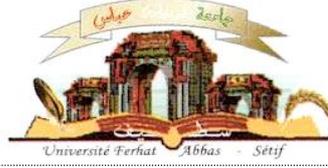


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET
ÉCOLOGIE VÉGÉTALES

N°...../SNV/2017

THÈSE

Présentée par

NOUIOUA Wafa

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière: BIOLOGIE

Spécialité: ÉCOLOGIE

THÈME

Ecologie, chorologie et phytochimie et activité biologique d'une *Paeoniaceae* endémique algérienne *Paeonia mascula* (L.) Mill.

Soutenue publiquement le/...../2017

DEVANT LE JURY

Président	Seraiche-Dahamna Saliha	Pr. UFA Sétif 1
Directeur	Kaâbache Mohamed	Pr. UFA Sétif 1
Examineurs	Khennouf seddik	Pr. UFA Sétif 1
	Yahya abdlwahab	Pr. CUM Mila
	Sarri madani	MCA UMB (M'sila)
	Dahia mustafa	MCA UZA (Djelfa)

Laboratoire de de Phytothérapie Appliquées aux Maladies Chroniques

AVANT-PROPOS

Avant d'aborder l'exposé de mes résultats, qu'il me soit permis de remercier toutes les personnes qui, à des degrés divers, ont contribué à faciliter l'élaboration de cette étude.

Ce travail a été réalisé sous la direction du Professeur **Mohamed KAABÈCHE** qui a bien voulu me témoigner de sa confiance. Son intérêt, toujours renouvelé, ses conseils, tant sur le plan de la collecte des données sur le terrain qu'au plan de l'élaboration du mémoire et sa connaissance approfondie dans le domaine de l'écologie végétale, m'ont été précieux pour mener dans les meilleures conditions, cette étude dont il a déterminé les orientations, tout en me laissant entière liberté pour la conduire à mon gré.

Je le remercie de la confiance qu'il m'a témoignée en me proposant ce sujet passionnant et en acceptant que cette étude se déroule sous l'égide de son équipe «Biodiversité et Ressources Phytogénétiques» (Laboratoire de Phytothérapie Appliquées aux Maladies Chroniques et je l'assure de ma profonde reconnaissance.

Je suis très reconnaissante à madame la professeur **Seraiche-Dahamna Saliha** de l'Université de setif 1 pour avoir accepté de juger ce travail ; je suis très sensible à l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury.

Que monsieur **Khennouf seddik**, professeur à l'Université de setif1 et à monsieur, **Yahya abdlwahab** professeur au centre universitaire de Mila, monsieur **Sarri madani** maitre de coférence A de l'univercité de M'sila, et monsieur **Dahia mustafa** maitre de coférence A de l'universite d'El Djelfa trouvent ici l'expression de ma gratitude pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon étude. Je les remercie, vivement, pour la confiance qu'ils m'ont témoignée en acceptant de juger ce travail.

Je suis très reconnaissante à monsieur **Smail Kedia**, conservateur des Forêts de la Wilaya de Sétif, à monsieur **Djamel Guessas** et à l'ensemble du personnel de la subdivision des forêts de Ain El-Kbira, pour nous avoir facilité la tâche sur le terrain ; qu'ils trouvent ici l'expression de nos plus vifs remerciements pour leur aide, leurs conseils, ainsi que leur assistance pendant les sorties de terrain.

الملخص

الموقع الهام تحتله الجزائر أعطى تنوع بيولوجي هذا التنوع كان عرضة للعوامل الإنسان والطبيعة ويستند عملنا دراسة النباتات الطبية والنادرة المستوطنة في المنطقة ومثل هذا النبات المدرس. *Paeonia mascula* (L.) Mill. و هو الممثل الوحيد للعائلة *Paeoniaceae* في الجزائر.

حقق النشاط المضاد للأكسدة مع جميع العينات باستخدام النشاط antiradical مهم جدا باستخدام اختبار إزاحة الجذر DPPH (IC_{50} = 30,75 ، 10,00 ، 5,48 ، 4,84 ميكروغرام/مل) على التوالي EAq ، EBR ، EA ، ECh .

تم تقييم تثبيط فوق أكسدة الليبيدات عن طريق اختبار تبييض β كاروتين و وثيوسيانات الحديد أن كل من المستخلصات EBR ، EAq تملك قدرة تثبيطية عالية. أظهر التقدير الكمي لمادة البوليفينولو الفلافونويد أن مستخلص خلاص الإيثيل (EAC) هو الأكثر غني في مادة البوليفينول، و أن مستخرج خلاص الإيثيل (EAC) هو الأغنى في فلافونيدات وعلاوة على ذلك، فإن نشاط مضادات الميكروبات من النباتات و اختبارها باستخدام ستة أنواع من البكتيريا ونوعين من الفطريات و الخميرة.

نشاط المضادة للالتهابات في الجسم الحي من قبل المستخلص الميثيلي ل *Paeonia mascula* منها ورم الأذن، على الفئران و الورم الحبيبي الناجم عن كريات القطن المعقمة في الجرذان و اختبار حمض الخليك و في نهاية الدراسة نقوم باختبار السمية الحادة.

الكلمات الدالة

تنوع البيولوجي، *Paeonia mascula* (L.) Mill.، مضادات الأكسدة، مضادات الالتهاب، نشاطية المضادة للمكروبات.

Résumé

L'Algérie possède une flore extrêmement riche et variée à cause du caractère climatique de la région. Cette biodiversité est menacée sous l'effet de la nature ou par l'être humain, notre travail repose particulièrement sur une plante médicinale rare et endémique, la pivoine. *Paeonia mascula* (L.) Mill. Cette espèce appartient à la famille des Paeoniaceae, et c'est la seule représentante du genre en Algérie faire la récolte de la plante et le relevé des espèces accompagnatrices et appliquer les indices écologiques.

L'activité antioxydante est réalisée avec tous les extraits en utilisant activité anti-radicalaire très importante en utilisant le test de piégeage de DPPH (IC₅₀=30.75, 10.00, 5.48 et 4, 84 µg/ml, respectivement). EAq-, EBr-, -EAc, -ECh,- le test de blanchiment de β-carotène et le pouvoir réducteur et chelation. Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes a montré que l'extrait d'acétate d'éthyle (EAc) est le plus riche en polyphénols, est aussi que l'extrait d'acétate d'éthyle (EAc) est le plus riche en flavonoïdes Par ailleurs, l'activité antimicrobienne de la plante est testée avec six souches bactériennes et deux champignons y compris une levure.

L'activité anti-inflammatoire *in vivo* par l'œdème, induit par le xylène, au niveau de l'oreille des souris et le granulome, induit par les pastilles de coton stérile, chez les rats. L'activité analgésique de l'extrait méthanolique de *Paeonia mascula* L.(Mill).est étudiée en utilisant le test de la plaque chauffante et le test de contorsion induit par l'acide acétique. L'étude est complétée par le test de la toxicité aiguë.

Mots clés : la flore, *Paeonia mascula* (L.) Mill., L'activité antioxydante ; L'activité anti-inflammatoire, L'activité analgésique, l'activité antimicrobienne.

Abstract

Algeria possesses a flora extremely rich and varied because of the climatic character of the region. This biodiversity is threatened under the influence of the nature or by the human being, our work rests(bases) particularly on a rare and endemic medicinal plant, the peony. *Paeonia mascula* L). Mill. This sort(species) belongs to the family of Paeoniaceae, and it is the only representative of the kind(genre) in Algeria to harvest the plant and the statement of the sorts(species) companions and to apply the ecological indications.

Antioxidant activity is done with all the extracts by using very important anti-free radical activity by using the test of trapping of DPPH (IC₅₀=30.75, 10.00, 5.48 et4, 84 µg/ml, respectively). EAq-, EBr-, -EAc, ECh, - the test of bleaching of β - carotene and the reducing power and chelation. The dosage of polyphenols and flavonoids showed that the extract of ethyl acetate (EAc) is the richest in polyphenols, is as well as the extract of ethyl acetate (EAc) is the richest in flavonoids Besides, the antimicrobial activity of the plant is tested with six bacterial strains and two mushrooms including a yeast.

In vivo anti-inflammatory activity by the oedema, led by the xylene, at the level of the ear of mice and the granulome, led by the pastilles of sterile cotton, to rats. The analgesic activity of the extract methanolique of studied *Paeonia mascula*L (Mill).est by using the test of the heating plate and the test of contortion leads by the acetic acid. The study is completed by the test of the acute toxicity.

Key words: flora, *Paeonia mascula* (L.) Mill. evaluation of antioxidant activities, The anti-inflammatory, analgesic effect, the antimicrobial capacity.

Liste des abréviations :

- AA%** : Le pourcentage de l'activité antioxydante.
- AAR** : activité antioxydante relative
- Abs** : absorbance
- ALAT** : alanine amino-transférase,
- ALT** : alanine aminotransférase
- ASAT** : aspartate amino-transférase,
- AU** : acide urique,
- CCMH** : concentration corpusculaire moyenne d'hémoglobine,
- DPPH** : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl
- EAc** : extrait d'acétate d'éthyle de *Paeonia mascula*
- EAG** : équivalent d'acide gallique
- EAq** : extrait aqueux de *Paeonia mascula*
- EBr** : extrait brut de *Paeonia mascula*
- EC50**: concentration effective à 50%
- ECh** : extrait du chloroforme de *Paeonia mascula*
- EDTA**: ethylene diamine tetraacetic
- EHx** : extrait d'hexane des graines de *Paeonia mascula*
- EM** : groupe traité par l'extrait méthanolique
- EOR** : espèces oxygénées réactives.
- EQ** : équivalent de quercétine
- G** : gentamicine
- GR** : globules rouges.
- HCT** : hématocrite.
- HGB** : hémoglobine.
- IC50** : concentrations qui inhibent 50% du radical.
- mg/l** : milligramme/litre.
- MHA**: Muller-Hinton Agar
- NCLSI**: National Clinical and Laboratory Standards Institute
- PAL** : phosphatase alcaline,
- PLT** : plaquettes.
- PT** : protéines totaux,
- SD** : standard deviation.

TG : triglycérides

VGM : volume globulaire moyen,

VPM : volume plaquettaire moyen :

Les principaux types d'aires ont été schématisés de la façon suivante :

N.ANord-Africain Méd. Méditerranéen

Alg. Algérien Tun. Tunisien

Paléo-trop. Paléo-tropical Trop. Tropical

As. Asiatique Afr. Africain

Eur. Européen Bor. Boréal

Paléo-temp.Paléotempéré Atl.....Atlantique

End. Endémique Euras.....Eurasiatique

Table des matières

Liste des abréviations :	5
Liste des figures.....	5
Liste des tableau :	7
INTRODUCTION.....	10
CHAPITRE I : Contexte écologique des régions d'études et bibliographique.....	12
I.1. CADRE GÉOGRAPHIQUE	12
I.1.1. SITUATION GÉOGRAPHIQUE :	12
I.2. CONTEXTE ÉCOLOGIQUE.....	12
I.2.1. CLIMAT.....	12
I.2.1.1. Moyenne mensuelle des précipitations	13
I.2.1.2. Neige.....	13
I.2.1.3. Humidité	14
I.2.1.4. Vent	14
I.3. Bioclimats	15
I.4. Géologie et sols.....	15
I.5.1. Étages de végétation :	16
I.5.2. Caractères biogéographiques	16
I.5.3. Domaine des Hautes Montagnes Atlantiques.....	17
I.5.4. Éléments floristiques dominants	17
I.7.1. Présentation du catalogue :	19
I.7.2. La chorologie.....	20
I.7.3.Types chorologiques	21
I.8.1.Types biologiques :	21
I.8.2. Définition :	21
I.9. Histologies de la pivoine (racine et tige) :	22
I.10. Analyse phytochimique.....	23
I.10.1. Démarche de l'analyse phytochimique.....	24
I.10.2. Les tanins	24
I.10.3. Les flavonoïdes	25
I.10.4. Les hétérosides	26
I.11. Screening phytochimique	27

I.11.1. Principe du Screening phytochimique	27
I.12. Notion de radicaux libres et d'antioxydants	27
I.12.2 .Les radicaux libres dans les systèmes biologiques	28
I.12.2. Les antioxydants	28
I.13.1. Activité antimicrobienne <i>in vitro</i> des extraits de la Pivoine	29
I.13.2. Méthode de diffusion par disques	29
I.13. L'inflammation	29
I.13.1. Définition	29
I.13.2. Les cause de l'inflammation	29
I.14. La toxicité et sa manifestation dans l'organisme	30
I.14.1. La toxicité aiguë	30
I.14.2. La détermination de la dose létale (DL ₅₀)	30
I.14.2.1 Différentes méthodes de détermination de la DL ₅₀	31
I.14.2.2. La toxicité subaiguë	31
I.14.3. La toxicité à long terme	31
I.14.4. Manifestation de la toxicité	31
CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES	32
II.1. Matériel végétal	32
II.1.1. Présentation du model biologique	32
II.1.2. <i>Paeonia mascula</i> et <i>P. corallina</i>	33
II.2. Description de l'espece	34
II.3. Aire de répartition de <i>Paeonia mascula</i> (L.)Mill	34
II.4. Taxonomie de la plante	34
II.5. Méthode d'échantillonnage	36
II.5.1. L'échantillon	37
II.5.2. Réalisation des relevés	37
II.5.3. Aire minimale de l'échantillonnage	37
II.5.4. Détermination des espèces :	37
II.6. Méthodologie statistique	38
II.6.1. Les indices écologiques	38
II.6.2. L'abondance	38
II.6.3. La fréquence	38
II.6.4. Indice de diversité et d'équitable	38
II.6.5. Indice H' de Shannon	39

II.6.6. Analyse de similitude (coefficient d'affinité coenotique, Indice de JACCARD).....	39
II.6.7. L'analyse de la variance à deux facteurs (ANOVA).....	40
II.6.8. Analyse en composantes principales (ACP).....	41
II.6.8.1. Objectif de l'Analyse en Composantes Principales.....	41
II.6.8.2. Propriétés des Composantes Principales	41
II.6.9. Analyse exploratoire des données	41
II.6.10. Interprétation des Composantes Principales	42
II.7. Mesures biométriques.....	42
II.8.1. Etude anatomique	42
II.8.2. Coupes et coloration :.....	42
II.9. Technique suivie lors de notre étude.....	43
II.10.1. Recherche des tanins et des flavonoïdes totaux dans les extraits de <i>Paeonia macula</i> :.....	43
II.11. Les activités biologique :.....	44
II.12. Extraction :.....	44
II.12.1. Préparation de l'extrait aqueux.....	44
II.11.2. Préparation de l'extrait méthanolique.....	44
II.11.3. Fractionnement de l'extrait brut	44
II.12.1. Dosage des polyphénols totaux	45
II.12.2. Dosage des flavonoïdes	45
II.12.3. Dosage des tannins	46
II.12.5. Estimation quantitative des alcaloïdes	47
II.13. Activité anti radicalaires.....	47
II.13.1. Test de DPPH.....	47
II.13.2. Chélation du fer ferreux.....	48
II.13.3. Blanchissement du β -carotène	49
II.13.4. Pouvoir réducteur	49
.....	50
III.15. L'activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>	52
II.15.1. Animaux.....	52
II.15.2. Xylène-œdème de l'oreille chez les souris :	52
II.15.3. Granulome boulette de coton-induite chez le rat :.....	52
II.15.4. Activité analgésique :.....	53
II.15.4.1. Activité antalgique vis à vis de la douleur chimique provoquée par l'acide acétique :.....	53
II.15.5. Etude de l'activité antalgique par la méthode de la plaque chauffante :.....	54

II.15.5.1. Evaluation de l'activité analgésique :	55
II.16. Evaluation de l'effet toxique de l'extrait brut de <i>Paeonia mascula</i> (L.)Mill. :	55
II.16.1. Toxicité aiguë et subaiguë :	55
II.16.1.1. Toxicité aiguë :	55
(a) Traitement des animaux :	55
(b) Détermination de la DL ₅₀ de l'extrait brut de <i>Paeonia mascula</i> :	55
II.16.1.2. Toxicité subaiguë :	56
II.17. Analyse Statistique :	56
III- RESULTATS ET DISCUSSION :	57
III .1. Résultat de l'échantillonnage.....	57
II.3.1. Liste des espèces accompagnatrices de <i>Paeonia mascula</i> dans, La région des Bâbors :	66
III.3. Les coupes histologiques	79
III.5. Préparation des extraits :	82
III.6. Le dosage des polyphénols totaux :	82
III.6.1. Flavonoïdes totaux:.....	82
III.6.2. Dosage des tanins :	84
III.6.3. Dosage de l'alcaloïde :	84
III.7. Activité antioxydante des extraits de <i>Paeonia mascula</i> :.....	84
III.7.1. Effet antiradicalaire :	84
III.7.2. Effet chélateur du fer ferreux :	85
III.7.3. Effet sur le blanchissement du β -carotène :	84
III.7.4. Pouvoir réducteur :	85
III.8. Activité antibactérienn :	86
III.9.1. L'œdème de l'oreille chez les souris :	88
III.9.2. Effet d'extrait méthanolique sur le coton granulome induit chez les rats :	89
III.9.3. L'activité analgésique de l'extrait méthanolique de <i>Paeonia mascula</i> :	90
III.9.4. Les contorsions Acide acétique :	90
III.9.5. Méthode de la plaque chauffante :	90
III.10. 1évaluation de la toxicité aiguë :	91
III.10.2. Détermination de la DL ₅₀ de l'extrait brut de <i>Paeonia mascula</i> (L.)Mill. :	92
III.10.3. Méthode graphique (Miller et Trainer 1944).....	92
Discussion générale :	95
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES. :	103
Annexe :	117

Liste des figures

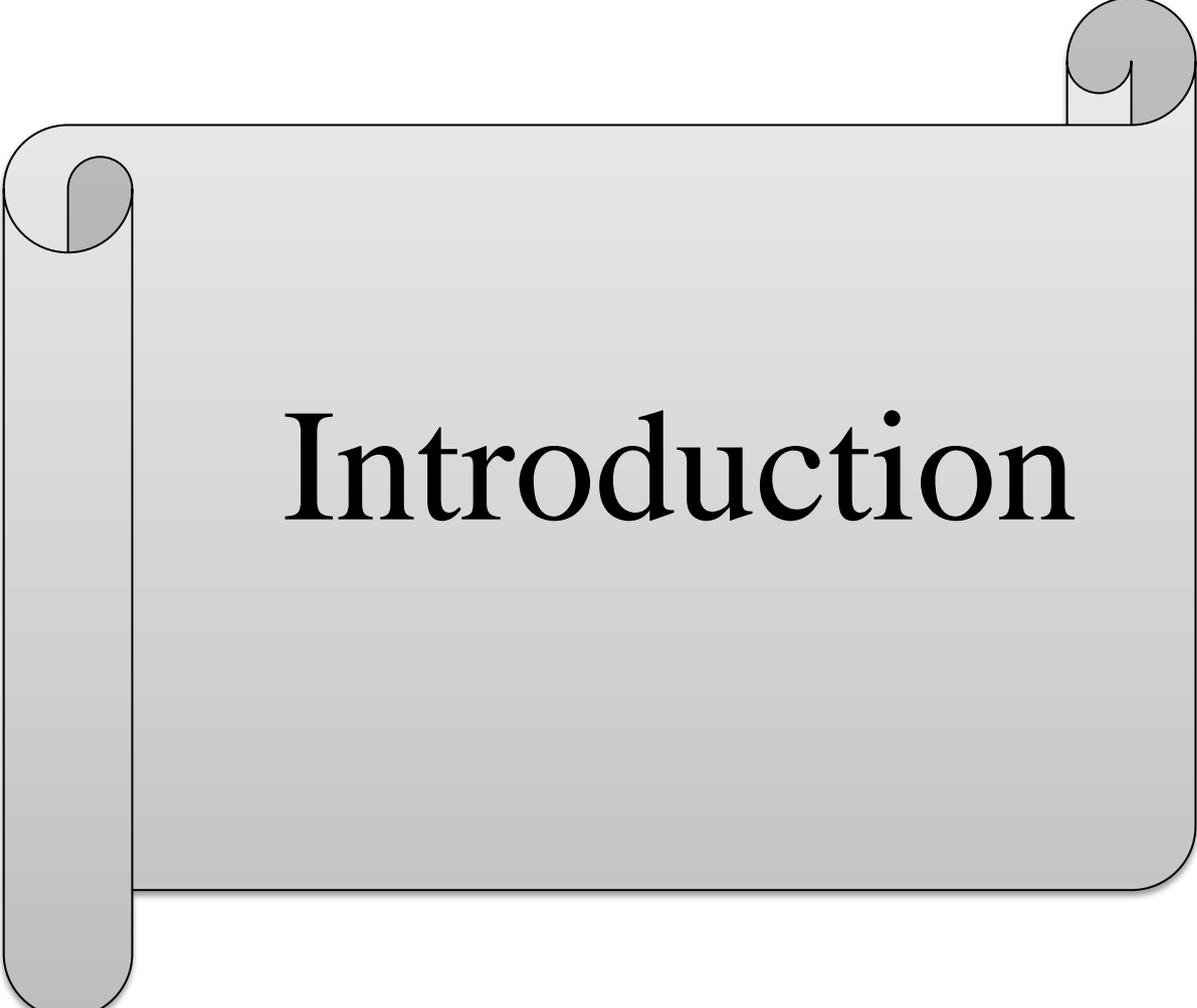
Figure 1. Limite géographique de la Kabylie des Babors. échelle 1/500.000).....	12
Figure 2. Carte pluviométrique de la région de la Kabylie des Babors (extrait de la carte pluviométrique de CHAUMONT et PAQUIN (1971), Échelle. 1/ 500 000).....	13
Figure 3. Diagramme relatif à la station d'étude.....	14
Figure 4. Étages bioclimatiques de la région de Sétif. Échelle 1/ 500.000.	15
Figure 5. Éléments biogéographiques de Kabylie des Babors.....	18
Figure 6. La racine tubérisée de <i>P. mascula</i>	35
Figure 7. Fleur purpurin vif de <i>P. mascula</i> (L.) Mill	35
Figure 8. <i>Paeonia mascula</i> (L.) Mill. (mai 2014)	36
Figure 9. Graine mure de <i>Paeonia mascula</i> (L.) Mill	36
Figure 10. Fruit mure de <i>Paeonia mascula</i> (L.) Mill	36
Figure 12. Réalisation d'une coupe transversale de la tige et la feuille de <i>P. mascula</i>	43
Figure 13. Les étapes du fractionnement de l'extrait brut de <i>Paeonia mascula</i>	45
Figure 14. Droite d'étalonnage de la quercitrine et Rutine	46
Figure 15. La quantité de tanin dans les différents extraits de la <i>Paeonia mascula</i>	47
Figure 16. La quantité des alcaloïdes dans les différents extraits de la <i>Paeonia mascula</i>	47
Figure 17. Estimation de l'activité antimicrobienne par la technique.....	51
Figure 18. Souris œdème de l'oreille	52
Figure 19. Insertion chirurgicale de boulette de coton.....	53
Figure 20. Putride chez la souris	54
Figure 21. Distribution des espèces par familles.....	59
Figure 22. Composition floristique par famille de la station de Kefrida.....	60
Figure 23. Le pourcentage des types chorologie dans la région de Kefrida	60
Figure 24. Dendrogramme de CAP dans la région de Kefrida	61
Figure 25. Plan factoriel de relevé (Axe 1–2) de Kefrida	62
Figure 26. Plan factoriel des espèces (Axe 1-2) de Kefrida.....	62
Figure 27. Plan factoriel des relevés (Axe 1 – 3) de Kefrida.....	63
Figure 28. Plan factoriel des espèces (Axe 1 – 3) de Kefrida	63
Figure 29. Plan factoriel des relevés (Axe 2 – 3) de Kefrida.....	64
Figure 30. Plan factoriel des espèces (Axe 2 – 3) de Kefrida.	64
Figure 31. Graphe des variables du premier plan factoriel	65

Figure 32. Graphe des variables du premier plan factoriel	65
Figure 33. Graphe des variables du premier plan factoriel	66
Figure 34. Distribution des espèces par familles dans la région du bâbor	69
Figure 35. Composition floristique par famille de la station du Babor	70
Figure 36. Le pourcentage des types chorologie dans la région des Babors	70
Figure 37. Plan factoriel des relevés (Axe 1 – 2),	71
Figure 38. Plan factoriel des espèces (Axe 1 – 2),	72
Figure 39. Plan factoriel des relevés (Axe 1 – 3),	72
Figure 40. Plan factoriel des espèces (Axe 1 – 3),	73
Figure 41. Plan factoriel des relevés (Axe 2 – 3),	73
Figure 42. Plan factoriel des espèces (Axe 2 – 3),	74
Figure 43. Graphe des variables du premier plan factoriel de l'ACP (Axe 1-2).....	74
Figure 44. Graphe des variables du premier plan factoriel	75
Figure 45. Graphe des variables du premier plan factoriel de l'ACP (Axe 2-3).....	75
Figure 46. Dendogramme de CAP de la région des Babors.	76
Figure 47. Coupe dans la tige de <i>Paeonia mascula</i> (L.) Mill	79
Figure 48. Coupe dans la tige de <i>Paeonia mascula</i> (L.) Mill.....	79
Figure 49. Coupe dans la tige de <i>Paeonia mascula</i> (L.) Mill.....	80
Figure 50. Coupe dans la feuille de <i>Paeonia mascula</i> (L.) Mill.	81
Figure 51. Activité antioxydante des extraits de <i>P. mascula</i> par rapport aux témoins	85
Figure 52. Pouvoir réducteur d'extrait méthanolique de <i>P. mascula</i> du l'acide ascorbic à 700 nm.	85
Figure 53. Pouvoir réducteur d'extrait aqueux de <i>P. mascula</i> du l'acide ascorbic à 700 nm.	86
Figure 54. Estimation de la DL ₅₀ chez les souris mâles traitées par voie intra péritonéale par l'extrait brut méthanolique <i>P. mascula</i> . selon des méthodes Finney.	92

Liste des tableaux

Tableau 1. Liste des espèces accompagnatrices de <i>P. mascula</i>	57
Tableau 2. Les indices de similarité de Kefrida	60
Tableau 3. Similarité Jaccard des relevées de kefrida.....	61
Tableau 4. Liste des espèces accompagnatrices de <i>Paeonia mascula</i> dans la region des Bâbords :	66
Tableau 5. Les indices de sémilarité	71
Tableau 6. Les mesures des différents organes de la pivoine	77
Tableau 7. Teneuren polyphénole totaux des extraits de la pivoine	82
Tableau 8. Teneur des extraits en falavonoides (la Rutine)	82
Tableau 9. Teneur de flavonoides des extraits (Quercitine).....	83
Tableau 10. Teneur d'extait de <i>Paeonia mascula</i> en Tanins	84
Tableau 11. Teneur des extraits en alcaloïdes	84
Tableau 12. Effet anti radicalaire deIC ₅₀ des extraits de <i>P. mascula</i>	85
Tableau 13. Les valeurs EC ₅₀ et l'activité chélatrice en termes d'équivalents d'EDTA des extraits de <i>Paeonia mascula</i> et de l'EDTA.....	84
Tableau 14. Les EC ₅₀ des extraits de <i>Paeonia mascula</i> et de l'Acide ascorbique.	86
Tableau 15. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par les extraits Aqueux (3mg/disque) de <i>P. mascula</i> et par la gentamicine (10µg/disque).	87
Tableau 16. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance des champignons induites par l'extrait brut (10 mg/disque) de <i>P. mascula</i> et par la gentamicine (10µg/disque).	87
Tableau 17. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par les extraits Moh (3mg/disque) de <i>P. mascula</i> et par la gentamicine (10µg/disque).	88
Tableau 18. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance des champignons induites par l'extrait aquaux (3 mg/disque) de <i>P. mascula</i> et par la gentamicine (10µg/disque).	88
Tableau 19. : Effet extrait methanolique sur oedème de l'oreille chez les souris	89
Tableau 20. Effet d'extrait methanolique de <i>P.a mascula</i> sur le coton granulome induit chez le ra.....	89
Tableau 21. Effet de l'extrait methanolique de <i>P. mascula</i> (L.)Mill. sur des contorsions l'acide acétique - induite chez la souris	90
Tableau 22. test de la plaque chauffante chez les Souris l'extrait methanolique de <i>P. mascula</i> (L.)Mill.....	91

Tableau 23. Le pourcentage d'inhibition de la douleur dans la plaque chauffante chez les souris.	91
Tableau 24. Statistique de régression pour le calcul des DL ₅₀ [logiciel Bio stat].....	92
Tableau 25. Les valeurs hématologiques de contrôle des rats traités avec l'extrait méthanolique de <i>P. mascula</i> mesurée au cours de l'étude de toxicité aigu.....	93
Tableau 26. Les valeurs de biochimie clinique de contrôle des rats traités avec l'extrait méthanolique de <i>P. mascula</i> mesurée au cours de l'étude de toxicité aiguë.....	94



Introduction

Introduction

INTRODUCTION

L'Algérie se caractérise par une grande diversité physionomique constituée des éléments naturels suivants : une zone littorale sur plus de 1200 km, une zone côtière riche en plaines, des zones steppiques et des zones montagneuses,

Sur les 3139 espèces (5402 taxons en comptant les sous espèces, les variétés et les formes) décrites par (Quezel et Santa 1962) dans la nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, on dénombre 289 espèces assez rares, 647 rares, 640 très rares, 35 rarissimes et 168 endémiques. A cette richesse spécifique est associée une originalité sur le plan systématique (nombreuses plantes endémiques) et sur le plan écologique. Cette richesse et cette originalité font que l'étude de la flore de l'Algérie présente un intérêt scientifique « fondamental » pour la connaissance et le savoir dans le domaine de l'écologie, dans le domaine de la valorisation des plantes. (chouaki, 2006) et également pour la connaissance et le savoir dans le domaine de l'ethnobotanique, de la pharmacopée traditionnelle mais également un intérêt scientifique « appliqué » dans le domaine de la valorisation des substances naturelles. Partant de ces constats, nous avons envisagé d'analyser les ressources phytogénétiques de la forêt de Kéfrida et la forêt des Babors.

Le travail présenté traite de la biodiversité au sein de la zone d'étude et de l'utilisation de cette biodiversité en tant que ressource. Cette utilisation est illustrée par l'usage d'une espèce de la famille des Paeoniaceae (ancienne famille des Ranunculaceae) *Paeonia mascula* (L.) Mill. endémique des montagnes telliennes sublittorales d'Algérie.

En Algérie, cette espèce est relativement rare, elle colonise les forêts des montagnes calcaires et siliceuses bien arrosées situées à une altitude comprise entre 1250 m et 1500 m.

Selon (Quézel et Santa, 1962-1963) l'aire de *Paeonia mascula* (L.) Mill. est limitée aux massifs forestiers de la Petite Kabylie : (forêt de Kéfrida, forêt de Gerrouch, forêt de Goubia, forêt des Monts des Babors et aux massifs forestiers de la grande Kabylie : forêts du Djurdjura et de l'Akfadou.

C'est grâce à leurs observations lors des discussions sur le terrain qu'une liste (annexe) préliminaire de plantes potentiellement intéressantes a été établie. Dans une seconde étape, les plantes ont été identifiées sur la base de travaux bibliographiques et complétées par des données inédites qui ont été récoltées par nos soins sur le terrain.

Compte tenu de ces diverses constatations relatives à l'importance de cette plante, aussi bien sur le plan biologique et chorologique (plante endémique) que sur le plan des ressources biologiques notamment son usage thérapeutique, cette espèce a retenu notre attention et a donc été choisie comme matériel biologique pour cette étude. En effet, les espèces du genre *Paeonia* sont

Introduction

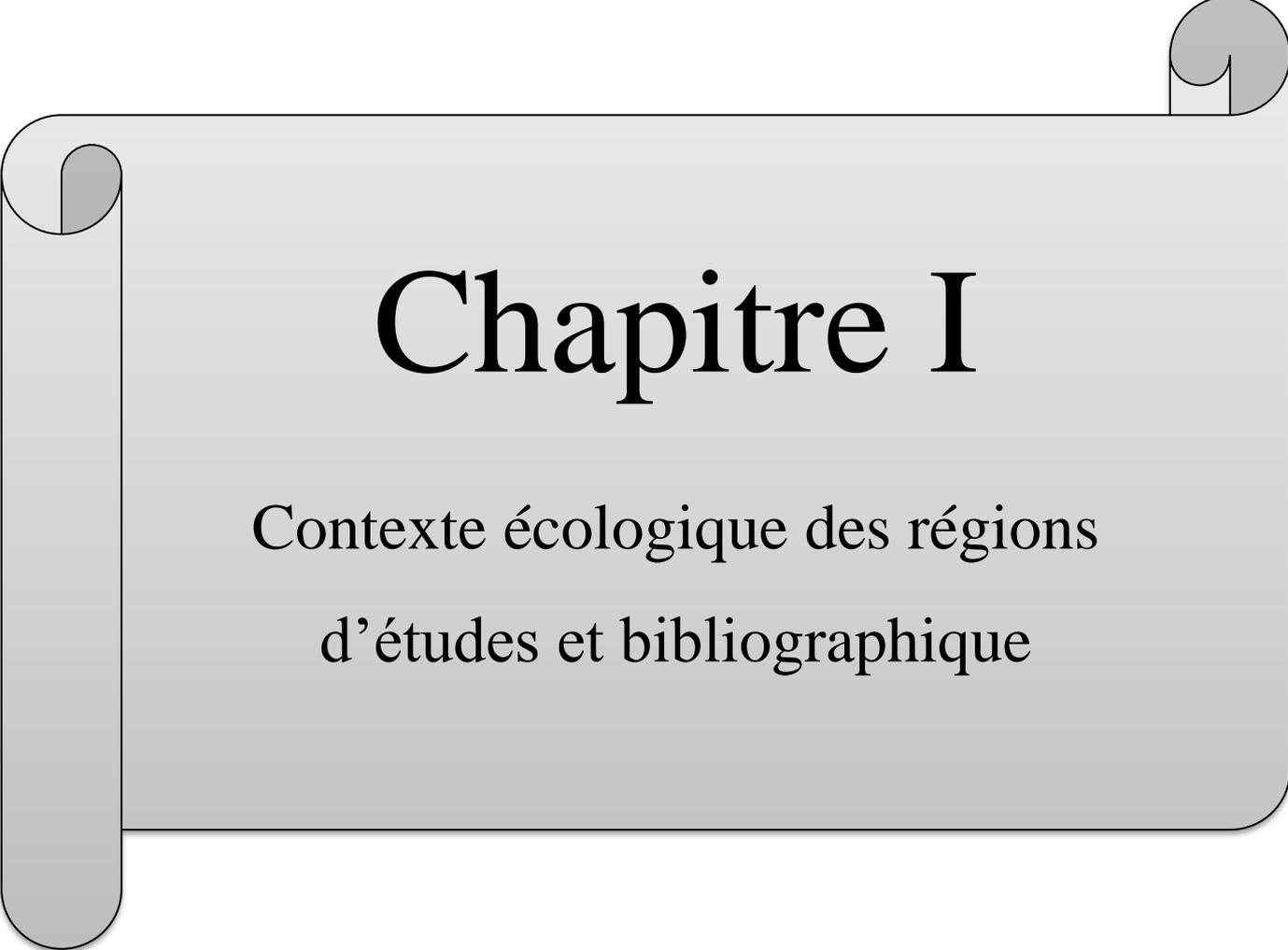
connues pour leur richesse en principes actifs et sont, selon (Bruneton, 1999) source de nombreuses molécules utilisées en pharmacie.

Cette étude est structurée selon 3 chapitres:

Le premier chapitre traite du contexte écologique qui caractérise la région d'étude où se développe la plante étudiée.

Le second chapitre prend en compte le matériel et les approches méthodologiques retenues : taxonomie de la plante, caractères écologiques et phénologiques. Une approche phytochimique axée sur les principales substances bioactives (huiles essentielles, tanins et flavonoïdes) dans les différents organes aériens et souterrains de la plante a été entreprise avec en plus l'analyse de l'activité des isolats sur les bactéries pathogènes, les activités antioxydantes, les activités anti-inflammatoires in vivo ainsi que la toxicité aiguë et sub- aiguë. En effet, de nos jours, un grand nombre de composés issus de plantes sont utilisés en médecine moderne et une majorité de ceux-ci le sont selon leur usage traditionnel. Selon (Bruneton ,1999) des 25 composés pharmaceutiques les plus vendus à travers le monde, 12 proviennent de produits naturels, mais jusqu'ici, environ seulement 10 % des 250 000 espèces de plantes inventoriées ont fait l'objet de recherches de molécules bioactives. En Algérie, les plantes des massifs forestiers n'ont fait l'objet que de très peu de recherches de composés actifs bien que les populations riveraines aient utilisé une grande diversité de plantes pour soigner toutes sortes de maladies et d'affections. Ces connaissances médicinales ancestrales permettent d'orienter et de guider la recherche de molécules bioactives.

Enfin, le dernier chapitre expose les résultats auxquels nous sommes parvenus. Ce chapitre est suivi d'une conclusion générale portant sur les principaux points relatifs à l'écologie, et sur les possibilités d'utilisation de cette plante dans le domaine de la phytothérapie

A decorative graphic of a scroll, rendered in light gray with a thin black outline. The scroll is unrolled in the center, with the top and bottom edges curling upwards and downwards respectively. The text is centered on the unrolled portion.

Chapitre I

Contexte écologique des régions
d'études et bibliographique

CHAPITRE I : Contexte écologique des régions d'études et bibliographique

I.1. CADRE GÉOGRAPHIQUE

I.1.1. SITUATION GÉOGRAPHIQUE :

La Kabylie des Babors est une chaîne montagneuse relevant de l'Atlas tellien. Elle est située dans la partie orientale de cet Atlas. Elle est limitée à l'Ouest par la vallée de la Soummam, à l'Est par la vallée d'Oued Djendjen, au Nord par la Mer méditerranéenne et au Sud par les hautes plaines sétifiennes (Figure1). Cette région fait partie d'un des hotspots méditerranéens, elle porte le nom de « Babor » par apport au massif montagneux de Babor. Ce dernier est distant, à peine de 15 Km à vol d'oiseau de la Mer Méditerranée (au Sud-Est du Golfe de Bejaïa).



Figure 1. Limite géographique de la kabylie des babors. echelle 1/500.000)

I.2. CONTEXTE ÉCOLOGIQUE

I.2.1. CLIMAT

Le site est caractérisé par un relief très accidenté, notamment sur les versants Sud qui sont creusés par des ravins profonds et suivis par des replats rocheux selon le transect Est-Ouest. Ces versants sont caractérisés par des pentes fortes. Par contre les versants Nord, moins accidentés, sont sillonnés par de nombreuses crêtes secondaires engendrant des sous-versants avec des orientations et des pentes variables.

Chapitre I :contexte écologique des régions d'étude et bibliographique

par endroit. Du fait de l'altitude et du caractère continental du climat, les gelées sont fréquentes: le nombre moyen de jours de gelée est évalué à 27 jours.

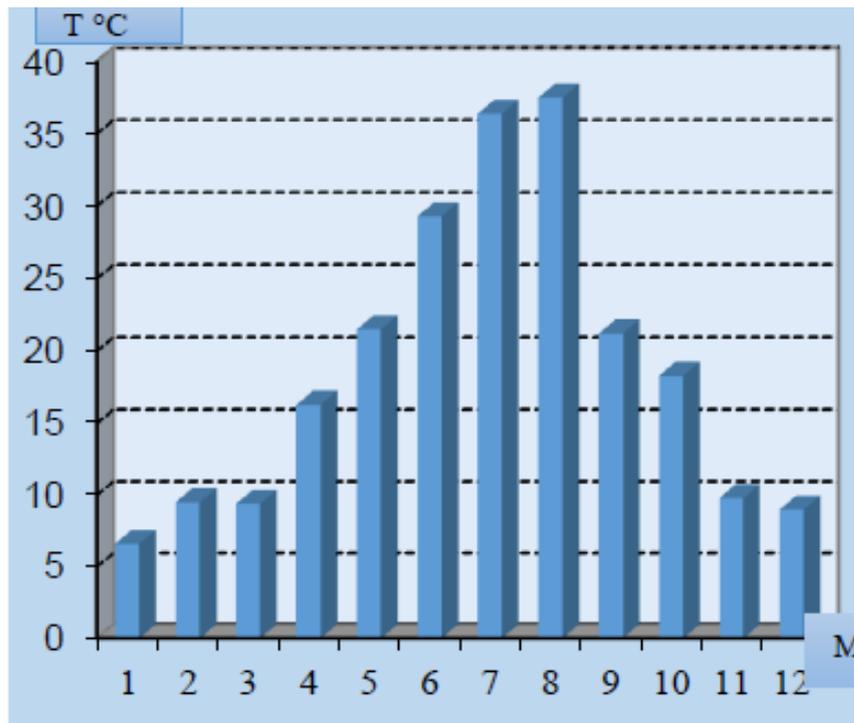


Figure 3. Diagramme relatif à la station d'étude

Du fait de l'inexistence de station météorologique au sein du site, la station d'Aïn Kébira, est prise comme référence.

Selon (TECHNO-EXPORTSTROY, 1970) les évaluations suivantes ont été retenues : à 1000 m d'altitude "m" = -0.5°C et "M" = 32°C, à 1600 m d'altitude "m" = -1°C et "M" = 27°C et à 2000 m d'altitude "m" = -4°C et "M" = 23°C.

I.2.1.3. Humidité

L'humidité agit sur la consommation d'eau des végétaux en ralentissant leur transpiration, le brouillard persiste durant une longue période de l'année dans les parties élevées du site.

I.2.1.4. Vent

Les vents dominants sont de deux types: durant l'hiver et le printemps, les vents sont de direction Ouest et Nord-Ouest, par contre durant l'été et l'automne les vents sont d'Ouest. Du fait de l'altitude, les vents qui arrivent au massif sont encore suffisamment chargés d'humidité, ce qui donne naissance à un climat local caractérisé par une atmosphère remarquable sur le plan de l'humidité.

I.3. Bioclimats

L'examen de la carte relative aux étages bioclimatiques qui prédominent dans le site, indique clairement que le site occupe une position bioclimatique charnière:

Si on prend en compte les données retenues, on remarque que sur le plan bioclimatique, le site de Babor occupe l'étage bioclimatique méditerranéen humide sur les parties les plus élevées du massif (altitude supérieure à 1500 m), en basse altitude et sur le versant méridional le site subit directement l'influence du bioclimat semi-aride.

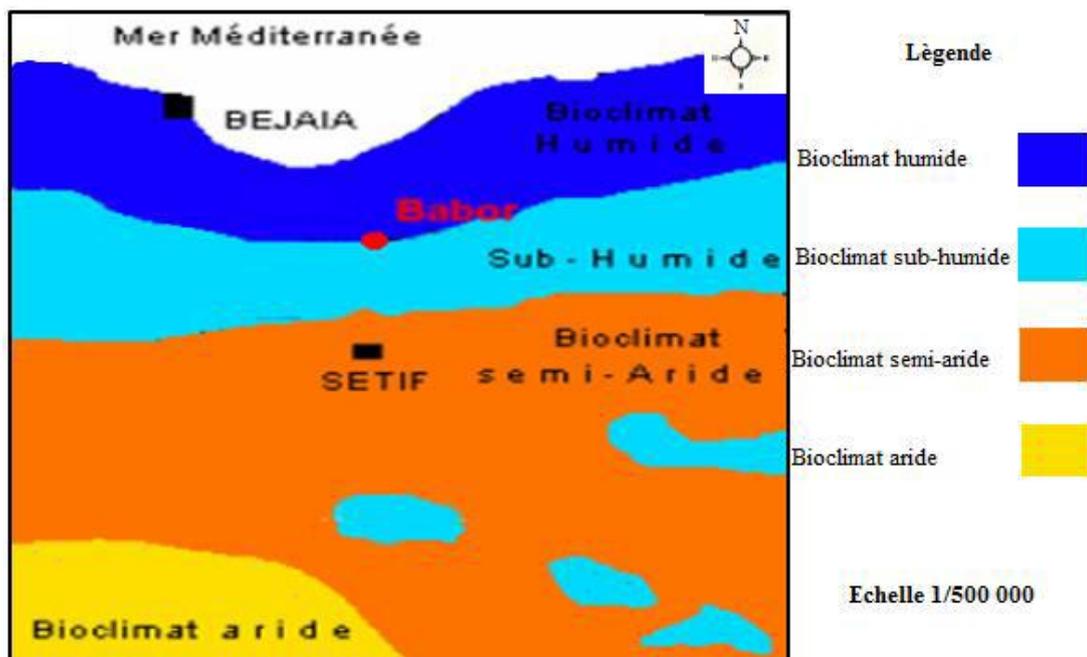


Figure 4.. Étages bioclimatiques de la région de Sétif. Échelle 1/ 500.000.

I.4. Géologie et sols

Selon l'étude réalisée par(TECHNO-EXPORTSTROY ,1970), les parties élevées ainsi que le flanc Nord, reposent sur des marnes et des schistes, partout ailleurs c'est le calcaire qui domine. La kabylie des Babors est constituée en totalité des dépôts du jurassique crétaé et quaternaire. La série stratigraphique de la chaîne des Babors, peut être résumée en trois ensembles selon leur différence d'âge :

- L'Étage le plus élevé correspond au crétaé supérieur.
- Le deuxième niveau comporte essentiellement des calcaires et des schistes constituant le crétaé inférieur.
- À la base se trouvent les formations carbonatées du jurassique représentées essentiellement par le Lias.

La présence d'un couvert végétal dense a permis la différenciation d'un horizon superficiel riche en matière organique (taux entre 2 et 15 %). Ces sols peuvent être scindés en

Chapitre I : contexte écologique des régions d'étude et bibliographique

deux séries: les sols calcimagnésiques (sols bruns calcaires et sols bruns calciques) et les sols bruts (lithosols et régosols). Selon l'étude réalisée par (TECHNO-EXPORTSTROY, 1970) les premiers, riches en matière organique sont sur le versant septentrional où dominent les formations forestières denses. Ces sols, d'une profondeur de 60 cm, sont caractérisés par un horizon foncé fortement enrichi en matière organique qui surmonte un horizon minéral à structure granulaire et à texture lourde. Les seconds, constitués par des calcaires durs, sont largement répandus sur le versant méridional du site; ces sols bruts correspondants à des lithosols et des régosols, possèdent des caractères très proches de la roche-mère. Ils sont constitués par des débris, sans apport notable de matière organique et sont constamment remaniés par les actions superficielles.

I.5.1. Étages de végétation :

Selon la classification de (Quézel, 1976) on distingue, en Algérie, 5 étages fondamentaux de végétation qui sont, en fonction des altitudes croissantes, les suivants :

1. Étage de végétation thermoméditerranéen : cet étage se caractérise par des forêts de conifères thermophiles (*Pinus halepensis* Mill.), des formations à olivier (*Olea europea* L. var. *oleaster* DC.) et lentisque (*Pistacia lentiscus* L.).

2. Étage de végétation mésoméditerranéen : cet étage est dominé par des formations de chênes sclérophylles (*Quercus rotundifolia* Lam.).

3. Étage de végétation supraméditerranéen : cet étage est spécifique aux chênaies caducifoliées (*Quercus afares* Pomel et *Quercus canariensis* Willd.) (Étage absent des Babor).

4. Étage de végétation altiméditerranéen (montagnard-méditerranéen): cet étage se caractérise par des forêts de conifères montagnards (*Cedrus atlantica* Manetti).

5. Étage de végétation oroméditerranéen : cet étage est occupé en partie par des forêts clairsemées à genévriers d'altitude (*Juniperus communis* L.) et par des pelouses écorchées.

Dans le cadre de cette définition, le site de Babor du fait de sa position géographique privilégiée, de son relief et de son altitude, recouvre la presque totalité des types d'étages de végétation décrits en Algérie et relève des étages suivants : mésoméditerranéen, supraméditerranéen et oroméditerranéen.

I.5.2. Caractères biogéographiques

Les caractères biogéographiques retenus dans cette étude correspondent aux subdivisions phytogéographiques établies d'après (Quézel et Santa, 1962). L'analyse des données relatives à la flore et à la végétation, indique que la kabylie des Babors relève de divers éléments chorologiques et biogéographiques correspondant aux subdivisions suivantes : Domaines, Secteurs et Districts. Il y a lieu de rappeler que l'Algérie du Nord comprend 3 domaines : le

Chapitre I : contexte écologique des régions d'étude et bibliographique

domaine Maghrébin Méditerranéen, le domaine Maghrébin Steppique et le domaine des Hautes Montagnes Atlantiques (Lapie, 1909 ; Maire, 1926).

Selon cette approche, l'ensemble du territoire du site «kabyliedes Babors» appartient à la Région phytogéographique «Méditerranéenne» et au Domaine «Maghrébin Méditerranéen». Par contre, au sein de la région, le site relève des subdivisions suivantes :

- Le versant Nord se rattache au Secteur «Kabyle» et au Sous-secteur «petite Kabylie».
- Le versant Sud se situe dans le Secteur du Tell méridional.
- Les sommets au-delà de 1800 m (crêtes et falaises) appartiennent au Domaine des Hautes Montagnes Atlantiques.

D'après les travaux de (Meddour 2010) sur la nouvelle description et caractérisation des unités phytochorologiques de l'Algérie du Nord, la zone d'étude appartient au district de la Kabylie baboréenne (sous secteur de la petite kabylie) de secteur kabylo-annabi (secteur kabylo-numidien) du domaine maghrébo-tellien (domaine maghrébin méditerranéen).

I.5.3. Domaine des Hautes Montagnes Atlantiques

Le Domaine des Hautes Montagnes Atlantiques constitue une enclave phytogéographique «européenne» en Algérie : en effet, du fait de la conjonction des principaux facteurs écologiques et chorologiques qui déterminent la distribution des communautés végétales, cet étage correspond à une portion de l'étage «subalpin européen» enclavée sous forme d'îlots d'étendue restreinte au sein des sommets des plus hautes montagnes d'Algérie: Djurdjura, Babor, Aurès, Hodna. Le massif de Babor du fait de sa richesse floristique et de la spécificité de son élément floristique correspond au domaine des HAUTES MONTAGNES ATLANTIQUES. Cette position privilégiée due à la conjonction de plusieurs facteurs favorables, fait que le site présente de nombreuses espèces rares, endémiques et souvent rarissimes pour la flore d'Algérie comme par exemple le Sapin de Babor (*Abies numidica* de Lannoy).

I.5.4. Éléments floristiques dominants

L'analyse de la distribution de l'élément floristique selon(TECHNO-EXPORTSTROY 1970) et (AREA-ED 2014), représentée par la figure 6 permet de faire les observations suivantes

- Avec 13,50 % le taux d'endémisme est élevé. Si on compare ce taux à l'ensemble de la flore de l'aire de référence (l'Algérie du Nord), on observe que ce taux est remarquable.
- L'élément floristique dominant reste évidemment l'élément méditerranéen, qui représente un taux de 38,42 %.

Chapitre I : contexte écologique des régions d'étude et bibliographique

□ L'élément floristique le plus remarquable est l'élément nordique (européen, euro-asiatique, paléo-tempéré, circum-boréal, euro-sibérien et euro-méditerranéen) qui, à un taux de 44,52 %. Alors que pour l'Algérie du Nord (aire de référence) il ne représente qu'un taux de 29,01%. Ce taux de 44,52 % pour la flore du site démontre à lui tout seul toute la valeur de la diversité biologique de la Kabylie des Babors.

□ Le reste des espèces est constitué par des cosmopolites (3,56 %).

□ L'importance des espèces de souche nordique est l'indice que cette région bénéficie de conditions écologiques, notamment climatiques, particulières favorables au maintien de ces espèces, dont l'installation remonte pour la plupart au Quaternaire lors des périodes pluviales contemporaines des glaciations, et même au Tertiaire pour d'autres (Maire, 1926).

□ Selon (Maire 1928), l'élément nordique (européen et euro-sibérien) s'est introduit en Afrique du nord lors de périodes humides plus anciennes que le quaternaire.

Avec près de 400 espèces (395 taxons ligneux, selon l'inventaire des services forestiers de la Wilaya) recensées dans l'ensemble du site, l'élément méditerranéen représente la grande majorité de la flore. Le 2^{ème} élément représentatif de cette flore est constitué par un taux important des taxons spécifiques à l'élément Euro-sibérien: ce taux indique que le site, du fait de ses caractéristiques biogéographiques, constitue bien un site refuge pour la flore originaire de la région Euro-sibérienne.

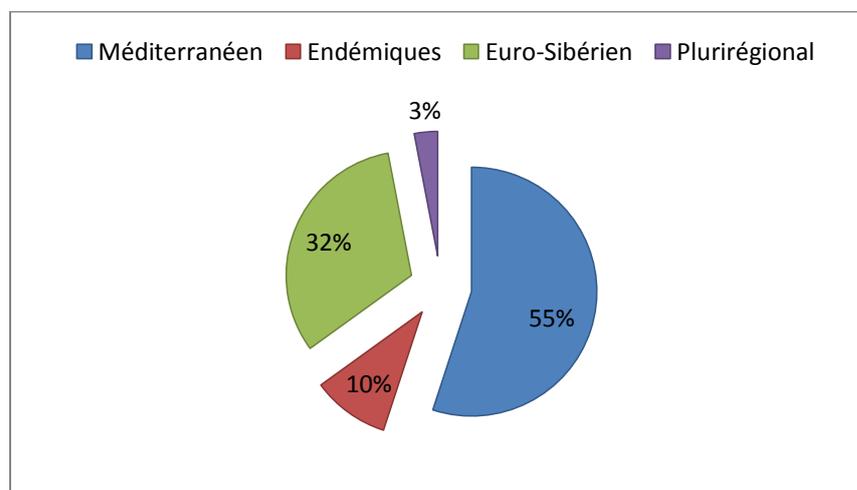


Figure 5.Éléments biogéographiques de kabylie des babors.

I.6. Approches méthodologiques

Sur le plan méthodologique, cette étude est basée sur 2 approches complémentaires. D'une part, une approche taxonomique qui permet de caractériser les plantes avec une grande fiabilité

Chapitre I : contexte écologique des régions d'étude et bibliographique

sur le plan biologique, botanique et systématique. Cette méthode prend en charge les diverses activités suivantes : prospection et identification des plantes, leur distribution géographique, leur écologie, les protocoles de collecte des échantillons et l'inventaire et l'évaluation des ressources phytogénétiques.

D'autre part, une seconde approche, dite screening phytochimique (particulièrement la recherche de la présence des tanins et des flavonoïdes), basée sur la prise en compte de la connaissance des plantes déjà utilisées dans la pharmacopée populaire de la zone prospectée.

Dans cette approche, on se propose de valoriser l'ensemble des indications collectées, portant sur les homogénéités et d'assurer une identification fiable sur le plan systématique de la plante et des informations recueillies (Usage, Propriétés, Organes utilisés et Date de récolte).

L'objectif de l'utilisation de ces deux approches méthodologiques consiste à faciliter l'identification et le choix d'une espèce végétale qui possède les caractéristiques suivantes : tout d'abord, une espèce qui possède une aire de répartition limitée au territoire algérien et donc une espèce endémique d'Algérie ; l'identification de cette espèce est facilitée par la première approche méthodologique basée sur la taxonomie.

Dans une seconde étape, l'identification d'une plante « utile » sur le plan de la valorisation de la biodiversité (présence de substances bioactives mises en évidence par un screening phytochimique): le choix de cette plante sera précisé par la prise en compte des connaissances issues de la pharmacopée populaire notamment les données relatives aux usages et autres propriétés recueillies auprès des riverains de la forêt de Kéfrida.

I.7.1. Présentation du catalogue :

Les « formes biologiques » (Delpech et *al.*, 1985) constituent un élément de référence intervenant dans la définition des formations végétales. Depuis le premier système de classification, purement descriptif, basé sur l'observation de la capacité d'une plante à fleurir et fructifier une ou plusieurs années successives, la plupart des auteurs ont tenté d'intégrer les variables écologiques dans les systèmes de classification proposés (Grisebach, 1872; Warming, 1908; Ozenda, 1977).

Toutefois, la classification la plus utilisée, celle de (Raunkiaer 1905, 1918) est de nature "morphologique". Rappelons qu'elle prend en compte la position, par rapport au sol, des bourgeons de « rénovation » du végétal et permet de reconnaître, en ce qui concerne les « végétaux vasculaires », les 5 principaux types biologiques suivants:

Types biologiques :

1. Ph : Phanérophytes.
2. Ch : Chaméphytes.

Chapitre I : contexte écologique des régions d'étude et bibliographique

3. Hé : Hémicryptophytes.
4. Géo : Géophytes.
5. Th : Thérophytes.

Cette classification a été depuis élargie à l'ensemble du Règne végétal (Braunblanquet, 1928; Rothmaler, 1955); d'autre part, diverses catégories ont été définies à l'intérieur d'un même type (Godron et *al.*, 1968). Toutefois, le classement d'une plante dans un type plutôt que dans un autre n'est pas évident: outre le caractère tranché inhérent à tout système de classification, l'observation sur le terrain a montré que le type biologique d'une même plante peut changer selon le climat, ce qui implique que « les types biologiques sont naturellement à noter tels qu'ils sont dans la végétation étudiée, non pas tels qu'ils sont habituellement » (Emberger, 1966).

Selon la participation de chaque type biologique à l'ensemble de la flore, le spectre biologique peut être dressé; ainsi, au niveau des groupements et du territoire étudiés, les thérophytes apparaissent nettement majoritaires.

Si la définition du type thérophytique a pu faire l'objet de critères relativement variés, ce terme permet de désigner, de manière générale, les plantes qui « assurent leur cycle biologique complet, de la germination à la chute des graines, en une seule saison de végétation » (Daget, Poissonet., 1978).

Estimant que le critère essentiel de (Raunkiaer 1905.) est souvent inopérant pour la prise en compte de certaines formes biologiques particulièrement adaptées aux régions arides, d'autres auteurs (Adamson, 1939; Kassas, 1966; Noy Meir, 1973, Ozenda, 1977) ont élaboré des systèmes sur la base du critère de caducité ou de persistance des organes aériens du végétal durant la saison sèche; toutefois ces systèmes, conçus pour des études liées à la productivité des communautés végétales, conduisent à nouveau à opposer nettement le type « thérophyte » (qualifié également « d'éphémérophyte » ou de « végétaux temporaires ») aux autres catégories biologiques.

Du point de vue évolutif, mais également de sa distribution, ce type « serait très

Probablement le terme ultime de l'évolution végétale, et il représente l'expression actuelle de l'adaptation au milieu aride" (Negre, 1966).

I.7.2. La chorologie

La chorologie est l'étude de la distribution des taxons et la mise en perspective de ces distributions entre elles, en corrélation avec l'histoire de la terre et des climats. Elle permet de tirer des conclusions sur l'évolution des taxons, sur leurs voies migratoires et sur leur écologie (Spichiger et *al.*, 2004).

Chapitre I : contexte écologique des régions d'étude et bibliographique

I.7.3.Types chorologiques : les types chorologiques adoptés sont les mêmes que celles de la « nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales » de (Quezel ET Santa 1962-1963); ce sont :

-Ensemble méditerranéen :

- Méd. Méditerranéen
- C.-Méd. Centre-Méditerranéen
- Circum-Méd. Circum-Méditerranéen
- E.-Méd. Est-Méditerranéen
- W.-Méd. Ouest- Méditerranéen
- Sud-Méd. Sud-Méditerranéen
- Ibéro-Maur. Ibéro-Maurétanien
- Oro-Méd. Oro- Méditerranéen-Endémiques :
- End. Endémique d'Algérie
- End.N.A. Endémique nord-africain
- End.Alg.Mar. Endémique algéro-marocain
- End.Alg.Tun. Endémique algéro-tunisien-Large répartition :
- Cosm. Cosmopolite
- Euro-Méd. Euro-Méditerranéen
- Méd.-Atl. Méditerranéo-Atlantique.

I.8.1.Types biologiques :

I.8.2. Définition :

Les travaux plus récents de Raunkiaer (1934) sont basés sur le regroupement des espèces végétales en types biologiques à partir de critères morphologiques déterminant l'adaptation des plantes à la saison défavorable.

Suivant la position des bourgeons pérennants et leur degré de protection, on distingue les types biologiques suivants (Faurie et *al.*, 2003):

1.-Les phanérophytes : ce sont des arbres, les arbustes et les lianes ligneuses; leurs bourgeons sont à plus de 25 cm au-dessus du sol. Les plus petits dont la taille varie entre 25 cm et 2m sont des nanophanérophytes. Certains gardent leurs feuilles durant l'hiver, ce sont les sempervirentes. D'autres perdent leurs feuilles, ce sont les caducifoliés.

2.-Les chaméphytes : chez ces petits végétaux buissonnants, il y a persistance au moins partielle des parties aériennes. Les bourgeons sont à moins de 25 cm au-dessus du sol. Ils sont ainsi protégés par la végétation environnante et parfois par la neige.

Chapitre I : contexte écologique des régions d'étude et bibliographique

3.-Les hémicryptophytes : elles sont représentées par des végétaux dont seuls persistent les bourgeons situés à ras du sol.

4.-Les cryptophytes : ces végétaux perdent leurs parties aériennes et ne sont pas visibles à la mauvaise saison ; les bourgeons persistants sont toujours cachés.

I.9. Histologies de la pivoine (racine et tige) :

Différenciation des tissus et structures primaires de la tige :

Comme énoncé aux paragraphes précédents, il existe divers types tissulaires mis en place pour assurer une ou des fonctions spécifiques. Certains d'entre eux ont un rôle de revêtement, d'autres ont un rôle de soutien, de conduction et/ou de stockage de nutriments.

I.9.1. L'épiderme

L'épiderme est un tissu de revêtement dont la paroi externe lignifiée et recouverte par une cuticule est très épaisse (Wilson, 1993). La présence de cutine à la surface des cellules rend l'épiderme imperméable et permet de conserver son eau. L'épiderme a également un rôle dans la transpiration, la protection mécanique, les échanges gazeux par l'intermédiaire des stomates, dans le stockage d'eau et de produits métaboliques (Esau, 1965). L'épiderme remplit également des fonctions de photosynthèse, de sécrétion, d'absorption, et de perception des stimuli. La surface externe de l'épiderme est rendue inaccessible à la digestion microbienne sauf par les stomates ou des brèches causées par la préhension ou la mastication (Monson et *al.*, 1972).

I.9.2. Le collenchyme

Le collenchyme est un tissu vivant composé de cellules allongées avec une paroi épaisse non lignifiée. La fonction primaire de ce tissu est le soutien (grâce à son arrangement au sein des autres tissus de la plante) des organes en croissance (Esau, 1965). L'épaississement de ses parois commence avant la fin de l'expansion cellulaire et est plus important si la plante est soumise à des contraintes mécaniques pendant son développement (Walker, 1960).

I.9.3. Le xylème

Le terme xylème a été introduit par (Nägeli, 1858) et dérive du grec xylos qui signifie bois. Le xylème primaire est formé par du métaxylème et du protoxylème. Le protoxylème est le tissu qui apparaît au début de la différenciation vasculaire. Le métaxylème apparaît ensuite au cours du processus de différenciation lorsque la tige est en élongation et devient mature lorsque l'élongation est terminée. Le xylème est composé d'éléments lignifiés, pouvant contenir des fibres, des vaisseaux et des cellules du parenchyme (Esau, 1965; Grenet, 1997). Les trachéides et les vaisseaux du xylème sont des éléments lignifiés conducteurs de l'eau. Certains éléments des

Chapitre I : contexte écologique des régions d'étude et bibliographique

trachéides sont également impliqués dans le soutien. Ces cellules sont constituées par des unités cellulaires distinctes, perforées, réticulées, plus larges que les cellules voisines, allongées et placées verticalement les unes au bout des autres. Elles communiquent entre elles par leurs parois terminales perforées. Le xylème a pour fonction de conduire la sève brute (on parle aussi de sève xylémienne ascendante) et l'eau. Le xylème a également un rôle de stockage dans les cellules parenchymateuses rangées en files verticales, et dans le xylème secondaire en forme de rayons. Les fibres et les sclérites du xylème ont un rôle de soutien et de stockage de l'amidon (Esau, 1965). Les sclérites sont différenciées à partir d'éléments parenchymateux. Dans le xylème primaire, au niveau des trachéides il existe plusieurs types de développement de la paroi secondaire ce qui définit les différents types d'éléments des trachéides. Le dépôt successif d'éléments en anneau définit l'épaississement secondaire annelé; le dépôt en hélice continu définit le type spiralé, et l'épaississement en réseau constitue les types réticulés (Esau, 1965). Dans les éléments scalariformes, la paroi secondaire recouvre au moins la moitié de la paroi primaire et les ponctuations sont allongées horizontalement.

I.9.4. Le parenchyme

Les cellules du parenchyme ont une paroi pectocellulosique mince et une grosse vacuole. Elles forment un tissu continu dans le cortex, dans la moëlle, et le mésophylle foliaire, tandis qu'elles s'organisent en faisceaux verticaux et horizontaux dans le système conducteur. Dans les tiges des légumineuses, le parenchyme médullaire ne se lignifie pas (Akin et Robinson, 1982) et il est complètement digestible. (Jung et Engels, 2002) ont observé un épaississement léger des parois secondaires avec une lignification progressive "légère" dans les cellules du parenchyme médullaire allant des cellules à proximité du xylème vers les cellules du centre de la moëlle. Cependant chez les graminées il a été observé que les cellules du parenchyme développent une paroi secondaire épaisse pouvant se lignifier (Wilson et *al.*, 1989). La lignification débute à la fin de l'élongation cellulaire. Cependant, le parenchyme n'est pas un tissu important dans la rigidité des tiges ou des feuilles car il est localisé au centre de la tige et à l'intérieur des tissus (Wilson, 1991).

I.10. Analyse phytochimique

Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation. Celle-ci est effectuée sur du matériel végétal que nous avons récolté sur le terrain.

Selon (Bruneton, 1999), la recherche de nouveaux principes bioactifs et de nouvelles substances d'origines végétales via le screening de plantes naturelles a résulté dans la découverte

Chapitre I : contexte écologique des régions d'étude et bibliographique

d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines.

Selon, les données de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), dans le monde, 80% des populations ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité. Aujourd'hui, le savoir des tradipraticiens est de moins en moins transmis et tend à disparaître. C'est pour cela que l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie s'emploient à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives et dont il appartient à la recherche moderne de préciser les propriétés et valider les usages.

La recherche de nouvelles molécules est entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant de données ethnobotaniques. Cette approche permet de sélectionner des plantes potentiellement actives et d'augmenter significativement le nombre de découvertes de nouveaux actifs.

I.10.1. Démarche de l'analyse phytochimique

Comme nous l'avons souligné dans le contexte écologique, la région étudiée dispose d'une grande diversité floristique à laquelle s'ajoute une tradition séculaire d'utilisation traditionnelle des plantes. C'est en s'appuyant sur ces deux aspects, que nous avons envisagé cette partie phytochimique de notre étude. Nous nous sommes intéressés à la présence de trois substances suivantes: les huiles essentielles, les tanins et les flavonoïdes.

Il y a lieu d'observer que l'ensemble des données bibliographiques qui traite des aspects de la phytochimie de l'espèce végétale prise en compte (*Paeonia mascula*) font référence aux travaux de (Bruneton ,1999).

I.10.2. Les tanins

Selon (Bruneton ,1999), les tanins sont des substances naturelles phénoliques qui peuvent précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses. Ce sont des métabolites secondaires des plantes supérieures que l'on trouve dans pratiquement toutes les parties des végétaux (écorces, racines, feuilles, fruits etc.).

Sur le plan chimique, ils sont constitués soit de polyol (glucose le plus souvent), ou de catéchine auquel sont attachées des unités galloyles (ou leurs dérivés) soit d'oligomères ou polymères de flavanols.

Extraction

L'extraction des tanins est réalisée en général par un mélange d'eau et d'acétone. On élimine ensuite l'acétone par distillation puis les pigments et les lipides par un solvant (comme le

Chapitre I : contexte écologique des régions d'étude et bibliographique

dichlorométhane). On extrait de cette solution aqueuse par l'acétate d'éthyle les proanthocyanidols dimères et la plupart des tanins galliques. Les techniques de chromatographie permettent seules d'obtenir des molécules pures.

Propriétés biologiques

Les tanins sont capables de former des complexes avec les macromolécules et particulièrement avec les protéines. La combinaison avec le collagène de la peau est à l'origine du tannage, celle avec les glycoprotéines de la salive est à l'origine de la sensation d'astringence.

Distribution

La majorité des familles de plantes contiennent des espèces dépourvues de tanin (testé par leur aptitude à précipiter les protéines). Parmi les familles les plus connues, dont toutes les espèces, restent la famille du chêne (Fagaceae) et celle des acacias (Légumineuses).

Utilisations

On emploie les tanins pour protéger le cuir, car ils transforment les protéines contenues dans le cuir en produits insolubles résistant à la décomposition organique.

La principale utilisation du tanin est le tannage (comme son nom l'indique) des peaux. Les tanins confèrent aux cuirs leurs qualités d'imputrescibilité. Les tanins sont recherchés également pour leurs propriétés antioxydants. Expliquant certains effets bénéfiques du jus de raisin sur la santé (protection cardio-vasculaire).

I.10.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes (ou bio flavonoïdes) sont des métabolites secondaires des plantes partageant tous une même structure de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones. Les flavonoïdes sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits et représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation.

Distribution

Les flavonoïdes sont largement distribués dans le règne végétal où ils sont présents le plus souvent sous la forme soluble d'hétérosides. Ils sont fréquents chez les mousses et hépatiques, les fougères et les conifères mais c'est chez les Angiospermes qu'ils manifestent la plus grande diversité.

Propriétés physico-chimiques

Les hétérosides de flavonoïdes sont en général solubles dans l'eau et les alcools. Les génies sont pour la plupart, solubles dans les solvants organiques apolaires. L'extraction est réalisée habituellement à l'aide du méthanol ou de mélanges méthanol-eau.

Chapitre I : contexte écologique des régions d'étude et bibliographique

I.10.4. Les hétérosides

Le terme hétéroside désigne, habituellement, des substances variées qui sont produites principalement par les végétaux, et résultant de la combinaison du groupe réducteur d'un ose avec une substance non glucidique, l'aglycone. Le rôle biologique des hétérosides n'est pas clairement établi. Par leurs propriétés thérapeutiques (notamment cardiotoniques), les hétérosides jouent un rôle capital dans la pharmacopée.

La plupart des hétérosides naturels ont reçu une dénomination dérivée du nom botanique de la plante dont on les extrait. Ainsi, l'arbutoside ou arbutine, substance obtenue à partir des feuilles de l'arbuste à feuilles persistantes, *Arbutus uva ursi*, la salicine est le principe actif de l'écorce de saule (*Salix sp*), qui fut longtemps utilisé contre la fièvre et les arthrites, la digitaline est un hétéroside extrait des feuilles de digitale (*Digitalis purpurea*), enfin la convolvuline est produite par des espèces du genre *Convolvulus*.

Les Familles des *Liliaceae* et des *Iridaceae* (iridine) sont largement représentées en Algérie par de nombreux genres et espèces. Principal pourvoyeur de scilline, la scille maritime, *Drimia maritima* (L.) Stearn [= *Scilla maritima* L. = *Urginea maritima* (L.) Baker] était conseillée contre l'hydropisie depuis Epiménide le Crétois (584 av. JC). Possédant un bulbe pouvant atteindre 10 kilogrammes, cette plante est actuellement employée comme rubéfiante dans de nombreux usages populaires.

Il y a lieu de signaler, également, d'autre *Liliaceae* le petit houx (*Ruscus aculeatus*), la salsepareille (*Smilax aspera* L.) produisant ces substances et qui sont répandues en Algérie. La picrococcine, est issue des stigmates de la fleur d'une *Iridaceae* le safran (*Crocus sativus* L.); cette petite plante herbacée originaire d'Orient, produit une drogue (stigmate) qui est souvent falsifiée, depuis l'Antiquité jusqu'à nos jours, par le faux safran ou « safran bâtard » provenant des pétales du Carthame (*Asteraceae*).

Les saliciline et populine obtenues à partir des *Salicaceae* représentées par 5 espèces de saule (*Salix alba* L., *Salix nigra* L., *Salix purpurea* L., *Salix triandra* L. *Salix pedicellata* Desf.) et 5 autres de peupliers (*Populus alba* B., *Populus euphratica* Oliv., *Populus tremula* L. et *Populus nigra* L.).

Les *Cucurbitaceae* représentées en Algérie par de nombreuses espèces nitrophiles, se développant sur les bords des chemins et des fossés, possèdent des principes actifs largement utilisés aussi bien dans la pharmacopée populaire que comme substances pharmaceutiques élaborées: la brionine, produite par la bryone (*Bryonia dioica* Jacq.), constitue un médicament homéopatique d'un usage courant dans le traitement des pneumonies, de la bronchite et des

Chapitre I : contexte écologique des régions d'étude et bibliographique

pleurésies; l'élatrine produite par le concombre d'âne (*Ecballium elaterium* Rich.) est largement utilisée comme substance purgative.

I.11. Screening phytochimique

Ce terme (en anglais screening, c'est-à-dire une suite de nombreux essais et erreurs) correspond à une technique de « criblage » c'est-à-dire la recherche systématique des produits naturels contenus dans les plantes récoltées en faisant de nombreux tests ou essais.

En effet, la prospection sur le terrain n'est pas ciblée vers une espèce ou une famille botanique précise. Pour cela la recherche de substances utiles dans les végétaux demande un criblage pharmacologique très important.

I.11.1. Principe du Screening phytochimique

Sur le plan théorique, on commence par obtenir un extrait de la plante. On lui fait subir des essais biologiques préliminaires qui, s'ils sont concluants, mèneront à une extraction à plus large échelle d'où on cherchera à isoler la molécule active de l'extrait (qui en compte souvent énormément). On va ensuite la soumettre à des mesures physiques pour étudier sa structure, à savoir spectrophotométrie, résonance magnétique, spectrographie de masse...

Une fois cette molécule isolée, on va en faire varier la structure et étudier la variation d'activité biologique : on effectue donc un essai structure/activité. La molécule la plus intéressante (sur des critères d'efficacité, de sélectivité, de toxicité...).

I.12. Notion de radicaux libres et d'antioxydants

Un radical libre est une espèce, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et il est comblé soit par l'acceptation d'un autre électron soit par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule. Ces espèces radicalaires très instables et très réactives sont produites d'une manière continue au sein de notre organisme, dans le cadre de nombreux phénomènes biologiques. Par exemple, lors de la respiration cellulaire, l'oxygène moléculaire se transforme en diverses substances oxygénées, communément appelées radicaux libres de l'oxygène ou espèces réactives oxygénées (Reactive Oxygen Species : ROS) (Gutteridge, 1993).

Dans certaines situations, cette production augmente fortement, entraînant un stress oxydatif que l'on définit comme un déséquilibre entre la production et la destruction de ces espèces (Gutteridge, 1993). Ce déséquilibre est à l'origine de nombreux facteurs, notamment les polluants présents dans l'air que nous respirons et l'eau et les aliments que nous consommons. Les rayons ultraviolets du soleil, d'autres radiations, la fumée de tabac et l'exercice excessif sont

Chapitre I : contexte écologique des régions d'étude et bibliographique

également des facteurs qui augmentent considérablement la présence des radicaux libres dans notre système (Favier, 2003).

En raison de leur capacité à endommager les cellules, les tissus et les organes, les espèces réactives de l'oxygène sont impliquées dans un grand nombre de pathologies, tant aiguës que chroniques (Gutteridge, 1993).

I.12.2 .Les radicaux libres dans les systèmes biologiques

Parmi toutes les espèces susceptibles de se produire dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. Les radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tel l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ et le radical hydroxyle OH^{\bullet} , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^{\bullet} . D'autres espèces dérivées de l'oxygène tel que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde (ONOOH) peuvent être des précurseurs de radicaux libres. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

Les radicaux libres sont principalement produits par des sources endogènes, telles que les chaînes de transport d'électron, les peroxysomes et le système de cytochrome P-450. Ces radicaux sont responsables de l'altération de l'ADN, du vieillissement cellulaire qui est à la base de certaines maladies comme l'athérosclérose, le cancer, maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson (Favier, 2003).

I.12.2. Les antioxydants

De nombreuses espèces oxydantes sont produites et bien qu'elles soient souvent indispensables à l'organisme, elles ne sont pas moins responsables de dégâts importants. Pour faire face à ces produits oxydants délétères, le corps humain possède tout un arsenal de défenses que l'on qualifie d'antioxydants. Mais bien que le terme «antioxydant » soit fréquemment utilisé, il est difficilement définissable car il couvre un large nombre de molécules et des domaines très divers comme l'alimentation, l'industrie chimique et l'industrie pharmaceutique (Halliwell et Gutteridge, 1999). Un antioxydant est toute substance, présente à une concentration inférieure à celle du substrat oxydable, qui est capable de retarder ou de prévenir l'oxydation de ce substrat. (Halliwell et Gutteridge, 1999).

Les antioxydants sont des composés puissants qui peuvent neutraliser les radicaux libres impliqués dans la dégradation cellulaire, et nous aident ainsi à garder une vie active et saine.

Chapitre I : contexte écologique des régions d'étude et bibliographique

Quelques antioxydants sont fabriqués par le corps humain, d'autres telles les vitamines et polyphénols, doivent être apportés par notre alimentation. (Pincemail et Defraigne, 2004).

I.13.1. Activité antimicrobienne *in vitro* des extraits de la Pivoine

I.13.2. Méthode de diffusion par disques

L'étude est réalisée par la méthode de diffusion, qui a été initialement conçue pour tester les antibiotiques (antibiogramme), mais en substituant les disques d'antibiotiques par d'autres disques de papier imprégnés par l'extraits de *Paeonia mascula*.

Des antibiogrammes sont effectués en parallèle avec les disquesimbibés d'extraits. Le choix des antibiotiques pour chaque souche microbienne est basé sur les directives du National Commutee for Clinical Laboratory Standars (NCCLS). Les boites de Pétri sont ensuite incubées à 37°C pendant 18 à 24h. Après ce délai, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés.

I.13. L'inflammation

I.13.1. Définition

L'inflammation est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression, son but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation. Ce processus comprend des phénomènes généraux, exprimés biologiquement par le syndrome inflammatoire et cliniquement par de la fièvre et une altération de l'état général du tissu (Das *et al.*, 2011).

I.13.2. Les cause de l'inflammation

L'inflammation peut être causée par des agressions physiques (comme le chaud, le froid, les radiations ionisantes), chimiques (occasionnées par des composés acides ou basiques, des toxines bactériennes). Elle peut être la conséquence d'une infection (en rapport avec la présence dans l'organisme d'organismes vivants pathogènes tels que bactéries, virus, parasites ou champignons). Elle peut être provoquée par une réaction immunitaire secondaire à la réintroduction dans l'organisme d'un antigène (allergie) tel qu'un antibiotique. Elle est enfin souvent la conséquence d'une nécrose tissulaire, elle-même secondaire à de nombreuses causes, par exemple une occlusion artérielle.

De plus, l'inflammation est conçue pour limiter les invasions et les dégâts après une blessure, un processus qui a été essentiel pour la survie de l'Homo sapiens en l'absence de médicaments tels que les antibiotiques. Récemment, il a été découvert que l'apparition de la

conclusion d'une inflammation est un processus d'autolimitation et de contrôle du système immunitaire (IS). Ce processus de la résolution de l'inflammation est défini par Serhan comme Resoleomics (Serhan et Chiang, 2004).

I.14. La toxicité et sa manifestation dans l'organisme

Un toxique : il n'existe pas une définition acceptée de manière générale pour la notion du toxique. Traditionnellement, on qualifie de toxique, toute substance qui peut nuire à la santé des organismes vivants. Scientifiquement, on dit qu'une substance est toxique lorsque, après leur pénétration dans l'organisme, par quelque voies, que ce soit à une dose élevée ou plusieurs doses très rapprochées, ou par petites doses longtemps répétées, elle provoque, immédiatement ou à terme, de façon passagères ou durable des troubles d'une ou de plusieurs fonctions de l'organisme pouvant aller jusqu'à leur suppression complète et amener à la mort (Viala, 2005).

I.14.1. La toxicité aiguë

Elle représente la manifestation la plus spectaculaire de la nocivité d'un poison. Ce fait, qui conduit à considérer comme vénéneuse toute substance qui tue violemment, se traduit par la mort rapide de l'individu ou des populations contaminées. La toxicité aiguë peut donc se définir comme celle qui provoque la mort ou de très graves troubles physiologiques après un court délai suivant l'absorption par voie transtégumentaire, pulmonaire ou buccale, en une fois ou en plusieurs répétitions d'une dose assez importante d'un composé nocif (Ramade, 1979).

L'étude de la toxicité aiguë est aussi qualitative et quantitative des phénomènes toxiques qu'il est possible de rencontrer après l'administration de la substance active. Cette étude décrit les symptômes observés, y compris les phénomènes locaux. Elle permet:

- l'indication de la dose maximale sans effet toxique (DME), c'est à dire la dose la plus élevée pour laquelle aucun effet toxique n'est relevé par rapport au lot témoin;
- la notation de la dose minimale pour laquelle la mort survient à tous les animaux de l'expérimentation;
- la détermination de la DL_{50} avec ses limites de confiance 95% (Ruckebusch, 1981).

I.14.2. La détermination de la dose létale (DL_{50})

La DL_{50} est dans sa forme la plus simple, la dose d'un composé qui provoque une mortalité de 50% dans une population d'animaux mis en expérience. C'est-à-dire ayant reçu une administration unique d'un produit dans des conditions expérimentales bien définies. Cette détermination est fondée sur l'évaluation des réponses de tout ou rien: mort ou survie des animaux. Le protocole expérimental consiste à expérimenter sur 5 à 6 lots de 10 à 20 animaux auxquels sont administrées des doses croissantes de la substance à essayer de manière que le

Chapitre I : contexte écologique des régions d'étude et bibliographique

pourcentage de mortalité varie entre 0 et 100 %. Ceci parce qu'il est impossible d'obtenir immédiatement 50 % de morts à partir d'un seul groupe. La construction d'une courbe donnant le pourcentage de mortalité en fonction du logarithme de la dose conduit à déterminer la dose qui serait la DL_{50} (Wallace et Hayes, 2008).

I.14.2.1 Différentes méthodes de détermination de la DL_{50}

On peut déterminer la DL_{50} par deux méthodes de calcul, la Méthode de (Dragstedt et Lang, 1957) et la méthode de (Karber et Behrens, 1935). Ainsi qu'on peut la déterminer par deux méthodes graphiques qui sont la méthode de (Miller et Tainter, 1944) et la méthode de (Litchfield et Wilcoxon, 1949).

I.14.2.2. La toxicité subaiguë

Diffère de la précédente (toxicité aiguë) par le fait qu'une proportion significative de la population peut survivre à l'intoxication, bien que tous les individus aient présenté des signes cliniques se produisant à court terme sur des organes cibles, parfois réversibles et découlant de l'absorption répété du toxique, mais à des doses plus faibles que celles de la toxicité aiguë (Ramade, 1979).

I.14.3. La toxicité à long terme

C'est l'exposition à de très faibles concentrations, parfois même infimes, à des substances dont la répétition d'effets cumulatifs finit par provoquer des troubles beaucoup plus insidieux et irréversibles (Ramade, 1979).

Il est à signaler que des troubles de toxicité se manifestent souvent après une longue imprégnation de l'organisme. Des essais de toxicité par administration répétée chez l'animal sont toujours effectués lorsqu'une molécule présente un éventuel intérêt thérapeutique (Wepierre, 1981).

I.14.4. Manifestation de la toxicité

L'effet d'un toxique sur l'organisme dépend essentiellement de la quantité du toxique ou des substances réactionnelles qu'il engendre (métabolites actifs, radicaux libres) qui se fixe au niveau du site d'action (enzyme, récepteur cytoplasmique, ADN...). Cet effet est fonction, non seulement de la quantité du toxique actif qui atteint le site d'action, mais aussi de son affinité pour ce site (Lauwerys, 2003).



Chapitre II

MATÉRIELS ET MÉTHODES

CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES

II.1. Matériel végétal

Les Parties aériennes de *Paeonia mascula* sont recueillies dans la Forêt de Kefrida, en Mai 2013, à une altitude de 1580 m. Ensuite, Elles sont débarrassées des impuretés puis séchées à l'ombre à température ambiante.

II.1.1. Présentation du model biologique

Le genre *Paeonia* est l'unique représentant de la famille des Paeoniaceae. La famille des Paeoniaceae a longtemps été considérée comme proche des Ranunculacea. (Takhtajan, 1997) ou des Dilleniaceae (Cronquist, 1988). Elle est cependant plus proche des Saxifragales,

Le genre *Paeonia* est divisé en trois sections comprenant environ 35 espèces (Stern, 1946 ; Sang et al. 1995). La section Moutan comprend huit espèces arbustives présentes uniquement en Chine (Hong & Pan, 1999). La section Onaepia ne comprend que deux espèces herbacées originaires de l'ouest des Etats-Unis (Stern, 1946). La section *Paeonia* comprend environ 25 espèces herbacées eurasiennes. Elle a été divisée par Stern (1946) en deux sous-sections basées sur une clé de détermination artificielle: la sous-section *Paeonia* (= sous-section *Dissectifoliae*) comprend les espèces caractérisées par des folioles divisées en nombreux segments (espèce-type *P. officinalis*) alors que celles de la sous-section *Foliolatae* comprend les espèces à folioles entières (espèce type *P. mascula*). Les pivoines de Corse font partie de la sous-section *Foliolatae* car elles sont apparentées à *P. mascula* (Cullen & Heywood, 1964a). Cette sous-section comprend également des espèces asiatiques telles que *P. emodi*, *P. lactiflora*, *P. mairei* ou *P. obovata* (Stern, 1946). Cependant des études caryologiques et moléculaires ont mis en évidence des liens étroits entre espèces appartenant à des sous-sections différentes (Tzanoudakis, 1977 ; Sang et al., 1995, 1997, 1997). Nous nous attacherons plus particulièrement aux taxons méditerranéens de cette sous-section qui sont désignés sous le nom « groupe *Mascula* sensu lato » (groupe *Mascula* s.l.) comprenant *P. mascula* et autres taxons voisins.

Les pivoines du groupe *Mascula* s.l. sont des géophytes pérennes polycarpiques à longue durée de vie. Leur reproduction est assurée par des graines. Le développement de l'individu, du stade plantule au stade adulte fertile se déroule en cinq ou six étapes (Rieck, 1995 ; Andrieu, 2002, 2006).

En développement optimal (culture), chaque stade correspond à une année (Rieck, 1995). Cinq à six années sont donc nécessaires pour obtenir un individu adulte fertile à partir d'une graine. Andrieu (2002, 2006) s'est basée sur *P. officinalis* pour établir les différents stades de développement en conditions naturelles. Elle a mis en évidence que les individus au stade R adulte fertile peuvent régresser jusqu'au stade V2 si les conditions écologiques défavorables ne

permettent pas de leur assurer une floraison régulière. Nos observations répétées des populations de Bourgogne confirment ces étapes de développement et les phases de régression pour les individus du groupe *Mascula* s.l. La pollinisation est entomophile. La fleur de pivoine, relativement large, attire un grand nombre de visiteurs mais, sur 25 insectes visiteurs des fleurs de *P. broteroi* en Espagne (groupe *Mascula* s.l.), seule une abeille du genre *Andrena* serait responsable de la pollinisation (Sánchez-Lafuente et al., 1999). Trois espèces du genre *Andrena* s'avèrent être également les pollinisateurs de *P. jishanensis* (*P. suffruticosa* subsp. *spontanea*), espèce chinoise de la section Moutan (Luo et al. 1998). La reproduction est assurée essentiellement par fécondation croisée. Sánchez-Lafuente et al. 1999 ont toutefois réussi des autofécondations de *P. broteroi* en conditions expérimentales, alors qu'elles ont échoué pour *P. jishanensis* (Zhou et al., 1999). Luo et al. (1999) ont cependant observé de la geitonogamie chez cette espèce. *P. cambessedesii* (groupe *Mascula* s.l.) peut être également autogame (Méndez & Traveset, 2003). Dans tous les cas, la production de graines est inférieure à celle obtenue par allofécondation.

La multiplication végétative est également possible, notamment par l'action mécanique des cochons sauvages fréquents en Corse, qui labourent certaines populations. En dehors de ce cas particulier, le clonage naturel reste accidentel (Sánchez-Lafuente et al., 1999 ; Andrieu, 2002).

La dispersion des graines est très mal connue. Elles sont disséminées principalement par barochorie à une très faible distance inférieure au mètre (Andrieu, 2002 ; Quézel & Médail, 2003). Mais les agents de dispersion à longue distance (plusieurs dizaines de mètres voire plusieurs kilomètres) ne sont pas identifiés.

Cette absence d'informations ne permet pas d'établir une hypothèse sur la possibilité de dispersion des pivoines au-delà de l'isolement insulaire.

Les pivoines de la flore de France et de Corse sont inscrites en annexe II de l'arrêté ministériel du 20 janvier 1982 relatif à la protection des espèces végétales sauvages.

II.1.2. *Paeonia mascula* et *P. corallina*

Paeonia mascula est une espèce polymorphe dans laquelle sont différenciées cinq ou sept sous-espèces (Greuter et al., 1989 ; Akeroyd, 1993). C'est l'espèce majeure du bassin méditerranéen à laquelle sont, apparentées les pivoines de Corse. Ses aspects nomenclaturaux; assez complexes ont été sources de confusion dans le passé, cette espèce ayant longtemps été appelée *P. corallina*.

Le nom *Paeonia mascula*, créé par Linné (1753) au rang de variété de *P. officinalis*, a été établi à partir des références polynomiales suivantes :

Paeonia mas Lobel in Plantin (1581);

Paeonia folio nigricante splendido, quae mas Bauhin (1623);

Paeonia foliis lobatis ex ovato lanceolatis Haller (1742).

II.2. Description de l'espece

Cette description étant la plus complète possible publiée à ce jour sur cette plante endémique, il a été jugé utile de la reproduire « in extenso » pour être disponible à des personnes qui le souhaitent. Cette espèce a été décrite pour la première fois par Battandier et Trabut en 1783. En 1952, Maire en donne la description suivante : « Plante vivace Rhizome noir, portant des racines tubérisées, à tubercules ± napiformes, sessiles ou brièvement pédonculés. Tige dressée, cylindrique, glabre, 30-60 cm long., ordinairement simple et uniflore, rarement rameuse. Feuilles très grandes, les inférieures biternées, rarement triternées, les supérieures ternées, toutes à folioles ovales, obovales ou ovales-oblongues, larges, entières, vertes et glabres en dessus, glauques et glabres ou ± poilues en dessous, ± longuement acuminées au sommet, la médiane ordinairement atténuée-cunéiforme à la base, toutes ± pétiolées, ou sessiles et parfois même un peu confluentes à la base. Fleurs grandes (10-12 cm diam.), purpurin vif, rarement blanches. Sépales 4-5, inégaux, ovales-arrondis ou ovales-lancéolés, l'externe souvent en partie ou entièrement foliacé. Pétales 5-10, largement ovales, arrondis et ordinairement un peu sinués-subcrénelés au sommet. Anthères à filets. Carpelles 2-5, glabres ou vilieux. Follicules 1-5, oblongs, divariqués, glabres ou ± vilieux, à paroi interne rouge vif. Graines d'abord rouge vif, à la fin noires, sub-globuleuses, lisses, luisantes, 6-8 mm diam. Floraison: avril mai.

II.3. Aire de répartition de *Paeonia mascula* (L.)Mill.

L'aire géographique. Ssp. *atlantica*: endémique. Ssp. *Coriacea* Péninsule ibérique. L'espèce (sensu lato): Europe méridionale et Asie occidentale jusqu'à la Transcaucasie.

Australie, Angleterre, France, Sardinaï, Sicilien, Italie, Yougoslavie, Albanie, Bulgarie, Turquie, E-Aegaeen Isl., Iran, Iraq (NE-Iraq, NW-Iraq), Lebanon (C -Lebanon), Syrie (W-Syrien Mountains).

En Algérie, La colonisation de *Paeonia masula* d'après (MAIRE ,1964) dans les Forêts des montagnes calcaires et siliceuses bien arrosées, 1100m -2200m comme les Montagnes de la Petite Kabylie: forêt de Gerrouch, Goubia, Monts Babor et Tababort, forêt de Tedefelt. Montagnes au-dessus de 1000 m: en petite Kabylie. Djurdjura, Akfadou: ssp. *atlantica* Coss. Sud-Euras. (QuezeL et Santa, 1962)

II.4. Taxonomie de la plante

Le nom pivoine vient de *Paeonia* latinisation du grec paionia signifiant primitivement « propre à guérir » plus tard la légende a rattaché la fleur et son nom du dieu guérisseur qui employa cette plante pour guérir pluton dieu des enfers.

Classification classique

<u>Règne</u>	<i>Plantae</i>
<u>Division</u>	<i>Magnoliophyta</i>
<u>Classe</u>	<i>Magnoliopsida</i>
<u>Ordre</u>	<i>Dilleniales</i>
<u>Famille</u>	<i>Paeoniaceae</i>
<u>Genre</u>	<i>Paeonia</i>
<u>Nom</u>	<i>Paeonia mascula</i> (L.) Mill.



Racine tubuleuse

Figure 6. La racine tubérisée de *P. mascula*



Pétale

Étamine

Figure 7. Fleur purpurin vif de *P. mascula* (L.) Mill



Figure 8. *Paeonia mascula* (L.) Mill. (mai 2014)



Figure 9. Graine mure de *Paeonia mascula* (L.) Mill



Figure 10. Fruit mure de *Paeonia mascula* (L.) Mill

II.5. Méthode d'échantillonnage

On a choisi la méthode d'échantillonnage systématique, cette dernière exige une liste de la population où chaque individu est numéroté de 1 jusqu'à N. (Dufour et Larivière, 2014).

II.5.1. L'échantillon

Les techniques d'échantillonnage des plantes sont élaborées en tenant compte de la standardisation de la récolte des données sur le terrain et de la prise en compte de toutes les informations disponibles sur les plantes et sur leur milieu. En effet, collecter les végétaux sur le terrain ne s'apparente pas simplement à créer une collection, il s'agit d'un travail portant sur une approche méthodologique de conservation de la biodiversité en tant que ressource végétale conduisant à la définition de stratégies de collecte et de prospection des végétaux sur le terrain. Compte tenu du fait des diverses contraintes liées à la prospection sur le terrain de la région d'étude (forêt de Kefrida) et de l'objectif qui a été fixé à cette étude (choix des plantes endémiques cas de *P.mascula*, l'échantillonnage a été initialement réalisé selon la méthode précédente.

II.5.2. Réalisation des relevés

II.5.3. Aire minimale de l'échantillonnage

Selon(Kaabeche ,1990), L'estimation de l'aire minimale des communautés envisagées, conditionnant la surface du relevé, reste une question délicate. Pour le type de groupements étudiés et pour la région considérée ou des territoires similaires, les données bibliographiques fournissent des informations très variables. (Celles ,1975) ne précise pas l'aire minimale relative à ces groupements et reconnaît, à propos de l'échantillonnage, que sa « conception a donc naturellement délaissé volontairement tout accident mineur, tout espace ponctuel de taille négligeable envers l'échelle considérée ».

Cependant, la valeur de l'aire minimale étant par définition une caractéristique propre à chaque association, elle ne peut être déterminée à priori, c'est-à-dire avant la définition même du syntaxon. Néanmoins, le relevé floristique ne devant pas excéder les limites de l'individu d'association, l'estimation de la surface à échantillonner conserve toute son importance.

II.5.4. Détermination des espèces :

Dans le cadre de ce travail, nous avons utilisé les flores suivantes pour la détermination des espèces ;

- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (Quezel et Santa, 1962-1963).
- Flore d'Afrique du Nord (Maire, 1952-1980).

II.6. Méthodologie statistique

II.6.1. Les indices écologiques

D'une façon générale il n'est pas possible de faire un dénombrement absolu des populations animales. On effectue en conséquence des estimations des effectifs qui demeurent la règle chaque fois que les évaluations absolues ne sont pas réalisables (Ramade, 1984). Les indices utilisés sont: l'abondance (absolue et relative), et les indices de diversité et d'équitabilité.

II.6.2. L'abondance

L'abondance se présente sous deux formes : l'abondance absolue (Aa) d'une espèce ou d'un groupe qui est le nombre d'individus de cette espèce ou de ce groupe d'espèces récoltées dans un peuplement, alors que l'abondance relative (Ar) donne le pourcentage d'individus récoltés dans le peuplement (Ramade, 1984)

L'abondance relative est calculée selon la formule :

$$Ar = Aa/N \times 100$$

N étant le nombre total d'individus récoltés.

II.6.3. La fréquence

La fréquence Fr d'une espèce dans un peuplement, est le pourcentage du nombre de prélèvements où l'espèce a été trouvée ($F1$) par rapport au nombre total des prélèvements effectués ($F2$)

$$Fr = F1/F2 \times 100$$

Fr : fréquence relative

$F1$: nombre de prélèvements où l'espèce a été trouvée

$F2$: nombre total des prélèvements

II.6.4. Indice de diversité et d'équitable

Dans un peuplement la répartition des individus entre les espèces est inégale. Ainsi selon (Barbault, 1981), un peuplement peut être caractérisé par sa densité, sa richesse spécifique (nombre espèces) et par sa diversité.

En général, le peuplement est d'autant plus diversifié que le nombre des espèces est élevé et que la répartition des individus entre les espèces est homogène.

Aussi pour résoudre le problème de la répartition des individus entre les espèces et comprendre le degré de structuration des peuplements, entre plusieurs indices celui de Shannon-Weaver est le plus utilisé. Cet indice a l'avantage d'être indépendant de la taille de l'échantillon.

II.6.5. Indice H' de Shannon

Selon (Daget,1976) l'indice de diversité de Shannon-Weaver se calcule selon la formule suivante:

$$H_a = 3,322(\log Q - 1/Q \sum q_i \log q_i)$$

q_i : nombre d'individus par espèce

Q : nombre total d'individus

La valeur de l'indice de diversité est maximale lorsque toutes les espèces du peuplement sont représentées par le même nombre d'individus, cette valeur théorique (hypothétique) s'exprime en fonction de la richesse spécifique:

$$H_{max} = \log_2 S (3,322 \log S)$$

S : richesse spécifique de l'échantillon (richesse en espèces de l'échantillon).

A partir de cet indice, l'équitabilité exprime en pourcentage le rapport entre la diversité spécifique réelle et la diversité théorique maximale. Ce rapport permet de mesurer l'homogénéité de la répartition des individus entre les espèces. La formule qui exprime l'équitabilité est :

$$E = H/H_{max} \times 100$$

L'équitabilité varie entre 0 et 1. Elle tend vers 0 quand la quasi-totalité des effectifs est représentée par une seule espèce. Elle tend vers 1 lorsque toutes les espèces ont la même abondance (BARBAULT, 1981)

Une valeur d'équitabilité supérieure à 0,80 est considérée comme l'indice d'un peuplement équilibré (DAGET, 1976), mais pour plusieurs auteurs, cette valeur est égale à 0,50.

II.6.6. Analyse de similitude (coefficient d'affinité coenotique, Indice de JACCARD)

L'indice de Jaccard tient compte de la présence ou l'absence des espèces. Il permet de mettre en évidence les similitudes ou les différences (des peuplements) qui exercent la plus forte influence sur la répartition des espèces entre les stations.

Ce coefficient est le rapport exprimé en pourcentage entre les espèces communes aux deux stations, et le nombre total des espèces présentes dans ces dernières. Il s'exprime de la manière suivante :

$$J_{i+j} = a / (a+b+c) \times 100$$

J_{i+j} : coefficient coenotique de Jaccard calculé entre les stations i et j

a : nombre d'espèces communes aux deux stations

b : nombre d'espèces propres à la station i

c : nombre d'espèces propres à la station j

Ce coefficient est donc utilisé pour comparer la composition spécifique des espèces dans les différentes stations, prises deux à deux

Les valeurs de l'indice de Jaccard sont comprises entre 0 et 100. Plus les valeurs sont proches de 100, plus les deux peuplements sont qualitativement semblables.

Les matrices de similitude de base obtenues sont interprétées par la méthode des dendrogrammes en utilisant l'algorithme de (Lance et Williams, 1967).

$$J_{k,ij} = 0,625(J_{ki} + J_{kj}) - 0,25J_{ij}$$

$J_{k, ij}$: niveau de similitude entre k et le groupe ij

J_{ki} : niveau de similitude entre k et i

J_{kj} : niveau de similitude entre k et j

J_{ij} : niveau de similitude entre i et j

II.6.7. L'analyse de la variance à deux facteurs (ANOVA)

L'analyse de la variance a pour objectif d'étudier l'influence d'un ou plusieurs facteurs sur une variable quantitative. La présence de deux facteurs multiplie les situations possibles de l'analyse de la variance. Tout d'abord un effet interaction entre les deux facteurs ajoute en général à l'effet principal de chacun deux. Ensuite, on distingue les modèles croisés, où les deux facteurs interviennent de façon analogue, et les modèles hiérarchisés dans lesquels un facteur est subordonné à l'autre.

Il s'agit essentiellement de comparer les moyennes empiriques de la variable quantitative observée pour différentes catégories d'unités statistiques. Ces catégories sont définies par l'observation des variables qualitatives ou facteurs, en prenant différentes modalités ou encore de variables quantitatives découpées en classes ou niveaux.

S'agit de savoir si un facteur ou une combinaison de facteurs (interaction) a un effet sur la variable quantitative.

Peut-on admettre, en acceptant un risque d'erreur de plus de 5%, que les facteurs étudiés ont une influence sur la variable à analyser ?

On montre techniquement que la variance de la variable de réponse, appelée variance totale, peut être décomposée en termes de sommes des variances dans chacun des groupes déterminés par les réponses aux variables présumées explicatives avec en surplus, la variance résiduelle. C'est le rapport de ces diverses variances dans la variance totale qui permet de faire les tests statistiques sur l'influence des variables explicatives sur la variable de réponse. Le facteur a un effet si, selon la valeur de la cellule du facteur, la réponse est différente selon la catégorie du facteur. Un facteur permet d'expliquer des différences dans les réponses (Saporta, 2006).

Les hypothèses à tester sont :

- Hypothèse H_0 : Les moyennes sont identiques contre l'hypothèse

- H 1 : les moyennes ne sont pas identiques.

II.6.8. Analyse en composantes principales (ACP)

II.6.8.1. Objectif de l'Analyse en Composantes Principales

Etant donné un ensemble d'observations décrites par des variables exclusivement numériques $\{x_1, x_2, \dots, x_p\}$, l'ACP a pour objectif de décrire ce même ensemble de données par de nouvelles variables en nombre réduit. Ces nouvelles variables seront des combinaisons linéaires des variables originales, et porteront le nom de Composantes Principales (CP). Elle permet au praticien de réduire l'information en un nombre de composantes plus limité que le nombre initial de variables.

En général, la réduction du nombre de variables utilisées pour décrire un ensemble de données provoque une perte d'information. L'ACP procède de façon à ce que cette perte d'information soit la plus faible possible, selon un sens précis et naturel que l'on donnera au mot "information".

Il s'agit d'une approche à la fois géométrique (représentation des variables dans un nouvel espace géométrique selon des directions d'inertie maximale) et statistique (recherche d'axes indépendants expliquant au mieux la variabilité - la variance - des données).

L'Analyse en composantes principales peut donc être vue comme une technique de réduction de dimensionnalité.

II.6.8.2. Propriétés des Composantes Principales

L'objectif de l'ACP est de n'utiliser qu'un petit nombre k de composantes principales sur les p variables originales. L'analyste décidera par la suite du nombre de Composantes à retenir. "Retenir k Composantes Principales" veut dire "Remplacer les observations originales par leur projections orthogonales dans le sous-espace à k dimensions défini par les k premières Composantes Principales".

Les Composantes Principales définissent des directions de l'espace des observations qui sont deux à deux orthogonales. Autrement dit, l'ACP procède à un changement de repère orthogonal, les directions originales étant remplacées par les Composantes Principales.

Les Composantes Principales sont des variables qui s'avèrent être deux à deux non corrélées.

II.6.9. Analyse exploratoire des données

L'utilisation la plus commune de l'ACP est de fournir des données décrites par un grand nombre de variables quantitatives des représentations planes (et donc interprétables visuellement) aussi

fidèles que possible. Pour cela, on projette ces données sur des plans factoriels, chaque plan étant défini par une paire de Composantes Principales prises parmi les premières CP.

De l'examen de ces projections, l'analyste tentera de retirer des informations sur la structure des données, par exemple :

L'existence et la localisation d'observations "exceptionnelles", ou "aberrantes", c'est à dire très éloignées de l'ensemble des autres observations.

L'existence de regroupements bien marqués ("classes", ou "clusters"), suggérant l'existence de plusieurs sous populations au sein de l'ensemble des observations.

II.6.10. Interprétation des Composantes Principales

Les Composantes Principales n'ont *à priori* qu'une définition mathématique. Une des marques du succès d'une ACP est de pouvoir donner des CP, des interprétations en termes de propriétés réelles, mais non mesurées des observations : Prétraitement de données, réduction de dimensionnalité (Saporta, 2006).

II.7. Mesures biométriques

La mesure des paramètres biométriques permet d'estimer la croissance des plantes. De manière générale, les mesures portent sur le poids, la taille des plantes entières et des organes et sur le nombre de certains organes (feuilles, fleurs). Trois périodes peuvent être distinguées au cours des cultures, correspondant à la mise en place des traitements, au déroulement de la culture et à la récolte des plantes. Chaque série de mesures est effectuée durant ces trois périodes et peut varier selon la nature des plantes.

II.8.1. Etude anatomique

Pour une meilleure compréhension des phénomènes d'extraction et afin de localiser les organes sécréteurs (feuilles et tiges) d'espèce étudiée, une observation de la structure anatomique des deux organes est nécessaire, ainsi les coupes transversales au niveau des feuilles et tiges ont été réalisées.

Les études anatomiques ont été effectuées au laboratoire de la Faculté.

II.8.2. Coupes et coloration

Fendez le bâton de moelle de sureau, creusez dans chaque demi-cylindre une cavité, exécutez une dizaine des coupes transversales très fines des feuilles et tige de *P.mascula*

Selon (Culter ,1969), il est important d'observer la même partie d'un organe pour de.s études comparatives. Une coupe transversale d'une feuille est normalement étudiée au niveau de sa plus large région et la surface de la tige d'une plante jeune. Les coupes au niveau de la tige ont été réalisées à 2 ou 3 niveaux.

Le matériel étudié est inclus dans un fragment de moelle de sureau fendu longitudinalement.

Les coupes fines ont été réalisées dans des bâtons de moelle de sureau.

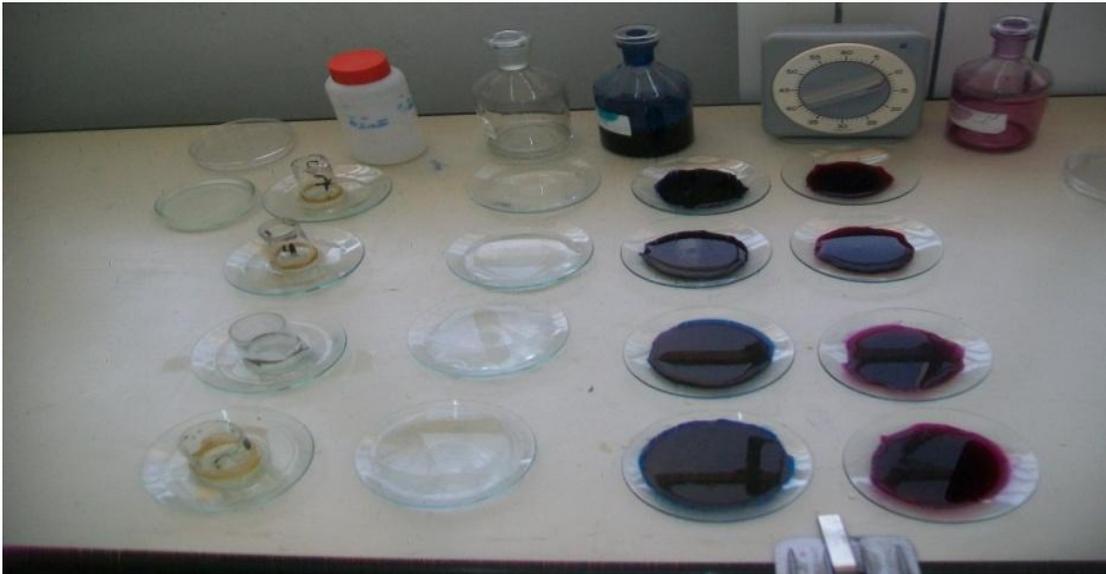


Figure 11. Réalisation d'une coupe transversale de la tige et la feuille de *P. mascula*

Avant le montage entre lame et lamelle, les coupes subissent préalablement les traitements suivants:

- Elimination du contenu cellulaire par de l'eau de javel 5% (8-10 minutes) pour les rendre plus lisibles ;
- Rinçage 2 à 3 fois à l'eau distillée ;
- Passage dans de l'acide acétique (2-3 minutes) nécessaire pour fixer le colorant
- Coloration au carmino-vert de (5-10 minutes) ;
- Rinçage 3 fois à l'eau distillée ;
- Montage entre lame et lamelle dans de l'eau glycinée.

II.9. Technique suivie lors de notre étude

Avant de faire un screening, il faut préparer un extrait méthanolique de chaque organe de la plante (Feuille, Racine, Tige,). On pèse 10 g de chaque organe dans un mélange (80 méthanol 20 eau distillée), ensuite on le laisse reposer 48 h puis on filtre pour obtenir un extrait.

II.10.1. Recherche des tanins et des flavonoïdes totaux dans les extraits de *Paeonia macula*.

Une goutte d'extrait brut est placée dans un tube à essai; on n'ajoute de l'eau distillée chaude: l'ajout de FeCl_3 1 % permet de détecter la présence ou non de tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques.

Une goutte d'extrait dans un tube à essai, on verse du méthanol puis HCl on voit une couleur orange ou rouge brique .

II.11. Les activités biologique

II.12. Extraction

II.12.1. Préparation de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux de la partie aérienne de *Paeonia mascula* est préparé selon la méthode de (Ljubuncic et al, 2005) avec légères modifications. Brièvement, 10 g de la partie aérienne de *Paeonia mascula* sont mis à bouillir dans 100 ml d'eau distillée pendant 20 min. Après filtration, l'extrait récupéré est soumis à une centrifugation. La solution obtenue est mise dans des boîtes pétris puis ces dernières sont mises dans l'étuve à 45°C pendant 2 à 3 jours pour le séchage ensuite l'extrait obtenu est conservé au réfrigérateur jusqu'à son utilisation.

II.11.2. Préparation de l'extrait méthanolique

L'extrait méthanolique de la partie aérienne est préparé selon la méthode de (MOTAMED et NAGHIBI 2010). Une quantité de 10 g de la partie aérienne de *Paeonia mascula* est mise à macérer dans 100 ml méthanol/eau (8: 2, V/V) sous agitation pendant 24 heures, à l'ombre et à température ambiante. L'extrait récupéré par filtration est soumis à une évaporation du méthanol sous pression réduite à 45°C dans un rota vapeur (BÜCHI). La solution obtenue est séchée pour obtenir une poudre vert foncée qui est conservée à -32°C jusqu'à son utilisation.

II.11.3. Fractionnement de l'extrait brut

L'extrait brut est fractionné selon la méthode de (Gilani et al. 2001) modifiée par (Boudiaf, 2006), en utilisant une série de solvants à polarité croissante (Figure 9). L'extrait brut est initialement mélangé avec l'hexane (1 V/V), après décantation la phase organique supérieure est récupérée. Cette étape est refaite plusieurs fois avec renouvellement du solvant jusqu'à ce qu'il devienne transparent. L'hexane est par la suite évaporé et l'extrait résultant est considéré comme étant la fraction de l'hexane (EHx). La phase aqueuse inférieure est soumise à un autre fractionnement par le chloroforme pour donner l'extrait du chloroforme (ECh), et enfin par l'acétate d'éthyle pour donner la fraction de l'acétate d'éthyle (EAc), en suivant les mêmes étapes que le premier fractionnement par l'hexane. Le raffinat qui en résulte représente la fraction aqueuse (EAq) résiduelle qui est également soumise à une lyophilisation et conservé avec les autres extraits à -20°C jusqu'à utilisation.

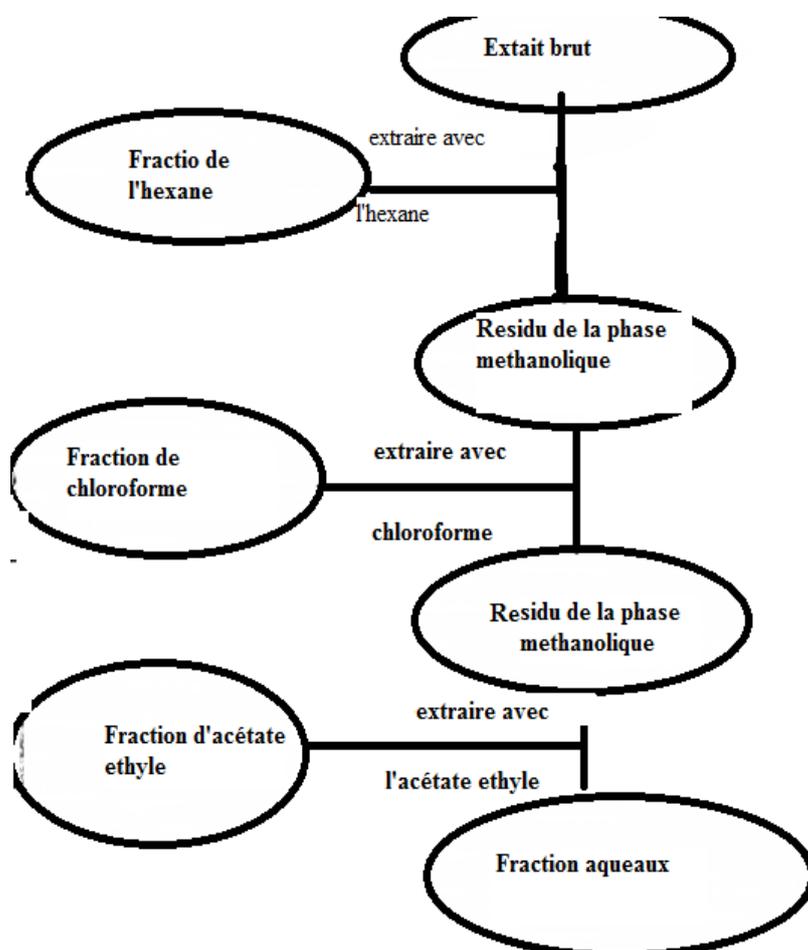


Figure 12. Les étapes du fractionnement de l'extrait brut de *Paeonia mascula*. (GILANI et al. 2001) modifié par (BOUDIAF 2006)

II.12. Dosages des polyphénols, des flavonoïdes et d'alcacoides

II.12.1. Dosage des polyphénols totaux

Le contenu en polyphénols totaux des extraits aqueux et méthanolique de *Paeonia mascula* est estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par (LI et ses collaborateurs 2007). Un volume de 200 μl des solutions d'extraits à différentes concentrations sont ajoutées à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10%). Après 4 min, 800 μl de carbonates de sodium (75 g/l) sont additionnés. Le mélange est laissé réagir 2 heures à température ambiante, puis la lecture est faite à 765 nm. L'acide gallique (20-140 $\mu\text{g/ml}$) est le standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage (figure 9) à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux des extraits est calculée. Le résultat est exprimé en μg d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg EAG/mg d'extrait).

II.12.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun et al. 1996) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits aqueux et méthanolique de *Paeonia mascula*. Un millilitre de la

solution d'ALCl₃ (2%) est ajouté à 1 ml de la solution de l'échantillon (extraits ou standard) contenant différentes concentrations. Le mélange est laissé réagir pendant 10 min puis la lecture est faite à 430 nm. La concentration des flavonoïdes dans les extraits est calculée à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (2-14 µg/ml) et exprimée en microgramme d'équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait) .

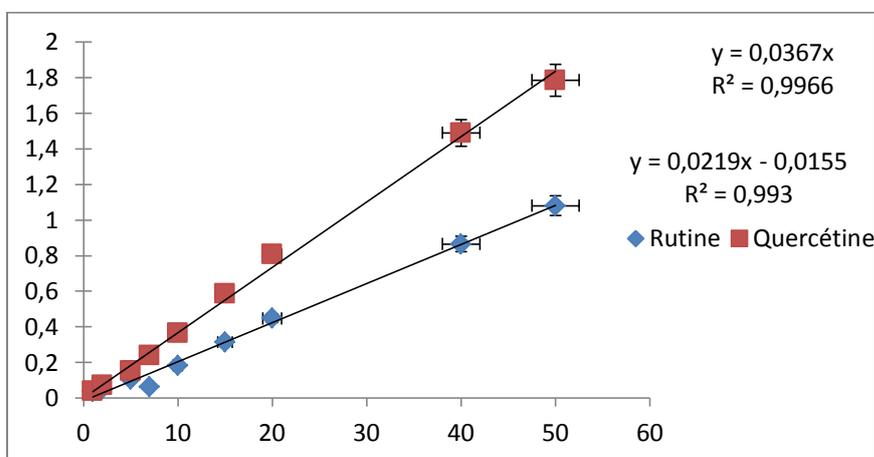


Figure 13. Droite d'étalonnage de la quercitrine et Rutine

II.12.3. Dosage des tannins

La détermination de la teneur en tannins des extraits aqueux et méthanolique de *Paeonia mascula* (L.) Mill. est faite par le test de précipitation de l'hémoglobine en utilisant le sang frais des ovins suivant la méthode décrite par (Gharzouli et al, 1999). Brièvement, un volume de sang hémolysé est mélangé avec un volume d'échantillon (extraits ou acide tannique) à différentes concentrations. Le mélange est laissé réagir pendant 20 min à température ambiante, puis soumis à une centrifugation 4000 rpm pendant 10 min à 4°C. La lecture du surnageant est faite à 576 nm contre l'eau distillée. Une gamme d'étalonnage est établie avec l'acide tannique (100-550 µg/ml) (figure 11). La teneur en tannins des extraits est exprimée en microgramme d'équivalents d'acide tannique par milligramme d'extrait. Le taux de précipitation de l'hémoglobine deux extraits est calculé selon la formule suivante:

$$\text{Taux de précipitation (\%)} = [(Ac-At)/Ac] \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle.

At : Absorbance du test.

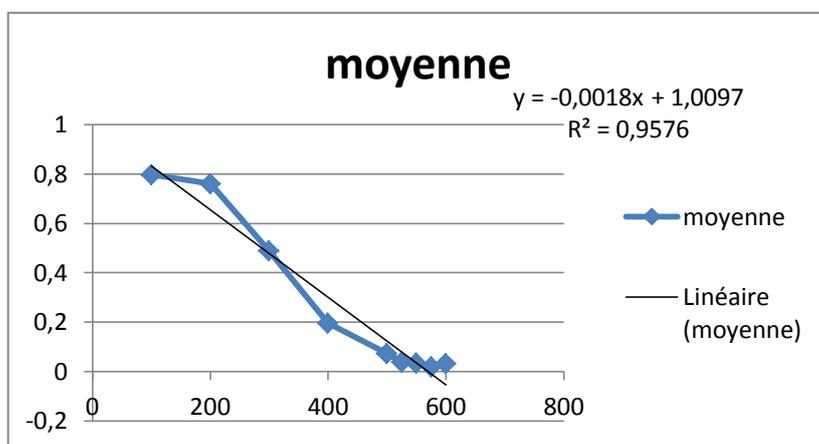


Figure 14. La quantité de tanin dans les différents extraits de la *Paeonia mascula*

II.12.5. Estimation quantitative des alcaloïdes

En bref, à 1 ml de l'extrait méthanolique, 5 ml de tampon phosphate (pH 4,7) et une solution de 5 ml de BCG a été ajoutée à la mixture avec 4 ml de chloroforme, puis les extraits ont été rassemblés dans un ballon jaugé de 10 ml et dilué pour ajuster le volume avec du chloroforme. L'absorbance du complexe dans le chloroforme a été mesurée à 470 nm contre le blanc préparé comme ci-dessus, mais sans extrait. L'atropine est utilisée comme standard. Résultats standards ont été exprimés en mg d'atropine équivalent par gramme d'extrait (mg EQ / A) (Hemachakradhar et Pavan, 2013).

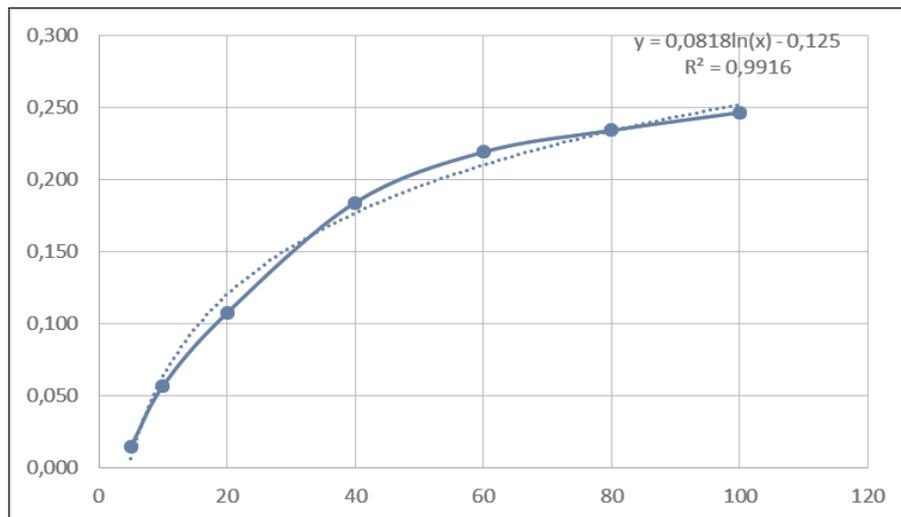


Figure 15. La quantité des alcaloïdes dans les différents extraits de la *Paeonia mascula*

II.13. Activité anti radicalaires

II.13.1. Test de DPPH

Diverses techniques sont utilisées pour mesurer les activités antioxydantes des extraits. Dans le cadre de cette étude, l'activité antioxydante (anti-radicalaire) de l'extrait de *Paeonia mascula* a été évaluée in vitro, par le test au DPPH. Le radical DPPH•+ (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) est stable à température ordinaire et présente une couleur bien caractéristique (violette foncée).

Ainsi, le DPPH de couleur violette, vire au jaune, en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazine. Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. Cette technique consiste à suivre la réduction du radical libre par un antioxydant à l'aide de spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits de la pivoine.

La méthode retenue pour réaliser ce test est due à (Masuda et al. 1999). Le protocole est le suivant: 1ml d'extrait de paeonia (à différentes dilutions) est additionné à 1250 ml d'une solution de DPPH, préparée dans le méthanol. Le mélange réactionnel a été secoué immédiatement, puis maintenu à l'obscurité pendant 30 min à une température de 37°C pour que la réaction s'accomplisse. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm contre un blanc. Le contrôle est constitué d'un mélange réactionnel contenant 1250 ml de DPPH et 1ml de méthanol.

Les mesures de l'absorbance du DPPH des extraits permettent de déterminer le pourcentage d'inhibition PI en appliquant la formule suivante:

$$PI (\%) = [A_0 - (A_i - A_b)] / A_0 \times 10$$

Où : A₀: absorbance du radical seul (contrôle).

A_i : absorbance du radical après 30 minutes de contact à l'obscurité avec l'antioxydant.

A_b : absorbance des extraits seul (blanc).

Les pourcentages d'inhibition ainsi déterminés, nous permettent de calculer la valeur du paramètre IC₅₀ (concentration d'inhibiteur) qui représente la concentration de la substance nécessaire pour diminuer 50% des radicaux libres dans le milieu réactionnel.

Les flavonoïdes agissent principalement comme antioxydants primaires, en stabilisant les radicaux

II.13.2. Chélation du fer ferreux

La capacité chélatrice des extraits aqueux et méthanolique de *Paeonia moutan* est déterminée selon la méthode de (Le et ses collaborateurs 2006) qui est basée sur l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrosine après le traitement des échantillons avec les ions Fe²⁺. 5 ml des solutions d'extraits ou du chélateur standard (EDTA) à différentes concentrations sont additionnées à 100 µl de FeCl₂ (0.6 mM) et 900 µl de méthanol. Après 5 min d'incubation, cent microlitres de ferrosine (5 mM) sont ajoutés, et le mélange est agité et laissé réagir pendant 10 min pour permettre la complexation du fer résiduel. L'absorbance du complexe Fe²⁺-ferrosine est mesurée à 562 nm. L'activité chélatrice est exprimée en pourcentage en utilisant l'équation ci-dessous:

$$\text{Activité chélatrice (\%)} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle.

At : Absorbance du test.

Pour une caractérisation meilleure de l'efficacité des extraits, la concentration effectrice (EC50) définie comme la concentration de l'échantillon qui produit 50% d'effet chélateur ainsi que l'activité chélatrice exprimée en mg d'équivalent d'EDTA/g d'extrait sont calculées.

II.13.3. Blanchissement du β -carotène

La capacité des extraits de *Paeonia mascula* (L.) Mill. de prévenir le blanchissement du β -carotène est déterminée selon la méthode décrite par (Bougatef et al., 2009). Brièvement, 0,5 mg de β -carotène dans 1 ml de chloroforme est mélangée avec 25 μ l d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Le chloroforme est évaporé sous pression réduite à 45°C au rota vapeur, ensuite 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène sont ajoutés et le mélange obtenu est agité vigoureusement. Le milieu réactionnel contient 2.5 ml de l'émulsion de β -carotène/acide linoléique et 0.5 ml des solutions d'extraits ou des antioxydants de référence (BHT). Le mélange est placé dans l'ombre. L'oxydation de l'émulsion précédente est suivie par la mesure de l'absorbance de chaque échantillon juste après sa préparation (t = 0 min) et à des intervalles de 2 heures jusqu'à la fin de l'expérience (t = 48 H) à 470 nm. Le contrôle négatif contient 0.5 ml d'eau distillée à la place de l'extrait aqueux, et de 0,5 ml de méthanol à la place de l'extrait méthanolique et des antioxydants standards. L'activité antioxydante (AA%) est exprimée en pourcentage d'inhibition par rapport au contrôle négatif selon l'équation suivante:

$$\text{Activité antioxydante \%} = [1 - (At_0 - At_{48})_{\text{test}} / (At_0 - At_{48})_{\text{control}}] \times 100$$

At0: absorbance au temps t = 0.

At48 : absorbance au temps t = 48h.

II.13.4. Pouvoir réducteur

C'est une technique qui permet de mesurer la réduction du Fe³⁺ (fer ferrique) en Fe²⁺ (fer ferreux) en présence des extraits à tester. Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible. La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe³⁺ dans le complexe ferricyanide à la forme fer ferreux Fe²⁺. Par conséquent, Fe²⁺ peut être évalué en mesurant l'augmentation de la densité de la couleur verdâtre dans le milieu réactionnel à 700nm (Bougandoura et Bendimerad, 2013).

Le pouvoir réducteur des extraits aqueux et méthanolique de *Paeonia mascula* (L.) Mill est déterminé selon la méthode (d'Oyaizu, 1986), avec quelques modifications. Différentes

concentrations d'extraits ou de l'antioxydant standard (BHT) sont mélangées avec 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6.6) et 2,5 ml de ferricyanide de potassium [K₃Fe(CN)₆] (1%). Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min. Ensuite, 2,5 ml de TCA (10%), 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de FeCl₃ (0,1%) sont additionnés et l'absorbance est lue à 700 nm contre un blanc qui contient tous les réactifs sauf le FeCl₃. La valeur EC₅₀ est la concentration de l'échantillon qui correspond à une absorbance égale à 0,5 et est calculée à partir du graphe de l'absorbance en fonction de la concentration de l'échantillon.

I.14.1. Souches microbiennes utilisées

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits retenus dans le cadre de cette étude, a été étudiée vis-à-vis de six souches bactériennes qui proviennent de l'American Type Culture Collection (ATCC), ces souches sont choisies pour leur fréquence élevée à contaminer les denrées alimentaires et pour leur pathogénicité.

En effet, pour tester l'activité antimicrobienne, les souches bactériennes sont: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Shigella flexneri* NCCB1406, *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603, *Proteus mirabilis* ATCC35659, *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Et deux souches fongiques: *Aspergillus niger* 2CA936 et *Aspergillus flavus* NRRL 3357; et une levure ; *Candida albicans* ATCC1024.

I.14.2. Les milieux de cultures

Les souches bactériennes sont entretenues par repiquage sur milieu nutritif gélosé (l'Institut Pasteur d'Alger) favorable à leur croissance. L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques a été évaluée par la méthode de diffusion (Bauer *et al.*, 1966). La gélose MH (Fluka) a étéensemencée par ecouvillonnage et par une suspension bactérienne standardisée à 10⁸ UFC/ml soit d'une densité optique de 0.08-01 à la longueur d'onde de 625nm. En ce qui concerne les champignons, des suspensions de cellules fongiques et de spores sont préparées à partir de cultures pures et jeunes, dans de l'eau physiologique stérile Concentration de 2-3 × 10⁶ spores / mL, correspondant à une absorption de 0,15 à 0,17 à 530 nm et pour la levure La suspension est obtenue dans une solution saline physiologique (0,9%) de la culture dans Sabouraud 24 heures à 37 ° C avant, ajustée à 105 UFC / mL. 100 µl de suspension ont été placés sur de l'agar dans Petri. L'incubation des champignons se fait à une température de 28°C alors que celle des levures se fait à 37°La Gentamicine (GEN) a été utilisée comme témoin positif.

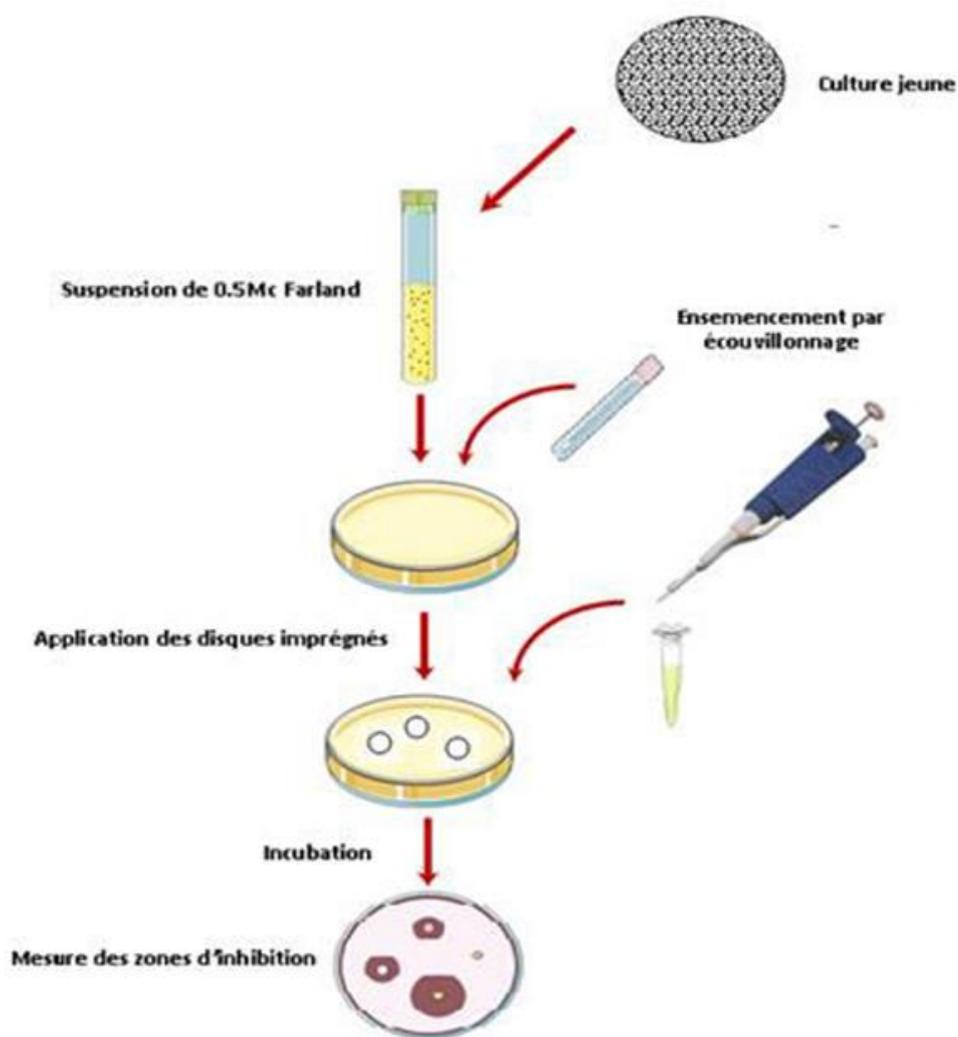


Figure 16. Estimation de l'activité antimicrobienne par la technique des disques.

I.14.3. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques employées pour le traitement des maladies, ces agents tuent les microorganismes pathogènes en inhibant leur développement à des concentrations suffisamment faibles pour éviter d'occasionner des dommages chez l'hôte, la plupart de ces agents sont des produits microbiens ou leurs dérivés. Ils peuvent être d'origine non microbienne tels que les sulfamides qui sont synthétiques (Yala et *al.*, 2001). Les antibiotiques utilisés sont produits par les micro-organismes pour assurer leur propre vie par le phénomène de compétition (Hancock, 2005).

III.15. L'activité anti-inflammatoire *in vivo*

II.15.1. Animaux

Des expériences ont été menées en utilisant des rats albinos adultes mâles Wistar (180-220 g) et des souris Swiss (20 à 30 g). Les animaux ont été logés dans une cage métallique standard, conservés à température ambiante (20-25 °C) et de l'environnement lumineux de 12:12 h sombre / cycle lumière. Ils ont reçu une boulette de nourriture standard et l'eau du robinet.

II.15.2. Xylène-œdème de l'oreille chez les souris :

L'expérience a été réalisée sur la base d'une méthode de (Junping et *al* 2005), décrite précédemment. Quatre groupes de cinq souris chacun a reçu une injection par voie intra péritonéale d'extrait metanolique (30 mg / kg) une heure avant l'application de xylène.

La dexaméthasone (30 mg / kg) a été administrée en tant que médicament anti-inflammatoire référence et d'eau distillée (10 ml / kg) administrées aux animaux témoins.

L'œdème a été induit par l'application d'une goutte de soin du xylène (0,03 ml) aux surfaces antérieure et postérieure de l'oreille droite. L'oreille gauche est restée non traitée et considérée comme le contrôle (Figure 15)



Figure17. Souris œdème de l'oreille

Une heure après l'application du xylène, les animaux étaient sacrifiés et anesthésiés à l'éther et des poinçons de 6 mm ont été faits dans l'oreille droite et gauche de chaque souris en utilisant un perce.

Chaque coup de poing de l'oreille a été pesé et les différences entre le poids des coups de poing droit et gauche de l'oreille de souris ont été enregistrées.

II.15.3. Granulome boulette de coton-induite chez le rat

L'effet de l'extrait methanolique de *Paeonia mascula* coton granulome sur boulette induite chez le rat a été Réalisé comme décrit précédemment par (Ismail et *al*. 1997).

Quinze rats ont été divisés en trois groupes de cinq animaux chacun. Les lésions granulomateuses ont été induites par l'insertion, chirurgicalement stériles pellets de coton (15 ± 1 mg) par voie sous-cutanée dans les deux régions axillaires de chaque rat après une seule incision, qui a été ensuite fermées par des points séparés (figure 19).

Après l'implantation de pellets, l'extrait méthanolique de *paeonia* (30 mg / kg) ont été injectés par voie intra péritonéale, une fois par jour pendant sept jours consécutifs.

La dexaméthasone (4 mg / kg) a également été administrée quotidiennement au groupe standard, tandis que le groupe témoin a reçu le même volume d'eau distillée (10 ml / kg).

Le huitième jour, les boulettes de coton ont été disséqués sous anesthésie à l'éther, nettoyés des tissus étrangers et on les sèche à 50° C, jusqu'à poids constant.

Les poids moyens pour les différents groupes ont été déterminés. L'augmentation du poids sec des pastilles a été prise comme mesure de la formation de granulomes.



Figure 18. Insertion Chirurgical de boulette de coton

II.15.4. Activité analgésique

II.15.4.1. Activité antalgique vis à vis de la douleur chimique provoquée par l'acide acétique

«Writhing test»

Après les protocoles établis par (Koster et *al.* 1959), (Salawu et *al.* 2008) et (Chirikova et *al.* 2010).

Les souris ont été divisés au hasard en trois groupes de six animaux chacun. Des doses de 100 mg / kg de l'extrait méthanolique ont été administrées au premier groupe tandis que les deux groupes restants ont reçu de l'eau distillée 10 ml / kg et Diclofenac 10 mg / kg respectivement.

Tous les traitements ont été administrés par voie orale et, après 30 min, 10 ml / kg de solution à 0,6% d'acide acétique dans une solution saline normale ont été injectés par voie intra péritonéale. Le nombre de contorsions sont comptés pendant 15 minutes après l'injection d'acide acétique (figure 20).

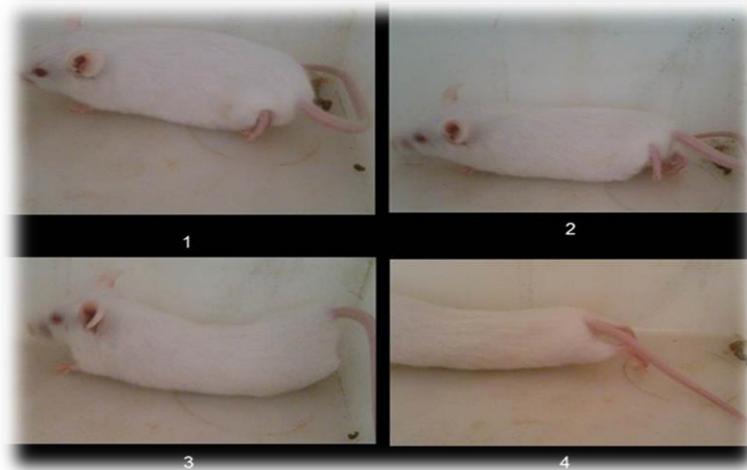


Figure 19. Putride chez la souris

Le pourcentage d'inhibition de la douleur pour chaque groupe traité par la dose de l'extrait, a été calculé en comparant la moyenne du groupe traité par l'extrait et avec celle du groupe témoin traité par l'eau distillée. Le pourcentage d'inhibition de la douleur est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{MnbreTgroupe témoins}) - (\text{MnbreTgroupe traité})}{(\text{MnbreTgroupe témoins})} \times 100$$

MnbreT= Moyenne du Nombre de torsions

II.15.5. Etude de l'activité antalgique par la méthode de la plaque chauffante

«Hot plate»:

Elle permet d'évaluer une activité analgésique centrale.

Les animaux expérimentaux des deux sexes ont été choisis au hasard et répartis en trois groupes désignés comme groupe I, groupe II et du groupe III, et composés de cinq souris dans chaque groupe pour le contrôle, le groupe standard et traités respectivement.

Chaque groupe a reçu une commande particulière de traitement (Tween-80 solution à 1% dans l'eau, 10 ml / kg, poids), contrôle positif (diclofénac sodique 10 mg / kg, poids) et l'échantillon d'essai (extrait méthanolique de 100 mg / kg, poids).

Ces animaux ont été placés sur la plaque chaude maintenus à une température de $55 \pm 0,5$ ° C (Zulfiker et *al.* 2010). Le temps de réaction a été enregistré lorsque les animaux ont léché leur avant ou derrière les pattes, ou ont sauté avant et 0, 30, 45 et 60 minutes après l'administration orale des échantillons (Eddy et Leimback, 1953) (Kulkarni, 1999) (Toma et *al.* 2003)

II.15.5.1. Evaluation de l'activité analgésique :

Une solution de phénylbenzoquinone ou d'acide acétique à 3% est injectée par la voie Intrapéritonéale à la souris. Sur des groupes d'animaux la dose analgésique empêchant le phénomène de torsion induit par le stimulus chimique est déterminée. (Colot, 1972).

Nous avons calculé dans un premier temps, le temps de réaction en secondes, exprimé en moyenne \pm DS (déviation standard) pour chaque groupe. Le pourcentage d'augmentation du temps de réaction a été calculé selon la formule suivante:

$$\% \text{ Augmentation} = \frac{(\text{MTR après administration}) - (\text{MTR avant administration})}{(\text{MTR avant administration})} \times 100$$

MTR= Moyenne des Temps de Réaction

II.16. Evaluation de l'effet toxique de l'extrait brut de *Paeonia mascula* (L.)Mill.

II.16.1. Toxicité aiguë et subaiguë :

II.16.1.1. Toxicité aiguë

(a) Traitement des animaux :

La toxicité aiguë de l'extrait brut de *Paeonia mascula* a été estimée en utilisant la méthode décrite par (Tahraoui et al, 2010), qui consiste à répartir les souris, en 7 lots de 8 animaux (mâles et femelles). L'un des lots est utilisé comme témoin (recevant de l'eaudistillée) alors que les autres lots ont été traités, chacun, par une dose unique de l'extrait brut de *Paeonia mascula* (solubilisée dans de l'eau distillée et ajusté à 10ml/kg par dose). L'administration a été effectuée par gavage orale aux doses suivantes (0, 0.5, 3, 6, 9 et 12g/kg du poids corporel). Après l'administration de l'extrait, les souris sont surveillées en permanence dans la première heure, 6h et 24heures après le traitement, pour toute mortalité ou changement de comportement. Ces signes de la toxicité ont été suivis quotidiennement pendant 14 jours. Dans le 15^{ème} jour, le nombre des animaux morts est calculé et transformé en pourcentage, alors que les animaux restant vivants sont sacrifiés.

(b) Détermination de la DL₅₀ de l'extrait brut de *Paeonia mascula*.

La DL₅₀, exprimée en mg/kg du poids corporel, est déterminée par la méthode graphique de (Miller et Trainer, 1944) décrite par Randhawa en 2009 et par la méthode de calcul de Dragstedt et Lang, (1957) cité par El Allaoui et al, (2011).

b1) Méthode graphique (Miller et Trainer ,1944)

Dans cette méthode, les pourcentages de la mortalité des rats doivent être convertis en unités probits. La DL₅₀ est donc déterminée à partir de la droite exprimant le taux de mortalité des rats (en unités probits) en fonction du logarithme de la dose administrée (mg/kg de poids corporel).

B2) Méthode de calcul (DRAGSTEDT et LANG 1957)

Dragstedt et Lang stipulent deux postulats :

« Tout animal ayant survécu à une dose administrée donnée aurait survécu à toute dose inférieure à celle-ci, et tout animal ayant succombé à une dose déterminée aurait succombé à n'importe laquelle des doses supérieures. Alors, on peut, pour chaque dose, rassembler tous les morts déjà observés aux doses inférieures et tous les vivants observés aux doses supérieures ». Donc, nous pouvons calculer la DL₅₀ d'après la formule suivante :

$$DL_{50} = \frac{50 (X_1 - X_2) + X_1 Y_2 - Y_1 X_2}{Y_2 - Y_1}$$

Dont laquelle : X₁ : dose inférieure encadrant la DL₅₀

X₂ : dose supérieure encadrant la DL₅₀

Y₁ : Pourcentage de mortalité correspondant à X₁

Y₂ : Pourcentage de mortalité correspondant à X₂

II.16.1.2. Toxicité subaiguë :

Pour la détermination de la toxicité subaiguë, le protocole expérimental utilisé est celui décrit par (Ramirez *et al.*, 2007). Vingt espèces de rats adultes de souche *Albino Wister*, ont été aléatoirement réparties en quatre groupes (n=10), chacun comporte cinq femelles de poids égal à 180±20g et cinq mâles de poids égale à 150±25g. Les rats ont été logés selon le sexe dans des cages en plastiques

II.17. Analyse Statistique

Les résultats ont été exprimés comme la moyenne ± écart-type. Les différences statistiques ont été évalués en utilisant une analyse de la variance, Newman-Keuls Multiple Comparison, test de Student et test de Fisher pour déterminer s'il ya des (P <0,001 ou P <0,05) des différences significatives (le choix du traitement statistique a été basée sur les résultats Type).

Les données ont été soumises à une analyse en utilisant le Microsoft Excel 2010, Graphpad prisme 5 Démo et CoStat la version 6.400.



Chapitre III

RESULTATS ET DUSCUSSION

III- RESULTATS ET DISCUSSION

III .1. Résultat de l'échantillonnage

III.2.1. La diversité floristique de forêt de kéfrida

La région d'étude est très riche par la biodiversité végétale à cause du caractère climatique de la région et du gradient altitudinal, qui par sa composition floristique exceptionnellement riche et variée, peut être considéré comme absolument unique en Afrique du Nord. C'est l'association à *Quercus faginea* et *Epimedium perralderianum*. Elle se rencontre entre les altitudes de 1100 et 1600 mètres (Liste des espèces en tableau 1.). On a résumé cette richesse dans le paragraphe suivant qui rassemblent les familles des espèces.

les graminées, les composées, les labiées, les scrofulariacées, les rosacées, les crucifères, les cypéracées, les ombellifères, les polypodiacées, les primulacées, les renonculacées, les rubiacées, les violacées, les acéracées, les euphorbiacées, les fagacées, les géraniacées, les juncacées, les amaryllidacées, les alsinoidées, les aracées, les araliacées, les berbéracées, les borraginacées, les campanulacées, les caprifoliacées, les crassulacées, les hypericacées, les iridacées, les liliacées, les papavéracées, les saxifragacées.

Tableau 1. Liste des espèces accompagnatrices de *P. mascula* dans la région du kéfrida :

Famille	Espèce	Type chorologique
Graminées	<i>Anthoxanthum odoratum</i> L.	Circumbor
	<i>Brachypodium silvaticum</i> (Huds) P.B.	Paleo-temp
	<i>Bromus benekini</i> Scinzet-Thell	Paleo-temp
	<i>Dactylis glomerata</i> L.	Paleo-temp
	<i>Elymus europaeus</i> L.	Euras-Caucas
	<i>Festuca drymeja</i> ssp. <i>Grandis</i> Coos.et Dur.	Euras
	<i>Melica uniflora</i> Retz.	Paleo-temp
	<i>Poa bulbosa</i> L.	Paleo-temp
Composées	<i>Bellis sivestris</i> L.	Circumméd
	<i>Doronicum atlanticum</i> (Chabert) Rouy.	N.A

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

	<i>Inula conysa</i> DC.	Euas
	<i>Petasites fragrans</i> Persel.	France-Sicile
	<i>Pulicaria odora</i> (L.) Rchb.	Circumméd
	<i>Senecio perralderianus</i> Coos. etDur.	End.Alg.Mar.
	<i>Solidago virga-aurea</i> L.	Circumbor
Lamiacées	<i>Brunella vulgaris</i> L.	Eur-Méd
	<i>Lamium flexuosum</i> Ten.	W.Méd
	<i>Lamium longiflorum</i> var. <i>numidicum</i>	C.Méd
	<i>Phlomis samia</i> ssp. Bovei de Noé.	End
Scrofulariacées	<i>Linaria heterophylla</i> Defs.	Itl.N.A
Rosacées	<i>Cerasus avium</i> L.	Euras
Crucifères	<i>Arabis albida</i> Stev.	Oro-Méd
	<i>Alliaria officinalis</i> Scop.	Euras
	<i>Arabis turrata</i> L.	Méd
Cypéracées	<i>Carex halleriana</i> Asso.	Cent-Méd
	<i>Carex remota</i> L.	Paleo-Temp
	<i>Carex silvatica</i> var. <i>algeriensis</i> M. et W.	N.Trop
Ombellifères	<i>Danaa verticillata</i> Janchen.	Subcosmo
	<i>Heracleum sibiricum</i> ssp. <i>Atlanticum</i> Coss	Cosm.Tenp.Subart.
	<i>Sanicula europaea</i> L.	Cosm.
Polypodiacées	<i>Asplenium adiantum-nigrum</i> L.	End.E.N.A
	<i>Asplenium trichomanes</i> L.	Méd
	<i>Cystopteris fragilis</i> Bernh.	Euras
Primulacées	<i>Primula vulgaris</i> var. <i>Atlantica</i> M. et Willez.	Méd-atlan
Paeoniacées	<i>Paeonia corallina</i> ssp. <i>Atlantica</i> Coos.	W.Méd
Renonculacées	<i>Ranunculus spicatus</i> Defs.	Euras
	<i>Thalictrum minus</i> L.	End.N.A
Rubiacées	<i>Asperula laevigata</i> L.	S.Eur
	<i>Galium ellipticum</i> (Wild) Hon.	End.N.Af
	<i>Galium tunetanum</i> Poiret.	Euras
Euphorbiacées	<i>Euphorbia amygdaloides</i> L.	Méd.Atl
	<i>Mercurialis perennis</i> L.	End.N.A
Géraniacées	<i>Geranium atlanticum</i> Boiss et Reut.	End.N.A
	<i>Geranium lucidum</i> L.	Méd.Atl

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

Juncacées	<i>Luzula forsteri</i> (Sm.) Dc.	Méd-atl
Papilionacées	<i>Cytisus triflorus</i> L'Her.	W.Méd
	<i>Vicia atlantica</i> (Pomel) Maire.	Méd
Alsinoïdées	<i>Stellaria holostea</i> L.	Euras
Berbéridacées	<i>Epimedium perralderianum</i> Coss.	End
Crassulacées	<i>Umbilicus pendulinus</i> (Dc) Batt.	Méd.Atl
Dioscoréacées	<i>Tamus communis</i> L.	Atl.Méd
Hypéricacées	<i>Hypericum montanum</i> L.	Eur.As
Iridacées	<i>Iris unguicularis</i> Poir.	End.Alg.Tun
Saxifragacées	<i>Saxifraga atlantica</i> Bois et Rent.	W.Méd
Thymelaeacées	<i>Daphne laureola</i> L.	Eur

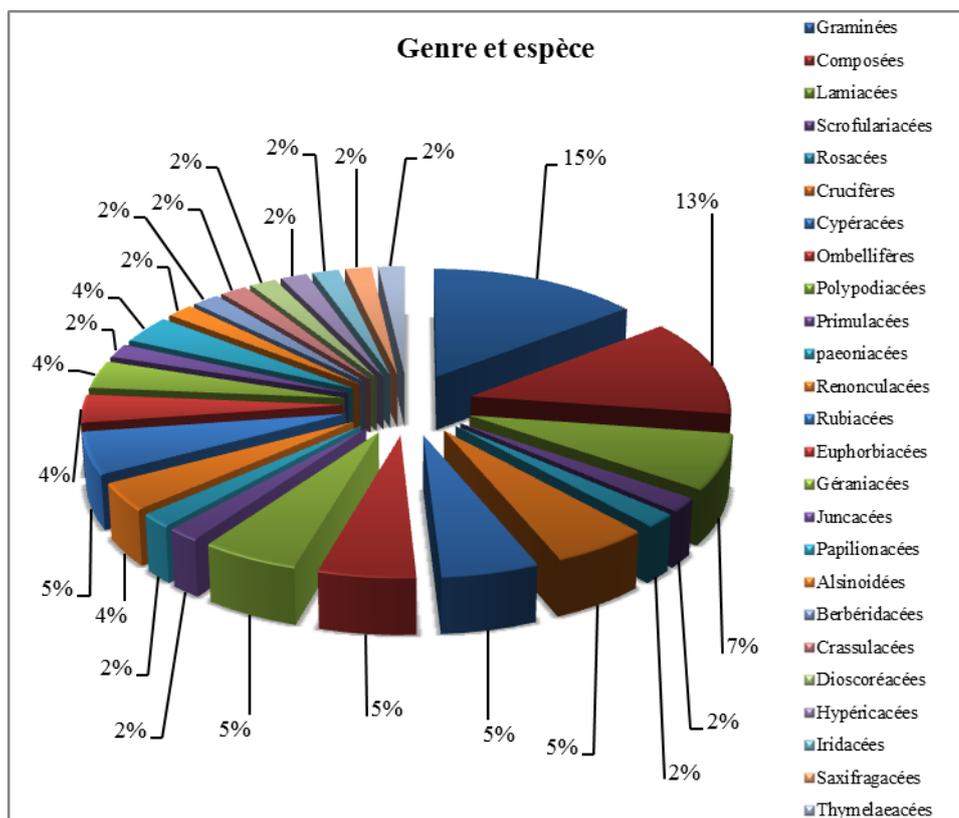


Figure 20. Distribution des espèces par familles

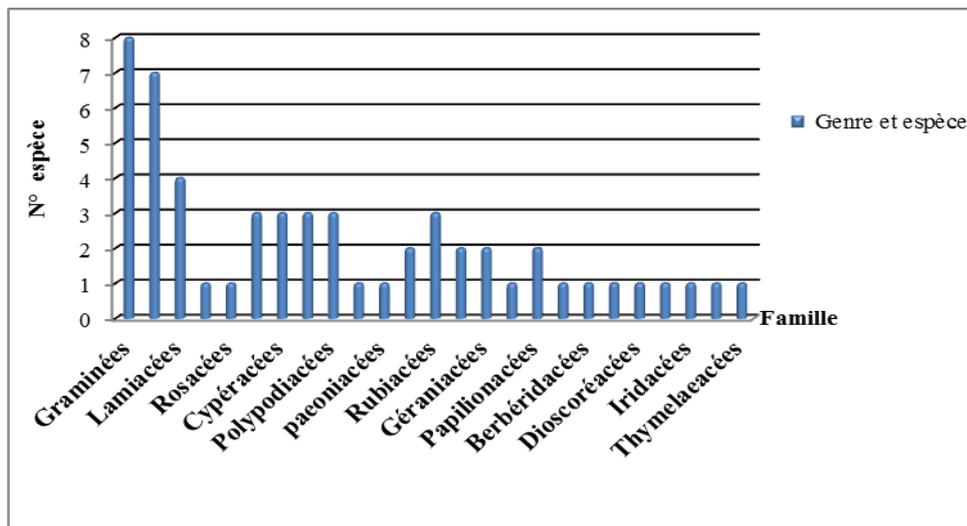


Figure 21. Composition floristique par famille de la station de kefrida

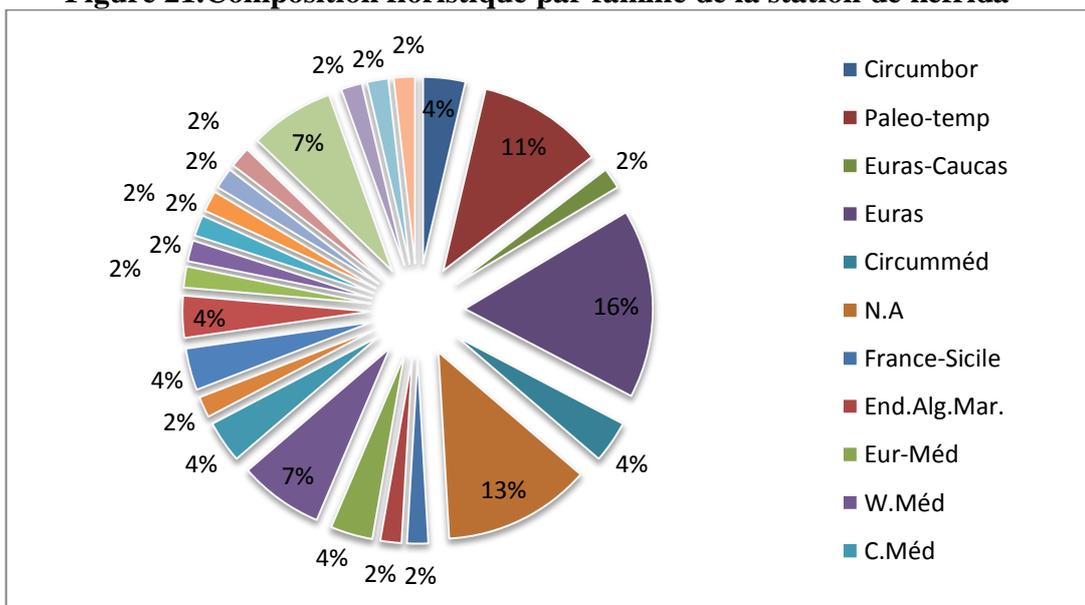


Figure 22. Le pourcentage des types chorologie dans la région de kefrida
Tableau 2. Les indices de similarité de Kefrida

INDICES	Genre_et_espèce
Taxa_S	25
Individuals	55
Dominance_D	0,06579
Simpson_1-D	0,9342
Shannon_H	2,963
Evenness_e^H/S	0,774
Brillouin	2,448
Menhinick	3,371
Margalef	5,989
Equitability_J	0,9204
Fisher_alpha	17,69
Berger-Parker	0,1455

Tableau 3. Similarité Jaccard des relevées de kefrida

	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
R1	1	0,10526	0,12121	0,24242	0,25641	0,25	0,129	0,1765
R2	0,10526	1	0,08	0,06897	0,18182	0,1539	0,3158	0,1539
R3	0,12121	0,08	1	0,08333	0,13333	0,087	0,1111	0,1364
R4	0,24242	0,068966	0,08333	1	0,08571	0,2083	0,1429	0,16
R5	0,25641	0,18182	0,13333	0,08571	1	0,0278	0,0667	0,2333
R6	0,25	0,15385	0,08696	0,20833	0,02778	1	0,0952	0,12
R7	0,12903	0,31579	0,11111	0,14286	0,06667	0,0952	1	0,0952
R8	0,17647	0,15385	0,13636	0,16	0,23333	0,12	0,0952	1

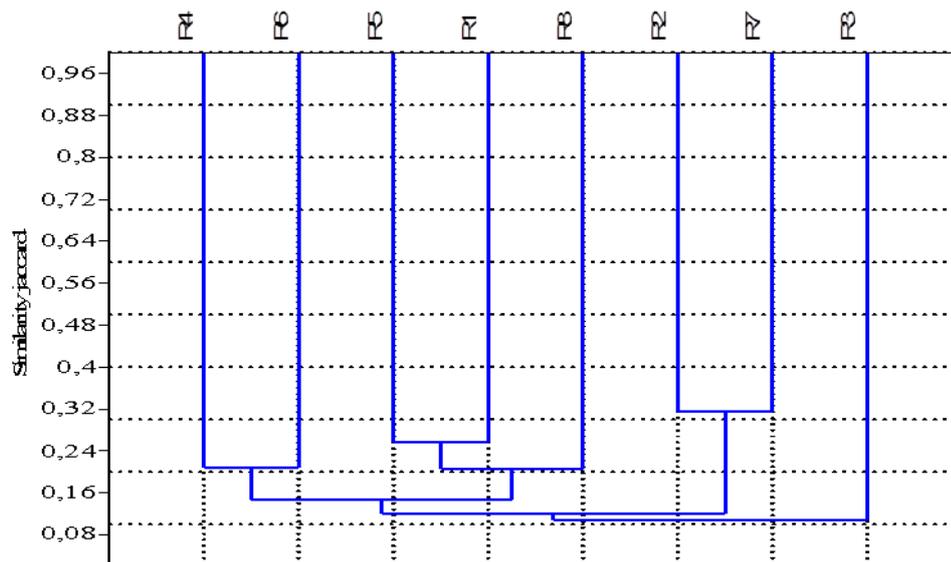


Figure 23. Denogramma de CAP dana la region de kefrida

III.2.3. Analyse en composantes principales (ACP) :

ACP construit de nouvelles variables dites artificielles, et des représentations graphiques permettant de visualiser les relations entre variables, ainsi que l'existence d'éventuelle groupes d'individus et de groupes de variables.

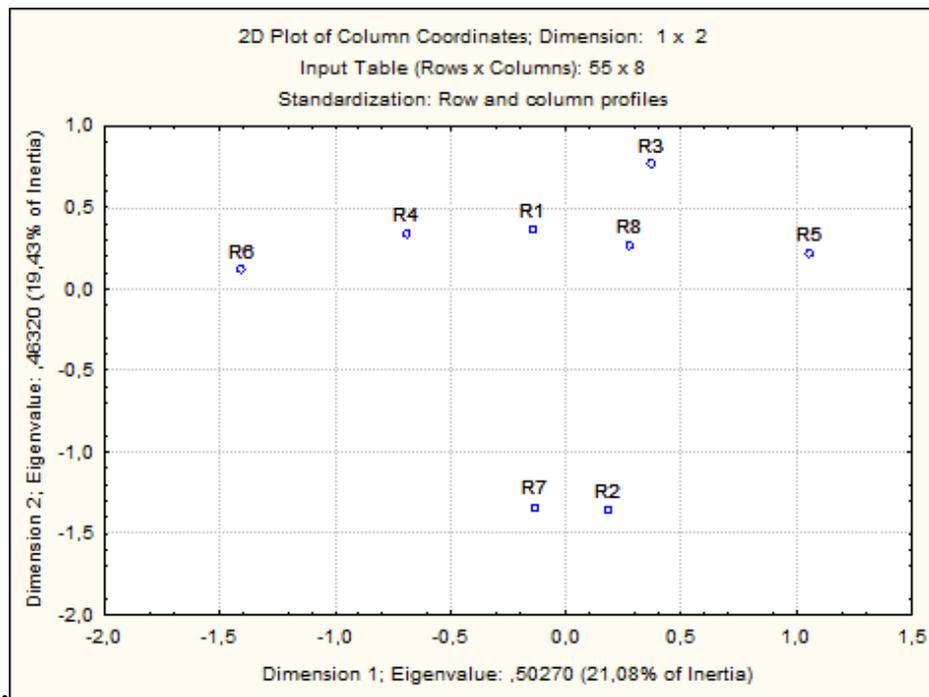


Figure 24. Plan factoriel de relevé (Axe 1-2) de kefrida

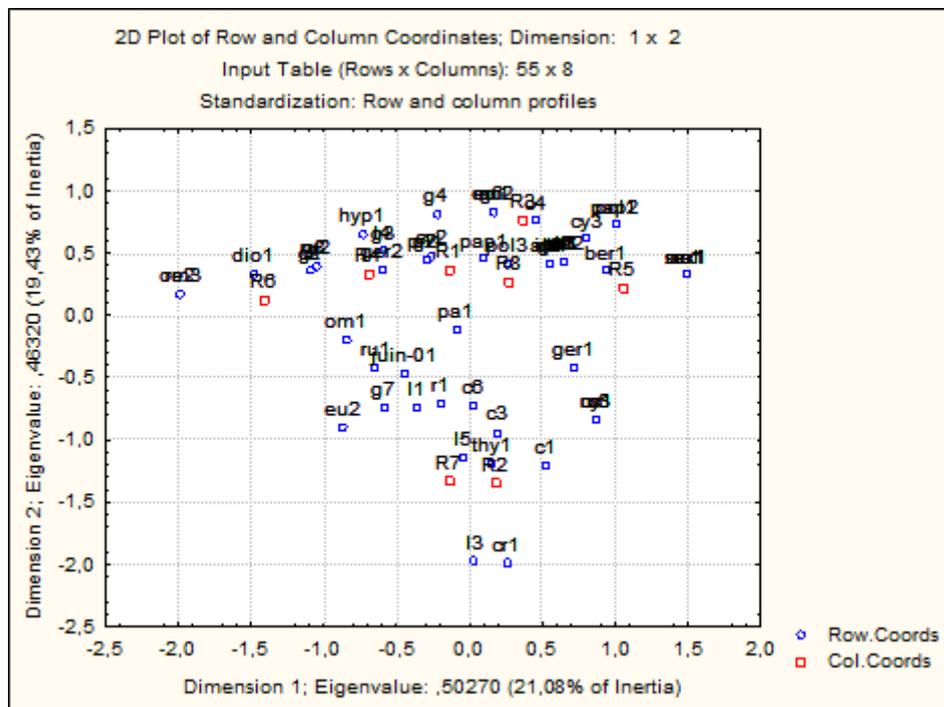


Figure 25. Plan factoriel des espèces (Axe1-2) de Kefrida

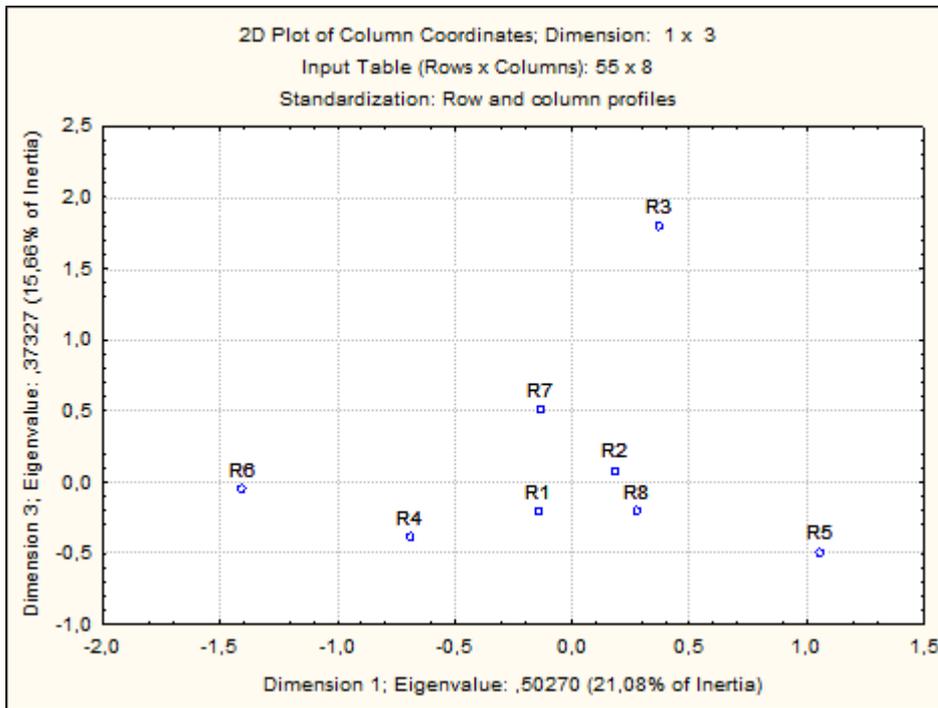


Figure 26. Plan factoriel des relevés (Axe 1 – 3) de kefrida

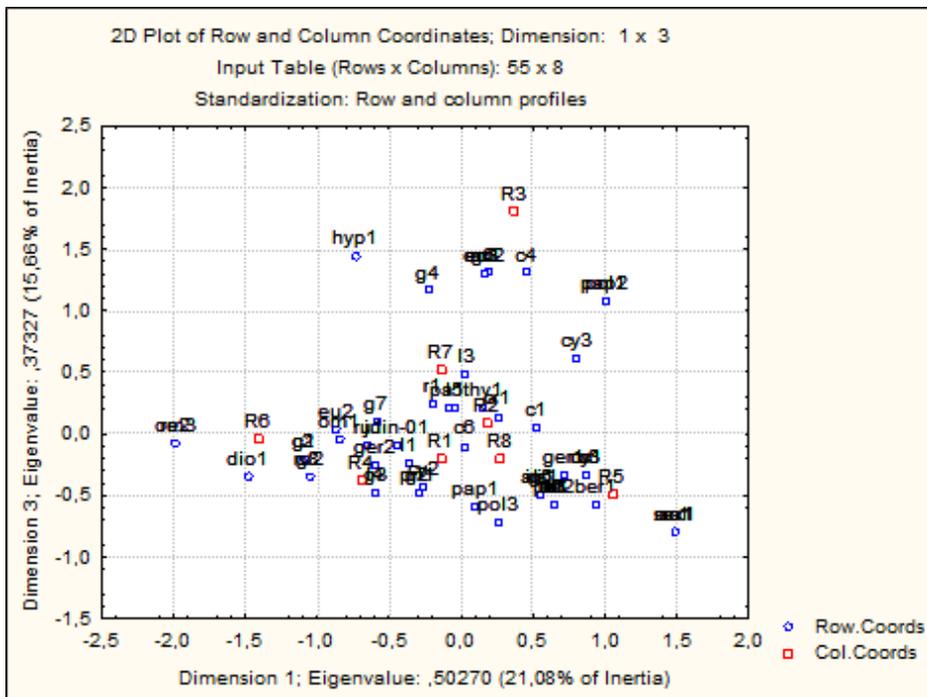


Figure 27. Plan factoriel des espèces (Axe 1 – 3) de kefrida

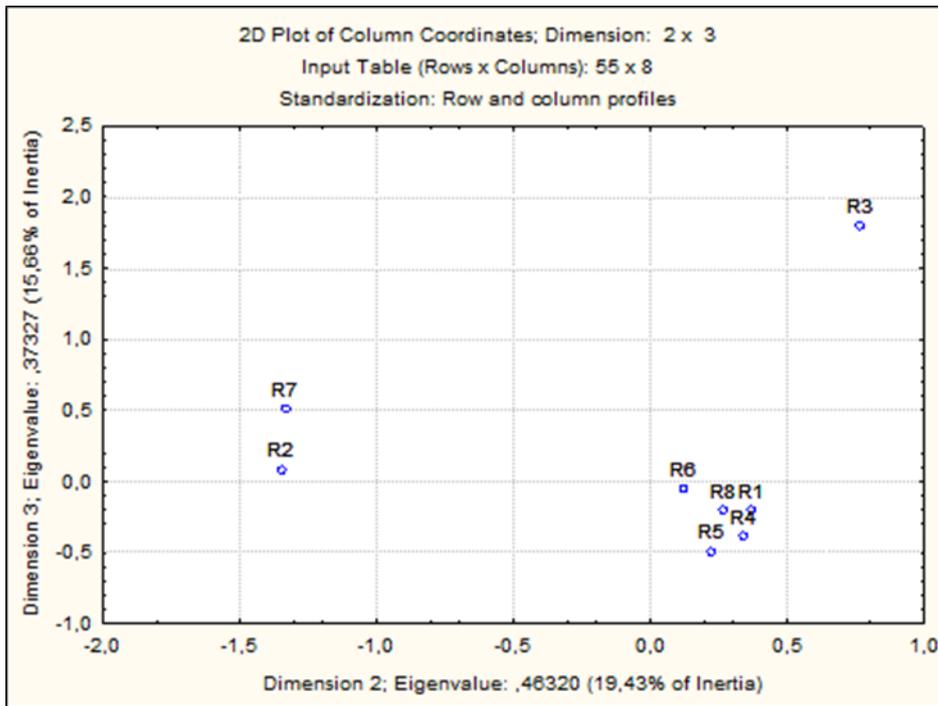


Figure 28. Plan factoriel des relevés (Axe 2 – 3) de kefrida

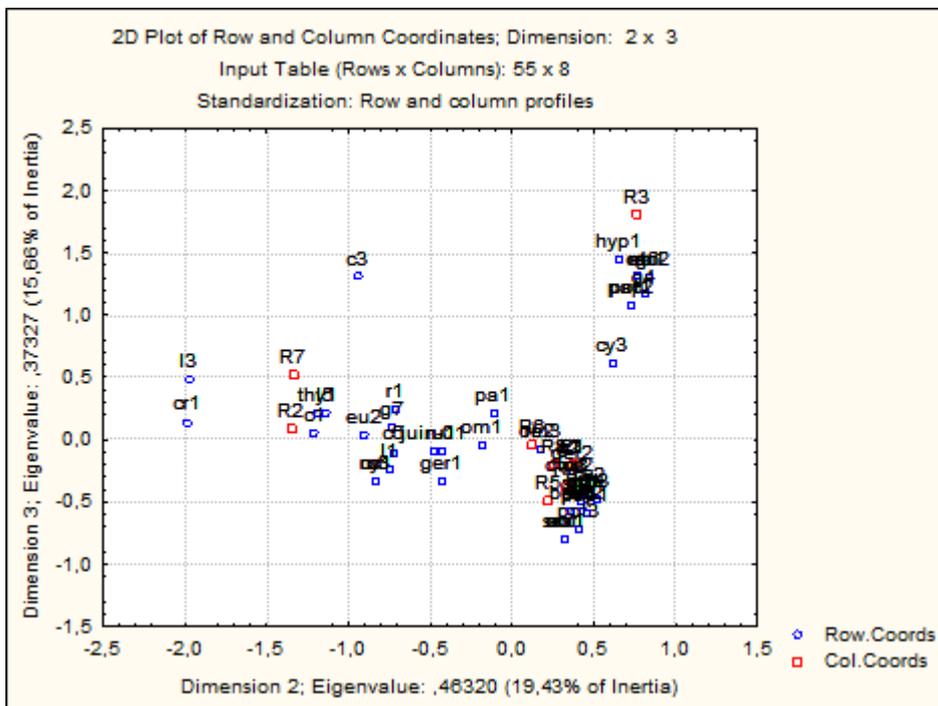


Figure 29. Plan factoriel des espèces (Axe 2 – 3) de kefrida.

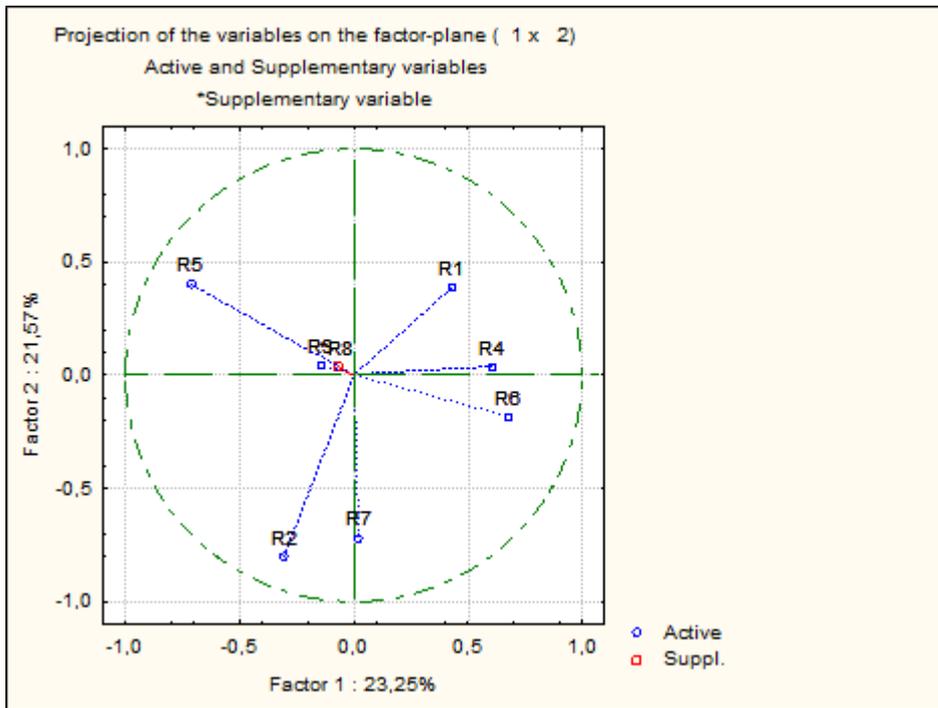


Figure 30. Graphe des variables du premier plan factoriel de l'ACP (Axe1-2) de kefrida

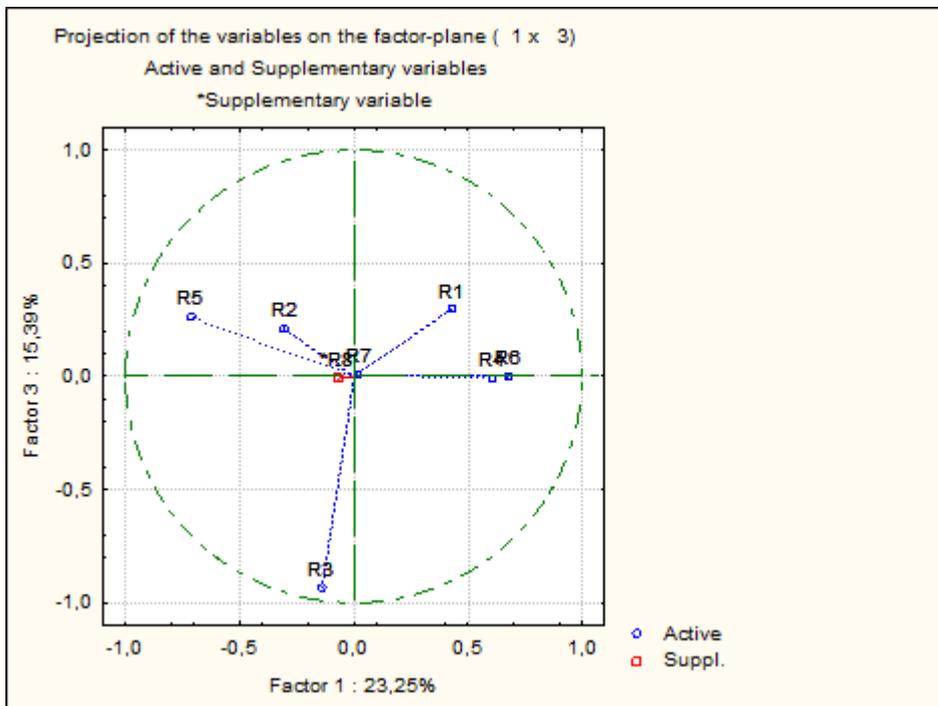


Figure 31. Graphe des variables du premier plan factoriel de l'ACP (1axe1-3) de kefrida

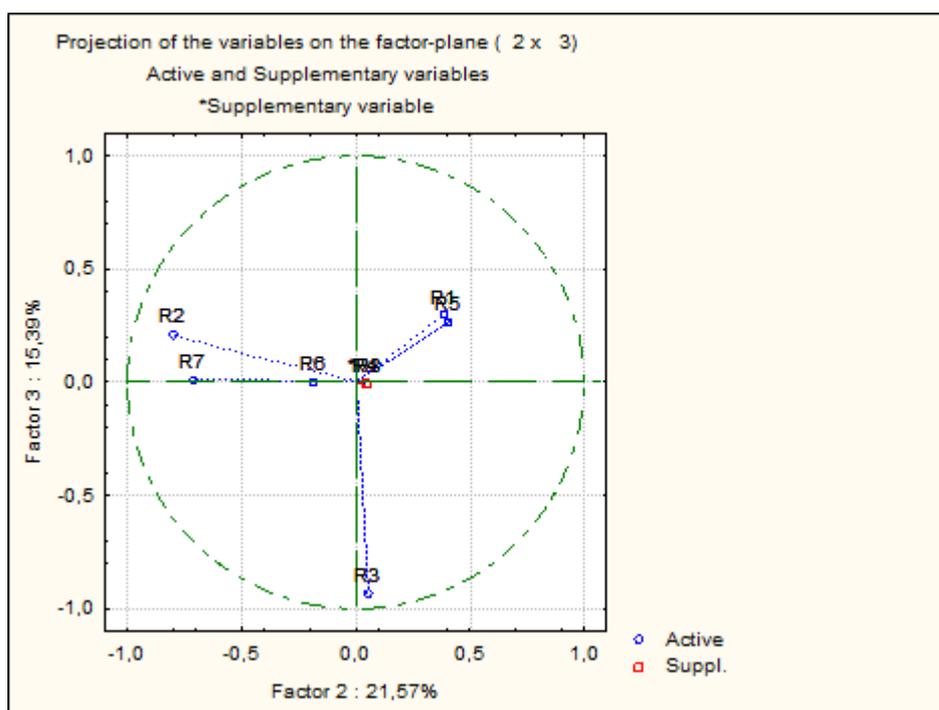


Figure 32. Graphe des variables du premier plan factoriel de l'ACP (2axe-3) de kefrida

II.3.1. Liste des espèces accompagnatrices de *Paeonia mascula* dans, La region des Bâbors

La classe des *Quercetea pubescentis*, qui ne comporte qu'un seul ordre en Afrique du Nord, regroupe la totalité des formations forestières, du mésoméditerranéen au montagnard méditerranéen. Selon leur degré de conservation ces groupements se répartissent entre deux alliances: le *Paeonio atlanticae - Cedrion atlanticae* et le *Lonicero kabylicae Juniperion hemispharicae*

Tableau 4. Liste des espèces accompagnatrices de *Paeonia mascula* dans la region des Bâbords :

	Espèce	Type chorologique
Graminées	<i>Cynosurus balansae</i> Coss. & Dur.	End. Alg.-Mar
	<i>Elymus panormitanus</i> (Parl) Tzvelev.	E.- Med
	<i>Deschampsia flexuosa</i> (L.) Trin	Circum.-Bor
	<i>Anthoxanthum odoratum</i> L.	Circum.-Bor
	<i>Bromus ramosus</i> Hudson	Paléo.-Temp
	<i>Festuca drymeja ssp. Grandis</i> Coos.et Dur.	Euras

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

	<i>Melica uniflora</i> Retz.	Paleo-temp
Composées	<i>Bellis sivestris</i> L.	Circumméd
	<i>Doronicum atlanticum</i> (Chabert) Rouy.	N.A
	<i>Tanacetum corymbosum</i> (L.) Schultz Bip	Eur.Med
	<i>Senecio perralderianus</i> Coos. Et Dur.	End.Alg.Mar.
Lamiacées	<i>Teucrium chamaedrys</i> L.	Circumbor
	<i>Satureja lpine</i> (L.)	Eur-Méd
	<i>Lamium flexuosum</i> Ten.	W.Méd
	<i>Lamium longiflorum var.numidicum</i>	C.Méd
	<i>Phlomis samia ssp.</i> Bovei de Noé.	End
	<i>Scutellaria columnae</i> All.	Méd
	<i>Satureja grandiflora</i> (Batt.) Maire	End. Babor-Rif
Scrofulariacées	<i>Linaria simplex</i> D.C.	Méd
	<i>Veronica montana</i> L.	Eur.
Rosacées	<i>Cotoneaster nebrodensis</i> (Guss.) C. Koch	Med-As.
	<i>Cerasus avium</i> L.	Euras
	<i>Rosa canina</i> L.	Euras.
Crucifères	<i>Arabis albida</i> Stev.	Oro-Méd
	<i>Alliaria officinalis</i> Scop.	Euras
	<i>Arabis turrita</i> L.	Méd
Fumariaceae	<i>Corydalis solida</i> (L.)	Euras
Saxifragaceae	<i>Saxifraga carpetana</i> Boiss. Et Reut	Euras.
	<i>Cedrus atlantica</i> Manetti	End. A. N.
Cypéracées	<i>Carex halleriana</i> Asso.	Cent-Méd

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

	<i>Carex remota</i> L.	Paleo-Temp
	<i>Carex silvatica</i> var. <i>algeriensis</i> M. et W.	N.Trop
Aspleniaceae.	<i>Asplenium adiantum-nigrum</i> L.	Sub-cosm
Clusiacées	<i>Hypericum montanum</i> L.	Eur.-As.
Fagacées	<i>Quercus canariensis</i> Willd.	Atl.Méd
Apiaceae	<i>Carum montanum</i> (Coss. & Dur.) Benth. & Hook.	End
	<i>Heracleum sibiricum</i> ssp. <i>Atlanticum</i> Coss	Cosm.Tenp.Subart.
	<i>Sanicula europaea</i> L.	Cosm.
	<i>Bunium alpinum</i> Waldst. & Kit.	Med
Polypodiacées	<i>Asplenium adiantum-nigrum</i> L.	End.E.N.A
	<i>Asplenium trichomanes</i> L.	Méd
Boraginaceae	<i>Cynoglossum dioscoridis</i> Vill	W. Méd
	<i>Cystopteris fragilis</i> Bernh.	Euras
Primulacées	<i>Primula acaulis</i> (L.)	Subsp. End. Alg.-Mar.
Brassicaceae	<i>Alliaria petiolata</i> (MB) Cavara & Grande	Euras.
Caryophyllaceae	<i>Silene choulettii</i> Coss	End
Paeoniacées	<i>Paeonia mascula</i> (L.) Miller subsp. <i>Atlantica</i> (Cosson) Greuter et Burdet	Subsp. End.
Renonculacées	<i>Ranunculus spicatus</i> Defs.	Euras
Rubiacées	<i>Asperula laevigata</i> L.	S.Eur
	<i>Galium scabrum</i> L.	Euras.
	<i>Galium tunetanum</i> Poiret.	Euras

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

Euphorbiacées	<i>Euphorbia amygdaloides</i> L.	Méd.Atl
	<i>Mercurialis perennis</i> L.	End.N.A
Géraniacées	<i>Geranium atlanticum</i> Boiss et Reut.	End.N.A
	<i>Geranium lucidum</i> L.	Méd.Atl
Juncacées	<i>Luzula forsteri</i> (Sm.) Dc.	Subatl.-SubMed
Fabaceae	<i>Cytisus triflorus</i> L'Her.	W.Méd
	<i>Trifolium ochroleucum</i> Hudson	Euras.
	<i>Vicia ochroleuca</i> Ten.	Méd

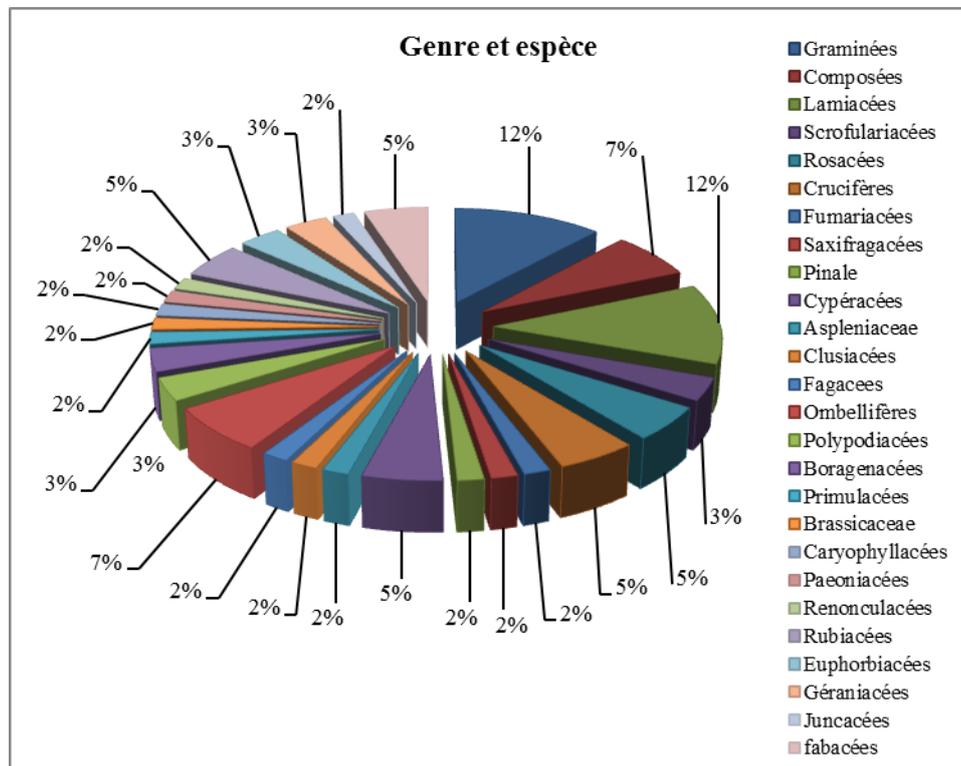


Figure 33. Distribution des espèces par familles dans la région du bâbor

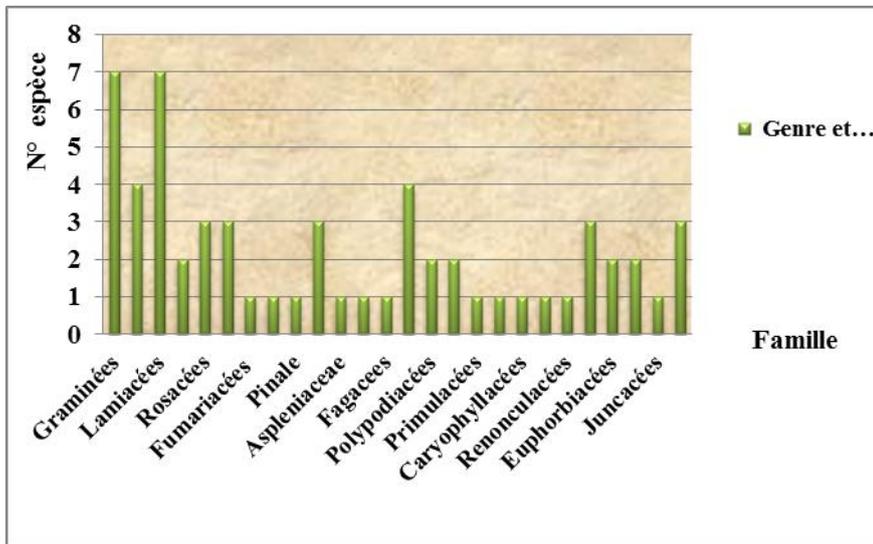


Figure 34.Composition floristique par famille de la station du Babor

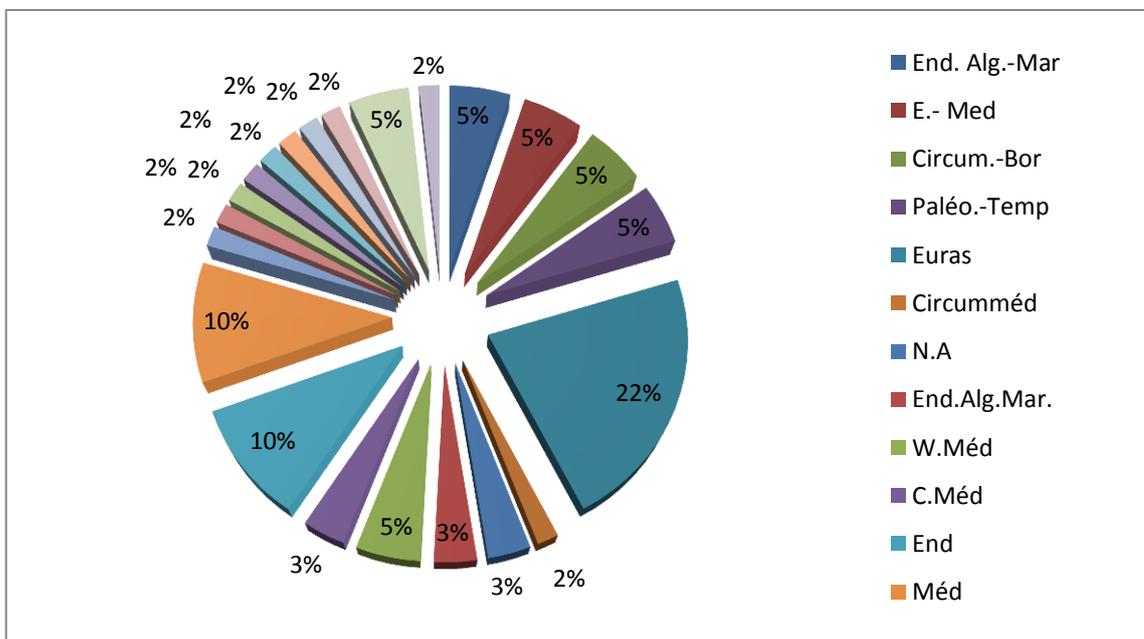


Figure 35.Le pourcentage des types chorologie dans la région des Babors

Tableau 5. Les indices de sémilarité

INDICES	Genre_et_espèce
Taxa_S	26
Ind ividuals	59
Dominance_D	0,05947
Simpson_1-D	0,9405
Shannon_H	3,031
Evenness_e^H/S	0,7969
Brillouin	2,52
Menhinick	3,385
Margalef	6,131
Equitability_J	0,9303
Fisher_alpha	17,77
Berger-Parker	0,1186

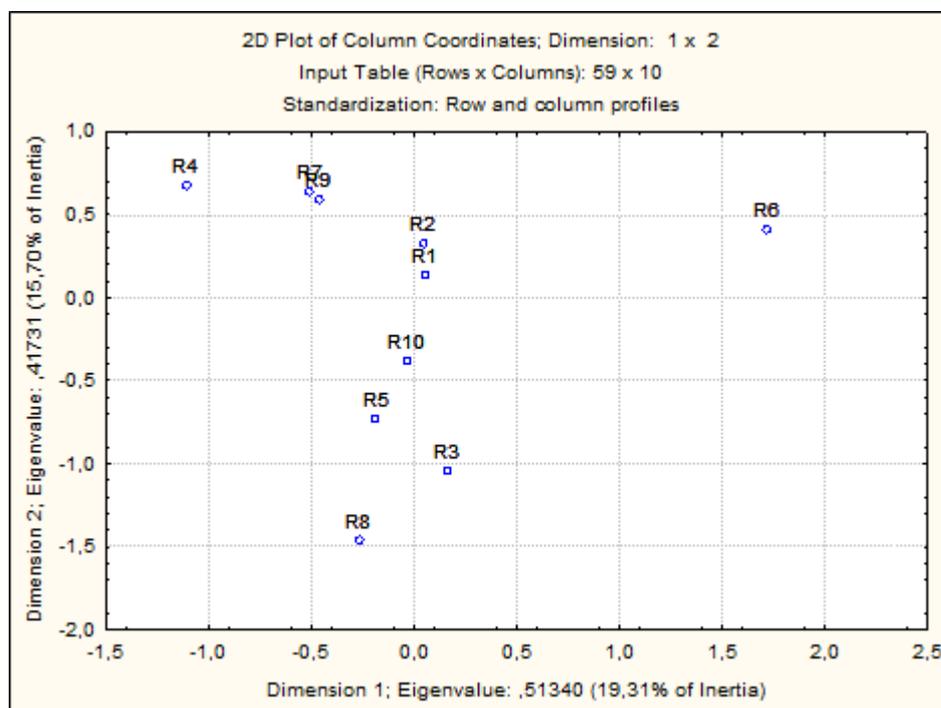


Figure 36 Plan factoriel des relevés (Axe 1 – 2),

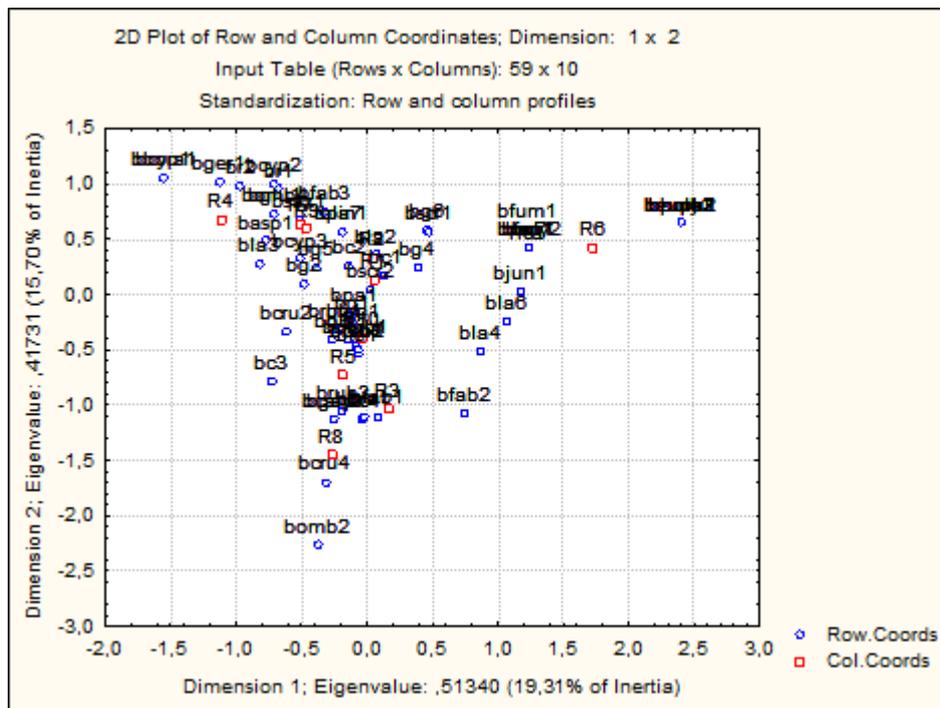


Figure 37. Plan factoriel des espèces (Axe 1 – 2),

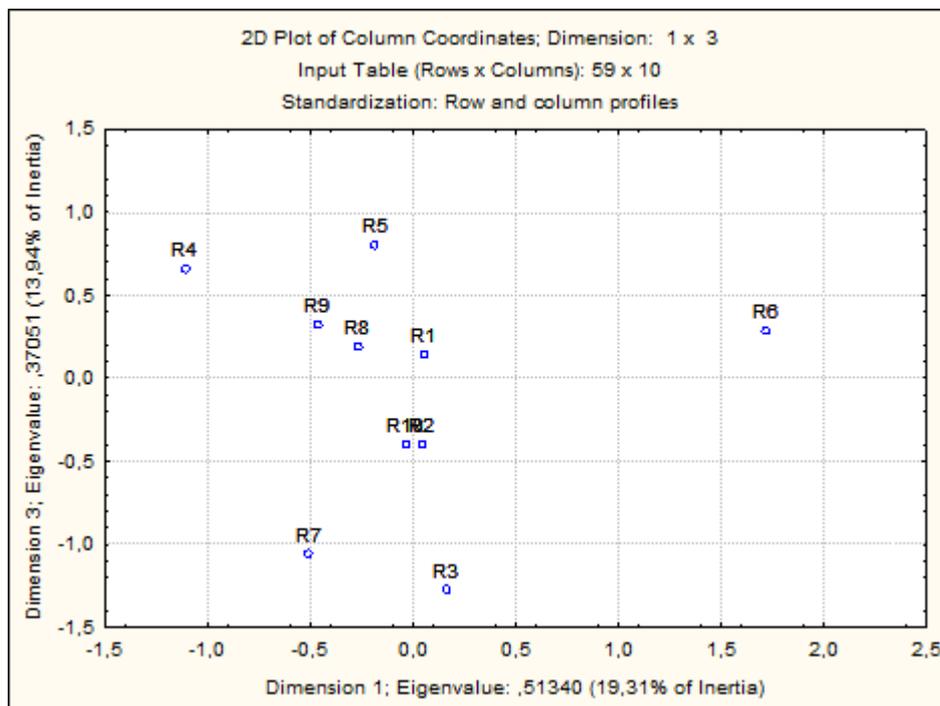


Figure 38. Plan factoriel des relevés (Axe 1 – 3),

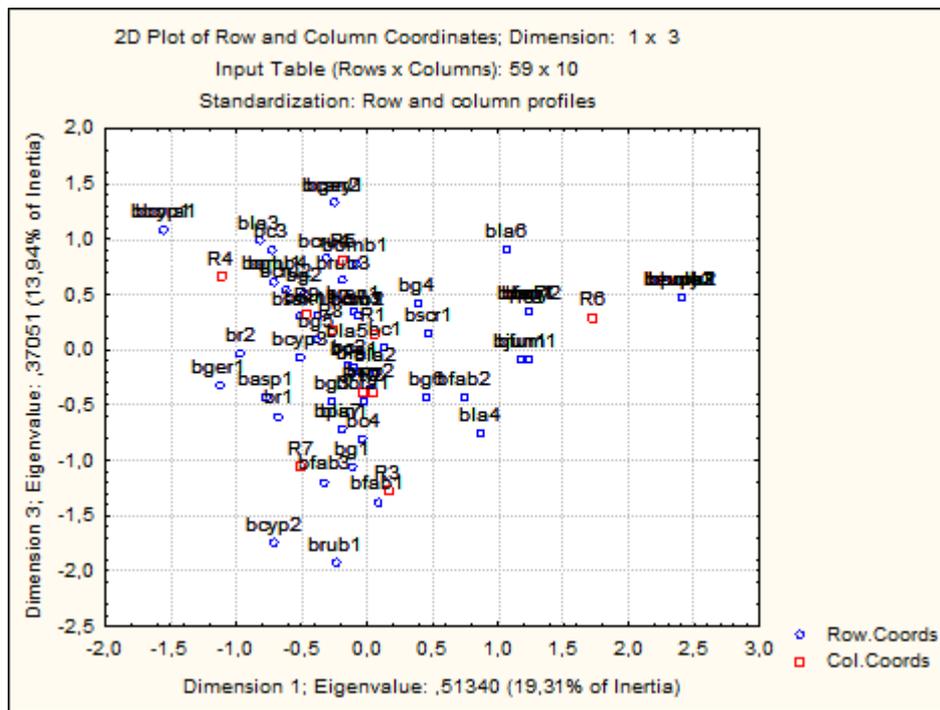


Figure 39. Plan factoriel des espèces (Axe 1– 3),

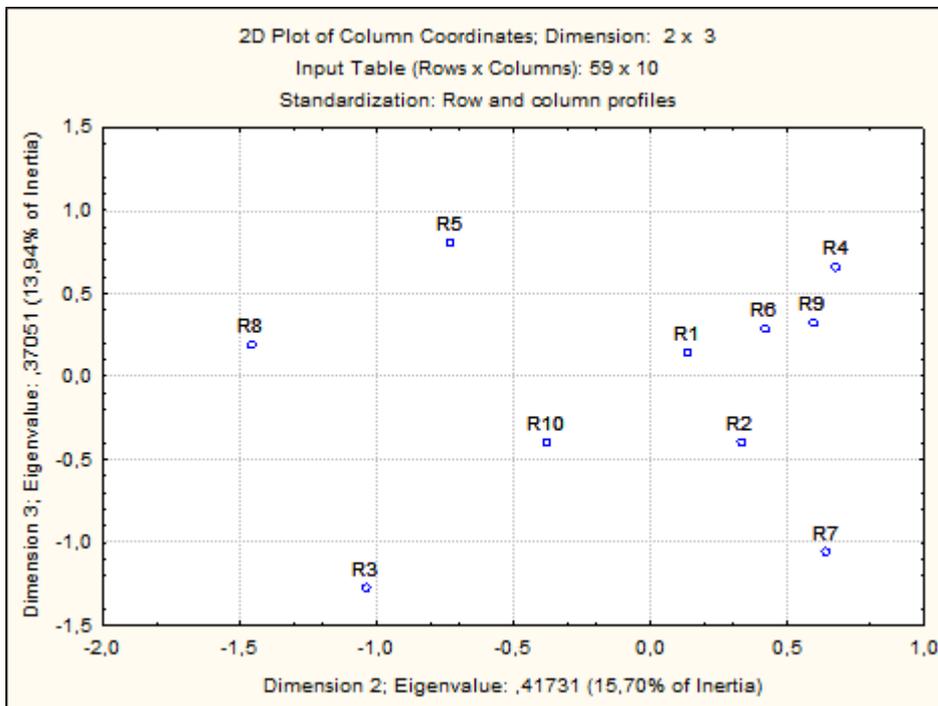


Figure 40. Plan factoriel des relevés (Axe 2 – 3),

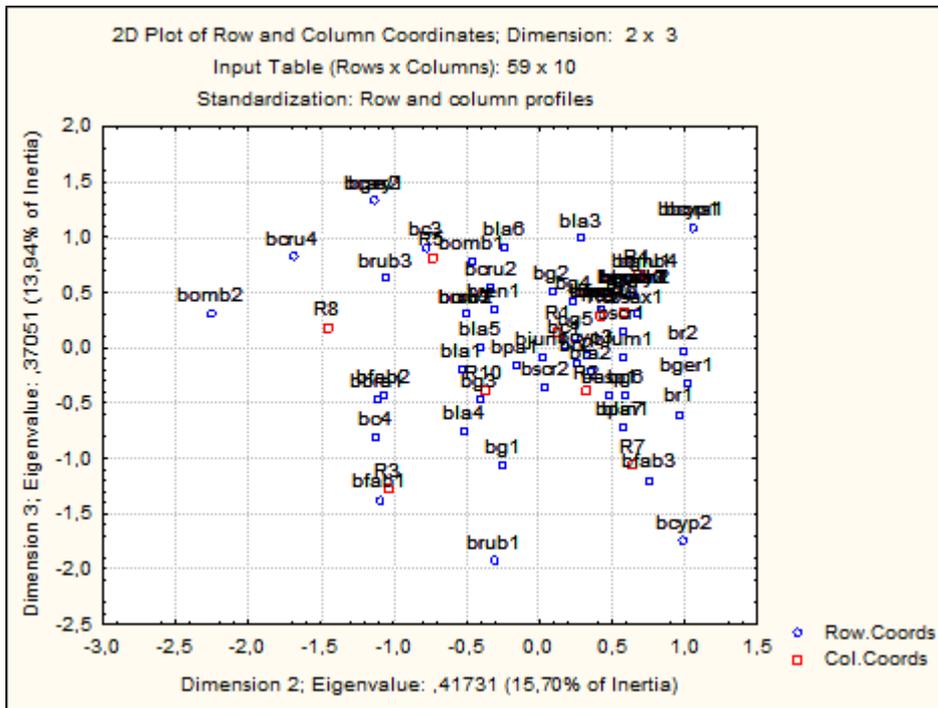


Figure 41. Plan factoriel des espèces (Axe 2 – 3),

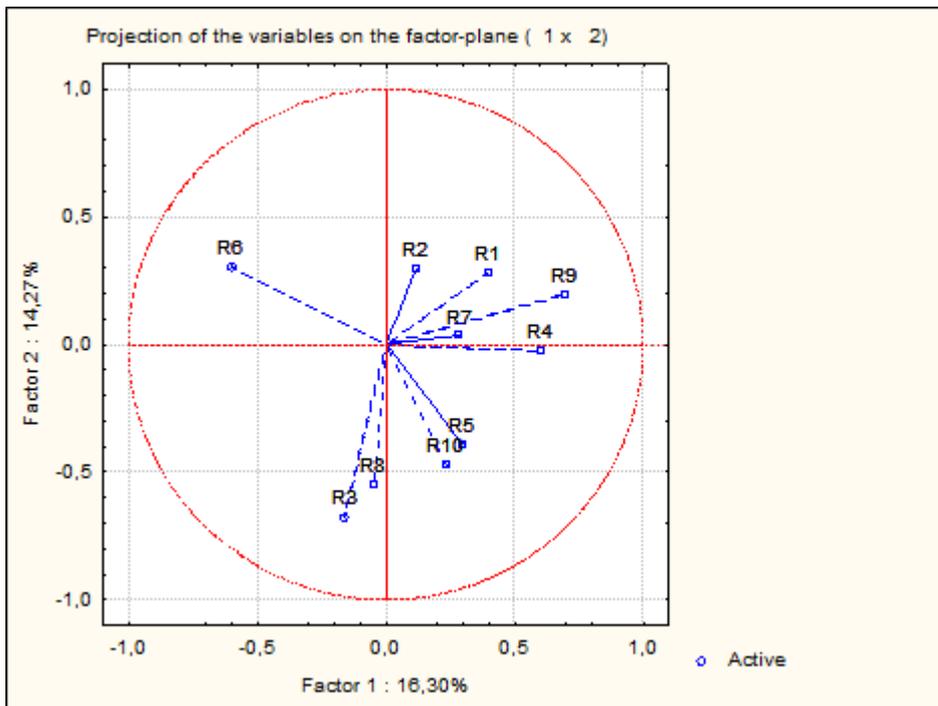


Figure 42. Graphe des variables du premier plan factoriel de l'ACP (Axe1-2)

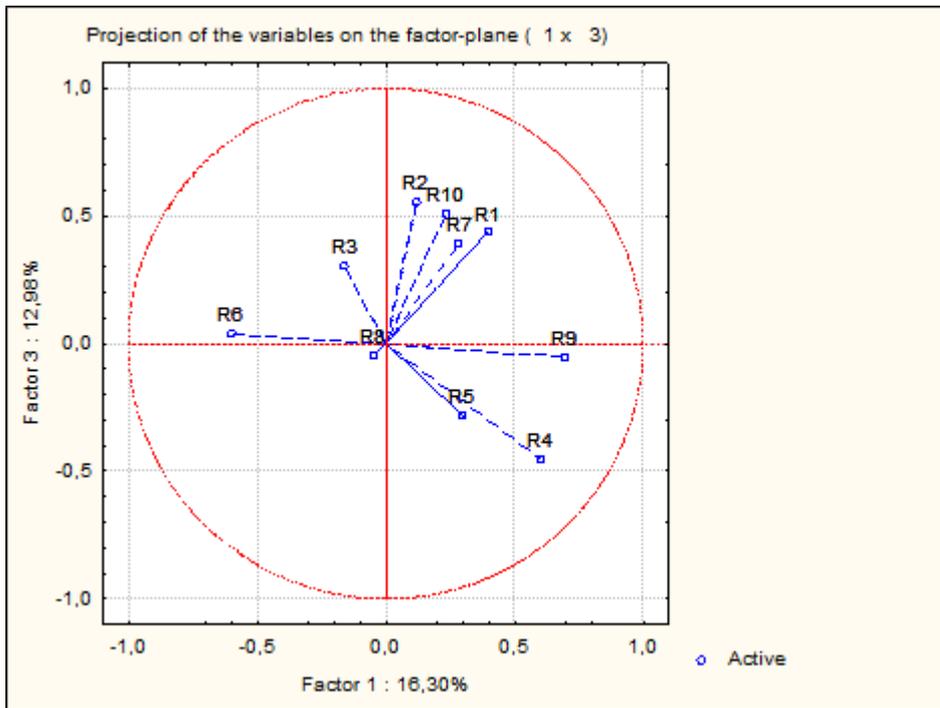


Figure 43. Graphe des variables du premier plan factoriel de l'ACP (Axe1-3)

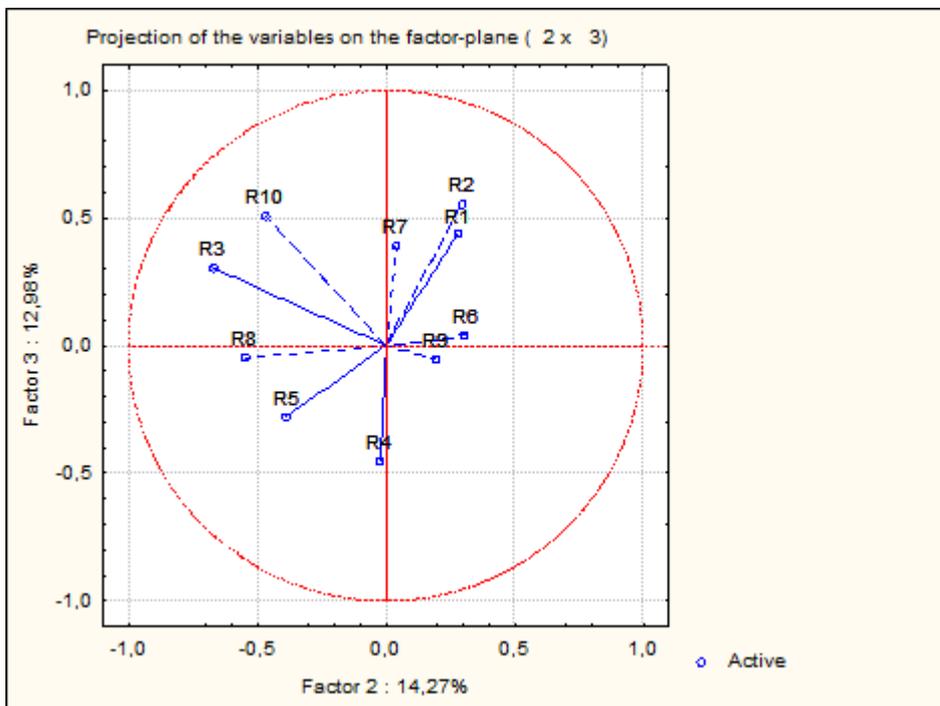


Figure 44. Graphe des variables du premier plan factoriel de l'ACP (Axe2-3)

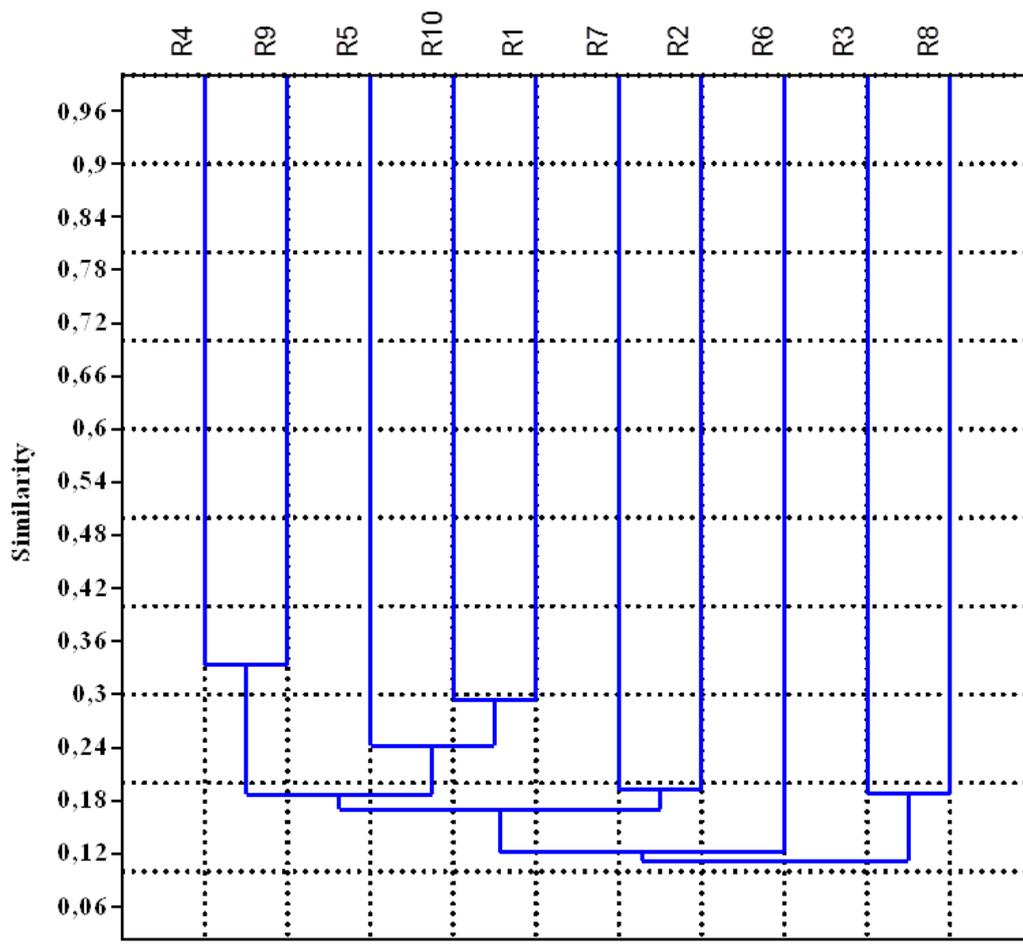


Figure 45. Dendogramme de CAP de la région des Babors.

III.6. MESURE DE LA BIOMETIS :

Ils sont presentée dans le tableau suivant :

Tableau 6. Les mesures des différents organes de la pivoine dans la region de kefrida

caractère re plantes	Follicul e longueu r	Follicul e largeur	Nombres des graines Fertiles	Nombre des graines stériles	poids	Long de plantes	Nombre des follicule s
G1	4.5	01	09	23	5.74	52	1
G2	03	01	05	19	3.9	60	1
G3	4.5	1.5	10	24	8.3	47	1
G4	05	02	10	21	8.9	50	2
G5	5.3	1.5	10	18	7.3	53	2
G6	4.5	1.5	11	19	7.6	49	2
G7	06	2.2	15	17	9.2	40	1
G8	05	1.7	15	21	10.5	56	2
G9	06	02	12	24	9.2	74	1
G10	04	1.5	10	18	6.4	74	2
G11	05	1.8	05	25	6.3	64	1
G12	06	1.5	12	10	8.6	70	2
G13	5.4	02	04	25	5.8	74	3
G14	5.5	1.8	03	33	5.9	66	2
G15	05	1.5	12	20	6.7	54	2
G16	04	1.5	11	21	6.3	60	2
G17	4.5	1.2	12	20	06	64	2
G18	05	1.5	14	18	7.1	65	1
G19	4.8	1.5	15	10	6.7	50	2
G20	04	1.8	12	16	5.5	60	2
G21	3.8	1.8	14	22	7.2	65	2
G22	04	02	08	19	5.6	67	2
G23	3.5	2.2	11	14	6.2	52	1
G24	03	1.5	10	20	5.1	51	1
G25	4.5	1.5	18	14	6.2	50	2

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

G26	4.2	1.6	08	20	4.4	54	2
G27	04	02	05	20	4.3	52	2
G28	04	1.8	02	27	4.2	74	1
G29	4.5	02	11	18	05	80	3
G30	3.5	1.4	09	14	4.3	70	2
G31	3.5	1.8	11	24	5.6	55	3
G32	2.5	1.5	08	14	04	58	2
G33	3.5	1.5	09	16	4.2	55	32
G34	4.5	02	08	23	4.4	52	1
G35	04	01	09	18	3.5	37	1
G36	03	01	10	09	3.2	54	1
G37	3.5	1.5	06	19	3.5	60	2
G38	03	01	08	18	4.6	55	1
G39	03	1.3	11	09	3.7	44	1
G40	3.2	1.5	10	11	3.2	40	2
G41	3.5	1.5	07	24	3.7	52	2
G42	3.4	01	06	21	3.2	62	2
G43	03	1.5	05	15	3.4	65	2
G44	04	1.5	09	19	3.7	65	1
G45	3.5	01	05	24	03	64	1
G46	03	1.3	09	16	3.2	62	1
G47	3.2	1.5	03	27	03	58	1
G48	3.6	1.5	02	26	2.9	52	1
G49	3.5	01	08	16	2.5	54	1
G50	3.3	1.5	04	28	2.8	52	1
G51	3.5	01	10	14	2.7	60	1
G52	03	1.4	11	10	3.2	54	2
G53	2.5	01	05	18	02	52	1
G54	2.5	01	08	15	02	54	2
G55	2.5	1.5	06	23	2.6	57	2
G56	3.2	01	02	22	02	59	1
G57	2.5	01	02	19	1.2	60	1
G58	2.5	01	06	16	1.3	45	2

G59	02	0.5	06	01	0.5	56	2
G60	02	0.5	04	06	0.6	42	1
G61	02	0.5	/	15	0.8	50	3
G62	02	0.5	/	17	0.8	52	1

III.3. Les coupes histologiques



Figure 46. Coupe dans la tige de *Paeonia mascula* (L.)Mill

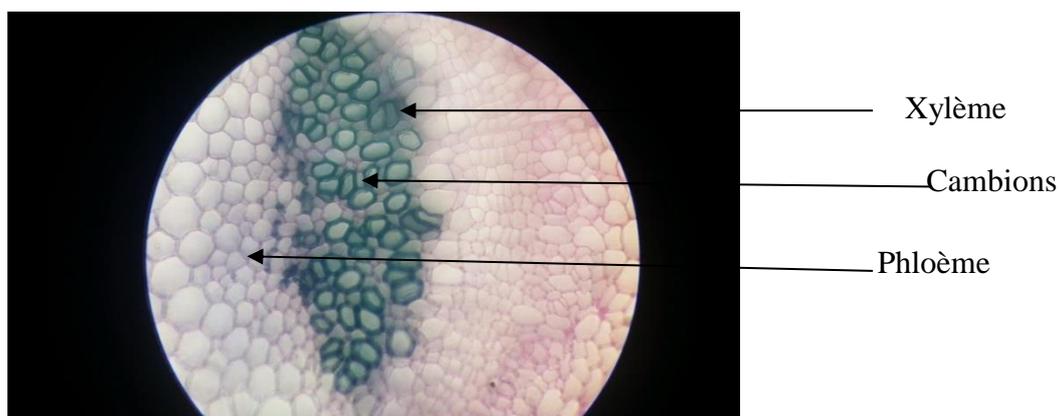


Figure 47. Coupe dans la tige de *Paeonia mascula* (L.)Mil.

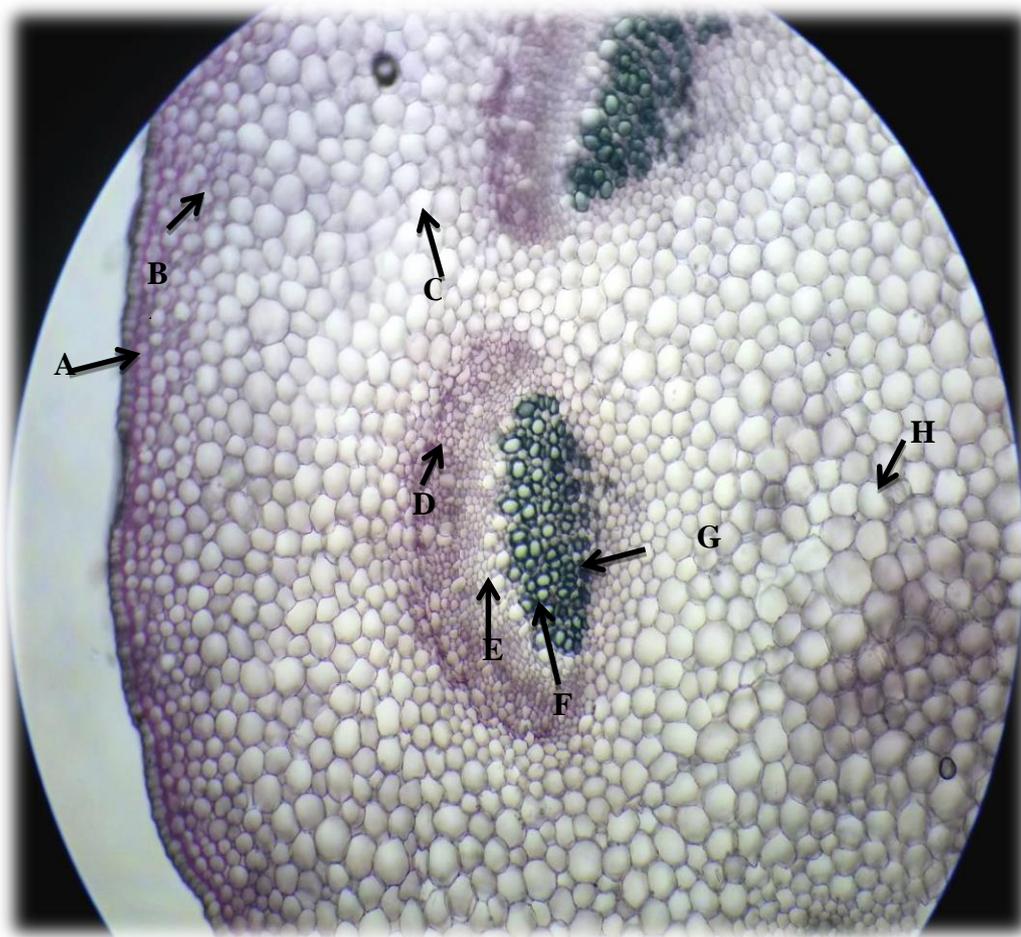


Figure 48. Coupe dans la tige de *Paeonia mascula* (L.)Mil.

- A) Épiderme, B) : le parenchyme cortical, C) le parenchyme cortical ; D) : E) Phloème primaire:, F) Phloème secondaire:, Xylème primaire , G) : Xylèmese condaire , H): Moelle.



Figure 49. Coupe dans la feuille de *Paeonia mascula* (L.) Mill.

A) Épiderme supérieur , B): le parenchyme cortical, C) le parenchyme cortical :, D) : E) Phloème primaire:,F) Phloème secondaire:, Xylème primaire ,G) : Xylème secondaire , H): Moelle.I) : Poils unicellulaires.

III.4. Screnning phytochimie

TEST DES TANINS

* la couleur vire vers le bleu noir la possibilité d'avoir des tanins galliques

Le screening phytochimique de la pivoine a été effectué pour la première fois.

*la solution devient verte indique une trace des tanins dans chaque organe de la plante (Racine, feuilles, graine, fruit)

*Test des flavonoïdes totaux la solution vire vers l'orange surtout dans les feuilles et les follicules.

III.5. Préparation des extraits

La décoction de 20 g de la partie aérienne a donné 3.5 g d'extrait aqueux qui a l'aspect d'une couleur brune, tandis que la macération de la même quantité dans le méthanol a donné 5,70 g d'extrait cristallin de couleur vert foncée.

III.6. Le dosage des polyphénols totaux,

La teneur en polyphénols totaux, des extraits de *p. mascula* est déterminée en utilisant les méthodes de Folin-Ciocalteu, de trichlorure d'aluminium et la méthode de précipitation. Les résultats montrent que l'extrait acétate e est plus riche en polyphénols, respectivement.

Tableau 7. Teneuren polyphénole totaux des extraits de la pivoine

Extrait	Mean \pm SD
Extrait methanolique	37 \pm 1
extrait chloroformique	47 \pm 1
extrait acetate d'ethyle	181 \pm 1,7
extrait aqueux	58 \pm 1.4
extrait methanoliquedes fruit	164 \pm 1.75

μ g d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 à 4 essais \pm SD.

III.6.1. Flavonoïdes totaux:

La quantité de flavonoïdes déterminée selon les méthodes de (BAHORUN et al.1996), en utilisant quercitrine et rétiné que des molécules de référence, est présentée dans le tableau 8

Tableau 8. Teneur des extraits en falavonoides (la Rutine)

Extrait	Mean \pm SD
ExtraitMethanolique	20.76 \pm 0.08
Extrait chloroformique	19.5 \pm 0.13
Extrait acétate d'ethyle	27.01 \pm 0.61
Extrait aqueux	13.6 \pm 0.77
Extrait methanoliquedes friut	8.82 \pm 0.18

^(b) μ g d'équivalent de rutin epar milligramme d'extrait.

Les valeurs représentent la moyenne de 3à essais \pm SD.

Tableau 9. Teneur de flavonoïdes des extraits (Quercitine)

Extrait	Mean±SD
Extrait methanolique	11.55±0.046
Extrait chloformaique	10.83±0.125
Extrait acetate d'ethyle	15.18±0.34
Extrait methanolique fruit	4.58±0.13
Extrait aqueux (2mg/ml)	7.6±0.06

^(c) µg d'équivalent par quercitine milligramme d'extrait.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 à 4 essais ± SD.

Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes indique la présence de ces deux métabolites secondaires dans tous les extraits (Tableau 7 ,9et 9). La comparaison de nos résultats avec ceux trouvés par (LJUBUNCIC et *al* 2005). Montre que l'EAc est toujours la fraction la plus riche en composés phénoliques, suivie par l'moh et l'Ch, sachant que ces fractions ont montré une faible teneur (27,01, 20,76et 19.5mg EAG/g, respectivement)

Ces mêmse résultast obtenus par (GHIAS *et al* 2013) in extrait, ac 0.42, Eaq 0.385 mg EAG/g)

La différence dans le contenu phénolique (y compris les flavonoïdes) décrit dans la littérature peut être attribuée à plusieurs facteurs à savoir la méthode d'extraction et la méthode de quantification. Par ailleurs, les facteurs climatiques et environnementaux (la zone géographique et la sécheresse), la période de la récolte et le stade de développement de la plante peuvent également influencer l'estimation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes (LOCATELLI et *al.*, 2010).

III.6.2. Dosage des tanins.

Les capacités des extraits de *Paeonia mascula* et de l'acide tannique à faire précipiter l'hémoglobine sont calculées en termes de pourcentage. Les résultats montrent que l'acide tannique induit une précipitation totale de l'hémoglobine à une concentration de 550 µg/ml.

Tableau 10. Teneur d'extait de *Paeonia mascula* en Tanins

Extrait	Mean±SD
Extrait methanolique (2mg/ml)	52.66±1.70
Extrait aqueux (2mg/ml)	40.59±3.02
Extrait chloformique (2mg/ml)	33.20±3.02
Extrait Acétate d'ethyle	39.2±3.22
Extrait methanolique fruit (2mg/ml)	431,23±3.38

^(c) µg d'équivalent d'acide tannique par milligramme d'extrait.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 à 4 essais ± SD

III.6.3. Dosage de l'alcaloïde :

La teneur en alcaloïdes dans les extraits de *Paeonia mascula* montre qu'extrait Methanolique fruitet le plus riche alcaloïde ensuit extrait Actate ethyle

Tableau 11. Teneur des extraits en alcaloïdes

Extrait	Mean ±sd
Extrait methanolique	3.1±0.3
Extrait aquaux	3.07±0.01
Extrait Acétate d'ethyle	3.13±0.01
Extrait chlorformique	3.12±0.03
Extrait methanolique fruit	3.14±0.01

µg d'équivalent. Atropine par milligramme d'extrait.

Les valeurs représentent la moyenne de 3 à 4 essais ± SD

III.7. Activité antioxydante des extraits de *Paeonia mascula*.

III.7.1. Effet antiradicalaire

Les résultats obtenus montrent que les extraits de la partie aérienne ont une activité antiradicalaire à concentration dépendante (tableau.13).

Les concentrations qui piègent 50% des radicaux libres ou concentrations effectrices (IC₅₀) sont calculées et représentées dans le tableau 4. Les différences entre les extraits et les

antioxydants standards (BHT) et entre les extraits eux-mêmes sont statistiquement significatives ($p < 0,05$).

Tableau 12. Effet anti radicalaire de IC_{50} des extraits de *P. mascula*

Echantillon	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Extrait aqueux	30,75 \pm 0,55
Extrait méthanolique	10 \pm 0,07
Extrait chloformique	4,84 \pm 0,19
Extrait acétate d'ethyle	5,48 \pm 0,72
Extrait mthanolique fruit	9,27 \pm 0,07
BHT	69,96 \pm 1,23

III.7.2. Effet chélateur du fer ferreux

Les résultats montrent que les extraits de *Paeonia mascula* exercent un effet chélateur concentration dépendant (tableau13). Des effets chélateurs maximaux de 95% et 92% sont atteints par les extraits aqueux et méthanolique à des concentrations de 250 $\mu\text{g/ml}$ et 450 $\mu\text{g/ml}$ respectivement. L'EDTA exerce un effet chélateur de 100% à une concentration de 14 $\mu\text{g/ml}$. Les différences entre l'extrait aqueux, méthanolique et l'EDTA sont statistiquement significatives ($p < 0,05$).

Le tableau 16 résume les concentrations effectrices à 50% (EC_{50}) et l'activité des extraitsd en termes d'équivalents en EDT

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

Tableau 13. Les valeurs EC₅₀ et l'activité chélatrice en termes d'équivalents d'EDTA des extraits de *Paeonia mascula* et de l'EDTA.

Echantillon	EC ₅₀ (µg/ml)
Extrait aqueux	0.501±3.8
Extrait chloroforme	0.498 ±0.17
Extrait acétate d'éthyle	0.500±3.14
Extrait méthanolique	0.508 ±2,6
EDTA	0.705 ± 1,4

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± SD

III.7.3. Effet sur le blanchissement du β-carotène

La figure 46 représente les cinétiques de blanchissement du β-carotène en présence et en absence des extraits de *Paeonia mascula* ainsi que du BHT et BHA. Les absorbances initiales des contrôles négatifs aqueux et méthanolique sont 0,970 et 1,007 atteignant, après 48 h, des valeurs minimales de 0,025 et 0,031 respectivement indiquant une peroxydation totale du β-carotène, tandis que les absorbances des extraits aqueux et méthanolique varient de 0,933 et 0,924 au temps 0 à des valeurs finales de 0,823 et 0,837 respectivement indiquant une forte activité antioxydante par rapport aux contrôles négatifs. Cependant, les absorbances du BHT et du reste sont stables tout au long des 48 h.

Les résultats montrent que les extraits aqueux et méthanolique ont presque les mêmes activités antioxydantes de 80% et 88% respectivement (figure). Cependant, ces valeurs sont significativement ($p < 0,05$) inférieures à celles du BHT (100%)

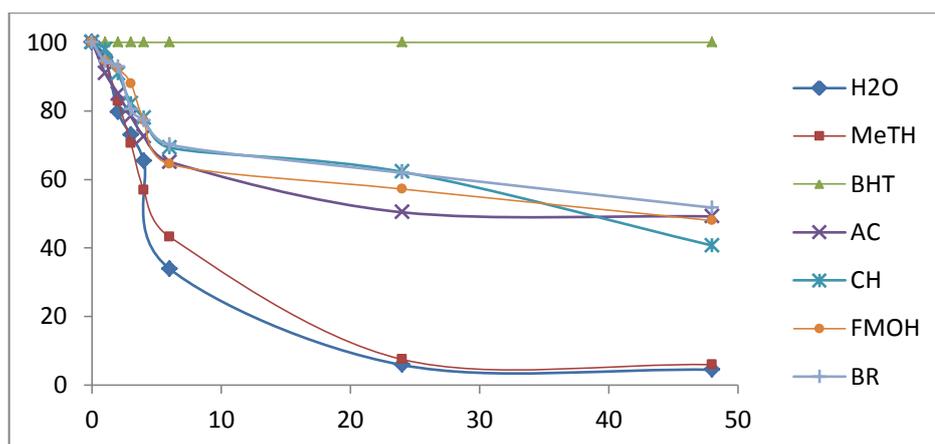


Figure 50. Activité antioxydante des extraits de *P. mascula* par rapport aux témoins

III.7.4. Pouvoir réducteur

Les résultats montrent que les deux extraits de *Paeonia mascula* possèdent un pouvoir réducteur remarquable ($p < 0,05$), concentration-dépendant et similaire à partir de 40 $\mu\text{g/ml}$ jusqu'à 350 $\mu\text{g/ml}$, tandis que Acide ascorbique montre une activité réductrice maximale à 50 $\mu\text{g/ml}$ (figure 18). Les EC_{50} sont représentées dans le tableau 14.

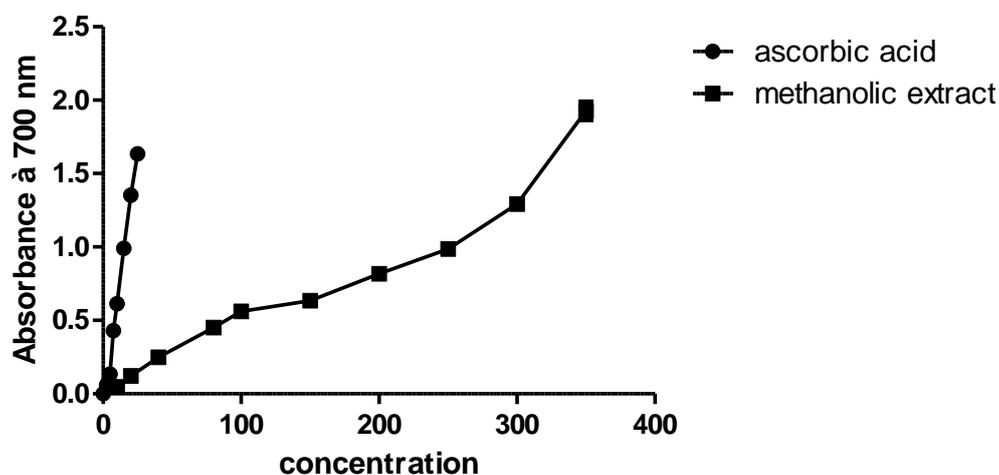


Figure 51. Pouvoir réducteur d'extrait méthanolique de *P. mascula* et de l'acide ascorbique à 700 nm.

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais

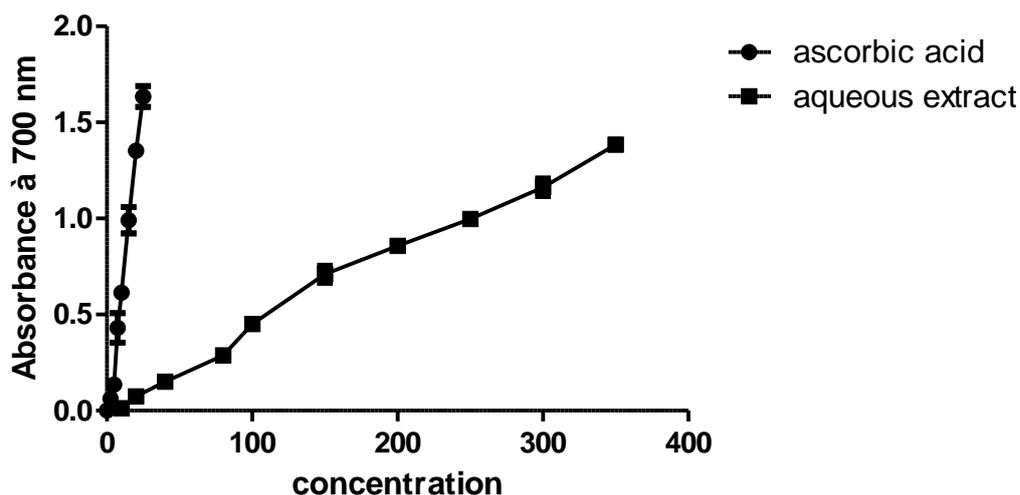


Figure 52. Pouvoir réducteur d'extrait taqueux de *P. mascula* du l'acide ascorbic à 700 nm.

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais.

Tableau 14. Les EC₅₀ des extraits de *Paeonia mascula* et de l'Acide ascorbique. .

Echantillon	EC ₅₀ (µg/ml)
Extrait méthanolique	0.818 ± 0.218
Extrait aqueux	0.858± 0.217
Acide ascorbique	0.991± 1.12

Les valeurs représentent la moyenne de trois essai⁺ - SD

III.8. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits aqueux et méthanolique de *Paeonia mascula* est testée vis-à-vis de cinq souches bactériennes via la méthode de diffusion sur gélose. Les résultats révèlent que l'extrait exerce un effet antibactérien considérable seulement sur *Shigella flexneri* et *Salmonella typhimurium* avec des zones d'inhibition plus 11mm respectivement (tableau 15).

Cet effet demeure faible par rapport à celui de la gentamicine, utilisée comme antibiotique de référence. Cependant, l'extrait aqueux montre une activite sur *Proteus mirabilis* et *Shigella flexneri* la zone zones d'inhibition plus 10mm respectivement (tableau17).

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

Tableau 15. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par les extraits Aqueux (3mg/disque) de *P. mascula* et par la gentamicine (10µg/disque).

bacteries	[c]4mg/ml	8mg/ml
Gentamicine	17,04 ±0,55	18,74±0,91
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	11,16 ± 0,24*	9.33±1,54*
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	11,66 ±1,75**	12,69±1,18**
<i>Shigella flexheri</i> NCCB1406	12,00 ±1,63**	13,4±0,89***
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC35659	7,25 ± 0,64	11,05±1.08*
<i>Staphylococcus aureus</i> atcc25923	9,85±0,87	10,7±0,84*

N=3± SD

***: a highly significant difference with $P < 0,001$

Tableau 16. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance des champignons induites par l'extrait brut (10 mg/disque) de *P. mascula* et par la gentamicine (10µg/disque).

concentration	<i>Aspergillus niger</i> 2CA936	<i>Aspergillus flavius</i> NRRL391	<i>Candida albicans</i> ATCC1024.
100mg/ml	11.25 ± 0,79*	14,53 ± 055***	09,53 ± 1,09
200/ml	10,20 ± 0,95*	16,53 ± 1,22***	13,53 ± 0,78**
Amphotericin	16,58 ± 0,14	15,20 ±1,19	14,28 ± 0,12

N=3± SD

***: a highly significant difference with $P < 0,001$

L'évaluation de l'effet fongique dans les deux extraits montre un activite inhibitrice plus importante sur *Aspergillus flavius plus* 13mm (Tableau16-18).

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

Tableau 17. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par les extraits Moh (3mg/disque) de *P. mascula* et par la gentamicine (10µg/disque).

bacteries	[c]4mg/ml	[c]8mg/ml	Gentamicine
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10.40 ± 24 ^{***}	11.33 ± 1,54 ^{***}	17.04 ± 0.55
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	10.66 ± 1.75 ^{***}	11.84 ± 0.18 ^{***}	18,17 ± 0,77
<i>Shigella flexneri</i> NCCB1406	11.87 ± 0,63 ^{***}	12.4 ± 1.22 ^{***}	22,45 ± 0,36
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC35659	12,25 ± 0,78 ^{***}	12.05 ± 1.10 ^{***}	34,35 ± 0,74
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	8,85 ± 0,87 ^{***}	11.7 ± 0,54 ^{***}	28,18 ± 0,5

N=3± SD

***: a highly significant difference with $P < 0,001$

Tableau 18. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance des champignons induites par l'extrait aquaux (3 mg/disque) de *P. mascula* et par la gentamicine (10µg/disque).

<i>champignon</i>	<i>Aspergillus niger</i> 2CA936	<i>Aspergillus flavus</i> NRRL391	<i>Candida albicans</i> ATCC1024.
concentration (100mg/ml)	10.25±0,79 ^{**}	13,53±055 ^{***}	10,53±1,09
concentration (200mg/ml)	14,20±0,95 ^{***}	14,53±1,22 ^{***}	13,53±0,78 ^{***}
Amphotericin	16,58±0,14	15,20±1,19	14,28±0,12

N=3± SD ***: a highly significant difference with $P < 0,001$

III.9.1. L'œdème de l'oreille chez les souris :

L'effet d'extrait méthanolique sur œdèmes de l'oreille chez les souris est récapitulé dans le tableau 19. L'injection intra péritonéale de 10 mg / kg d'extrait méthanolique

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

une heure après l'application du xylènes, de façon significative ($P < 0,001$) a inhibé le développement de l'œdème de l'oreille mieux de 30 mg / kg de dexaméthasone et la même dose de l'extrait méthanolique ont 60,05 % d'inhibition.

Tableau 19. : Effet extrait methanolique sur oedème de l'oreille chez les souris

Composés testés	Différence par mg	A% Innibition
Dexamethasone	2.83±0.79	41.46
Extait methanolique	2.1±0.98	34,58
Contrôle	4,84 ± 0,93	-

III.9.2. Effet d'extrait methanolique sur le coton granulome induit chez les rats :

Extrait méthanolique et médicament standard a été évalué par une boulette de coton formation de granulomes induite à comprendre son potentiel en phase inflammatoire chronique. Inhibées granulome induit par des boulettes de coton chez le rat (Tableau20) par un pourcentage de 38.7 %.

Cependant, le médicament standard (dexaméthasone) ne produit par l'inhibition de l'activité maximale du poids sec de boulette de coton par 71,45 %.

Tableau 20. Effet d'extrait methanolique de *P.a mascula* sur le coton granulome induit chez le rat

Composés testés	Différence par mg	A% inhibition
Dexamethasone (16mg/kg)	9,25±1,48	71,45
Extrait methanolique (30mg/kg)	22.15±1.05	38.7*
Control	32,45±0,27**	-..

***: différence très significative ** différence très significative * Différence significative avec $P < 0,001$.

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

III.9.3. L'activité analgésique de l'extrait méthanolique de *Paeonia mascula* :

La douleur est définie comme une expérience subjective, désagréable, physique et psychologique observé à la suite de la stimulation des fibres nerveuses identifiables avec des voies définies au cerveau via la moelle épinière (Palecek et Willis, 2005).

III.9.4. Les contorsions Acide acétique :

Les contorsions de l'acide acétique induit chez les souris attribuées douleur viscérale trouvent beaucoup d'attention de criblage de médicaments analgésiques (HASAN et *al*, 2010) .

Tableau 21. Effet de l'extrait méthanolique de *P. mascula* (L.)Mill. sur des contorsions l'acide acétique - induite chez la souris

Composés testés	Averagecontortion	Inhibition en %
Diclofenac sodium	6±1,15	83,33
Extrait méthanolique(100mg/kg)	10,8±1,15	60,2 4**
Control	36±3,11	-

***: différence très significative ** différence très significative * Différence significative avec P <0,001.

III.9.5. Méthode de la plaque chauffante :

Le résultat de l'effet de diclofénac sodique et de l'extrait méthanolique de *Paeonia mascula* (L.)Mill. sur les pates des souris par la méthode de la plaque chauffante à 0 min. 30min, 45 min et 60 min sont présentés dans le tableau 48 et pourcentage d'inhibition de la douleur dans le tableau(22).

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

Tableau 22. test de la plaque chauffante chez les Souris l'extrait methanolique de *P. mascula* (L.)Mill.

Temps	0	30min	45min	60min
Composés testés				
Diclofenac sodium	4,6±4,1	6,3±2,41	6,02±2,51	7,44±4,48
l'extrait methanolique	4,4±2,1	11,8 ±2,79	13,5 ±2,16	10, 4±1,08
Control	6±5,9	6,82±1,84	9,92±4,62	7,94±3,27

(Temps en secondes).

Tableau 23. Le pourcentage d'inhibition de la douleur dans la plaque chauffante chez les souris.

Temps	30min	45min	60min
Composés testés			
Diclofenac sodium	53,66 %	46,83 %	81,46%
l'extrait methanolique	234,24 %	266,19%	157,08%
Contrôle négatif	15,59 %	68,14%	34,58%

III.10. 1évaluation de la toxicité aiguë

La toxicité aiguë de l'extrait brut de *Paeonia mascula* (L.)Mill. A été estimée en utilisant la méthode décrite par 'Tahraoui et al,2010), qui consiste à répartir les souris, en 6 lots de 16 animaux (mâles et femelles). L'un des lots est utilisé comme témoin (recevant de l'eau physiologique) alors que les autres lots ont été traités, chacun, par une dose unique de l'extrait brut de *Paeonia mascula* (L.)Mill (solubilisé dans de l'eau physiologique et ajusté à 10ml/kg par dose). L'administration a été effectuée par gavage orale aux doses suivantes (0, 0.5, 1, 3, 6 ,9et 12g/kg du poids corporel). Après l'administration de l'extrait, les souris sont surveillées en permanence dans la première, 6^{ème} et 24^{ème} heure après le traitement, pour toute mortalité ou changement de comportement. Ces signes de la toxicité ont été suivis quotidiennement pendant

14 jours. Dans le 15^{ème} jour, le nombre des animaux morts est calculé et transformé en pourcentage, alors que les animaux restant vivants sont sacrifiés.

III.10.2. Détermination de la DL₅₀ de l'extrait brut de *Paeonia mascula* (L.)Mill.

La DL₅₀, exprimée en mg/kg du poids corporel, est déterminée par la méthode graphique de (Miller et Trainer, 1944) décrite par Randhawa en 2009 et par la méthode de calcul de (Dragstedt et LANG, 1957) cité par el 'Allaoui et al ,2011).

III.10.3. Méthode graphique (Miller et Trainer 1944).

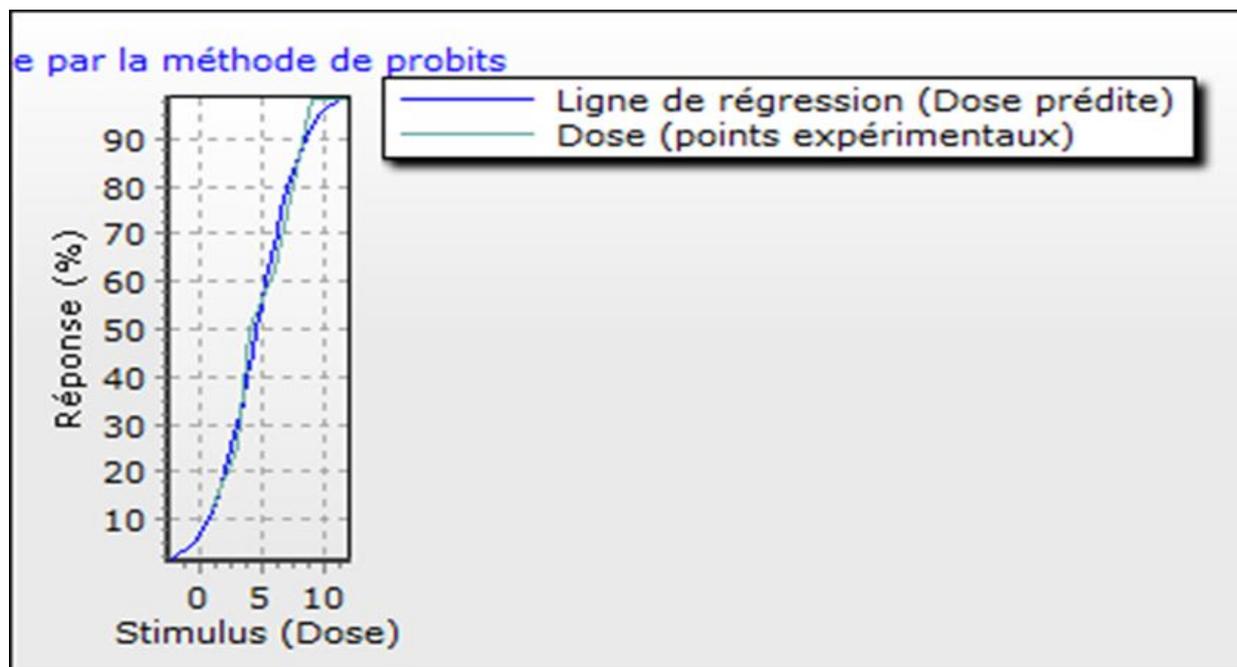


Figure 53 Estimation de la DL₅₀ chez les souris males traitées par voie intra péritonéale par l'extrait brut méthanolique *P. mascula*. selon des méthodes Finney.

Tableau 24. Statistique de régression pour le calcul des DL₅₀ [logiciel Bio stat]

LD (concentration létale) 50	4,56162274
LD50 LCL (plus faible concentration létale)	3,49143223
Beta	0,3300908
Beta Erreur standard	0,0860777
LD (concentration létale) 10	0,67866458
LD (concentration létale) 84	7,59109222
LD (concentration létale) 100	9,10582696

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

Dans cette méthode, les pourcentages de la mortalité des rats doivent-être convertis en unités probits. La DL50 est donc déterminée à partir de la droite exprimant le taux de mortalité des souris (en unités peu fonction du logarithme de la dose administrée (mg/kg de poids corporel). La DL50 représente l'abscisse du point correspondant à 5 unités probits.

Pour calculer l'écartype de la DL50, il suffit de déterminer les doses correspondantes aux 16% et 84% de mortalité, et de faire soustraire la première dose de la deuxième selon l'équation suivante.

Méthode de calcul (Dragstedt et Lang 1957) :

Le calcul de la DL50 en utilisant la formule suivante :

$$DL_{50} = \frac{50 (X_1 - X_2) + X_1 Y_2 - Y_1 X_2}{Y_2 - Y_1}$$

A partir de cette formule, on a estimé que la DL₅₀ est égale à 3.33 g/kg.

Le calcul de la DL50 par la méthode de Dragstedt et Lang nous donne une valeur appartenant à l'intervalle de confiance trouvé graphiquement par la méthode de Miller et Trainer, ce qui confirme l'intégralité de nos résultat

Tableau 25. Les valeurs hématologiques de contrôle des rats traités avec l'extrait méthanolique de *P. mascula* mesurée au cours de l'étude de toxicité aigu

Les parametre	Témoin	0.5g	3g
hématologique			
GR (10⁶/mm³)	8,09±0,31	6.3±038,59	7,75±0,4
GB (10³/mm³)	6,17±1,46	5,69±2,76	3,85±3,20
Plaquette (10³/mm³)	504,50±87	-	-
Hématocrite (%)	45,68±1,23	38,1±1,6	20,97±14,88
Hémoglobine (g/dL)	16,22±0,4	10,83±0,49	7,55±5,21
CCMH (g/dL)	35,45±0,69	37,01±0,21	37,4±2
VGM (µm³)	56,58±2,7	55,54±2,09	53,3±0,41
VMP (µm³)	6,87±0,24	7,11±0,23	3,85±3,20

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

Tableau 26. Les valeurs de biochimie clinique de contrôle des rats traités avec l'extrait méthanolique de *P. mascula* mesurée au cours de l'étude de toxicité aiguë.

valeurs de biochimie clinique	Témoïn	0.5g	3g
Glucose (g/L)	1,16±0,1	1,11±0,17	1,28±0,21
ALAT (UI/L)	35,5±8,20	32,25±11,16	29,60±5
ASAT (UI/L)	127±20,01	130,63±35,77	128,60±26,1
PAL (UI/L)	172,25±60,07	176,88±83,68	223,4±19,25
Créatinine (mg/L)	6,475±0,66	5,43±0,50	5,14±1,56
AU (mg/L)	8,25±0,83	21,38±6,84	10,80±3,06
PT (g/L)	67,5±4,09	52,63±4,27	58,40±7,53
Bilirubine (mg/L)	9,5±1,50	17,13± 6,17	7,40±3,2
TG (g/L)	0,62±0,04	0,89±0,30	0,82±0,18
Cholestérol (g/L)	0,47±0,07	0,50±0,05	0,48±0,07

Action sur la glycémie :

L'observation sur les valeurs de biochimie clinique

On n'observe pas de modification sur la glycémie quel que soit la dose injectée.

Action sur le plan hépatique :

On observe une diminution proportionnelle des transaminases hépatiques par rapport à la dose injectée.

On observe une augmentation proportionnelle des taux de phosphatase alcaline par rapport à la dose injectée.

On n'observe pas de modification des taux de bilirubine totale quelque soit la dose injectée.

On observe une augmentation proportionnelle des taux de cholestérol et des triglycérides par rapport à la dose injectée.

Discussion générale

Le travail présenté a permis de mettre en évidence l'importance, d'une part de la biodiversité de La Kabylie des Babors et d'autre part les possibilités d'utilisation de cette biodiversité en tant que ressource à travers l'exemple d'une Paeoniaceae *Paeonia mascula* (L.) Mill. endémique d'Algérie. Cette importance se manifeste selon les niveaux suivants :

Importance sur le plan de la biodiversité : cette plante qui colonise les collines boisées et les lisières des zénaies au sein des massifs forestiers de Kéfrida et de Babors où elle constitue des populations relativement rares et qui nécessitent donc une action de conservation. Cette espèce mérite d'être inscrite sur la liste rouge des espèces protégées d'Algérie.

Signification écologique des axes factoriels :

L'axe (1-2) individualise, dans sa partie positive, une pelouse à géophytes et localisée sur le flanc nord du djebel kéfrida entre 1400 et 1550 m d'altitude. (R1, R4, R5, R8, R9) et dans la partie négative (R2, R6, R7).

Dans l'axe (1-3) individualise, dans sa partie positive une pelouse à géophytes et localisée sur le flanc nord du djebel entre kéfrida 1400 et 1550 m d'altitude. R1, R2, R3..... R9, et dans la partie négative (R8).

Dans l'axe (2-3) individualise, dans sa partie positive une pelouse à géophytes localisée sur le flanc nord du djebel entre kéfrida 1400 et 1550 m d'altitude. (R1, R2, R4..... R9). Et dans la partie négative (R3).

L'axe (1-2) individualise, dans sa partie positive, une pelouse à géophytes et à hémicryptophytes localisée sur les pans dénudés du flanc nord du djebel Babor entre 1650 et 1850 m d'altitude. (R1, R2, R3, R6, R7, R8). Et dans la partie négative (R4, R5, R9).

L'axe (1-3) individualise, dans sa partie positive, une pelouse à géophytes et à hémicryptophytes localisée sur les pans dénudés du flanc nord du djebel Babor entre 1650 et 1850 m d'altitude. (R1, R2, R3, R6, R7, R8). Et dans la partie négative (R4, R5, R9).

L'axe (2-3) individualise, dans sa partie positive, une pelouse à géophytes et à hémicryptophytes localisée sur les pans dénudés du flanc nord du djebel Babor entre 1650 et 1850 m d'altitude. (R1, R2, R3, R6, R7,). Et dans la partie négative (R4, R5, R8, R9).

Analyse factorielle des correspondances

a)-L'analyse factorielle des correspondances l'AFC est une méthode qui consiste à résumer l'information contenue dans un tableau comportant n lignes (les stations dans ce cas) et p colonnes ou variables (les espèces).

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

C'est aussi une technique qui a pour but de décrire en particulier sous une forme graphique le maximum d'informations contenues dans un tableau rectangulaire des données (Legendre.E.L et Legendre.P, 1984 ; Dervin, 1992)

Cette discrimination est faite en fonction de la répartition des taxons le long du plan factoriel (Axe 1-2), (axe 1-3) et (axe 2-3) considéré comme le plus significatif vu l'importance de sa valeur propre et son taux d'inertie. Nous sommes guidés par les valeurs des coordonnées et les codes des espèces inventoriées pour les deux stations

b)-L'analyse en composantes principales (ACP) fait partie des analyses descriptives multivariées.

Le but de l'utilisation de cette analyse est de résumer le maximum d'information possible en perdant le moins possible pour faciliter l'interprétation d'un grand nombre de données initiales ou bien de donner plus de sens aux données réduites (Le Moal, 2002).

Cette analyse consiste à transformer les « p » variables quantitatives initiales inter-corrélées en « p » variables quantitatives corrélées ou non appelées « composantes principales » (Dervin,1988). L'ACP traite des données numériques contrairement à l'AFC qui peut traiter les données qualitatives (Bouroche et Saporta, 1980).

Elle vise à mettre en évidence, sous forme graphique, le maximum de l'information contenue dans un tableau de données d'un grand nombre de descripteurs, de connaître la quantité de variance expliquée par les quelques axes principaux indépendants et de dégager les relations entre les variables et les relevés. En fait, elle permet d'obtenir une représentation du nuage de points dans un espace de dimension réduite de telle manière que l'inertie portée par cette espace soit la plus grande possible. Elle est utilisée lorsqu'il s'agit de décrire un tableau des variables numériques continues de type «variables quantitatives x individus» (Daget, 1979; Legendre & Legendre, 1979).

L'ACP permet donc de réduire des tableaux de grandes tailles en un petit nombre de variables (2ou 3 généralement) tout en conservant un maximum d'information. Les variables de départ sont dites «_métriques» (Le Moal, 2002).

c)-Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) consiste à agréger progressivement les individus selon leur ressemblance, mesurée à l'aide d'un indice de similarité ou de dissimilitude (Duchez et Loy, 2005). Cette méthode de classification est destinée à produire des groupements décrits par un certain nombre de variables ou caractères (Lebart et al., 1982). Elle procède en fait à la construction des classes (paquets) par agglomérations successives des objets deux à deux, qui fournissent une hiérarchie de partition des objets ; Il existe plusieurs méthodes de CAH et plusieurs coins de calcul de la distance entre deux objets, deux classes ou un objet (Benzecri,

1973). C'est l'indice de Bray-Curtis qui a été retenu, avec la technique de groupement agglomératif moyen, comme le recommandent Legendre et Legendre (1984).

Nos études sur les extraits méthanoliques et aqueux, ont mis en évidence les divers groupes chimiques suivants : coumarines, tanins et polyphénols, saponosides et flavonoïdes. Aussi avons-nous dosé les composés polyphénoliques totaux (flavonoïdes totaux, flavonols totaux, phénols totaux et tanins). En outre l'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée,

Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes :

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leur sont attribuées. La méthode de dosages des polyphénols totaux est celle de Folin-Ciocalteu (Li et al., 2007). L'acide gallique a été utilisé comme standard. Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (Bahorun et al., 1996) en utilisant comme standard la quercétine.

L'intérêt pour les radicaux libres et le stress oxydant en biologie et en pathologie a vu le jour, il y a à peine une cinquantaine d'années [Delattre J et al., 2005], après l'émission de l'hypothèse que le vieillissement serait en partie dû à une accumulation des dommages moléculaires et cellulaires provoqués par les ROS. (Zhenzhu Fu et al. 2011).

Effet scavenger du radical DPPH :

L'activité antioxydante des différents extraits de l'extrait méthanolique de *Paeonia mascula* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm

En comparaison avec les antioxydants standards, tous les extraits testés s'avèrent moins actifs. Le TBHQ est 46 à 53 fois plus actif que l'ECh et l'EAc, la quercétine est 1,5 fois plus active que le TBHQ et 72 à 82 fois plus active que l'ECh et l'EAc. L'effet des extraits ECh et EAc est fort probablement attribué à leur richesse en composés phénoliques et en flavonoïdes. Pour l'EHx (qui représente l'huile fixe des graines de la nigelle), il renferme la teneur la plus faible en polyphénols et en flavonoïdes parmi les cinq extraits de l'extrait méthanolique de *Paeonia mascula* mais il possède une activité significativement supérieure ($p \leq 0,05$) à celle de l'EAc, ceci peut être dû à la contribution des huiles essentielles ainsi qu'à d'autres composés lipidiques dont l'activité antiradicalaire a été largement étudiée. Le carvacrol, le *t*-anthenol et le 4-terpineol aussi bien que la thymoquinone, sont de puissants agents réducteurs du radical DPPH, et piègeurs du radical hydroxyle (Burits et Bucar, 2000).

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

Les résultats obtenus dans le présent travail indiquent l'existence d'une corrélation linéaire remarquable et significative entre le pouvoir antiradicalaire des cinq extraits de la nigelle et leur teneur en composés phénoliques ($r^2 = 0,98$, $p < 0,01$) et en flavonoïdes ($r^2 = 0,70$, $p < 0,01$). Comme l'on montré un grand nombre de travaux réalisés sur l'activité anti-radicalaire d'extraits de plantes (*Ghias Uddin et al 2013.*). En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène, l'effet scavenger des flavonoïdes (FLOH) est attribué à leur faible potentiel redox qui les rend thermodynamiquement capable de réduire les radicaux libres ($R\bullet$) par un transfert d'atome d'hydrogène à partir des groupements hydroxyle. Cette réaction donne naissance au radical aroxyde (FLO \bullet) et à la molécule radicalaire rendu stable (RH), le FLO \bullet subira par la suite un réarrangement structural permettant la redistribution de l'électron célibataire sur le cycle aromatique et la stabilisation de radicaux aroxyde (Javanovic et al., 1994).

Chélation du fer ferreux

La chélation des ions ferreux a été estimée selon la méthode de Le et al (2007) dans laquelle la Ferrozine peut quantitativement former un complexe avec le fer (Fe^{2+} -Ferozine); chromophore rouge ayant un maximum d'absorption à 562nm. En présence d'agents chélateurs, la formation de ce complexe est perturbée aboutissant à une diminution de la couleur rouge qui est suivie spectrophotométriquement.

Les résultats obtenus montrent que les différents extraits de *Paeonia mascula* ainsi que les standards interfèrent d'une manière dose dépendante avec la formation du complexe (Fe^{2+} -Ferozine), suggérant qu'ils possèdent une activité chélatrice tout en capturant l'ion ferreux avant qu'il soit complexé avec la Ferrozine. À partir des profils de chélation obtenus.

La capacité chélatrice est très importante du fait qu'elle réduit la concentration de métaux de transitions catalyseurs de la peroxydation lipidique. En effet, le fer peut stimuler l'oxydation des lipides par la réaction de Fenton, et accélère également cette oxydation en décomposant les hydroperoxydes en radicaux peroxydes et alcoxydes qui peuvent à leur tour entretenir la réaction en chaîne (Elmastaş et al, 2006). Il a été rapportés que les agents chélateurs qui forment une liaison de type σ avec les métaux sont actifs comme antioxydants secondaires car ils réduisent le potentiel redox et stabilisent la forme oxydée de l'ion métallique (Suresh-Kumar et al, 2008).

Selon la littérature, les composés phénoliques s'avèrent comme de bons chélateurs des ions métalliques (Morris, 1995; Brown, 1998). Cependant, dans la présente étude une corrélation faible et non significative ($r^2 = 0,15$, $p > 0,05$) a été mise en évidence entre le pouvoir chélateur des extraits *Paeonia mascula* et leurs teneurs en composés phénoliques.

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

Des résultats similaires ont été rapportés dans d'autres travaux récents. À titre d'exemple, dans une étude menée sur des extraits de quatorze variétés d'orge, (Zhao et al, 2008) ont mis en évidence l'existence d'une corrélation très faible et non significative ($r = 0.041$, $p = 0.05$) entre l'activité chélatrice de ces extraits et leurs teneurs en composés phénoliques.

Test de blanchissement du β -carotène

Dans ce test l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, suite à l'abstraction des atomes d'hydrogènes à partir de groupements méthylènes diallyliques de l'acide linoléique. Ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β -carotène hautement insaturé entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivie spectrophotométriquement à 490 nm. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène. La cinétique de blanchissement du β -carotène en absence et en présence des extraits de *Paeonia mascula*,

Un extrait qui retarde ou inhibe le blanchissement du β -carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et comme un antioxydant primaire (Liyana-Pathirana et al., 2006). Selon plusieurs auteurs, le test d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique couplée à celle du β -carotène, paraît très utile comme un modèle mimétique de la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques (Ferreria et al., 2006).

Activité antibactérienne

Selon (Loziene et al, 2005), l'activité antibactérienne dépend de plusieurs facteurs à savoir : l'espèce de la plante, la préparation de l'extrait, le solvant utilisé, et la sensibilité des bactéries.

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits, nous avons utilisé la méthode de diffusion en agar. Tous les extraits aqueux, méthanolique. Pour le choix des germes, à tester, nous nous sommes référés aux données de la littérature pour choisir ceux qui sont les plus rencontrés dans les affections courantes pour lesquelles la plante est utilisée traditionnellement.

Les résultats obtenus dans cette recherche ont montré que les extraits EBr et L'EAq ont un effet inhibiteur de la croissance de la plupart des souches bactériennes testées *Shigella flexneri* et *Proteus mirabilis*.

En effet, (Fernandez-Lopez et al, 2005) ont rapporté que les composés responsables de l'action antibactérienne peuvent être les diterpénoïdes phénoliques, qui sont les composés principaux de la fraction apolaire des extraits des plantes. Ces composés sont hautement lipophile est par conséquent sont extraits par des solvants de faible polarité tel que le chloroforme (Albano et Miguel, 2010). (Hailu et al, 2007) ont confirmé ces résultats, ils ont

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

montré que les fractions non polaires d'extraits de plantes (l'éther de pétrole et le chloroforme) ont une forte activité antibactérienne par rapport aux fractions relativement polaires (l'acétone et le méthanol).

Il a été rapporté que cette activité inhibitrice de la plante pourrait être due à la présence et à la nature chimique des polyphénols et flavonoïdes. Des études effectuées sur l'activité antibactérienne de ces molécules ont montré qu'il n'existe pas une relation claire entre le degré d'hydroxylation des flavonoïdes et leur efficacité sur les microorganismes. Selon ces études, les flavonoïdes qui n'ont pas un groupement hydroxyle sont plus actifs contre les micro-organismes. Cette constatation appuie l'idée que leur cible microbienne est la membrane cytoplasmique, donc le caractère lipophile de ces composés perturbant cette structure (Chabot et *al.*, 1992).

La modeste activité des extraits aqueux envers la plupart des souches utilisées pourrait être expliquée par le fait que les substances hydrosolubles ne peuvent pas accéder aux substances non hydrosolubles des cellules bactériennes. En effet, l'eau est un solvant utilisé pour extraire les principes végétaux ayant une activité antimicrobienne plus au moins importante. En médecine traditionnels, on utilise principalement l'eau mais l'extraction à partir des solvants organiques donne une activité antimicrobienne plus significative (Parekh et *al.*, 2005 ; Das et *al.*, 2010). Selon (Candan et *al.*, 2003), les substances hydrosolubles exercent un effet plus faible comparé à celui des substances non hydrosolubles. Elles n'ont pas la même capacité des molécules liposolubles qui s'intercalent dans les membranes des cellules bactériennes et les endommager.

Toxicité aiguë (Estimation de la DL₅₀ par méthode):

Observation du comportement clinique des animaux

L'administré par voie orale de l'extrait brut de *Paeonia mascula*, exerce un effet dose-réponse. Les caractéristiques toxicologiques obtenues dans les conditions expérimentales sont : dose maximale tolérée ou DMT.

Dès le début du traitement, on a constaté chez les animaux une carte clinique caractérisée par des symptômes graves chez les animaux traités avec la dose la plus élevée :

- Fortes convulsions et agitation.
- Accélération de rythme cardiaque et une difficulté de respiration.

Secondairement, l'activité des animaux se réduit, leur démarche devient lente.

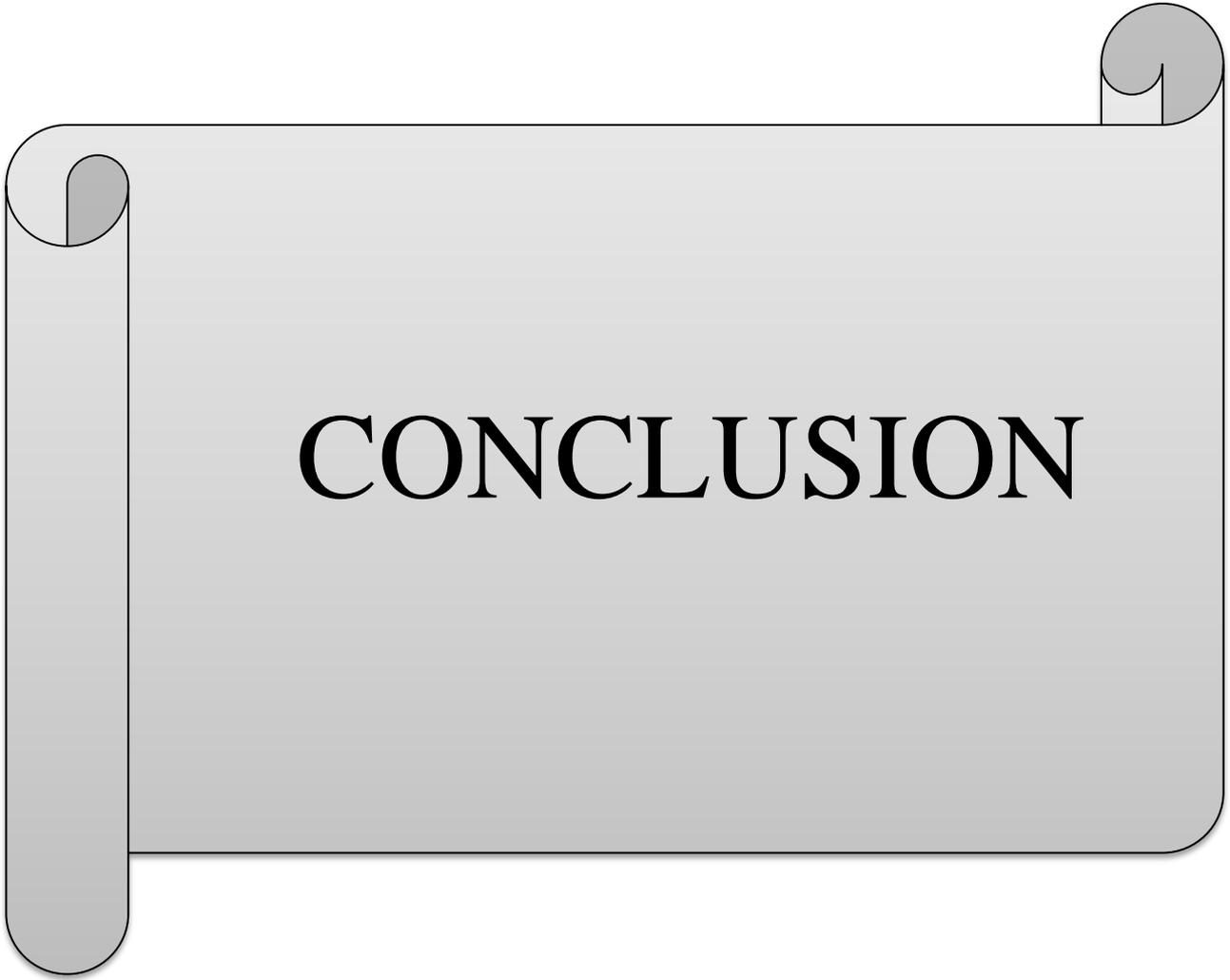
- La mort survient à partir de la 15^{ème} min jusqu'à 6^{ème} heures dans les concentrations 3mg/kg et plus. Après 24 heures, les animaux survivants ont retrouvé un comportement normal comparable à celui des témoins.

En effet, dans notre travail, nous avons remarqué que les animaux qui reçoivent une dose supérieure à 1g/kg montrent des changements de comportements et des signes d'intoxication

Chapitre III : RESULTATS ET DUSCUSSION

plus ou moins graves (bradycardie, difficulté de respiration, tremblements, etc.) et entrent dans un état narcotique avec des périodes d'excitation occasionnelles ce qui conduit, finalement, à leur mort.

A l'issue du test d'évaluation de la toxicité aiguë, la DL_{50} est estimé par 3.48 g/kg en cas d'administration orale de l'extrait brut (voir Résultats). Selon l'échelle de la toxicité des substances chimiques par voie orale pour les rongeurs d'après Hodge et Sterner (Frank, 1992), la valeur de la DL_{50} (3.48 g/kg) permet de classer cet extrait comme une substance légèrement toxique.



CONCLUSION

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

L'objet de notre étude a porté sur l'étude phytochimique de la pivoine. *Paeonia mascula* (L.) Mill. Cette espèce appartient à la famille des Paeoniaceae, et c'est la seule représentante du genre en Algérie faire la récolte de la plante et le relevé des espèces accompagnatrices dans les deux stations études kefrida et les monts des bâbords montre une très grande biodiversité avec 25 familles repartis sur 55 espèces dans la station 1 par contre dans la deuxième station on a récolté 26 familles repartis sur 59 espèces.

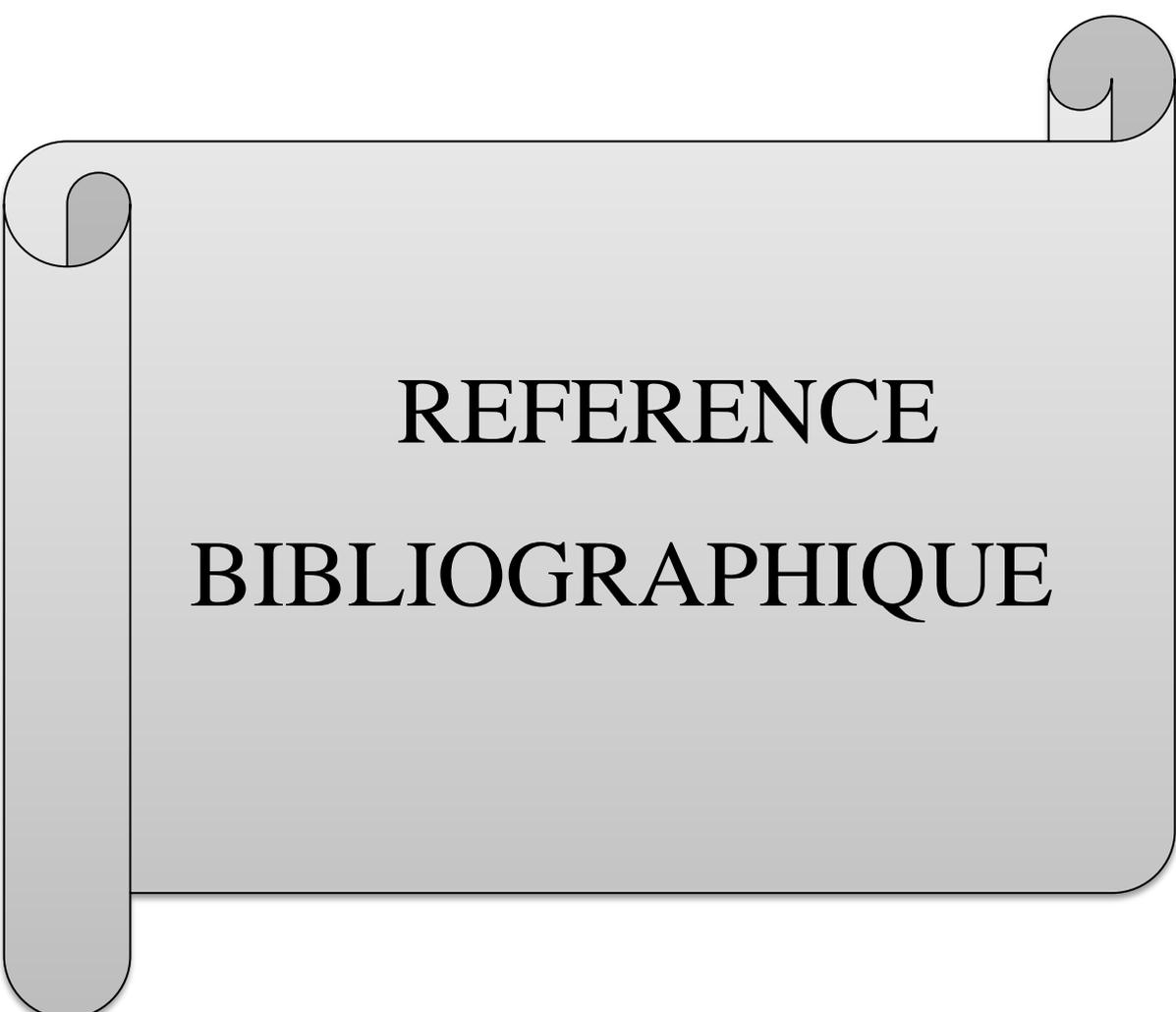
Ensuit on a fait les coupes histologique dans la feuille et la tige et faire les mesures biométriques de la plante et appliqué les indice de biodiversité ; la recherche apporte les preuves scientifiques de leur efficacité, mais aussi de leur toxicité, reposant sur des données résultants de l'expérimentation in vitro et in vivo.

Parmi les plantes médicinales traditionnelles il y en a celles qui peuvent être toxiques à de fortes doses ou après administration prolongée, en même temps qu'elles sont une source de molécules naturelles actives douées de propriétés antioxydantes.

Les résultats obtenus ont montré que l'EAq, l'EBr, EAc- et l'ECh présentent une importante activité anti-radicalaire. Le contenue en polyphénols et en flavonoïdes dans les deux extraitmotre que L'EAc, EAq, ECh et l'EBr très riche em polyphenols mais L'EAc, EBr, ECh et l'EAq le contenue impotant en flavonoïdes due activité inhibitrice des bacteries.

Le extrait brut *Paeonia mascula* un effet anti-inflammatoire sur d'oedème.et antalgiquetres ipmpotante ont été confirmées permettant ainsi de justifier et de confirmer les indications thérapeutiques des formulations traditionnelles

La toxicité aiguë chez les rats femelles et mâles *Albino Wistar* suggèrent de classer dans la catégorie de plantes forte toxiques par voie orale. L'extrait metanolique de *Paeonia mascula* peut entrainer des symptômes de toxicité qui sont dépendante de la dose, des pertes d'appétit, des problèmes de respiration et des accélérations du rythme cardiaque et arrivant jusqu'à des convulsions, des tremblements, des comas et entraînant la mort.



**REFERENCE
BIBLIOGRAPHIQUE**

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

- ADAMSON R.S., 1939.** - The classification of life-forms of plants. Bot. Rev., 546-561.
- AKERROYD, J.R. 1993.-** Paeonia in Tutin, T.G., Burges, N.A., Chater, A.O., Edmondson, J.R., Heywood, V.H., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M. & Webb, D.A., Flora Europaea, 2ème édition, vol. 1 : 292-294, Cambridge University Press.
- AKIN, D. E, ET E. L. ROBINSON, 1982.** -Structure of leaves and stems of arrowleaf and Crimson clovers as related to *in vitro* digestibility. Crop Science, 22 : 24-29.
- AKIN, D. E, R. H. BROWN, ET L. L. RIGSBY, 2001.** -Digestion of stem tissues in *Panicum* species. Crop Science, 24 : 769-773.
- ALBANO SM, MIGUEL MG. 2010.** Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. Industrial Crops and Products 33(2): 338-343.
- ANDRIEU, E. 2002.-** Conséquences de la dynamique forestière sur la persistance, la reproduction et l'installation d'une espèce végétale polycarpique à longue durée de vie. Le cas de la Pivoine officinale (*Paeonia officinalis* L.), rapport de stage de DEA, Université Montpellier II, 35 p.
- ANDRIEU, E 2006.-** Impact de la progression forestière sur les espèces rares de milieu ouvert : écologie et dynamique des populations de la Pivoine officinale (*Paeonia officinalis* L.) Thèse de doctorat, Université Montpellier II, 161 p.
- AREA-ED, 2014 :-** Association de réflexion d'échange et d'action pour l'environnement et le développement,. - Étude élaboration d'une proposition technique de classement et de création d'une aire protégée dans le massif Babor.
- BAHORUM, T., GRESSIER, B., TROTIN, F., BRUNETE, C., DINE, T., VASSEUR, J., GAZIN, J.C., PINKAS, M., LUYCKY, M., GAZIN, M., 1996.-**Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. Arzneimittel-Forsch 46, 1086-1089.
- BARBAULT, R., 1981.-** Ecologie des populations et des peuplements. Ed. Masson. Paris. 200p.
- BARBERO, M., QUEZEL, P. & RIVAS-MARTINEZ, S., 1981.-**Contribution à l'étude des groupements forestiers et préforestiers du Maroc. Phytocoenologia : 9(3) : 311-44

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- BATTANDIER ET TRABUT ., 1783.-** Flore d'Alger et catalogue des plantes d'Algérie
- BAUER A.W., Kirby WM, Sherris JC, Turck M 1966.-** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. Apr;45(4):493-6.
- BETA, T., NAM, S., DEXTER, J.E., SAPIRSTEIN, H.D, 2005.-** Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. Cereal chemistry. 82: 390-393.
- BISWAS TK., MUKHERJEE B., 2003. -**Plant medicines of Indian origin for wound healing activity: A review. The International Journal of Lower Extremity Wounds, 2 :25.
- BOUDIAF, K. 2006.-** Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Thèse de magistère. Département de biologie. Université Ferhat abbas. (Sétif) Algérie.
- BOUGANDOURA N., BENDIMERAD N., 2013.** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.)* Briq. Nature & Technologie. (9): 15p.
- BOUGATEF ET SES COLLABORATEURS 2009 .** Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases, Food Chemistry 114, 1198–1205.
- BOUROCHE, I.M . & SAPORTA, G. (1980) .–** L'analyse des données. Presses universitaires de France, Paris Coll. »Que sais-je » n°1854,127p.
- BRAUN-BLANQUET J. ET PAVILLARD J., 1928 -** Vocabulaire de Sociologie Végétale. 3^{ème} édition, Montpellier, 23 p.
- BROWN, J.E., KHODR, H., HIDER, R.C., RICE-EVANS, C, 1998. -** Structural dependence of flavonoïdes interactions with Cu²⁺ ions: implication for their antioxidant properties. The Biochemical journal. 330: 1173-1178.
- BRUNETON J., 1999. -** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition, TEC et DOC, Paris.320-452.
- BURITS, M., BUCAR, F. (2000)** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytotherapy research. 14: 323-328.
- CANDOLLE, A.P. DE (1813)** Théorie Élémentaire de la Botanique, 500 p. A Paris, chez Déterville.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

CELLES J.C., 1975. - Contribution à l'étude de la végétation des confins saharoconstantinois(Algérie). Thèse Doct., Univ. Nice.

CHARTRAND, H.H. (2003. The competitiveness of nations in a global knowledge-based economy. An interdisciplinary studies PhD thesis at the University of Saskatchewan.

CHAUMONT M. et PAQUIN C., 1971. - Notice explicative de la carte pluviométrique de l'Algérie au 1/ 500 000, Soc. Hist. Nat. Afr. Nord, Alger, 24 p. + carte.

CHIRIKOVA NK., OLENNIKOV DN., TANKHAEVA LM. 2010. Quantitative Determination of Flavonoid Content in the Aerial Part of Baical Scullcap (*Scutellaria baicalensis* Georgi). Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 36 (7): pp 915–922.

CHOUAKI S., 2006. - Deuxième rapport national sur l'état des ressources Phytogénétiques. ed INRAA, 8p.

COLOT M. 1972 - Notions techniques de pharmacologie générale. Masson & Cie Editeurs, Paris-IV, 137p.

CRONQUIST, A. 1988. The evolution and classification of flowering plants, 2nd ed., New York.

CULLEN and HEYWOOD V. H., 1964b.- Notes on the European species of *Paeonia*. Feddes Reper. Spec. Nov. Regni Veg. 69: 32-35.

CULTER, E. G., 1969. Plant anatomy: experimentation et interpretation. Part I. Adisson Wesley Publishing Company. 168p.

DAGET P., 1976.- Les modèles mathématiques et écologiques. Ed. Masson.Paris. 478 p.7

DAGET, Ph. et POISSONET, J. et P., 1978. - Le statut thérophytique des pelouses, Ed. Masson.Paris.

DAS N. 2011. Inflammation. Chapitre 3. Dans: Molecular Basis of Health and Disease. New Work. Dordrecht: Springer. pp. 15-100.

DARLU, P. & TASSY, P. 2004 - La reconstruction phylogénétique-concepts et méthodes, version électronique, 244 p.

DELATTRE J. (2005). Radicaux libres et stress oxydant ed: TECDOC. Londres-paris –new york.p :620.

DELPECH R., DUME G. et GALMICHE, 1985. - Typologie des stations forestières,

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

DERVIN, A. (1988). Comment interpréter les résultats d'analyse en composantes principales, ITCF (Institut technique des céréales et des fourrages) .Manuel STAT- ITCF, 63p.

DRAGSTED, A., LANG, B., 1957. Etude de la toxicité par administration unique d'un nouveau médicament. Annales pharmaceutiques Française, p.11.

DUCHEZ, J. & LOY, M. (2005). La classification ascendante hiérarchique. Projet d'analyse de données .Insa ; Rouen.

DUFOUR C. et LARIVIÈRE V., 2014. - Principales techniques d'échantillonnage probabilistes et non-probabilistes.

EDDY NB., LEIMBACK D., 1953. -Synthetic analgesic. II. Dithienyl butenyl and dithienyl butylamines. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 107: 385–393.

EL ALLAOUI A, RHAZI FILALI F, OUMOKHTAR B, & IBIJBIJEN J .2011. -Evaluation de la toxicité aigüe du colorant (rhodamine b) utilisé dans la fabrication des saucisses traditionnelles dans la ville de meknès au maroc. science lib, 3: 1-15.

ELMASTAS, M., GÜLÇİN, İ., ISILDAK, Ö., KÜFREVİOĞLU, Ö.İ., İBAOĞLU, K., ABOUL-ENEIN, .H.Y. 2006.- Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts. Journal of the Iranian Chemical Society. 3: 258-266.

EMBERGER L., 1966. - Réflexions sur le spectre biologique de Raunkiaer. Mém. Soc. Bot. Fr., 56-85.

ESAU, K., 1965.- Plant Anatomy. Wiley, J. & Sons eds., New York, Second Edition, 767 p.

EUZEBY, J.P. 2006.- Dictionnaire de bactériologie vétérinaire.

FAURIE C. ET FERRA C. ET MEDORI P., 2003 -Ecologie, approche scientifique et pratique- 5ème Edi. Ed. LAVOISIER. Paris. 407 p.

FAVIER, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Actualité en chimie, 108-115.

FERNANDEZ O., CAPDEVILA J Z., DALLA G., MELCHOR G, 2002. - Efficacy of *Rhizophora mangle* aqueous bark extract in the healing of open surgical wounds. *Fitoterapia* , 73: 564.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

FERNANDEZ, L. J., ZHI N., A-CARBONELL L., PEREZ-ALVAREZ JA, KURI V. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Science* 69: 371-380.

FERRERIA, A., PROENCA, C., SERRALHEIRO, M.L.M., ARAUJO, M.E.M. 2006.- The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plant from Portugal. *Journal of ethnopharmacology*. 108: 31-37.

FRANK C.L.U., 1992.- Toxicologie, Données générales, procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. (Paris), 73-202.

FRISON G, FAVRETTO D, ZANCANARO F, FAZZIN G, & FERRARA SD 2008.- A case of β -carboline alkaloid intoxication following ingestion of *Peganum harmala* seed extract. *Forensic Science International*, 179: e37-e43.

CHABOT S, BEL-RHLID R, CHENEVERT R, PICHE Y. 1992. Hyphal growth promotion in vitro of the VA mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker & Hall by the activity of structurally specific flavonoid compounds under CO²-enriched conditions. *New Phytologist* 122: 461-467.

GHIAS UDDIN, ANWAR SADAT , AND BINA SHAHEEN SIDDIQUI 2013. Phytochemical Screening, *In vitro* Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Crude Fractions of *Paeonia emodi* Wall. Ex Royle. *Middle-East Journal of Scientific Research* 17 (3): 367-373.

GILANI, A.H., AZIZ, N., KHURRAM, I.M., CHAUDARY, K.S., IQBAL, A. 2001.- Bronchodilator, spasmolytic and calcium antagonist activities of *Nigella sativa* seeds (Kalonji). *Journal of the Pakistan Medical Association*. 51: 115-120.

GRENET, E., 1997. -Aspects microscopiques de la dégradation microbienne des tissus végétaux dans le rumen. *INRA Production Animale*, 10: 241-249.

GREUTER, W., BURDET, H.M. & LONG, G. 1989.- Med-Checklist, vol. 4 : 266-269, Conservatoire et Jardin Botanique, Genève

GRISEBACH A., 1872. - Die Vegetation der Erde nach ihrer klimatischen Anordnung.

GUTTERIDGE, J.M. (1993). Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence, *Free Radic Res Commun*, 19:141-158.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

HAILU T, ENDRIS M, KALEAB A, TSIGE GM. 2005. Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders. *Journal of Ethnopharmacology*. 100: 168-175.

HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J.M.C. 1999. -Free radicals in biology and medicine, Oxford, UK.

HANCOCK R.E.W, 2005.-Mechanisms of action of newer antibiotics for Gram-positive pathogens. Revue électronique: <http://infection.thelancet.com>. vol 5,

HASAN SMR., HOSSAIN MM., AKTER R., JAMILA M., MAZUMDER MEH., ALAM MA., FARUQUE A., RANA S., RAHMAN S., 2010. - Analgesic activity of the different fractions of the aerial parts of *Commelina benghalensis* Linn. *International Journal of Pharmacology*, 6 (1): 63-67. Hatfield, et J. Ralph eds., Madison, WI 53711, USA, ASA-CSSA-SSSA., 1-32.

HEMACHAKRADHAR K., PAVAN KUMAR RAJU N., 2013. -Preliminary phytochemical screening, quantitative estimation and evaluation of antimicrobial activity of *alstonia macrophylla* stem bark. *International journal of science inventions today.*, 2(1): 31-39

HONG D.Y, and PAN K.Y, 1999.- Notes on taxonomy of *Paeonia* sect. Moutan DC. (*Paeoniaceae*). 43(2): 169–177 *Acta Phy totaxonomica Sinica* .

ISMAIL TS., GOPALAKRISHNAN S., BEGUM VH., ELANGO V. 1997. Anti-inflammatory activity of *Salacia oblonga* Wall and *Azima tetracantha* Lam. *J Ethnopharmacol*, 56:145-152.

JAVANOVIC, S.V., STEENKEN, S., TOSIC, M., MARJANOVIC, B., SIMIC, M.J. 1994.- Flavonoids as antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*. 116: 4846-4851.

JUNG, H.G., R.R. SMITH, ET C.S. ENDRES, 1994. -Cell wall composition and degradability of stem tissue from lucerne divergently selected for lignin and *in vitro* dry-matter disappearance. *Grass and Forage Science* 49, 295-304.

JUNPING K., LIANG L., ZHI-HONG H., 2005. -Analgesic and anti-inflammatory activities of total extract and individual fractions of Chinese medicinal plants *polyrhachis lamellidens*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin Journal*, 28:176-180.

KAABECHE M., 1990. - les groupements végétaux de la région de Bou Saada (Algérie). Essai de synthèse sur la végétation steppique du maghreb. Thèse de doctorat, univ de paris-sud, 14p.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- KARBER, C., BEHRENS, B., 1935.-** Wie sind Reihenversuche für biologische Auswertungen am Zweckmässigsten Anzuordnen?. Arch. Exp. Path. Pharm 177, 379-388.
- KARTAL M, ALTUN ML, & KURUCU S (2003).** HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L. Journal of Pharmacological and Biomedical Analysis, 31: 263-269.
- KASSAS M., 1966.** - Plant life in deserts. in : Arid Lands : a geographical appraisal. Hills, London, 145-178.
- KHASHIMOV K, TELEZHENETSKAYA M, and YUNUSOV. S, 1969.** -Desoxypeganine: A new alkaloid from *Peganum harmala*. Chemistry of Natural Compounds, 5: 381-382.
- KOSTER R., ANDERSON M., DE BEER E J., 1959.-** Acetic acid for analgesic screening. *Federation Proceedings*, 18: 412.
- KULKARNI SK., 1999.-** Hand Book of Experimental Pharmacology., Vallabh Prakashan, Delhi, India, 117 p.
- LANCE, G, N. & WILLIAMS, W, T., 1967.-** A general theory of classificatory sorting strategies. 1. Hierarchical systems. *Comp. J.*, 9,373-380.
- LAPIE G., 1909 –** Les divisions phytogéographiques de l'Algérie. *C. R. Acad. Scien.* 148 (7) : 433-435.
- LAPIE G., 1914 –** Aperçu phytogéographique sur la Kabylie des Babors. *Rev. Gen. Bot.*, (Vol . jub. G. Bonnier) : 417-424.
- LAUWERYS, R.R., 2003.** Toxicologie industrielle et intoxication professionnelles, Ed MASSON, Paris, p.12.
- LE MOAL, L. 2002.-** L'analyse en composantes principales. LACP sous SPSS.
- LE, K., CHIU, F., NG, K ,2007.-** Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry.* 105: 353-363.
- LEBART.L, MORINEAU.A, PIRON.M.,1982.-**Statistiqu exploratoire multidimensionnelle. Dunod,Paris,1995 ISBN 2 10 002886 3.
- LEGENDRE, L. & LEGENDRE, P.(1984).–** Ecologie numérique. I. Le traitement multiple des données écologiques ; II. La structure des données écologiques. 2ème ed. Masson ., Presses de l'Université du Québec, Paris : 260p./335p.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- LI, H.B., CHENG, K.W., WONG, C.C., FAN, K.W., CHEN, F., JIANG, Y. 2007-** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*. 102: 771-776.
- LITCHFIELD, J.T., WILCOXON, F.A., 1949.** -A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther* 96, 99-113.
- LIYANA-PATHIRANA, C.M., SHAHIDI, F. (2006)** Antioxydant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86: 477-485.
- LJUBUNCIC P, SONG H, COGAN U, AZAIZEH H AND BOMZON A (2005).** The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 198-204.
- LOCATELLI M, TRAVAGLIA F, COISSON JD, MARTELLI A, STEVIGNY C, & ARLORIO M (2010).** Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI) : Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry*, 119: 1647-1655.
- LOZIENE K., VENSKUTONIS P. R. 2005.**-Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of *Thymus pulegioides* *Biochemical systematic and ecology*, 33 517-525.
- LUO, Y.B., PEI, Y.L., PAN, K.Y. & HONG, D.Y. 1998.-** A study on pollination biology of *Paeonia suffruticosa* subsp. *spontanea* (*Paeoniaceae*), *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 36 (2) : 134-144.
- LUO, Y.B., PEI, Y.L., PAN, K.Y. & HONG, D.Y. 1998.-** A study on pollination biology of *Paeonia suffruticosa* subsp. *spontanea* (*Paeoniaceae*), *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 36 (2) : 134-144.
- MAIRE R., 1926.** - Carte phytogéographique de l'Algérie et de la Tunisie. Gouv. Gén.Algérie, 1Vol. 78 p.
- MAIRE R., 1928.** - Contribution à l'étude de la flore de l'Afrique du Nord, *Bull.Soc. Hist. Nat. Afr. Nord.*, 19 : 9-66.
- MAIRE R., 1952-1987.** - Flore de l'Afrique du nord, volume XI. éd .Paul lechevalier, Paris, 25-28p.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- MANSOURI, A., EMBAREK, G., KOKKALOU, E., KEFALAS, P. 2005.-** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). Food Chemistry. 89: 411-420.
- MASUDA, T.; YONEMORI, S.; OYAMA, Y.; TAKEDA, Y.; TANAKA, T.; ANDOH, T.; SHINOHARA, A.; NAKATA, M.1999.-** Evaluation of the antioxidant of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. J. Agric. Food Chem.1999, 47, 1749–1754
- MEDDOUR R., 2010 –** Bioclimatologie, phytogéographie et phytosociologie en Algérie. Exemple des groupements forestiers et préforestiers de la Kabylie Djurdjuréenne. Thèse Doctorat d'état. UMM, Tizi Ouzou. 461p.méditerranéennes du Languedoc. Coll. Phytosoc. VI.
- MENDEZ, M. & TRAVESET, A. 2003.-** Sexual allocation in single-flowered hermaphroditic individuals in relation to plant and flower size, Oecologia, 137 (1) : 69-75.
- MILLER, L.C., TAINTER, M.L., 1944.** Estimation of ED₅₀ and its error by means of logarithmic. Probit paper. Proc Soc Exp Biol Med 57, 261-4.
- MONSON, W.G., J.G. POWELL, ET G.W. BURTON, 1972.-** Digestion of fresh forage in rumen fluid. Agronomy Journal, 64 : 231-233.
- MORRIS, C.J., EARL, J.R., TRENAM, C.W., BLAKE, D.R. 1995.-** Reactive oxygen species and iron-a dangerous partnership in inflammation. The international journal of biochemistry & cell biology. 27: 109-122.
- MOTAMED S. M, NAGHIBI F.2010.-** Antioxidant activity of some edible plants of the Turkmen Sahra region in northern Iran. Food Chemistry, **119**, 1637-1642.
- NÄGELI, C., 1858.** Beiträge zur Wissenschaftlichen Botanik, Part I, Engelman,Leipzig.
- NEGRE R., 1966. -** Les thérophytes. Mém. Soc. Bot. Fr., 92-108.
- NOY MEIR I., 1973. -** Desert ecosystems : environment and producers. Annu. Rev. Ecol.Syst.,]
- OYAIZU, M., 1986** Japanese Journal of Nutrition, 307–315. 5-52.
- OBERT D., 1974. -** Phases tectoniques mésozoïques d'âge antécénomanien dans les babor (tell nord-sétifien, Algérie). 171,175p.
- OZENDA P., 1977. -** Flore du Sahara. Paris, C.N.R.S., 622 p.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

PALECEK J., WILLIS WD., 2005.- Responses of neurons in the rat ventricular posterior lateral thalamic nucleus to noxious visceral and cutaneous stimuli. *Thalamus Related Systems*, 3(1): 25.

PAREKH J, NAIR R, CHANDA S. 2005. Preliminary screening of some folklore medicinal plants from western India for potential antimicrobial activity. *Indian Journal of Pharmacology* 37: 408-409."Abstract

PATRIZIA PICERNO, TERESA MENCHERINI, FRANCESCA SANSONE, PASQUALE DEL GAUDIO, ILARIA GRANATA, AMALIA PORTA, RITA P. AQUINO, 2011.- Screening of a polar extract of *Paeonia rockii*: Composition and antioxidant and antifungal activities. *Journal of Ethnopharmacology* .138 p 705– 712.

PINCEMAIL ,J ; DEFRAIGNE, J.D. 2004.- Les antioxydants un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. Service de Chirurgie Cardio-vasculaire, Pro bioxSA. Sart Tilman 4000 Liège, Belgique

QUEZEL P. ET SANTA S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et méridionales, Tome II, éd. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris. 1963.

QUÉZEL P., 1976. - Les forêts du pourtour méditerranéen. Forêts et maquis Méditerranéens : écologie, conservation et aménagement. Note technique du MAB.

QUEZEL, P. & MEDAIL, F. (2003) Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen, Collection environnement, Elsevier. 571 p.

RAMADE, F., 1979. Ecotoxicologie, Ed Masson, Paris, pp. 5.

RAMADE, F., 1984. - Elément d'écologie: Ecologie fondamentale. Ed: Mc Graw Hill. Paris. 397p.

RAMIREZ, J.H., PALACIOS, M., TAMAYO, O., JARAMILLO, R., GUTIERREZ, O., 2007.- Acute and subacute toxicity of *Salvia scutellarioides* in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology* 109, 348-353.

RANDHAWA M.A, 2009. -calculation of LD_{50} values from the method of miller and tainter, 1944 (letter to editor). *journal of ayub medical college abbotabad*, 21: 184-185.

RAUNKIAER C., 1905. - Types biologiques pour la géographie botanique. Del. Kgl. danske

RAYNAL-ROQUES, A. 1994.- La botanique redécouverte, Éditions Belin. 512 p.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- RIECK, I. 1995.** *Paeonia peregrina* generativ vermehren, Gartenpraxis, 21 (7): 19-23.
- ROBARDS K., PRENZLER P D., TUCKER G., SWATSITANG P., GLOVER W., 1999.** Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. Food Chemistry, 66(4): 401–436.
- ROTHMALER W., 1955.** - Allgemeine Taxonomie und Chorologie der Pflanzen. Wilhelm Gronau, Iena, 215 p.
- RUCKEBUSCH, Y., 1981.**- Physiologie, pharmacologie, thérapeutique animale, Ed. Maloine, Paris, p. 611
- SALAWU O A., CHINDO BA., TIJANI A Y., ADZU. B., 2008.** -Analgesic, anti-inflammatory, antipyretic and antiplasmodial effects of the methanolic extract of *Crossopteryx febrifuga*. Journal of Medicinal Plants Research, 2(9): 213-218.
- SAMANIEGO-SÁNCHEZ, C., GONZÁLEZ, A.M.T., GARCÍA-PARRILLA,M.C., GRANADOS, J.J.Q., GARCÍA DE LA SERRANA, H.L., MARTÍNEZ, M.C.L. 2007.**- Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. Analytica Chimica Acta. 593: 103-107.
- SANCHEZ-LAFUENTE, A., REY, P.J., ALCANTARA, J.M. & VALERA, F. 1999.**- Breeding system and the role of floral visitors in seed production of a ‘few-flowered’ perennial herb, *Paeonia broteroi* Boiss. & Reut. (Paeoniaceae), Ecoscience, 6 (2): 163-172.
- SANG, T. DONOGHUE, M.J. & ZHANG, D. 1997.**- Evolution of Alcohol dehydrogenase genes in Peonies (*Paeonia*) : phylogenetic relationship of putative nonhybrid species, Molecular Biology and Evolution, 14 (10) : 994-1007.
- SANG, T., CRAWFORD, D.J. & STUESSY, T.F. 1995.**-Documentation of reticulate evolution in peonies (*Paeonia*) using internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA : implications for biogeography and concerted evolution, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 92 (15) : 6813-6817
- SAPORTA G., 2006.**- Probabilités, Analyse des données et Statistiques. Ed. Technip. 220p.
- SELTZER P., 1946.** - Le climat de l'Algérie. Tra.Inst. Météorol. Phys. Globe, Alger, 1 vol., 219 p.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

SERHAN CN., CHIANG N., 2004. - Novel endogenous small molecules as the checkpoint controllers in inflammation and resolution: entree for resoleomics. *Rheum Dis Clin North Am*, 30: 69-95.

SIMPSON C. D. (ed.) 1980. Proceedings of the symposium on ecology and management of Barbary sheep. Dep. of Range and Wildl. Manage., Texas Tech Univ., Lubbock, Texas. 112 p.

SOURAV K R., PRATYUSH K M., SUBHANGKAR N., RANA D., BODHISATTWA C., 2012.- Potential wound healing activity of the different extract of *Typhonium trilobatum* in albino rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, pp 1477-1486.

SPICHIGER R., SAVOLAINEN V., FIGEAT M. et JEANMONOD D., 2004. - Botanique systématique des plantes à fleurs une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales troisième édition revue et corrigée, Presses polytechnique et universitaire romandes, 413 p.

STERN, F.C. 1943.- Genus *Paeonia*, *Journal of the Royal Horticultural Society*, 68 (5) : 124-131

STERN, F.C. 1946.- A Study of the Genus *Paeonia*, 155 p., The Royal Horticultural Society, Londres.

SURESH KUMAR, K., GANESAN, K., SUBBA RAO, P.V. 2008).-Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty - an edible seaweed. *Food Chemistry*. 107: 289-295.

TAHRAOUI. A, ISRAILI .Z H, & LYOUSSI B, 2010.- Acute and sub-chronic toxicity of a lyophilised aqueous extract of *Centaurium erythraea* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 132: 48-55.

TAHRAOUI A, ISRAILI ZH, & LYOUSSI B (2010). Acute and sub-chronic toxicity of a lyophilised aqueous extract of *Centaurium erythraea* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 132: 48-55.

TAKHTAJAN, A. 1997.- Diversity and classification of flowering plants, Columbia University Press, New York.

TECHNO-EXPORTSTROY, 1970. - Parc national de babor : études préliminaires, rapport définitif conformément au contrat entre la caisse Algérienne de développement et l'entreprise d'état.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- TIMBRELL .J ,2000.-** Principles of biochemical toxicology. 3rd ed. Taylor & Francis. Inc (London), 1-390.
- TOMA W., GRACIOSA JS., HIRUMA-LIMA CA., ANDRADE FDP., VILEGAS W., SOUZA BRITA ARM. 2003. -** Evaluation of the analgesic and antiedematogenic activities of *Quassia amara* bark extract. Journal of Ethnopharmacology, 85: 19–23.
- TZANOUDAKIS. D, 1977.-** Kytтарotaksinomiki meleti tou genous *Paeonia* L. en Elladi (Etude cytotoxinomiquedu genre *Paeonia* L. en Grèce), Thèse de Doctorat, 132 p., Université de Patras (Grèce).
- VIALA , A. 2005.-** Notions sur la toxicologie. In: Toxicologie. 2nd ed. Lavoisier (Paris), 3-10.
- VIDENSK, SELSKAB.** vocabulaire. Inst. Dével. Fores., Minist. Agr., 5: 347-437.
- WALKER, W.S., 1960. -**The effect of mechanical stimulation and etiolation on the collenchyma of *Datura stramonium*. American Journal of Botany, 47 : 717-724.
- WALLACE HAYES, A., 2008.-** Principle and methods of toxicology. Ed Tayler & Francis, New York, p. 1134.
- WARMING E., 1908. -** Okologiens grundformer. Copenhague.
- WEPIERRE, J., 1981.** Abrégé de pharmacologie générale et moléculaire. Ed Masson, Paris, p. 203.
- WILSON, J. R., 1991. -**Plant structures: their digestive and physical breakdown. Dans Recent advances on the nutrition of herbivores, Ho, Y. W. et al eds., Kuala Lumpur, Malaysia, 207-216.
- WILSON, J. R., 1993. -**Organization of forage plant tissues. *Dans* : Forage cell wall structure and digestibility, Jung, H. G, D. R. Buxton, R. D. p. 1-32.
- YALA D., MERAD A.S., MOHAMEDI D. ET OUAR KORICH M.N.2002.-** .Résistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine du Maghreb. n°91. 2.
- ZHOU, S.L., HONG, D.Y., PAN, K.Y., 1999.** Pollinatio n Biology of *Paeonia jishanensis* T.Hong & W.Z. Zhao (Paeoniaceae), With Special Emphasis on Pollen and Stigma Biolo gy. Botanical Journal of Linnean Society, 130, 43-52.
- ZHAO, H., FAN, W., DONG, J., LU, J., CHEN, J., SHAN, L., LIN, Y., KONG, W. 2008.-** Evaluation of antioxidant activities and total phenolic contents of typical malting barley varieties. Food Chemistry. 107: 296-304.

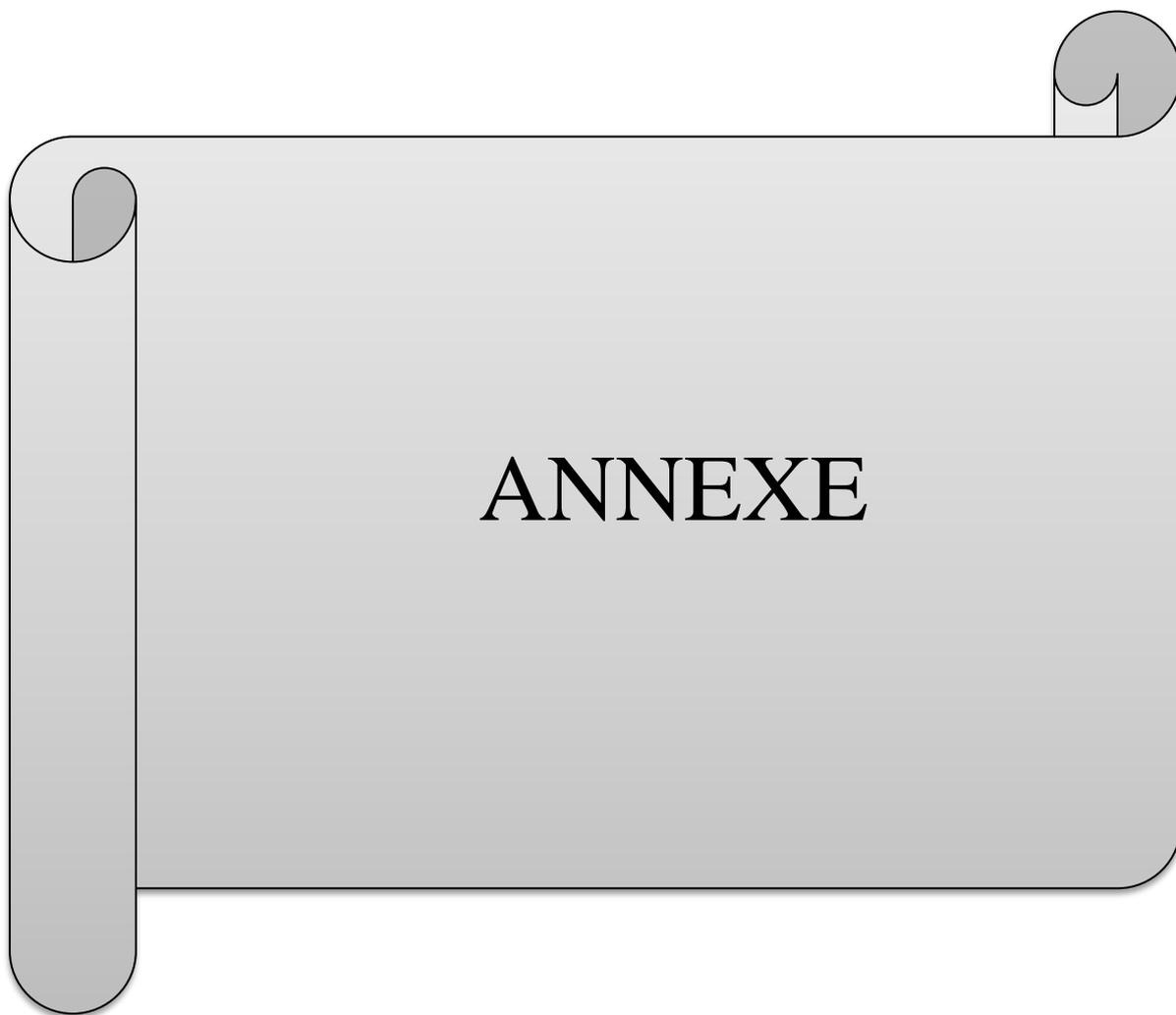
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

ZHAREKEEV B, KHASHIMOV K, TELEZHENETSKAYA M, & YUNUSOV S 1974.- New alkaloids from *Peganum harmala*. Chemistry of Natural Compounds, 10: 282-283.

ZHENZHU FU, PANPAN XU, SONGLIN HE,, JAIME A. TEIXEIRA DA SILVA AND MICHIO TANAKA.2011.-Dynamic changes in enzyme activities and phenolic content during in vitro rooting of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) plantlets,Maejo Int. J. Sci. Technol. , 5(02), 252-265.

ZHOU, S.L., HONG, D.Y. & PAN, K.Y. 1999.- Pollination biology of *Paeonia jishanensis* T. Hong & W.Z.

ZULFIKER AHM., MAHBUBUR RAHMAN M., KAMAL HOSSAIN M., HAMID K., MAZUMDER MEH., SOHEL RANA M. 2010. - In vivo analgesic activity of ethanolic extracts of two medicinal plants - *Scoparia dulcis* L. and *Ficus racemosa* Linn. Biology and Medicine, 2 (2): 42-48.



ANNEXE

ANNEXE

Annexe

Liste des espèces accompagnatrices de *Paeonia mascula* dans les deux régions

KEFREEDA										
Famille	Genre et espèce	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	
Graminées	<i>Anthoxanthum odoratum</i> L.	1	0	0	0	0	1	0	0	
	<i>Brachypodium silvaticum</i> (Huds) P.B.	0	0	0	1	0	0	0	1	
	<i>Bromus benekini</i> Scinzet-Thell	1	0	0	1	0	0	0	0	
	<i>Dactylis glomerata</i> L.	0	0	1	1	0	0	0	0	
	<i>Elymus europaeus</i> L.	1	0	0	0	1	0	0	1	
	<i>Festuca drymeja</i> ssp. <i>Grandis</i> Coos. et Dur.	1	0	1	0	0	0	0	0	
	<i>Meica uniflora</i> Retz.	0	0	0	1	0	0	1	0	
	<i>Poa bulbosa</i> L.	1	0	0	1	0	1	0	0	
Composées	<i>Bellis sivestris</i> L.	0	1	0	0	1	0	1	0	
	<i>Doronicum atlanticum</i> (Chabert) Rouy.	1	0	0	0	0	1	0	0	
	<i>Inula conyza</i> DC.	0	1	1	0	0	0	1	0	
	<i>Petasites fragrans</i> Persel.	0	0	1	0	0	0	0	1	
	<i>Pulicaria odora</i> (L) Rchb.	1	0	0	0	1	0	0	0	
	<i>Senecio perralderianus</i> Coos. et Dur.	1	1	0	0	0	0	0	0	
	<i>Solidago virga-aurea</i> L.	0	1	0	1	0	0	0	0	
Lamiacées	<i>Brunella vulgaris</i> L.	1	0	0	0	1	0	0	0	
	<i>Lamium flexuosum</i> Ten.	0	1	0	0	0	0	1	0	
	<i>Lamium longiflorum</i> var. <i>numidicum</i>	1	0	0	1	0	0	0	0	
	<i>Phlomis sania</i> ssp. <i>Bovei</i> de Noé.	1	1	0	0	0	0	1	0	
Scrofulariacées	<i>Linaria heterophylla</i> Defs.	0	0	0	0	1	0	0	0	
Rosacées	<i>Cerasus avium</i> L.	1	0	0	0	0	0	1	0	
Crucifères	<i>Arabis albida</i> Stev.	0	1	0	0	0	0	0	0	
	<i>Alliaria officinalis</i> Scop.	0	1	0	0	1	0	0	0	
	<i>Arabis turrita</i> L.	1	0	0	0	1	0	0	0	
Cypéracées	<i>Carex halleriana</i> Asso.	0	1	0	0	1	0	0	0	
	<i>Carex remota</i> L.	1	0	0	1	0	0	0	1	
	<i>Carex silvatica</i> var. <i>algeriensis</i> M. et W.	0	0	1	0	1	0	0	1	
Ombellifères	<i>Danaa verticillata</i> Janchen.	1	0	0	1	0	1	1	0	
	<i>Heracleum sibiricum</i> ssp. <i>atlanticum</i> Coss	1	0	1	0	0	0	0	0	
	<i>Sanicula europaea</i> L.	0	0	0	0	0	1	0	0	
Polypodiacées	<i>Asplenium adiantum-nigrum</i> L.	0	0	1	0	1	0	0	0	
	<i>Asplenium trichomanes</i> L.	1	0	0	0	1	0	0	0	
	<i>Cystopteris fragilis</i> Bernh.	0	0	0	1	1	0	0	0	
Primulacées	<i>Primula vulgaris</i> var. <i>atlantica</i> M. et Willez.	0	0	0	1	0	0	0	1	
paeoniacées	<i>Paeonia corallina</i> ssp. <i>atlantica</i> Coos.	1	1	1	1	1	1	1	1	
Renonculacées	<i>Ranunculus spicatus</i> Defs.	1	0	0	0	1	0	0	0	
	<i>Thalictrum minus</i> L.	0	0	0	0	0	1	0	0	
Rubiacées	<i>Asperula laevigata</i> L.	1	1	0	0	0	1	0	0	
	<i>Galium ellipticum</i> (Wild) Hon.	1	0	0	1	0	1	0	0	
	<i>Galium tunetanum</i> Poir.	0	1	0	0	1	0	0	0	
Euphorbiacées	<i>Euphorbia amygdaloides</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	
	<i>Mercurialis perennis</i> L.	0	1	0	0	0	1	0	0	
Géraniacées	<i>Geranium atlanticum</i> Boiss et Reut.	0	1	0	0	1	0	0	1	
	<i>Geranium lucidum</i> L.	1	0	0	0	0	1	0	1	
Juncacées	<i>Luzula forsteri</i> (Sm.) Dc.	0	1	0	0	0	1	0	1	
Papilionacées	<i>Cytisus triflorus</i> L'Her.	1	0	0	1	1	0	0	0	
	<i>Vicia atlantica</i> (Pomel) Maire.	0	0	1	0	1	0	0	0	
Alsinoïdées	<i>Stellaria holostea</i> L.	1	0	0	0	1	0	0	1	
Berbéruidacées	<i>Epimedium perralderianum</i> Coss.	0	0	0	0	1	0	0	1	
Crassulacées	<i>Umbilicus pendulinus</i> (Dc) Batt.	0	0	0	0	1	0	0	0	
Dioscoréacées	<i>Tamus communis</i> L.	0	0	0	1	0	1	0	0	
Hypéricacées	<i>Hypericum montanum</i> L.	0	0	1	0	0	1	0	0	
Iridacées	<i>Iris unguicularis</i> Poir.	1	0	0	0	1	0	0	1	
Saxifragacées	<i>Saxifraga atlantica</i> Bois et Rent.	0	0	0	0	1	0	0	0	
Thymelaeacées	<i>Daphne laureola</i> L.	0	1	0	0	0	0	1	1	
25	55	26	16	11	15	23	14	9	14	

ANNEXE

BABOR													
Famille	Genre et espèce	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10		
Graminées	<i>Cynosurus balarsae</i> Coss. & Dur.	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1		
	<i>Elymus panormitanus</i> (Pari) Tzvelev.	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1		
	<i>Deschampsia flexuosa</i> (L.) Trin	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1		
	<i>Anthoxanthum odoratum</i> L.	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0		
	<i>Bromus ramosus</i> Hudson	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0		
	<i>Festuca drymeja</i> ssp. <i>Grandis</i> Coos. et Dur.	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0		
Composées	<i>Melica uniflora</i> Retz.	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
	<i>Bellis stvestris</i> L.	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1		
	<i>Doronicum atlanticum</i> (Chabert) Rouy.	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1		
	<i>Tanacetum corymbosum</i> (L.) Schultz Bip	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0		
La miacées	<i>Senecio perraldianus</i> Coos. et Dur.	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0		
	<i>Teucrium chamaedrys</i> L.	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1		
	<i>Satureja alpina</i> (L.)	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
	<i>Lamium flexuosum</i> Ten.	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0		
	<i>Lamium longiflorum</i> var. <i>humidicum</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1		
	<i>Phlomis samia</i> ssp. <i>Bovet de Noé</i> .	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0		
	<i>Scutellaria columnae</i> All.	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0		
Scrofulariacées	<i>Satureja grandiflora</i> (Batt.) Maire	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0		
	<i>Linaria simplex</i> D.C.	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0		
Rosacées	<i>Veronica montana</i> L.	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1		
	<i>Cotoneaster nebrodenensis</i> (Guss.) C. Koch	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0		
	<i>Cerasus avium</i> L.	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0		
Crucifères	<i>Rosa canina</i> L.	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1		
	<i>Arabis albida</i> Stev.	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0		
	<i>Alliaria officinalis</i> Scop.	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1		
Fumariacées	<i>Arabis turrita</i> L.	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0		
	<i>Corydalis solida</i> (L.)	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0		
Saxifragacées	<i>Saxifraga carpetana</i> Boiss. Et Reut	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0		
Pinale	<i>Cedrus atlantica</i> Manetti	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0		
Cypéracées	<i>Carex halleriana</i> Asso.	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		
	<i>Carex remota</i> L.	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0		
	<i>Carex silvatica</i> var. <i>algeriensis</i> M. et W.	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1		
Aspleniaceae.	<i>Asplenium adnigrum</i> L.	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1		
Clusiacées	<i>Hypericum montanum</i> L.	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0		
Fagaceae	<i>Quercus canariensis</i> Willd.	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
Ombellifères	<i>Carum montanum</i> (Coss. & Dur.) Benth. & Hook	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0		
	<i>Heracleum sibiricum</i> ssp. <i>atlanticum</i> Coss	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
	<i>Sanicula europaea</i> L.	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
	<i>Bunium alpinum</i> Waldst. & Kit.	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0		
Polypodiacées	<i>Asplenium adnigrum</i> L.	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
	<i>Asplenium trichomanes</i> L.	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
Boragénacées	<i>Cynoglossum dioscoridis</i> Vill	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		
	<i>Cystopteris fragilis</i> Bernh.	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
Primulacées	<i>Primula acaulis</i> (L.)	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
Brassicaceae	<i>Alliaria petiolata</i> (MB) Cavara & Grande	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Caryophyllacées	<i>Silene chouletii</i> Coss	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0		
Paeoniacées	<i>Paeonia mascula</i> (L.) Miller subsp. <i>atlantica</i> (Cosson) Greuter et Burdet	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
Renonculacées	<i>Ranunculus spicatus</i> Desf.	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0		
	<i>Asperula laevigata</i> L.	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0		
	<i>Galium scabrum</i> L.	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1		
Rubiacées	<i>Galium tunetanum</i> Poiret.	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0		
	<i>Euphorbia amygdaloides</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
	<i>Mercurialis perennis</i> L.	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
Géraniacées	<i>Geranium atlanticum</i> Boiss et Reut.	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0		
	<i>Geranium lucidum</i> L.	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0		
Juncacées	<i>Lucula forsteri</i> (Sm.) Dc.	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1		
Fabacées	<i>Cytisus triflorus</i> L'Her.	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1		
	<i>Trifolium ochroleucum</i> Hudson	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0		
	<i>Vicia ochroleuca</i> Ten.	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0		
26	59	27	16	8	14	18	19	15	10	14	16		

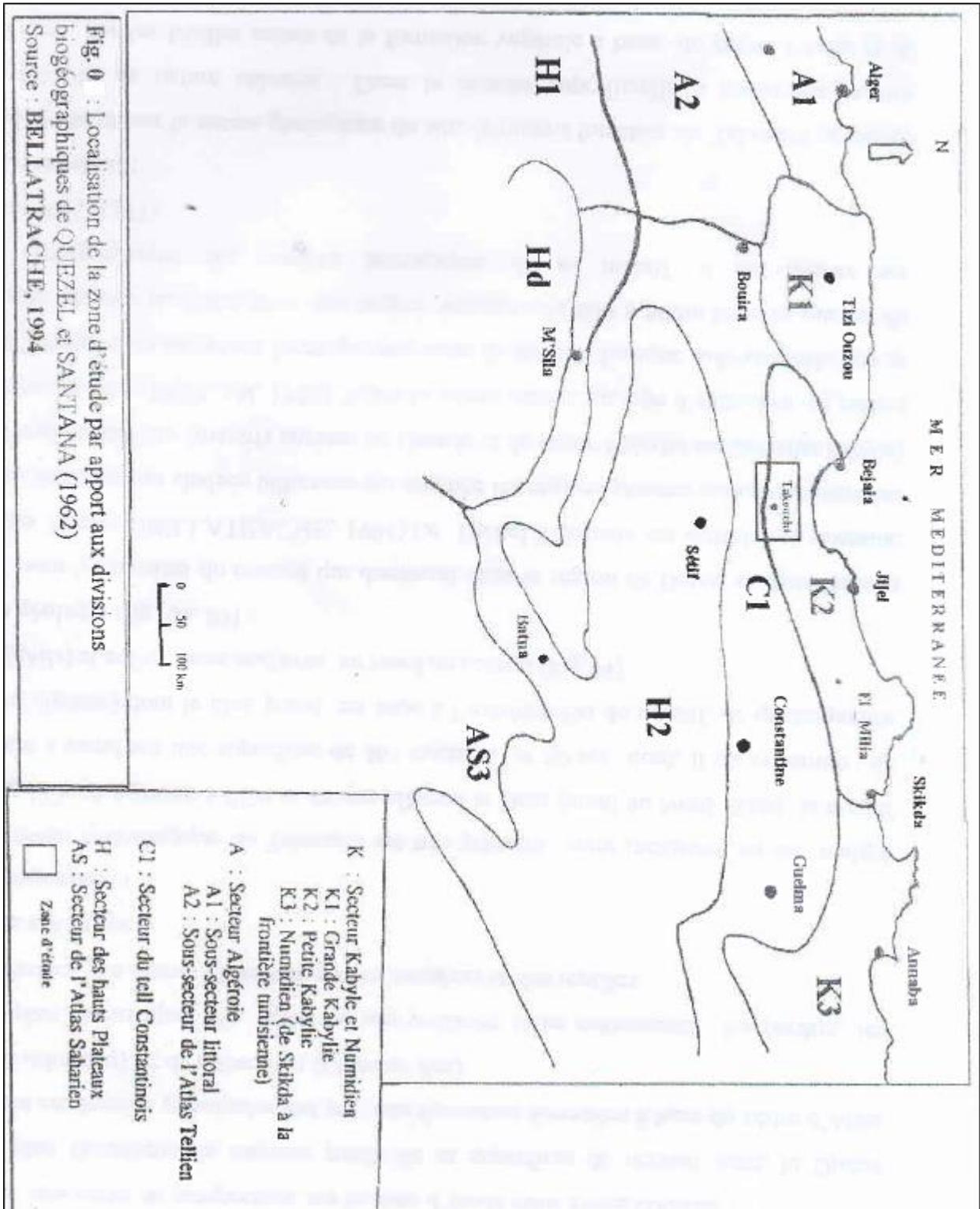


Fig. 0 : Localisation de la zone d'étude par apport aux divisions biogéographiques de QUEZEL et SANTANA (1962)
Source : BELLATRACHE, 1994

Figure : Localisation de la zone d'étude par apport aux divisions biogéographiques.

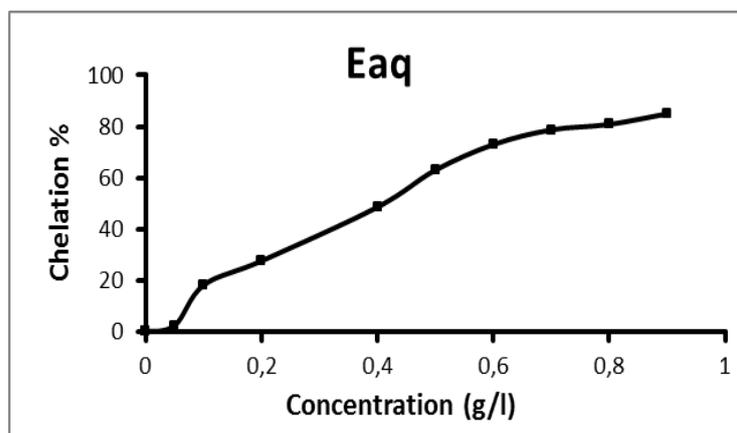


Figure. Les valeurs IC50 et l'activité chélatrice de l'extrait AQ de *Paeonia mascula*

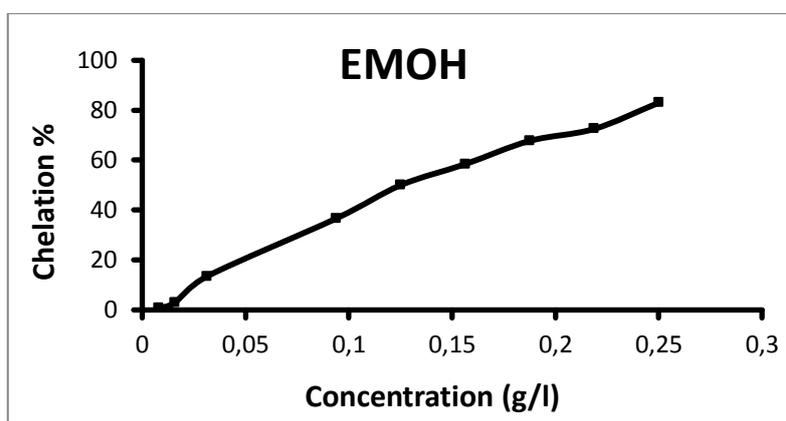


Figure Les valeurs IC50 et l'activité chélatrice de l'extrait moh de *Paeonia mascula*

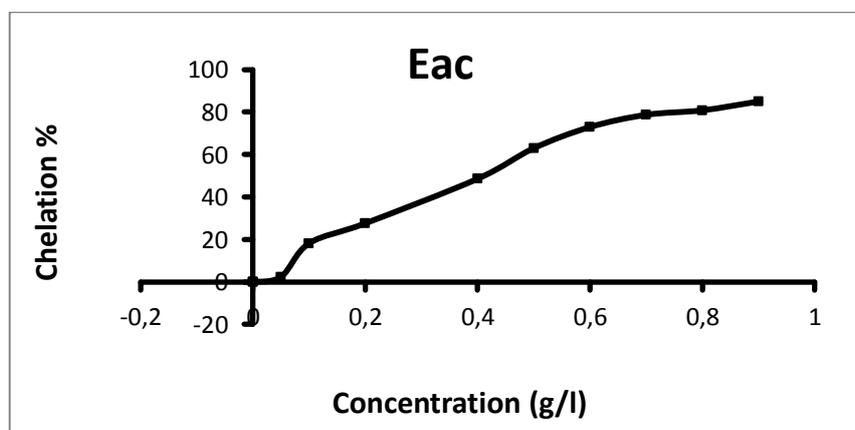


Figure. Les valeurs IC50 et l'activité chélatrice de l'extrait acetate de *Paeonia mascula*

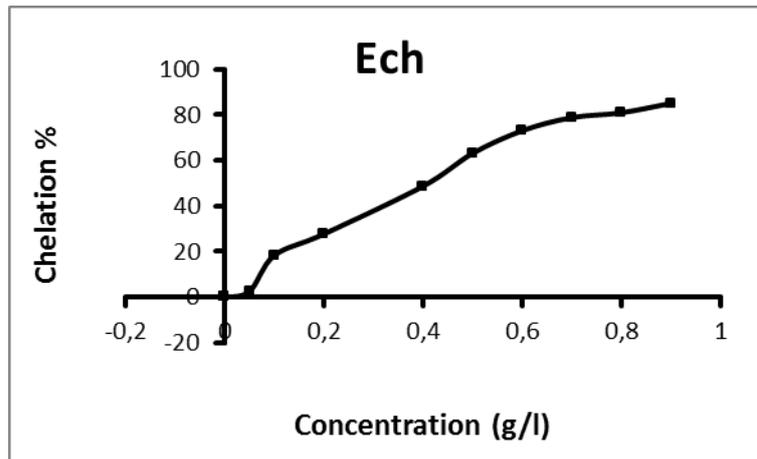


Figure. Les valeurs IC50 et l'activité chélatrice de l'extrait chloroformique de *Paeonia mascula*

Resumé

الموقع الهام تحتله الجزائر اعطى تنوع بيولوجي هذا التنوع كان عرضة للعوامل الإنسان والطبيعة ويستند عملنا دراسة النباتات الطبية والنادرة المستوطنة في المنطقة ومثل هذا النبات المدرس. *Paeonia mascula* (L.) Mill. و هو الممثل الوحيد للعائلة *Paeoniaceae* في الجزائر. حقق النشاط المضاد للأكسدة مع جميع العينات باستخدام النشاط antiradical مهم جدا باستخدام اختبار إزاحة الجذر DPPH ($IC_{50}=30,75$ ، 10,00 ، 5,48 ، 4,84 ميكروغرام/مل) على التوالي EAq ، EBR ، EA ، ECh .

تم تقييم تثبيط فوق أكسدة الليبيدات عن طريق اختبار تبييض β كاروتين و وثيوسيانات الحديد أن كل من المستخلصات EAq ، EBR تملك قدرة تثبيطية عالية. أظهر التقدير الكمي لمادة البوليفينولو الفلافونويد أن مستخلص خللات الإيثيل (EAC) هو الأكثر غني في مادة البوليفينول، و أن مستخرج خللات الإيثيل (EAC) هو الأغنى في فلافونيدات وعلاوة على ذلك، فإن نشاط مضادات الميكروبات من النباتات و اختبارها باستخدام ستة أنواع من البكتيريا ونوعين من الفطريات و الخميرة.

نشاط المضادة للالتهابات في الجسم الحي من قبل المستخلص الميثيلي ل *Paeonia mascula* منها ورم الأذن، على الفئران و الورم الحبيبي الناجم عن كريات القطن المعقمة في الجرذان و إختبار حمض الخليك و في نهاية الدراسة نقوم باختبار السمية الحادة.

الكلمات الدالة

تنوع البيولوجي، *Paeonia mascula* (L.) Mill.، مضادات الأكسدة، مضادات الالتهاب، نشاطية المضادة للمكروبات.

Résumé

L'Algérie possède une flore extrêmement riche et variée à cause du caractère climatique de la région. Cette biodiversité est menacée sous l'effet de la nature ou par l'être humain, notre travail repose particulièrement sur une plante médicinale rare et endémique, la pivoine. *Paeonia mascula* (L.) Mill. Cette espèce appartient à la famille des Paeoniaceae, et c'est la seule représentante du genre en Algérie faire la récolte de la plante et le relevé des espèces accompagnatrices et appliquer les indices écologiques.

L'activité antioxydante est réalisée avec tous les extraits en utilisant activité anti-radicalaire très importante en utilisant le test de piégeage de DPPH ($IC_{50}=30.75$, 10.00, 5.48 et 4,84 μ g/ml, respectivement). EAq-, EBr-, -EAc, -ECh, - le test de blanchiment de β -carotène et le pouvoir réducteur et chelation. Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes a montré que l'extrait d'acétate d'éthyle (EAc) est le plus riche en polyphénols, est aussi que l'extrait d'acétate d'éthyle (EAc) est le plus riche en flavonoïdes Par ailleurs, l'activité antimicrobienne de la plante est testée avec six souches bactériennes et deux champignons y compris une levure.

L'activité anti-inflammatoire *in vivo* par l'œdème, induit par le xylène, au niveau de l'oreille des souris et le granulome, induit par les pastilles de coton stérile, chez les rats. L'activité analgésique de l'extrait méthanolique de *Paeonia mascula* L.(Mill).est étudiée en utilisant le test de la plaque chauffante et le test de contorsion induit par l'acide acétique. L'étude est complétée par le test de la toxicité aiguë.

Mots clés : la flore, *Paeonia mascula* (L.) Mill., L'activité antioxydante ; L'activité anti-inflammatoire, L'activité analgésique, l'activité antimicrobienne.

Abstract

Algeria possesses a flora extremely rich and varied because of the climatic character of the region. This biodiversity is threatened under the influence of the nature or by the human being, our work rests (bases) particularly on a rare and endemic medicinal plant, the peony. *Paeonia mascula* L. Mill. This sort (species) belongs to the family of Paeoniaceae, and it is the only representative of the kind (genre) in Algeria to harvest the plant and the statement of the sorts (species) companions and to apply the ecological indications.

Antioxidant activity is done with all the extracts by using very important anti-free radical activity by using the test of trapping of DPPH ($IC_{50}=30.75$, 10.00, 5.48 et 4,84 μ g/ml, respectively). EAq-, EBr-, -EAc, -ECh, - the test of bleaching of β -carotene and the reducing power and chelation. The dosage of polyphenols and flavonoids showed that the extract of ethyl acetate (EAc) is the richest in polyphenols, is as well as the extract of ethyl acetate (EAc) is the richest in flavonoids Besides, the antimicrobial activity of the plant is tested with six bacterial strains and two mushrooms including a yeast.

In vivo anti-inflammatory activity by the oedema, led by the xylene, at the level of the ear of mice and the granulome, led by the pastilles of sterile cotton, to rats. The analgesic activity of the extract méthanolique of studied *Paeonia mascula* L. (Mill).est by using the test of the heating plate and the test of contortion leads by the acetic acid. The study is completed by the test of the acute toxicity.

Key words: flora, *Paeonia mascula* (L.) Mill. evaluation of antioxidant activities, The anti-inflammatory, analgesic effect, the antimicrobial capacity.