M. Bammou, T. Zair, J. Ibjibijen, and L. Nassiri, *J. Appl. Biosci.* **87**, 8094 (2015).
157. G. Linden and D. Lorient, *Biochimie Agro-Industrielle* (Masson, 1994).
158. L. Mentha Spicata, (n.d.).
159. I. Kosalec, M. Bakmaz, S. Pepeljnjak, and S. Vladimir-Knezevic, *Acta Pharm.* **54**, 65 (2004).
160. T. Robin, (2017).
161. A. Boussadia, A. Beghidja, L. Gali, C. Beghidja, M. Elhabiri, P. Rabu, and G. Rogez, *Inorganica Chim. Acta* **508**, (2020).
162. K. Benguedouar, S. Bencharif, B. Ramazan, E. Nusret, and G. Mesut, (2022).
163. M. G. Miguel, S. Nunes, S. A. Dandlen, A. M. Cavaco, and M. D. Antunes, *Food Chem. Toxicol.* **48**, 3418 (2010).
164. I. I. Koleva, T. A. Van Beek, J. P. H. Linssen, A. de Groot, and L. N. Evstatieva, *Phytochem. Anal. An Int. J. Plant Chem. Biochem. Tech.* **13**, 8 (2002).
165. C. Bensouici, T. Boudiar, I. Kashi, K. Bouhedjar, A. Boumechhour, L. Khatabi, and H. Larguet, *J. Food Meas. Charact.* **14**, 632 (2020).
166. Y.-C. Chung, C.-T. Chang, W.-W. Chao, C.-F. Lin, and S.-T. Chou, *J. Agric. Food Chem.* **50**, 2454 (2002).
167. R. Apak, K. Güçlü, M. Özyürek, and S. E. Karademir, *J. Agric. Food Chem.* **52**, 7970 (2004).
168. A. Szydłowska-Czerniak, C. Dianoczki, K. Recseg, G. Karlovits, and E. Sztyk, *Talanta* **76**, 899 (2008).
169. B. Asghari, G. Zengin, M. B. Bahadori, M. Abbas-Mohammadi, and L. Dinparast, *Eur. J. Integr. Med.* **22**, 44 (2018).
170. P. Dagnelie, *Statistique Descriptive et Bases de l'inférence Statistique* (De Boeck Université, 1998).
171. R. Spitaler, P. D. Schlorhauser, E. P. Ellmerer, I. Merfort, S. Bortenschlager, H. Stuppner, and C. Zidorn, *Phytochemistry* **67**, 409 (2006).

172. L. Boussouf, H. Boutenoune, M. Kebieche, N. Adjeroud, K. Al-Qaoud, and K. Madani, *South African J. Bot.* **113**, 77 (2017).
173. L. Riahi, H. Chakroun, I. Klay, A. S. Masmoudi, A. Cherif, and N. Zoghlami, *J. Complement. Integr. Med.* **16**, 1 (2019).
174. I. Kumar and R. K. Sharma, *Significances Bioeng. Biosci* **2**, 196 (2018).
175. S. Mollaei, M. Ebadi, S. Hazrati, B. Habibi, F. Gholami, and M. M. Sourestani, *Biochem. Syst. Ecol.* **91**, 104084 (2020).
176. M. B. Bahadori, G. Zengin, S. Bahadori, L. Dinparast, and N. Movahhedini, *Int. J. Food Prop.* **21**, 198 (2018).
177. N. Brown, J. A. John, and F. Shahidi, *Food Prod. Process. Nutr.* **1**, 1 (2019).
178. A. Eftekhari, A. Khusro, E. Ahmadian, S. M. Dizaj, L. Dinparast, M. B. Bahadori, A. Hasanzadeh, and M. Cucchiaroni, *Arab. J. Chem.* **14**, 103106 (2021).
179. and S. Č. Z. Erna Karalija, Edina Muratović, Petr Tarkowskib, *Nat. Prod. Commun. Var.* **12**, 545 (2017).
180. F. Abbou, R. Azzi, K. Ouffai, I. A. El Haci, N. Belyagoubi-Benhammou, C. Bensouici, and H. Benamar, *South African J. Bot.* **146**, 196 (2022).
181. M. Di Ferdinando, C. Brunetti, G. Agati, and M. Tattini, *Environ. Exp. Bot.* **103**, 107 (2014).
182. L. Pistelli, M. Tonelli, E. Pellegrini, L. Cotrozzi, C. Pucciariello, A. Trivellini, G. Lorenzini, and C. Nali, *Ind. Crops Prod.* **138**, 111469 (2019).
183. F. Vafadar, R. Amooaghaie, P. Ehsanzadeh, and M. Ghanadian, *Biologia (Bratisl)*. **75**, 2147 (2020).
184. U. Riaz, M. A. Kharal, G. Murtaza, Q. uz Zaman, S. Javaid, H. A. Malik, H. Aziz, and Z. Abbas, *Pakistan J. Agric. Res.* **32**, 8 (2019).
185. S. Mehalaine and H. Chenchouni, *Arab. J. Geosci.* **14**, 1 (2021).
186. P. Pant, S. Pandey, and S. Dall'Acqua, *Chem. Biodivers.* **18**, (2021).
187. M. Comisso, K. Toffali, P. Strazzer, M. Stocchero, S. Ceoldo, B. Baldan, M. Levi, and F. Guzzo, *Front. Plant Sci.* **7**, 1439 (2016).

188. M. L. Pérez-Ochoa, A. M. Vera-Guzmán, D. M. Mondragón-Chaparro, S. Sandoval-Torres, J. C. Carrillo-Rodríguez, and J. L. Chávez-Servia, *Diversity* **14**, (2022).
189. A. Parić, E. Karalija, and J. Čakar, *Acta Biol. Szeged.* **61**, 189 (2017).
190. N. Srećković, J. S. Katanić Stanković, S. Matić, N. R. Mihailović, P. Imbimbo, D. M. Monti, and V. Mihailović, *Ind. Crops Prod.* **155**, 112781 (2020).
191. A. Trifan, G. Zengin, K. I. Sinan, E. Wolfram, K. Skalicka-Woźniak, and S. V. Luca, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **204**, (2021).
192. R. Badoni, D. K. Semwal, and U. Rawat, *Int. J. Essent. Oil Ther.* **3**, 66 (2009).
193. Z. Zargoosh, M. Ghavam, G. Bacchetta, and A. Tavili, *Sci. Rep.* **9**, 1 (2019).
194. D. C. Thomas, F. Ferreres, J. Vinholes, A. Gil-izquierdo, P. Valentão, R. F. Gonçalves, and P. B. Andrade, *136*, 1390 (2013).
195. M. H. Alu'datt, T. Rababah, M. N. Alhamad, K. Ereifej, M. Al-Mahasneh, S. Brewer, and M. Rawshdeh, *J. Food Biochem.* **40**, 335 (2016).
196. S. Vladimir-Knežević, B. Blažeković, M. Kindl, J. Vladić, A. D. Lower-Nedza, and A. H. Brantner, *Acetylcholinesterase Inhibitory, Antioxidant and Phytochemical Properties of Selected Medicinal Plants of the Lamiaceae Family* (Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2014), pp. 767–782.
197. S. Habtemariam, *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 458 (2018).
198. F. S. Senol, A. Ankli, E. Reich, and I. E. Orhan, *Food Technol. Biotechnol.* **54**, 275 (2016).
199. M. Katalinić, G. Rusak, J. D. Barović, G. Šinko, D. Jelić, R. Antolović, and Z. Kovarik, *Eur. J. Med. Chem.* **45**, 186 (2010).
200. S. Shabani and M. A. Mirshekar, *Biomed. Pharmacother.* **108**, 1376 (2018).
201. R. R. Shah, K. V Subbaiah, and A. R. Mehta, *Can. J. Bot.* **54**, 1240 (1976).
202. J. Deikman and P. E. Hammer, *Plant Physiol.* **108**, 47 (1995).
203. F. Mirheidari, M. Hatami, and M. Ghorbanpour, *South African J. Bot.* (2021).
204. I. Weremczuk-Jeżyna, Ł. Kuźma, A. K. Kiss, and I. Grzegorzczuk-Karolak, *Acta Physiol. Plant.* **40**, 1 (2018).

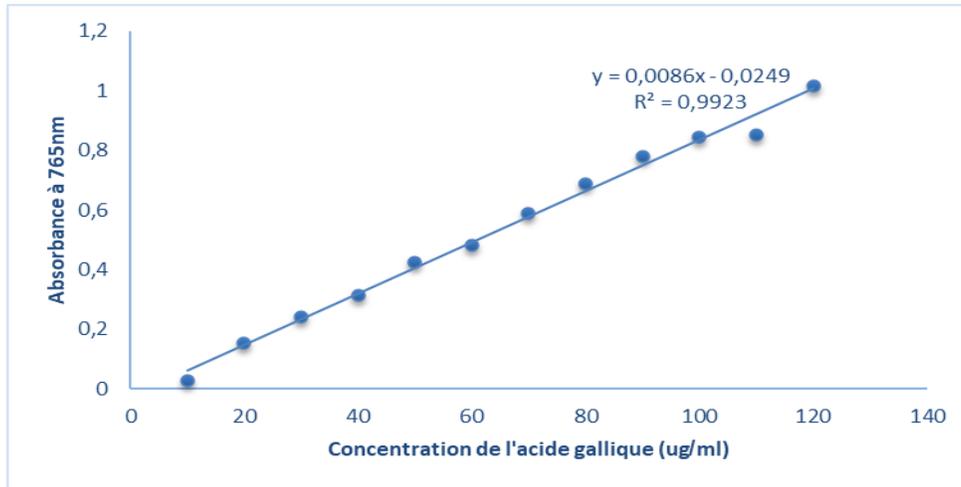
205. H. S. Taha, R. A. Abd El-Rahman, M. Fathalla, M. Abd-El-Kareem, and U. E. Aly, *Aust J Basic Appl Sci* **2**, 1148 (2008).
206. J. Gruz and L. Spíchal, in *Int. PSE Symp. Phytochem. Nutr. Heal. Giovinazzo, Bari, Italy* (2011), p. 30.
207. I. Grzegorzczak-Karolak, Ł. Kuźma, and H. Wysokińska, *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* **122**, 699 (2015).
208. L. Kousalya and V. Narmatha Bai, *Asian Pacific J. Reprod.* **5**, 161 (2016).
209. A. Dakah, S. Zaid, M. Suleiman, S. Abbas, and M. Wink, *Saudi J. Biol. Sci.* **21**, 317 (2014).
210. F. Brahmi and H. Remini, *1* (2017).
211. S. Aryal, M. K. Baniya, K. Danekhu, P. Kunwar, R. Gurung, and N. Koirala, *Plants* **8**, 96 (2019).
212. M. Abootalebian, J. Keramat, M. Kadivar, F. Ahmadi, and M. Abdinian, *Ann. Agric. Sci.* **61**, 175 (2016).
213. D. Skroza, V. Šimat, L. Vrdoljak, N. Jolić, A. Skelin, M. Čagalj, R. Frleta, and I. Generalić Mekinić, *Antioxidants* **11**, 1784 (2022).
214. K. H. S. Farvin and C. Jacobsen, *Food Chem.* **138**, 1670 (2013).
215. A. Wojdyło, J. Oszmiański, and R. Czemerys, *Food Chem.* **105**, 940 (2007).
216. I. Gülcin, *Arch. Toxicol.* **86**, 345 (2012).
217. G. K. Jayaprakasha, R. P. Singh, and K. K. Sakariah, *Food Chem.* **73**, 285 (2001).
218. J. Bouayed, K. Piri, H. Rammal, A. Dicko, F. Desor, C. Younos, and R. Soulimani, *Food Chem.* **104**, 364 (2007).
219. N. P. Das and T. A. Pereira, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **67**, 255 (1990).
220. J. M. Canadanovic-Brunet, S. M. Djilas, G. S. Cetkovic, and V. T. Tumbas, *J. Sci. Food Agric.* **85**, 265 (2005).
221. L. B. Roseiro, A. P. Rauter, and M. L. M. Serralheiro, *Nutr. Aging* **1**, 99 (2012).
222. S. El Aanachi, L. Gali, S. Rammali, C. Bensouici, H. Aassila, and K. Dari, *J. Food Meas. Charact.* **15**, 1785 (2021).
223. M. Kaminek, V. Motyka, and R. Vankova, *Physiol. Plant.* **v. 101**, (n.d.).

224. A. O. Aremu, W. A. Stirk, N. A. Masondo, L. Plačková, O. Novák, A. Pěnčík, M. Zatloukal, J. Nisler, L. Spíchal, K. Doležal, J. F. Finnie, and J. Van Staden, *Plant Sci.* **238**, 81 (2015).

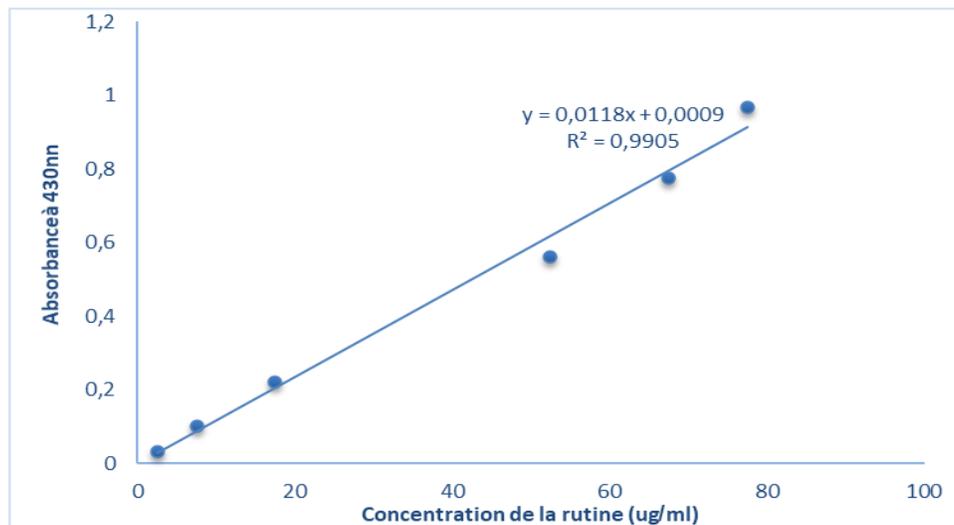
ANNEXES

Annexe1: les courbes d'étalonnage (CE) utilisé dans le dosage des phénol totaux, flavonoïde, flavone et flavonols

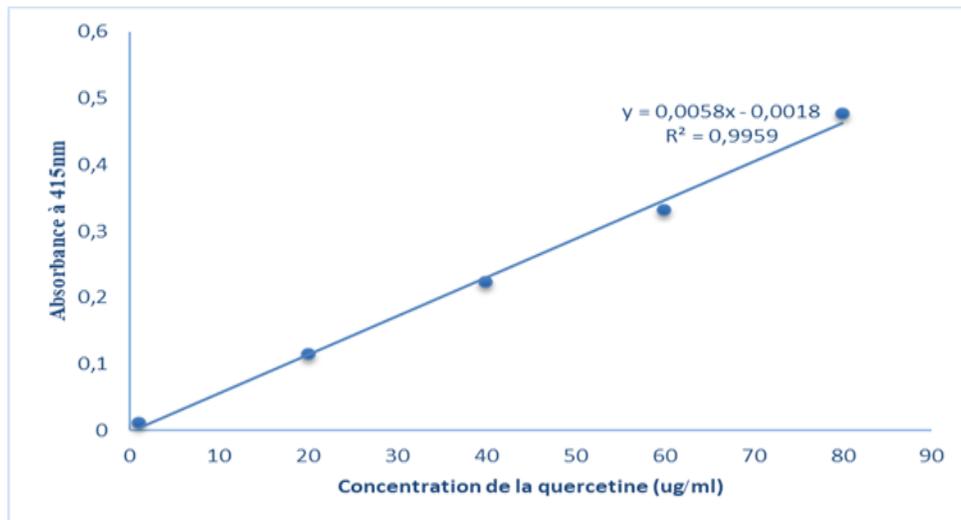
Annexe1.1: Courbe Etalonnage de l'acide ascorbique pour le dosage des phénol totaux



Annexe1.2 : Courbe Etalonnage de l'acide ascorbique pour le dosage des flavonoïdes



Annexe1.3 : Courbe Etalonnage de l'acide ascorbique pour le dosage des phénol totaux



Annexe 2. Résultats des rendements et teneurs en Phénol totaux, flavonoïdes, flavones et flavonols des extraits des parties aérienne et racinaires de plante *M. rotundifolia* L.

Extrait	Rendement	TPC	TFC	FLoC
MROT-JA	8,1±0,13	109,28±5,27	34,9±0,38	22,32±2,26
MROT-MA	13,93±0,62	167,49±6,26	77,02±1,09	54,85±0,27
MROT-JR	7,87±0,09	187,49±6,87	38,91±0,17	37,1± 0,5
MROT-MR	9,80±0,53	251,60±6,67	33,96±1,34	38,2± 0,2
PAT0	14,47±0,44	114,400,48	58,82±0,11	41,80±0,48
PAT1	12,73±0,44	144,77±0,12	71,62±1,41	50,68±0,44
PAT2	12,07±0,44	154,40±1,24	61,59±0,70	44,22±0,45
PAT3	14,73±0,44	229,5±90,10	70,80±1,73	49,20±0,34
PAT4	14,07±0,44	206,64±1,44	72,81±0,79	50,23±0,75
PAT5	13,93±0,44	217,96±2,27	70,12±3,03	50,94±0,54
PAT6	16,73±0,44	214,86±0,31	60,80±2,64	39,74±4,21
PAT7	14,73±0,44	224,6±1,24	57,47±1,81	41,17±2,18
PAT8	14,3±0,44	235,7±2,38	61,14±1,39	41,00±2,41
PRT0	3,79±0,44	72,60±0,89	43,91±0,90	52,57±0,23
PRT1	9,25±0,44a	202,89±0,56	45,57± 0,41	49,37±1,33
PRT2	6,71±0,44	167,11±0,41	40,18± 0,00	52,77±2,10
PRT3	5,37±0,44	118,46±0,24	38,91± 0,00	53,04±1,40
PRT4	6,03±0,44	212,30±0,31	40,43± 0,00	49,11±0,76
PRT5	7,79±0,44	113,31±5,32	35,35± 0,11	57,77±1,01
PRT6	8,45±0,44	152,46±10,18	46,16±0,26	53,71±0,99
PRT7	7,50±0,44	115,56±5,2	40,60±0.0	60,44±2,31
PRT8	6,18±0,44	252,69±8,89	34,59± 0,45	46,37±0,42

Annexe 3. Valeurs des taux d'inhibitions et des IC50/A05 des activités biologiques de *M. rotundifolia* poussé dans deux régions

Annexe3.1. Test de DPPH

Extraits ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	(%) d'Inhibition du DPPH							CI50 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
	1.5625 μg	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	
MROT-JA	- 5,728 \pm 3,91	- 0,208 \pm 1,48	1,128 \pm 0,88	2,648 \pm 1,81	20,228 \pm 2,38	82,078 \pm 3,54	87,258 \pm 0,32	36.12 \pm 0.75
MROT-MA	1,12 \pm 0,22	2,64 \pm 1,76	20,22 \pm 0,44	33,60 \pm 2,05	35,76 \pm 0,00	60,66 \pm 0,00	73,25 \pm 0,55	37,88 \pm 0,72
MROT-JR	2,24 \pm 0,00	2,24 \pm 0,00	38,23 \pm 0,81	38,23 \pm 0,81	43,78 \pm 0,16	66,06 \pm 1,54	80,09 \pm 0,57	30.11 \pm 1.83
MROT-MR	16,52 \pm 0,48	29,34 \pm 0,32	31,47 \pm 1,20	56,36 \pm 0,40	83,87 \pm 0,64	84,51 \pm 0,32	83,98 \pm 0,56	21.77 \pm 0.06
BHA	22,24 \pm 0,05	31,76 \pm 0,05	54,92 \pm 0,05	67,30 \pm 0,50	76,44 \pm 0,50	78,00 \pm 1,00	79,51 \pm 0,25	5.72 \pm 0.42

Annexe3.2. Test de ABTS

Extraits ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	(%) d'Inhibition du DPPH							CI50 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
	1.5625 μg	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	
MROT-JA	17,92 \pm 1,88	24,15 \pm 2,61	41,97 \pm 0,36	63,07 \pm 1,30	92,32 \pm 0,07	93,63 \pm 0,22	93,87 \pm 0,07	77.66 \pm 1.95
MROT-MA	28,21 \pm 0,97	34,68 \pm 3,67	54,71 \pm 0,37	73,55 \pm 1,17	91,25 \pm 0,07	92,03 \pm 0,39	92,39 \pm 0,4	43.30 \pm 1.42
BHT	49,09 \pm 0,76	72,63 \pm 2,06	88.73 \pm 0,89	94.00 \pm 0,31	94.97 \pm 0,08	95.38 \pm 0,41	95.02 \pm 0,23	12.99 \pm 0.41
Extraits ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	400 μg	800 μg	CI50 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
MROT-JR	9,93 \pm 1,05	42,22 \pm 1,67	46,22 \pm 2,6	46,22 \pm 2,7	50,62 \pm 0,67	81,73 \pm 3,66	89,70 \pm 0,39	24.99 \pm 0.28
MROT-MR	8,99 \pm 1,05	32,80 \pm 0,82	33,96 \pm 5,41	63,76 \pm 0,54	90,16 \pm 1,12	91,64 \pm 0,21	90,54 \pm 1,36	7.73 \pm 0.16
BHT	49.22 \pm 0.75	59.22 \pm 0.59	78.55 \pm 3.43	90.36 \pm 0.00	92.18 \pm 1.27	93.37 \pm 0.86	94.87 \pm 0.87	1.59 \pm 0.03

Annexe3.3. Test de blanchissement du β -carotène

Extraits ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	(%) d'Inhibition de la β -carotène/acide linoléique							CI50 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	400 μg	800 μg	
MROT-JA	17,92 \pm 1,93	24,15 \pm 3,05	41,97 \pm 2,92	50,41 \pm 0,28	63,07 \pm 1,22	65,07 \pm 1,22	88,29 \pm 0,01	145.66 \pm 1.15
MROT-MA	43,86 \pm 0,96	45,67 \pm 1,30	51,60 \pm 1,85	55,84 \pm 0,44	62,66 \pm 0,05	66,44 \pm 0,09	90,29 \pm 0,05	276.20 \pm 4.08
MROT-JR	27,80 \pm 0,05	29,92 \pm 0,26	35,73 \pm 0,23	40,43 \pm 0,01	43,53 \pm 0,70	54,59 \pm 0,83	58,50 \pm 0,01	48.41 \pm 1.05
MROT-MR	29,48 \pm 0,00	39,181,07	48,11 \pm 0,00	44,03 \pm 0,00	46,60 \pm 0,00	68,34 \pm 2,20	75,83 \pm 1,42	198.71 \pm 6.97
BHT	88.29 \pm 0.10	91.70 \pm 0.36	93.65 \pm 0.30	93.68 \pm 0.46	94.49 \pm 0.07	94.88 \pm 0.10	95.58 \pm 0.19	0.91 \pm 0.01

Annexe3.4. Méthode de la capacité antioxydante évaluée à l'aide du test de réduction du cuivre : test (CUPRAC)

Extraits (µg /ml)	Absorbance du pouvoir de réduction de cuivre (A0.5)							CI50 (µg/mL)
	1.5625µg	3.125µg	6.25µg	12.5µg	25µg	50µg	100µg	
MROT-JA	0,15±0,01	0,21±0,00	0,36±0,01	0,57±0,02	1,02±0,04	1,78±0,10	2,83±0,10	10.49±0.43
MROT-MA	0,12±0,01	0,13±0,00	0,18±0,00	0,28±0,01	0,44±0,02	0,91±0,04	1,41±0,08	26.33±0.21
BHT	0.11±0.04	0.19±0.01	0.33±0.04	0.66±0.07	1.03±0.07	1.48±0.09	2.04±0.14	9.62±0.87
Extraits (µg /ml)	12.5µg	25µg	50µg	100µg	200µg	400µg	800µg	CI50 (µg/mL)
MROT-JR	0,36±0,01	0,59±0,02	0,94±0,00	1,71±0,11	2,52±0,78	2,10±0,19	4,38±0,06	20.69±0.68
MROT-MR	0,48±0,02	0,83±0,02	1,61±0,00	2,80±0,09	4,17±0,14	4,50±0,06	4,27±0,04	13.55±0.57
BHT	1.41±0.03	2.22±0.05	2.42±0.02	2.50±0.01	2.56±0.05	2.86±0.07	3.38±0.13	8.97±3.94

Annexe3.5. Méthode de la réduction du fer FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

Extraits (µg /ml)	Absorbance du pouvoir de réduction fer (FRAP)(A0.5)							CI50 (µg/mL)
	0,390625	0,78125	1.5625µg	3.125µg	6.25µg	12.5µg	25µg	
MROT-JA	0,14±0,01	0,18±0,00	0,26±0,02	0,36±0,00	0,61±0,05	0,76±0,05	1,13±0,02	5.14±0.07a
MROT-MA	0,14±0,03	0,20±0,00	0,28±0,01	0,44±0,03	0,58±0,01	0,91±0,12	1,03±0,09	5.14±0.07
A. ascorbique	0.11±0.04	0.19±0.01	0.33±0.04	0.66±0.07	1.03±0.07	1.48±0.09	2.04±0.14	9.62±0.87
Extraits (µg /ml)	1.5625µg	3.125µg	6.25µg	12.5µg	25µg	50µg	100µg	CI50 (µg/mL)
MROT-JR	0,11±0,01	0,14±0,01	0,21±0,01	0,26±0,00	0,46±0,01	0,80±0,00	1,10±0,08	57.31±1.1
MROT-MR	0,10±0,00	0,14±0,02	0,47±0,01	0,81±0,00	1,37±0,08	1,37±0,08	1,25±0,06	15.14±0.34c
A. ascorbique	0,35±0,05	0,46±0,03	0,84±0,12	0,93±0,30	1,18±0,34	1,37±0,20	1,44±0,21	6.77±1.15

Annexe3.6. Méthode de la réduction du fer dans le complexe phénanthroline-Fe³⁺ (Test de phénantroline)

Extraits (µg /ml)	Absorbance du complexe phénanthroline-Fe ³⁺ (A0.5)							CI50 (µg/ml)
	0,390	0,78125	1.5625µg	3.125µg	6.25µg	12.5µg	25µg	
MROT-JA	0,30±0,01	0,31±0,01	0,32±0,02	0,33±0,01	0,38±0,00	0,50±0,03	0,69±0,00	13.31±0.58
MROT-MA	0,32±0,01	0,35±0,03	0,35±0,02	0,36±0,01	0,41±0,02	0,46±0,00	0,62±0,00	14.93±0.70
BHT	0,47±0,01	0,47±0,01	0,53±0,03	1,23±0,02	1,84±0,01	3,48±0,03	4,84±0,01	2,24±0,17
Extraits	3.125µg	6.25µg	12.5µg	25µg	50µg	100µg	200µg	CI50
MROT-JR	0,42±0,01	0,51±0,04	0,70±0,08	0,58±0,15	1,09±0,07	1,79±0,02	2,76±0,07	8.89±0.58
MROT-MR	0,38±0,01	0,48±0,02	0,60±0,01	0,93±0,02	1,53±0,12	2,53±0,21	4,04±0,11	7.93±0.55

Annexe3.7. Test de réduction des nanoparticules d'argent

Extraits (µg /ml)	Absorbance du pouvoir de réduction d'ion de Ag ⁺ (A0.5)							CI50 (µg/ml)
	0,390	0,7815	1.562µg	3.125µg	6.25µg	12.5µg	25µg	
MROT-JA	0,26±0,01	0,28±0,01	0,39±0,01	0,61±0,01	0,89±0,02	1,42±0,05	2,16±0,26	2.34±0.05
MROT-MA	0,23±0,02	0,27±0,02	0,37±0,01	0,59±0,00	0,95±0,02	1,52±0,05	2,44±0,02	2.17±0.006
Extraits (µg /ml)	3.125µg	6.25µg	12.5µg	25µg	50µg	100µg	200µg	CI50 (µg/mL)
MROT-JR	0,25±0,03	0,31±0,00	0,34±0,01	0,36±0,00	0,53±0,02	0,92±0,04	1,62±0,11	42.92±1.1
MROT-MR	0,11±0,01	0,18±0,02	0,32±0,05	0,55±0,01	1,10±0,19	2,03±0,15	3,28±0,17	22.59±0.31
A. Ascorbique	-	-	-	-	-	-	-	7.14± 0.05

Annexe3. 8. Activité inhibitrice de l'Acétylcholinestérase

Extraits (µg /ml)	Absorbance du complexe phénanthroline-Fe ³⁺ (A0.5)							CI50 (µg/ml)
	0,390625	0,78125	1.5625µg	3.125µg	6.25µg	12.5µg	25µg	
MROT-JA	0,26±0,1	20,98±0,18	22,41±0,14	25,32±0,85	35,40±0,32	46,80±0,35	56,61±0,11	115,02±1,55
MROT-MA	17,37±0,04	19,25±0,04	18,65±0,04	28,18±0,11	35,70±0,85	45,58±0,78	56,25±0,35	147,89±2,55
Extraits (µg /ml)	3.125µg	6.25µg	12.5µg	25µg	50µg	100µg	200µg	CI50 (µg/ml)
MROT-JR	-1,14±0,29	0,59±3,68	5,35±3,36	19,56±1,01	23,47±1,12	30,74±1,81	58,20±0,87	169,41±0,84
MROT-MR	3,57±0,78	11,30±0,72	22,20±0,05	30,78±0,52	67,53±0,00	68,08±0,00	99,12±0,24	37,12±0,04
A. Ascorbique	NT	35,93±2,28	43,77±0.00	68,50 ± 0,31	80,69 ± 0,41	85,78 ± 1,63	91,80 ±0,20	6.27±1.2

Annexe3. 9. Activité inhibitrice de l'α glucosidase

Extraits (µg /ml)	(%) d'Inhibition d'α-glucosidase							CI50 (µg/ml)
	6.25µg	12.5µg	25µg	50µg	100µg	200µg	400µg	
MROT-JA	26,27±2,35	28,97±1,09	30,30±0,00	40,56±0,00	42,77±0,34	52,13±0,57	68,23±0,75	181,25±3,03
MROT-MA	30,00±1,58	34,70±0,00	38,45±0,32	39,40±0,16	52,48±0,80	62,21±0,40	67,59±0,71	107,18±1,49
MROT-JR	41,92±0,88	44,47±2,01	47,05±0,13	47,12±0,76	70,98±0,03	76,20±0,29	81,64±0,81	42,61±2,09
MROT-MR	25,32±1,39	47,45±0,48	62,46±0,07	71,55±1,28	77,77±1,51	82,72±3,23	91,94±1,65	17,21±0,12
A. Ascorbique	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	275,8±11,06

Annexe4 : Valeurs des taux d'inhibitions et des IC50/A05 des activités biologiques de *M. rotundifolia* traitée par les phytohormones

Activité	PAT0	PAT1	PAT2	PAT3	PAT4	PAT5	PAT6	PAT7	PAT8
DPPH	42,42±1,19	7,74±0,88	34,90±0,46	19,04±0,86	31,10±0,76	23,64±0,37	24,64±0,47	22,33±0,85	10,30±0,14
ABTS	94,55±0,25	37,93±1,50	16,24±1,02	59,83±1,25	67,58±0,50	70,40±4,66	66,75±1,30	75,91±2,12	96,01±0,74
β-carotène	75,23±0,42	28,18±0,55	76,65±2,12	39,23±2,98	48,41±0,86	24,00±0,44	38,42±0,87	25,33±2,80	93,48±0,81
CUPRAC	46,50±0,92	31,74±0,51	14,78±1,05	21,60±0,32	9,91±0,27	23,81±0,37	9,46±0,37	22,80±0,68	26,33±0,17
FRAP	>25	9,77±0,12	20,58±0,44	23,31±0,44	18,46±0,89	24,74±0,12	18,46±0,89	23,85±1,04	8,56±0,05
Phen	15,25±0,44	5,67±0,05	6,92±0,47	5,83±0,58	9,37±0,53	6,84±0,02	10,12±0,76	6,58±0,27	9,21±0,55
SNP	3,97±0,09	3,86±0,10	2,93±0,27	2,03±0,07	2,93±0,18	2,34±0,36	2,94±0,02	1,98±0,05	5,28±0,07
AChE	129,89±1,58	105,43±1,78	119,55±1,09	85,57±2,35	99,47±0,36	99,93±0,60	148,47±0,26	160,62±2,05	77,76±0,35
α-glucosidase	376,26±1,02	201,61±1,06	127,55±0,20	338,23±0,23	359,27±0,07	>400	>400	>400	>400
Activité	PRT0	PRT1	PRT2	PRT3	PRT4	PRT5	PRT6	PRT7	PRT8
DPPH	49,69±1,19	13,14±0,66	10,85±1,32	28,09±1,46	27,33±0,69	23,24±0,36	22,12±1,57	20,02±1,39	20,03±0,17
ABTS	94,55±0,25	37,93±1,50	16,24±1,02	59,83±1,25	67,58±0,50	70,40±4,66	66,75±1,30	75,91±2,12	96,01±0,74
β-carotène	571,32±4,85	647,47±8,76	296,96±5,41	248,64±4,04	470,62±1,20	368,77±0,75	580,30±3,78	234,112,52	653,631,95
CUPRAC	39,72±0,51	23,15±0,10	13,82±0,5	22,01±0,34	28,58±0,30	25,34±0,08	17,03±0,30	32,05±0,31	18,48±0,55
FRAP	66,06±0,69	32,71±1,11	45,75±2,32	29,32±1,06	35,16±1,35	43,66±0,03	35,94±0,83	43,48± 0,10	24,17±0,55
Phénantroline	24,35±0,45	9,95±0,29	4,48±0,18	14,11±0,46	18,22±0,34	18,90±0,38	5,78±0,64	9,540,42	6,49±0,49
SNP	42,93±0,90	8,84±0,61	15,71±0,62	29,87±1,00	41,26±0,98	27,74±1,35	17,45±0,32	42,880,40	33,36±060
AChE	34,75±1,99	117,36±2,11	95,18±0,76	88,33±0,41	114,08±0,95	99,94±0,60	160,62±2,05	148,470,26	77,76±0,35
a. Glycosidase	83,24±0,22	48,50±0,86	21,61±1,11	58,59±0,94	42,12±1,13	46,79±0,60	20,57±0,33	39,03±0,97	16,34±0,75

PA: Partie aérienne, PR: Partie racinaire

Annexe5: Les coefficients de corrélation de Pearson entre les activités biologiques et les composants phénoliques totaux de *M. rotundifolia* provenant de deux régions

	DPPH	ABTS	β-carotène	CUPRAC	FRAP	Phénantroline	NSP
TPC	-.713**	-.964**	.563	.167	.944**	-.836**	.817**
FLC	.875**	.695*	-.743**	.318	-.958**	.970**	-.897**
FLoC	.923**	.758**	-.650	.332	-.972**	.987**	-.850**

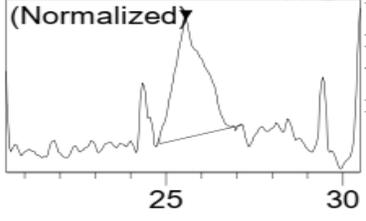
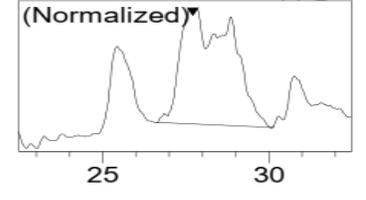
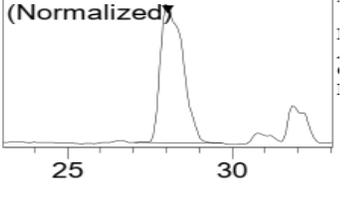
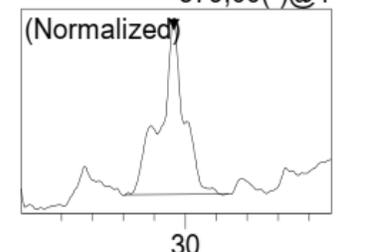
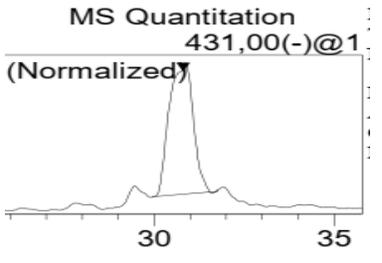
Annexe6: Les coefficients de corrélation de Pearson entre les activités biologiques et les composants phénoliques totaux et individuels des extraits de *M. rotundifolia* traité

* et ** indiquent une différence significative avec $p < 0,05$ et $p < 0,01$, respectivement."

	DPPH	ABTS	B-carotène	FRAP	CUPRAC	PHEN	SNP	α -glucosidase	ACHE
phénol totaux	-,468**	,304*	-,358**	-,644**	-,494**	-,504**	-,578**	-0,06	0,10
Flavonoïdes	-0,04	,714**	-,782**	-,642**	-0,11	-,400**	-,811**	,534**	,733**
Flavones et flavonol	-,379**	-,383**	0,24	0,11	-0,23	-0,21	0,20	-0,07	-,308*
A.Quinique	-0,13	,493**	-,756**	-,721**	-0,15	-,392**	-,640**	,343*	,543**
A. Gallique	-0,20	-,466**	,449**	,517**	-0,18	0,11	0,26	-,320*	-,504**
A. protocatéchuique	-0,07	-,382**	,527**	,388**	0,15	,329*	,377**	-0,14	-,487**
A. Caféique	-0,15	-,456**	,473**	,326*	0,20	0,18	,530**	-0,23	-,363**
A.Syringique	0,09	0,12	0,09	0,13	0,13	0,27	-0,05	0,06	-0,17
A. p-coumarique	-0,14	,630**	-,522**	-,442**	,340*	-0,24	-,480**	,407**	,567**
A.Trans-ferulique	-0,24	-0,18	0,04	-0,12	0,01	-0,18	0,08	-0,19	-0,09
Rutin	-,295*	-0,08	-0,22	-,415**	0,04	-0,07	-0,22	-0,14	0,17
Luteolin-7-o-glucoside	-0,15	,323*	-,559**	-,586**	-0,16	-0,22	-,545**	0,05	,419**
Naringine	0,23	,745**	-,680**	-,427**	-0,09	-0,22	-,653**	,591**	,607**
Apegenin-7-o-glucoside	-0,22	0,14	-,412**	-,510**	-0,09	-0,16	-,416**	-0,05	,286*
A. Rosmarinique	0,01	0,13	-,275*	-,364**	-,535**	-,366**	-0,24	,294*	0,10
A.Salviolinique	-,246	,335*	-,523**	-,608**	-,380**	-,339*	-,435**	,083	0,362**
Naringenine	-,368**	-,461**	,471**	0,13	-,363**	-0,21	0,27	-,531**	-,356**
Apigénine	-,305*	0,23	-,535**	-,653**	0,01	-,289*	-,518**	0,05	,446**
Cirsiliol	-0,20	0,22	-,505**	-,561**	-0,17	-0,26	-,494**	-0,02	,349**
Acacétine	-,301*	-0,04	-,268*	-,452**	0,02	-0,11	-,269*	-0,13	0,20

Annexe7 : Composés phénoliques identifiés par LC-ESI- MS trouvant dans l'extrait de la partie aérienne de plante de Jijel

Composé identifié	Tr	m/z	Surface	Concentration	Pics des composés identifiés par la LC-ESI-MS
Acide quinique	2,095	191,00	3922926	35,834	
Acide protocatéchique	6,945	153	123229	1,269	
Acide caféique	15,872	: 179,00	681760	3,250	
Acide syringique	17,992	197,00	219013	4,478	
Acide p-coumaricque	22,746	163,00	250843	0,645ppm	

Acide trans frulique	25,562	193,00	35194	0,016	<p>MS Quantitation 193,00(-)@1</p> <p>(Normalized)</p> 
Rutine	27,707	609,00	154132	0,126	<p>MS Quantitation 609,00(-)@1</p> <p>(Normalized)</p> 
Luteolin-7-o- glucoside	28,038	447,00	1502840	1,481	<p>MS Quantitation 447,00(-)@1</p> <p>(Normalized)</p> 
Naringine	29,624	579,00	351976	0,999ppm	<p>MS Quantitation 579,00(-)@1</p> <p>(Normalized)</p> 
Apegenin-7-o- glucoside	30,808	431,00	661446	0,375	<p>MS Quantitation 431,00(-)@1</p> <p>(Normalized)</p> 

Acid Rosmarinique	29,979	359,00	16042790	28,586	
Acide salviolinique	31,556	717,00	986558	13,602ppm	
Naringenin	37,073	271,00	70122	0,239	
Apegenine	37,606	269,00	558954	0,259ppm	
Cirsiliol	38,874	329,00	2349513	1,993	

Acacetin	43,891	283,00	914948	0,379	
----------	--------	--------	--------	-------	--

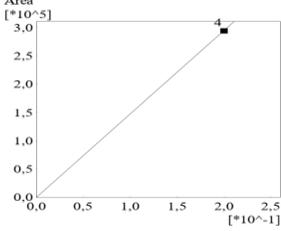
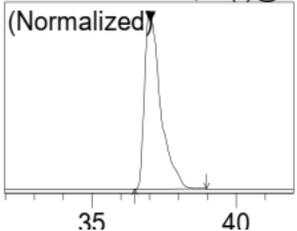
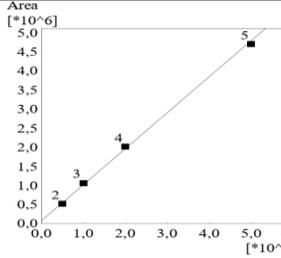
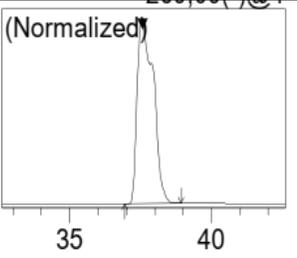
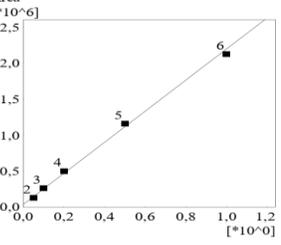
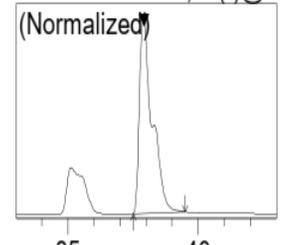
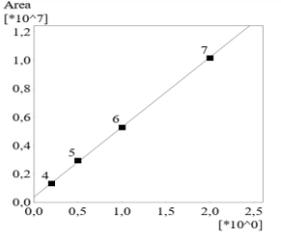
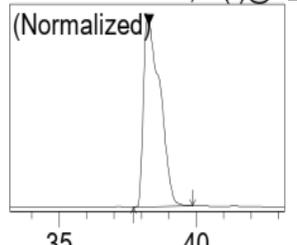
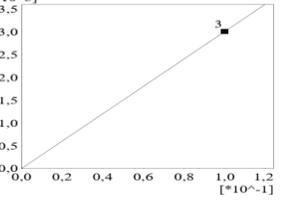
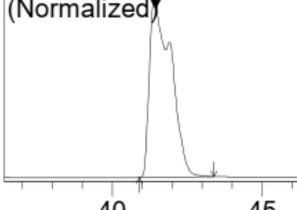
Annexe 8: Temps de rétention, ion précurseur (m/z), Courbe étalonnage et Chromatogramme de 27 standards utilisés dans la LC-ESI-MS

N°	Composé synthétique	Tr	MS	Courbe etalonnage	Graphé
1	Acid quinique	2,095	191,00		
2	Acide Gallique	4,005	169,00		
3	A.Protcatéchuique	6,986	153,00		
4	Catechine (+)	12,602	289,00		

5	Acide caffeique	15,891	179,00		
6	Acide Syringique	18,053	197,00		
7	Epicatechin	19,649	289,00		
8	Acide p-coumarique	22,815	163,00		
9	Acide trans frulique	25,508	193,00		
10	Rutin	27,434	609,00		

11	Hyperoside (quercetin-3-o-galactoside)	27,789	463,00		
12	Luteolin-7-o-glucoside	28,134	447,00		
13	o-coumaric acid	29,163	163,00		
14	Naringin	29,673	579,00		
15	Quercetrin (quercetin-3-o-rhamonoside)	30,803	447,00		

16	Apegenin-7-o-glucoside	--	431,00		
17	Rosmarinic acid	30,041	359,00		
18	Salviolinic acid	31,960	717,00		
19	Quercetin	35,100	301,00		
20	trans cinnamic	35,157	147,00		
21	kampherol	37,915	285,00		

22	Naringenin	37,027	271,00		
23	Apegenin	37,579	269,00		
24	Luteolin	37,920	285,00		
25	Cirsiliol	38,283	329,00		
26	Cirsilineol	41,447	343,00		
27	Acacetin	43,442	283,00	