



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mohamed Khider - BISKRA
Faculté des Sciences Exactes, des Sciences de la Nature et de la Vie
Département d'agronomie
N° d'ordre : /M2/2021

Thèse

Présenté pour obtenir le diplôme de doctorat LMD en

Agronomie

Spécialité : Protection des végétaux

Effacité bio-pesticide de *Sesbania aculeata* (Fabaceae) contre les nématodes et les insectes ravageurs dans la région de Biskra

Par :

MME : LARKEM IMENE

Soutenu le 14/07/2021, devant le jury composé de :

Achoura Amar	MCA	Président	Université de Biskra
Bachar Mohamed Farouk	MCA	Examineur	Université de Biskra
Benchikha Naima	Professeur	Examinatrice	Université de l'Oued
Tarai Nacer	Professeur	Promoteur	Université de Biskra

Année Universitaire : 2020- 2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciement

Avant tout, je remercie Dieu, le tout puissant, de m'avoir accordé la force, le courage et la patience pour achever cette thèse.

Ce travail de recherche en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat LMD, spécialité Protection des végétaux, a été réalisé au sein du Laboratoire d'agronomie DEDSPAZA de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de Biskra, sous la direction du Professeur TARAI NACER.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à mon Directeur de thèse Monsieur TARAI NACER, Professeur au département d'agronomie pour l'intérêt qu'il a manifesté à la réalisation de ce travail ; encadrement et direction avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, et ses conseils. Qu'il retrouve ici ma considération la plus distinguée.

Mes vifs remerciements vont au monsieur ACHOURA AMMAR de l'université de Biskra, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury de ma soutenance.

J'adresse également mes vifs remerciements à : Madame le Professeur BENCHIKHA NAIMA de l'université d'El Oued, Monsieur BACHAR FAROUK de l'université de Biskra d'avoir accepté faire partie du jury de ma thèse de doctorat.

Un très précieux remerciement va au Professeur BENCHIKHA NAIMA enseignante au département de chimie à l'université d'el Oued, qui a guidé, suivi le déroulement et l'exécution de cette thèse en me prodiguant toute aide possible, pour son soutien et son encouragement permanent durant toutes mes années d'étude, de m'avoir supporté le long de ce travail sans jamais m'avoir privé de son savoir.

J'adresse mes sincères remerciements à Madame DIANA PINTO enseignante au département de Chimie à l'université d'Aveiro, Portugal, pour son aide précieuse lors de mon stage de doctorat au sein de son laboratoire.

Un grand respectueux remerciement va à Monsieur MIGUEL MARTINS, technicien supérieur au laboratoire des sciences et de l'environnement à l'école nationale supérieur agronomique Lisbonne, Portugal, qui n'a pas hésité de m'aider à faire mes analyses.

Je tiens à remercier également toute l'équipe du centre de recherche et de biotechnologie –
Constantine pour l'accueil au sein du laboratoire de biochimie en particulier : ma chère copine
AMINA

Mes vifs remerciements à toute l'équipe de l'ITDAS, l'institut technique de développement
de l'agronomie saharienne, qui ont contribué à la réalisation de ce travail de recherche en
particulier FATIMA MOKRANE.

Finalement, je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour accomplir
ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de mon très cher grand père

Qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études, j'espère qu'il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part de sa fille qui a toujours prié pour le salut de son âme.

Puisse dieu le tout puissant l'avoir en sa sainte miséricorde. Qu'il reste à jamais gravé dans mon Cœur et mon esprit !

A ma chère Mamy

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices qu'elle a consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour qu'elle me porte depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, puisse dieu le tout puissant vous accorde santé, bonheur et longue vie.

A mes chers parents

Aucun mot ne pourrait exprimer à leur juste valeur, la gratitude et l'amour que je vous porte. Aux êtres qui me sont les plus cher dans ce monde, qui ont fait des sacrifices immenses pour moi et pour mes frères et ma sœur sans qu'il attendent en retours. Chaque ligne de cette thèse, chaque mot et chaque lettre vous exprime la reconnaissance, le respect, l'estime et le merci d'être mes parents.

A mon cher mari Sofiane que j'aime, qui m'a toujours soutenu et encouragé. Je te remercie pour ta grande patience.

A mes frères Amine, Ishak, Ilyes que j'aime énormément.

A ma très chère sœur jumelle Manel qui n'a pas cessé de m'encourager et me soutenir, que dieu vous protège toi et ton mari et ton petit fils Kiyaneh et vous offre la chance et le bonheur.

A mes cher oncles et tantes, je ne pourrais jamais exprimer l'attachement et l'affection que j'ai pour vous. Aucun mot ne pourrait exprimer la gratitude et l'amour que je vous porte, en particulier mon oncle Zinou qui présente pour moi le symbole de la bonté par excellence.

A mes copines : Choumaissa et Wafa je vous remercie pour les moments inoubliables que nous avons passés ensemble, votre précieuse présence et votre soutien amical m'ont été source d'inspiration et d'encouragement.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

CHAPITRE I

Généralités et données bibliographiques

I.1. Présentation de la région d'étude : Biskra 6

I.1.1. Situation géographique : 7

I.1.2 Facteurs abiotiques : 7

Le relief : 8

Les facteurs géologiques : 8

Facteurs pédologiques : 8

L'hydrographie : 9

Facteurs climatiques : 10

I.1.3. Facteurs biotiques 11

I.1.3.1. – Données bibliographiques sur la flore de la région d'étude 11

I.1.3.2. Données bibliographiques sur la faune de la région d'étude : 13

I.2 : Généralités sur *Sesbania* : *Sesbania bispinosa* (Jacq.) W. Wight..... 14

I.2.1. – Origine et évolution de *Sesbania bispinosa* : 15

A / Dans le monde : 15

B /En Algérie : 15

I.2.2. – Systématique et organes du *Sesbania bispinosa* 15

I.2.2.1. – Position systématique 15

I.2.2.2. _ Description botanique 16

I.2.2.3. – Caractéristiques de la plante..... 18

I.2.2.4. – Limites biophysiques de la plante 19

I.2.2.5. – Techniques de production de la plante 19

I.2.2.6. – Caractéristiques agronomiques de la plante..... 19

I.2.2.7. – Production en fourrage 20

I.2.2.8. – Production et multiplication de semences..... 21

I.2.2.9. – Débouchés de *Sesbania bispinosa* 21

I.2.2.10. –Ravageurs et maladies de <i>Sesbania bispinosa</i>	23
I.3 : Généralités sur les polyphénols et activité anti-oxydantes	26
I.3.1- Présentation générale sur les polyphénols :	27
I.3.2.- Principales sources et utilisations actuelles des polyphénols	27
I.3.3.- Classification des polyphénols	28
I.3.4.- Rôle des polyphénols dans les plantes	29
I.3.5.- Importance nutritionnelle des polyphénols	29
I.3.6.- Les polyphénols comme antioxydants	29
a. Inhibition enzymatique :	30
b. Chélation des ions métalliques	30
c. Piégeage des radicaux libres	31
I.3.7. - Les flavonoïdes	31
I.3.7.1. - Généralités sur les flavonoïdes	31
I.3.7.2.- Fonctions des flavonoïdes pour les plantes	32
A/ Rôle de protection contre le stress environnemental	32
B/ Rôles comme composés de défense	33
C/ Interactions plantes-microorganismes	33
D/ Interactions plantes-plantes	33
E/ Interactions plantes-pathogènes	34
F/ Interactions plantes-insectes et animaux	34
I.3.7.3. Activités biologiques des flavonoïdes	34
I.3.8. Les activités biologique et enzymatiques	35
I.3.8.1. Activité anti-inflammatoire	35
I.3.8.2. Activité anti-cholinestérase	36
I.3.9. Les éléments minéraux e	37
I.3.9.1 Introduction	37
I.4.- Généralités sur les nématodes à galles <i>Meloidogyne.ssp</i>	38
Introduction	39
A/ Classification et position systématique:	39
B/ Description de <i>Meloidogyne spp</i>	40
I.4.2.- Cycle de développement de <i>Meloidogyne.ssp</i>	41
I.4.3.- Symptômes et dégâts causés par les nématodes à galles	43
I.4.4.- Gestion de nématodes phytoparasites	44

I.4.4.1. Les pratiques culturelles	44
I.4.4.2.- Les méthodes physiques	45
I.4.4.3.- La lutte biologique	45
I.4.4.5.- La lutte chimique	46
I.4.4.6.- La lutte génétique.....	47
I.4.4.7.- La lutte intégrée	48

CHAPITRE II

Matériel et méthodes

II.1.- Description de la station d'étude l'ITDAS	49
II.2.- Réactifs et solvants utilisés :.....	51
II.3.- Techniques d'analyse chromatographique :.....	52
II.3.1.- Extraction et traitement du matériel végétal :.....	52
II.3.2.- Analyse UHPLC-DAD-ESI / MSn :	53
II.3.3.-Analyse GC-MS.....	54
II.4. Analyse minérale	55
II.4.1-Analyse des éléments minéraux ICP-OES.....	55
II.5.- Analyses biologique et enzymatique	55
II.5.1.- Préparation des fractions de Sesbania bispinosa.....	55
1ère étape : Macération.....	55
2ème étape : Extraction.....	56
II.5.2.- Activités biologiques :.....	59
II.5.2.1.- Détermination du contenu total en polyphénols et de la teneur des flavonoïdes :	59
Estimation du contenu total en polyphénols (TPC) :	59
Estimation du contenu total en flavonoïdes (TFC) :	60
II.5.2.2.- Activité antioxydante.....	60
II.5.2.2.1.- Activité scavenger du radical libre DPPH, (2,2diphényl-1-picrylhydrazine).....	61
II.5.2.2.2.- Test de piégeage du cation radical ABTS•+ (2,2'-azino-bis (3éthylbenzothiazoline-6-sulphonique).....	61
II.5.2.2.3.- Activité du piégeage du radical Galvinoxyl (GOR) :	62
II.5.2.2.4.- Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC)	62
II.5.2.2.5.-Activité de réduction par la formation du complexe Fe+2-phénantroline	62
II.5.2.2.6.- Test de blanchissement du β-carotène	63
II.5.2.2.7.- Activité du pouvoir réducteur	63

II.5.3.- Activités enzymatiques	64
II.5.3.1.- Evaluation de l'activité antidiabétique	64
II.5.3.2.- Evaluation de l'activité anti-cholinestérase	64
II.6.- Activité anti-inflammatoire in vitro.....	65
II.7.- Analyse statistique.....	66
II.8.- Effet nématocide de <i>S.bispinosa</i>	66
II.8.1.- Matériel biologique.....	66
II.8.2.- Echantillonnage des racines infestées de tomate	68
II.8.2.1- Station de Mzeraa.....	68
II.8.2.2.- Nombre d'échantillons	69
II.8.3.- Extraction des nématodes	69
II.8.3.1.- Choix de la méthode d'extraction	69
II.8.3.2.- Procédé d'extraction à partir des racines	69
II.8.3.- L'effet des différents extraits de la partie aérienne et des graines de <i>S.bispinosa</i> sur la mortalité des juvéniles (L2) de <i>Meloidogyne sp.</i>	70
II.8.4.- Effet des différents extraits de la partie aérienne et des graines de <i>S.bispinosa</i> sur l'éclosion des œufs de <i>Meloidogyne.sp</i>	70

CHAPITRE III

Résultats et discussion

III.1. Techniques d'analyse chromatographique :	71
III.1.1. Analyse UHPLC-DAD-ESI / MSn :	71
III.1.3. Analyse des éléments minéraux ICP-OES :	79
III.2. Activités biologiques	81
III.2.1. Extraction et détermination du contenu total en polyphénols et flavonoïdes des extraits de la partie aérienne et graine de <i>Sesbania bispinosa</i>	81
III.2.2. Activités antioxydante.....	86
III.2.2.1. Activité antiradicalaire DPPH	86
III.2.2.2. Activité de piégeage du cation radical ABTS ^{•+}	89
III.2.2.3. Activité du piégeage du radical Galvinoxyl (GOR).....	93
III.2.2.4. Test de blanchiment du β -carotène.....	96
III.2.2.5. Activité de réduction du complexe cuivre- néocuproïne (CUPRAC).....	98
III.2.2.6. Activité de réduction par la formation du complexe Fe ²⁺ -phénantroline.....	101
III.2.2.7. Activité du pouvoir réducteur (RP)	103

III.2.3. Activité enzymatique.....	108
III.2.3.1. Evaluation de l'activité antidiabétique	108
III.2.3.2. Evaluation de l'activité anti-cholinestérase	111
III.2.4. Activité anti-inflammatoire.....	116
III.3. Effet des extraits de la partie aérienne et des graines de <i>S.bispinosa</i> sur les nématodes à galles <i>Meloidogyne spp</i>.....	118
III.3.1. Effet des extraits de la partie aérienne et des graines de <i>S.bispinosa</i> sur la mortalité des larves du 2eme stade (L2) de <i>Meloidogyne.sp</i>	118
III.3.1. Effet des extraits de la partie aérienne et des graines de <i>S.bispinosa</i> sur l'éclosion des larves du 2eme stade (L2) de <i>Meloidogyne.sp</i>	124
Conclusion générale	
Références bibliographiques	
Résumé	
Annexes	

Liste des abréviations

A.N.A.T. : agence nationale d'aménagement du territoire

A_{0,50} : concentration indiquant 0,50 d'absorbance

Abs : absorbance

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

AChE : acétylcholinestérase

ACSAD : programme de recherche appliquée sur l'utilisation des eaux saumâtres et salées en Afrique du Nord

ANDI : agence nationale du développement de l'investissement

B : bore

BChE : butyrylcholinestérase

BHA : butylhydroxyanisole

BHC : benzène hexachlorure

BHT : butylhydroxytoluène

Ca : calcium

CI₅₀ : concentration inhibitrice à 50%

Cm : centimètre

Cr : chrome

Cu : cuivre

CUPRAC : complexe cuivre-néocuproïne

DDT : dichlorodiphényltrichloroéthane

DMSO : diméthylsulfoxyde.

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

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

EI : impact électronique

EQ : équivalent en quercétine.

ERO : espèces réactives de l'oxygène.

ESI : ionisation par électro-nébuliseur

F : fluor

FCR : folin-ciocalteu

Fe : fer

Fig : figure

GAE : équivalent acide gallique

GC-MS : chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse

GOR : radical Galvinoxyl

HPLC : chromatographie liquide à haute performance

I : iode

I.N.R.A.A : institut national de la recherche agronomique d'algerie

ICP-OES : spectrométrie d'émission optique à plasma à couplage inductif

IEA : institut européen des antioxydants

ITIDAS : institut technique pour le développement de l'agriculture saharienne

K : potassium

Kcal : kilocalories

Kg : kilogramme

L1 : Larve 1er stade.

L2 : Larve de 2eme stade.

LC/MS : Chromatographie Liquide couplée à la spectrométrie de masse

LC/MS/MS : Chromatographie Liquide couplée à deux spectrométries de masse

LC-MS : liquide chromatographie spectrométrie de masse

m : masse

m/z : masse/ charge électrique

mg : milligramme

Mg : magnésium

min : minute

ml : millilitre

mM : milli mole

Mn : manganèse

Mo : molybdene

MSⁿ : Multiple stage tandem MS

N : azote

Na : sodium

nm : nanomètres

P : phosphore

pH : potentiel d'hydrogène

ppm : partie par million

R² : coefficient de corrélation

RP : pouvoir réducteur

Rt : temps de rétention

S : soufre

S.D. : standard de déviation

Se : sélénium

Sp : espèce

T/h : tonne/hectare

TBA : l'acide thiobarbiturique

TCA : l'acide trichloracétique

TEAC : capacité antioxydante équivalente trolox

TFC : contenu total en flavonoïdes

TPC : contenu total en polyphénols

Trolox : acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-é-carboxylique

UV : ultra-violet

Zn : zinc

λ_{max} : longueur d'onde maximale

J2 : Juvénile 2

° C : celsius

µg : microgramme

µl : microlitre

Liste des figures

Figure 1 : situation géographique de Biskra.....	7
Figure2: <i>Sesbania</i> <i>bispinosa</i>	16
Figure 3 : La tige de <i>Sesbania bispinosa</i>	17
Figure 4 : Les feuilles de <i>Sesbania bispinosa</i>	17
Figure 5 : Fleur de <i>Sesbania bispinosa</i>	18
Figure 6: Semis en ligne de <i>Sesbania</i>	19
Figure 7: Différents stades de développement de <i>Sesbania bispinosa</i>	20
Figure 8 : Rendement annuel en matière verte de <i>Sesbania bispinosa</i> comparée à la luzerne	20
Figure 9: production de semences de <i>Sesbania bispinosa</i>	21
Figure10 : <i>Azygophleps scalaris</i>	24
Figure11: <i>Strigina scitaria</i>	24
Figure 12 : <i>Amsactamoorei</i>	25
Figure 13: Structures de base des flavonoïdes stricto sensu.....	32
Figure 14: Piégeage des ERO (R') par les flavonoïdes	35
Figure 15 : Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman.....	36
Figure16 : Morphologie des <i>Meloidogyne sp.</i>	41
Figure 17 : cycle de développement de <i>Meloidogyne.ssp</i>	43
Figure 18 : station d'El-Outaya.....	49
Figure 19: espèces végétale de la strate arborescente et herbacée de la station Outaya.....	50
Figure 20: Différentes étapes d'extraction de la partie aérienne et des graines.....	53
Figure 21 : Schéma d'extraction.....	53
Figure 22: Macération de <i>Sesbania bispinosa</i> , graines et partie aérienne.....	56
Figure 23: Les différentes fractions de <i>Sesbania bispinosa</i> , partie aérienne et graines	56
Figure 24: Schéma de la préparation des fractions de la partie aérienne de <i>Sesbania bispinosa</i>	57
Figure 25: Schéma de la préparation des fractions de la partie aérienne de <i>Sesbania bispinosa</i>	58
Figure 26: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	59
Figure27 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.	60

Figure 28: Racine de tomate infestée de la station mzeraa (originale).....	66
Figure 29 : Larve de Meloidogine vu au microscope optique (GR×40) du deuxième stade (J_2).....	67
Figure 30: femelle et masse d'œufs de Meloidogine vu au microscope optique (GR×40).....	67
Figure 31-a : Culture sous serre au niveau de la station de Mzeraa.....	68
Figure 31-b : Éclosoirs des œufs de Meloidogyne (j2).....	69
Figure 32 : HPLC-DAD-ESI-MS chromatogramme des extraits méthanolique de la partie aérienne (A) et graines (B) de <i>Sesbania bispinosa</i>	71
Figure 33 : Différentes classes de composés phénoliques et leur importance dans les parties de <i>S. bispinosa</i>	73
Figure 34 : Structure chimique de certains des flavonoïdes identifiés et des fragments d'ions observés les plus importants.....	75
Figure 35: Total ion chromatogramme (TIC) des composés identifiés par GC-MS de la partie aérienne (A) et graines (B) de <i>Sesbania bispinosa</i>	76
Figure 36 : Différentes classes de composés lipophéliques identifiés de <i>S.bispinosa</i> et leur importance.....	77
Figure 37: dosage des polyphénols des différents extraits des deux parties étudiées de <i>S.bispinosa</i>	84
Figure 38 : dosage des flavonoïdes des différents extraits des deux parties étudiées de <i>S.bispinosa</i>	85
Figure 39 : la plaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits de <i>sesbania bispinosa</i>	85
Figure 40 : Test DPPH des différents extraits des deux parties étudiées de <i>S.bispinosa</i>	88
Figure 41: la plaque de dosage de l'activité du piégeage du cation radical ABTS ⁺⁺ des extraits de <i>sesbania bispinosa</i>	88
Figure 42 : Test ABTS des différents extraits des deux parties étudiées de <i>S.bispinosa</i>	91
Figure 43 : la plaque de dosage de l'activité du piégeage du radical Galvinoxyl (GOR) des extraits de <i>sesbania bispinosa</i>	91

Figure 44 : Test GOR des différents extraits des deux parties étudiées de <i>S.bispinosa</i>	93
Figure 45 : Test β -carotène des différents extraits des deux parties étudiées de <i>S.bispinosa</i>	95
Figure 46 : la plaque de dosage de l'activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC) des extraits de <i>sesbania bispinosa</i>	96
Figure 47 : Test CUPRAC des différents extraits des deux parties étudiées de <i>S.bispinosa</i>	98
Figure 48 : la plaque de dosage de l'activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phénantroline des extraits de <i>sesbania bispinosa</i>	98
Figure 49 : Test phénantroline des différents extraits des deux parties étudiées de <i>S.bispinosa</i>	100
Figure 50: la plaque de dosage de l'activité de pouvoir réducteur des extraits de <i>S.bispinosa</i>	101
Figure 51 : pouvoir réducteur des différents extraits des deux parties étudiées de <i>S.bispinosa</i>	103
Figure 52: la plaque de dosage de l'activité inhibitrice d'alpha-amylase des extraits de <i>sesbania bispinosa</i>	105
Figure 53 : Activité alpha amylase des différents extraits des deux parties étudiées de <i>S.bispinosa</i>	107
Figure 54 : la plaque de dosage de l'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase et l'acétylcholinestérase des extraits de <i>sesbania bispinosa</i>	108
Figure 55 : Activité butyrylcholinestérase des différents extraits des deux parties étudiées de <i>S.bispinosa</i>	111
Figure 56 : Activité acétylcholinestérase des différents extraits des deux parties étudiées de <i>S.bispinosa</i>	112
Figure 57 : Activité anti-inflammatoire des différents extraits des deux parties étudiées de <i>S.bispinosa</i>	114
Figure 58: Efficacité des différents extraits de la partie aérienne de <i>S.bispinosa</i> pour la plus forte dose par rapport aux temps utilisés sur les larves (L2) de <i>Meloidogyne.sp</i>	117
Figure 59: Efficacité des différents extraits des graines de <i>S.bispinosa</i> pour la plus forte dose par rapport aux temps utilisés sur les larves (L2) de <i>Meloidogyne.sp</i>	117

Figure 60: Efficacité des différents extraits de la partie aérienne de <i>S.bispinosa</i> pour la moyenne dose par rapport aux temps utilisés sur les larves (L2) de <i>Meloidogyne.sp</i>	118
Figure 61: Efficacité des différents extraits des graines de <i>S.bispinosa</i> pour la moyenne dose par rapport aux temps utilisés sur les larves (L2) de <i>Meloidogyne.sp</i>	118
Figure 62: Efficacité des différents extraits de la partie aérienne de <i>S.bispinosa</i> pour la faible dose par rapport aux temps utilisés sur les larves (L2) de <i>Meloidogyne.sp</i>	119
Figure 63: Efficacité des différents extraits des graines de <i>S.bispinosa</i> pour la faible dose par rapport aux temps utilisés sur les larves (L2) de <i>Meloidogyne</i>	119
Figure 64: Efficacité des différents extraits de la partie aérienne de <i>S.bispinosa</i> sur l'éclosion des larves de <i>Meloidogyne.sp</i>	122
Figure 65: Efficacité des différents extraits des graines de <i>S.bispinosa</i> sur l'éclosion des larves de <i>Meloidogyne.sp</i>	123

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les bienfaits de la présence des oligo-éléments dans l'organisme humain.....	37
Tableau 2 : Temps de rétention (Rt) en min, absorption dans l'UV (λ) en nm, fragments d'ions pseudomoléculaires ($[MH]^-$) et MS^2 en m/z , identification et pourcentage des composés détectés dans <i>S. Bispinosa</i> partie aérienne (Pa) et graines (G).....	72
Tableau 3 : Les composés identifiés dans la partie aérienne et les graines de <i>S. bispinosa</i> par GC-MS.....	76-77
Tableau 4 : Valeurs de la moyenne minimale, maximale et des écarts-types des fractions massiques des éléments minéraux dans l'étude de l'échantillon de la partie aérienne de <i>S.bispinosa</i> (mg/g sur la base de la masse sèche).....	79
Tableau.5 : Rendement d'extraction, contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes des extraits de la partie aérienne de <i>Sesbania bispinosa</i>	81
Tableau.6 : Le contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes des extraits des graines de <i>Sesbania bispinosa</i>	83
Tableau 7 : inhibition du radical DPPH par les extraits de <i>S. bispinosa</i> partie aérienne.....	86
Tableau 8 : inhibition du radical DPPH par les extraits de <i>S. bispinosa</i> graines.....	87
Tableau 9 : inhibition du cation radical ABTS ⁺ par les extraits de <i>S. bispinosa</i> partie aérienne.....	89
Tableau 10: inhibition du cation radical ABTS ⁺ par les extraits de <i>S. bispinosa</i> graines	90
Tableau 11: inhibition du radical Galvinoxyl (GOR) par les extraits de <i>S. bispinosa</i> partie aérienne.....	92
Tableau 12: inhibition du radical Galvinoxyl (GOR) par les extraits de <i>S. bispinosa</i> graines.....	93
Tableau 13: test de blanchiment du β -carotène par les extraits de la partie aérienne de <i>S.bispinosa</i>	94
Tableau 14: test de blanchiment du β -carotène par les extraits des graines de <i>S. bispinosa</i>	94
Tableau 15: activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC) de la partie aérienne de <i>S. bispinosa</i>	96
Tableau 16: activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC) des graines de <i>S.bispinosa</i>	97

Tableau 17: activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² -phénantroline de la partie aérienne de <i>S. bispinosa</i>	99
Tableau 18: activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² -phénantroline des graines de <i>S. bispinosa</i>	99
Tableau 19: Absorbance du pouvoir réducteur par les extraits de la partie aérienne de <i>S. bispinosa</i>	101
Tableau 20: Absorbance du pouvoir réducteur par les extraits des graines de <i>S. bispinosa</i>	102
Tableau 21: Inhibition de l'alpha-amylase par les extraits de la partie aérienne de <i>S. bispinosa</i>	105
Tableau 22: Inhibition de l'alpha-amylase par les extraits des graines de <i>S. bispinosa</i>	106
Tableau 23: Inhibition de la butyrylcholinestérase par les extraits de la partie aérienne de <i>S. bispinosa</i>	108
Tableau 24: Inhibition de l'acétylcholinestérase par les extraits de la partie aérienne de <i>S. bispinosa</i>	109
Tableau 25 : Inhibition de la butyrylcholinestérase par les extraits des graines de <i>S. bispinosa</i>	110
Tableau 26 : Inhibition de l'acétylcholinestérase par les extraits des graines de <i>S. bispinosa</i>	110
Tableau 27 : Inhibition de l'acétylcholinestérase par les extraits des graines de <i>S. bispinosa</i>	113
Tableau 28: Effet des extraits de <i>S. bispinosa</i> sur la mortalité des larves (L2) de <i>Meloidogyne.sp.</i>	115-116
Tableau 29 : Effet des extraits de <i>S. bispinosa</i> sur l'éclosion de <i>Meloidogyne.sp.</i>	121

Introduction

Introduction

Introduction

Depuis la nuit des temps, l'homme s'est familiarisé avec les plantes et les a utilisées de diverses manières et dans différents domaines. Cette relation entre les plantes et l'homme s'est développée, et de nombreuses plantes ont été utilisées comme remède traditionnel naturel. Les plantes médicinales jouent un rôle important dans la prévention et le traitement des maladies humaines. Ces dernières années, les effets pharmacologiques des plantes médicinales ont été considérés comme une source potentielle de futurs médicaments à base de plantes ("Comparative Nutritional Evaluation of Little Known Legumes, Tamarindus Indica, Erythrina Indica and Sesbania Bispinosa," 2004)(Shakya, 2016).

L'originalité des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires, ils accumulent des métabolites secondaires dont les fonctions sont très diversifiées, ce qui représente une source importante de molécules utilisables pour l'homme dans différents domaines, comme le domaine médical, et le domaine de l'agroalimentaire, mais aussi dans le domaine de la protection des végétaux.

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés, on retrouve les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (Bahorun et al., 1996).

Les substances naturelles, et les plantes en particulier, représentent une immense source des composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes, flavonols, tannins condensés), qui sont utilisés en médecine traditionnelle (Karmakar et al., 2011).

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire largement répandus dans le règne végétal se trouvant dans tous les fruits et les légumes. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes, mais avec une répartition quantitative qui varie entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées ("High Perform. Liq. Chromatogr. Phytochem. Anal.," 2010). Ils sont synthétisés par l'ensemble des végétaux, et ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbioses) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faibles températures, carences). Les polyphénols

Introduction

contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) (Visioli et al., 2000).

Les polyphénols sont des antibiotiques au sens large, car ils protègent les plantes contre les champignons, les bactéries, les animaux et même les autres plantes (Buchanan et al., 2000). Les polyphénols sont aussi connus pour leurs activités biologiques qui sont en relation directe avec la santé de l'être humain. Ils sont utilisés dans la chimiothérapie et dans le traitement de plusieurs types de cancer (Manach et al., 1996). Ils sont présents comme ingrédients dans plusieurs préparations cosmétiques utilisées dans le traitement du vieillissement cellulaire et la protection de la peau (Mena et al., 2014). Les polyphénols sont connus par leurs activités anti-oxydantes importantes, car ils peuvent agir par piégeage direct des ERO (espèces réactives de l'oxygène) (Halliwell, 1994). Ils sont aussi connus pour leurs activités enzymatiques, car ils peuvent inhiber l'activité de certaines enzymes comme le cas de l'acétylcholinestérase (Heinrich & Teoh, 2004).

Les plantes médicinales sont extrêmement nombreuses. En effet, les estimations indiquent que plus que 13000 espèces de plantes médicinales sont utilisées comme remèdes traditionnels par diverses cultures dans le monde entier (Tyler, 1993).

Sesbania bispinosa (Jacq.) W. Wight est un légume tropical appartenant à la famille des légumineuses, dont l'origine est incertaine. Pourtant, il s'agit peut-être du sous-continent indien (Orwa et al., 2009). Cette espèce a été introduite en Algérie, plus précisément dans la province de Biskra (Sud Algérien), où les conditions pédoclimatiques sont rudes. La station de l'ITIDAS (Institut Technique pour le Développement de l'Agriculture Saharienne) a mené, dans le cadre du projet de coopération avec l'ACSAD (Programme de Recherche Appliquée sur l'utilisation des eaux saumâtres et salées en Afrique du Nord), un travail pour introduire cette plante qui est connue pour son développement dans des conditions difficiles. Les plantes du genre *Sesbania* sont d'excellents fixateurs d'azote (Rinaudo et al., 1983) ; capables de se produire rapidement dans des sols déficitaires en ce dernier, possédant ainsi une grande utilité agroforestière (Chotechaungmanirat, 2010). En outre, *S. bispinosa* peut être utilisée comme carburant, fibre, gomme ou résine (Orwa et al., 2009). Cependant, c'est son utilisation en médecine populaire qui doit être soulignée. Le stress oxydatif est responsable de nombreuses pathologies parmi lesquelles le cancer, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson qui peuvent être mises en évidence. C'est pourquoi, les fabricants de multiples domaines tels que les industries cosmétique, alimentaire et pharmaceutique sont toujours à la recherche de nouvelles molécules

Introduction

antioxydantes capables de réduire les effets du stress oxydatif pour améliorer la santé des consommateurs (Institut européen des antioxydants IEA). En effet, les espèces réactives de l'oxygène (ERO) libérées par l'organisme humain lors des différentes attaques sont éliminées ou piégées par des molécules dotées de propriétés antioxydantes. Leurs rôles vont bien au-delà de celui de simples suppresseurs de radicaux libres ; ils sont utiles dans la prévention et / ou le traitement des maladies parasitaires et non-parasitaires. Toutes les plantes produisent des métabolites secondaires aux propriétés antioxydantes. Ces composés présentent plusieurs propriétés pharmacologiques, parmi lesquelles on citera les propriétés antibactériennes, anti-inflammatoires, vasodilatatrices, anti-cancérigènes, anti-thrombotiques, antiathérogènes, antipyrétiques, analgésiques (Dicko et al., 2011; Gómez-Caravaca et al., 2006). Notre étude précédente rapportait que les feuilles de *S. bispinosa* sont une source potentielle d'antioxydants naturels compte tenu de leur richesse en polyphénols (Larkem et al., 2017). Cette plante est traditionnellement utilisée pour traiter le cancer, la dysenterie, les maux d'estomac, le diabète, les maladies du foie, les maux de tête, les infections bactériennes et l'inflammation (Orwa et al., 2009). Il est reconnu que *S. bispinosa* a été utilisée comme culture d'engrais vert. Selon (Khan et al., 2007), les engrais organiques améliorent l'efficacité des engrais et réduisent l'utilisation des engrais inorganiques. Les engrais verts traditionnels (*Sesbania bispinosa*), les engrais organiques et les mauvaises herbes (*Ipomoea Carnea* et *Gliricidia maculata*) peuvent servir comme source alternative de nutriments aux plantes et peuvent remplacer tout engrais chimique. De plus, (Karmakar et al., 2011) a mentionné que *S. bispinosa* pourrait être utilisée comme matière première pour la production de pâtes, et que même les tiges fournissent une fibre solide qui est utilisée dans l'industrie du papier (Duke, 1981; Pugalenti et al., 2004). Ont recommandé *S. bispinosa* pour une consommation à grande échelle comme source alternative potentielle de protéines. Considérant que *S. bispinosa* est maintenant cultivée dans le Sahara algérien, sa valeur nutritionnelle et médicinale doit être validée. Par conséquent, la présente étude vise à étudier la composition chimique des extraits de la partie aérienne et des graines de *S. bispinosa*.

Certaines plantes sont utilisées traditionnellement par les agriculteurs pour lutter contre les nématodes à galles *Meloidogyne spp*, qui sont de redoutables bio-agresseurs (Bertrand et al., 1999). D'abord ce sont des vers microscopiques telluriques, vivant dans le sol, ils induisent des galles sur les racines des plantes qu'ils parasitent, vivant dans le sol et la plupart du temps à l'intérieur des racines, ils sont difficiles à atteindre. De plus, ils ont une incidence économique très importante à l'échelle mondiale car ils sont largement répandus sur le globe et s'attaquent

Introduction

aussi bien aux grandes cultures (céréales, pommes de terre, betteraves...), qu'aux cultures maraîchères, florales et fruitières. Le problème est particulièrement préoccupant dans les jardins potagers et les systèmes maraîchers méditerranéens (Espagne, Afrique du nord, Sud de la France...) où les conditions optimales de leur développement sont réunies (Djian-Caporalino et al., 2009). Les *Meloidogyne* parasitent plus de 5500 espèces de plantes (Blok et al., 2008) et sont largement répandues sur le globe. Les espèces les plus couramment rencontrées en région méditerranéenne sont *M. incognita* et *M. arenaria*. Enfin, problème était déjà présent dans les exploitations menées en agriculture biologique. Du fait des restrictions d'emploi ou de l'interdiction des nématicides chimiques, le problème se révèle de plus en plus préoccupant même dans les exploitations menées en conventionnel et peut devenir dramatique dans les années à venir (Djian-Caporalino et al., 2009).

L'utilisation de la chromatographie liquide ultra-haute performance couplée à la détection par matrice de photodiodes et à la spectrométrie de masse à ionisation par électronebulisation / piège à ions (UHPLC-DAD-ESI-MS / MS), ainsi qu'à la chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS), a permis d'établir le profil des métabolites secondaires. La spectrométrie d'émission optique à plasma à couplage inductif (ICP-OES) a été utilisée pour définir le profil minéral.

La méthode de Singleton et Rossi en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et la méthode $AlCl_3$ ont été utilisées pour la détermination des teneurs en polyphénols totaux, et en flavonoïdes totaux respectivement. Le potentiel antioxydant a été démontré par l'utilisation de sept méthodes (piégeage du radical libre DPPH, piégeage du radical Galvinoxyl (GOR), piégeage de l'ABTS, réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC), réduction par la formation du complexe Fe^{2+} -phénantroline, activité du pouvoir réducteur (RP) et le test de blanchissement de β -carotène). L'activité antidiabétique par l'alpha-amylase, anti-cholinestérase contre deux enzymes AChE et BChE, et l'activité anti-inflammatoire *in vitro* ont été évaluées. De même nous avons essayé de sélectionner les différents extraits de *S.bispinosa* qui ont un effet nématicide sur *Meloidogyne spp.*

Les résultats obtenus dans cette recherche pourraient enrichir la base de données algérienne des herbes médicinales et valider l'utilisation de *S. bispinosa* par la population locale. Ce travail vise à valoriser et à fournir des informations approfondies sur la valeur nutritionnelle de l'espèce et, ce faisant, à inciter à sa consommation. Simultanément, les résultats sont essentiels pour valider certaines allégations médicinales. Les analyses rapportées et discutées ici (HPLC-DAD-

Introduction

ESI-MS / MS ; GC-MS ; ICP-OES ; dosages des polyphénols et flavonoïdes, activités antioxydantes, activités enzymatiques, et activités anti-inflammatoires, effet nématocide en utilisant plusieurs extraits) ont été effectuées pour la première fois sur cette plante, raison pour laquelle elles sont essentielles pour valider l'utilisation de l'espèce. Ainsi, ce manuscrit est structuré comme suit :

Le premier chapitre est consacré à des généralités bibliographiques sur la région d'étude (Biskra, Algérie), les principales données bibliographiques et présentation botanique de *Sesbania bispinosa* ; une synthèse bibliographique sur les polyphénols qui permettra de décrire les métabolites secondaires principaux, leurs activités pharmacologique et biologique, les activités anticholinestérase, et anti-inflammatoire, les éléments minéraux ainsi que des généralités sur les nématodes à galles.

Le deuxième chapitre concerne la partie expérimentale comportant la description du matériel biologique, les méthodes d'extraction, les techniques analytiques LC-MS et GC-MS, la technique ICP-OES pour l'évaluation des éléments minéraux de la partie aérienne, et les méthodes d'évaluation *in vitro* des activités antioxydantes, anticholinestérase, antidiabétique, et anti-inflammatoire et ainsi que les différentes techniques adoptées pour l'évaluation *in vitro* de l'effet nématocide.

Le troisième chapitre comprend les résultats et discussion de l'analyse LC-MS de l'extrait méthanolique de la partie aérienne et des graines de *S. bispinosa*, l'analyse GC-MS de l'extrait hexanique des mêmes parties, l'analyse des éléments minéraux de la partie aérienne de *S. bispinosa*, ainsi que les résultats des activités antioxydante, anticholinestérase, antidiabétique, et anti-inflammatoire *in vitro* des extraits des graines et de la partie aérienne de *S. bispinosa*, de même, les résultats de l'effet *in vitro* des différentes concentrations des extraits de *S. bispinosa* sur les *Meloidogynes.ssp.* .

On terminera ce travail par une conclusion générale avec un récapitulatif sur les principaux résultats obtenus durant ce travail, ainsi que les perspectives qui feront l'objet de travaux ultérieurs. Une liste complète des références bibliographiques pour l'ensemble des chapitres est donnée à la fin du manuscrit.

**Généralités
&
données bibliographiques**

I.1.Présentation de la région d'étude : Biskra

I.1. Présentation de la région d'étude : Biskra

I.1.1. Situation géographique :

La région de Biskra ($4^{\circ}15'$ et le $6^{\circ}45'$ E et $35^{\circ}15'$ et le $33^{\circ}30'$ N, altitude entre à 29 et 1600 mètres) est située au centre-est de l'Algérie, la porte du Sahara Algérien. C'est un véritable espace tampon entre le Nord et le Sud, à environ 450 km au Sud-Est de la capitale. Elle s'étend sur une superficie d'environ 2 1671 km² (ANIRF, 2010). Elle est limitée au Nord par Batna et M'sila, au Sud par Ouargla et El-Oued, à l'Est Khenchela et à l'Ouest Djelfa (Fig.1)

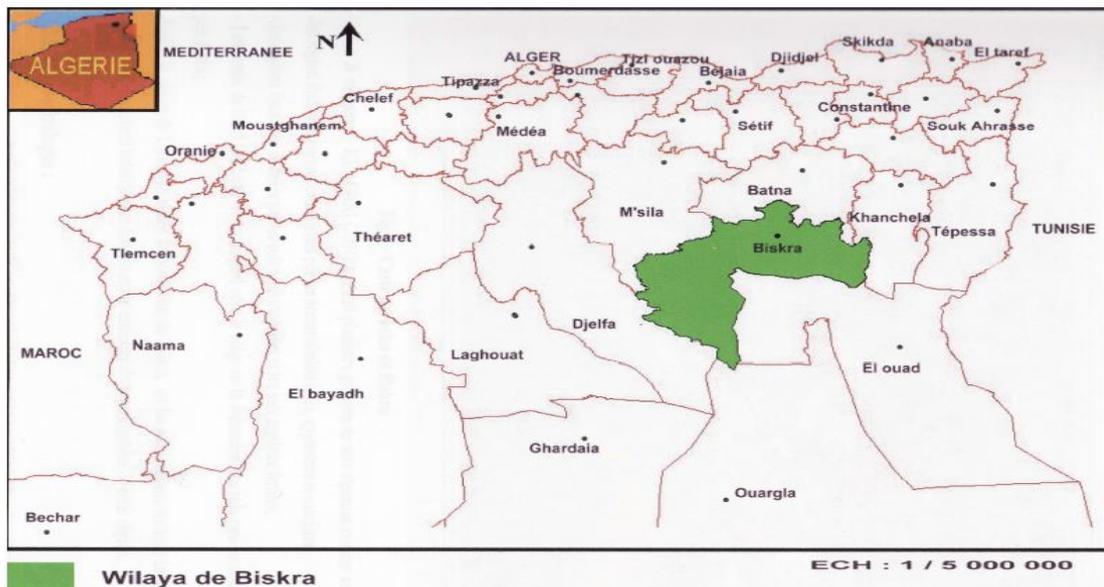


Figure 1 : situation géographique de Biskra (A.N.A.T. ; 2003)

I.1.2 Facteurs abiotiques :

D'après DREUX (1980), tous les êtres vivants sont influencés par un certain nombre de facteurs abiotiques. On cite le climat (température, précipitation, humidité et vents), les caractères physiques et chimiques du sol jouent eux aussi un rôle important.

I.1.2.1. Particularités édaphiques de la région de Biskra :

Les facteurs édaphiques ont une action écologique sur les êtres vivants, ils jouent un rôle important, en particulier pour les insectes qui effectuent une partie ou même la totalité de leur développement dans le sol (Turquin, 1974), DREUX, 1980. D'après (Ramade, 2009), le sol constitue l'élément essentiel des biotopes.

➤ **Le relief :**

D'une manière générale, la région de Biskra est composée de quatre éléments géomorphologiques divers : les montagnes, les plaines, les plateaux et les dépressions (Bougherara & Lacaze, 2009; Dubost & Larbi-Youcef, 1998). Selon l'agence nationale de développement de l'investissement (Jacobs et al., 1996) la région présente un relief diversifié avec :

Au nord des massifs montagneux qui sont de faible pourcentage (13%) de la surface totale et qui cèdent rapidement place un peu plus au Sud, aux plaines, puis aux vastes étendues steppiques, et sahariennes, parsemées d'oasis verdoyantes

➤ **Les facteurs géologiques :**

(Laffitte, 1939) a réalisé les premières études géologiques détaillées du Massif des Aurès et des régions voisines en particulier le Nord-Est de Biskra. C'est une région « synorogénique » liée principalement à la tectonique de l'orogène atlasique (alpine). A tous moments, les phénomènes tectoniques synsédimentaires, d'ampleurs diverses commandent la sédimentation, par conséquent le devenir des bassins. Selon SERDRATI *et al.* (2011), le sol de la région de Biskra est constitué par des formations géologiques d'origine sédimentaire allant du Barrémien à la base jusqu'au quaternaire calcaireux-gypseux avec des alluvions sableuses et argileuses alors que le Tertiaire est formé de bancs de grès et d'argiles sableuses ainsi que des formations carbonatées. Des montagnes sont situées dans le nord et occupent une superficie peu importante et généralement dénudées de toute végétation naturelle. Cette chaîne montagneuse est constituée des monts d'El Gaid, Hamara, Guessoum (1087 m), Rabba (721m), Kara, Bourezale, M'lili (1496m), Houja (1070m), Ahmar khedou et Tekiout (1942m). Les plaines s'étendent dans l'axe Est/Ouest (A.N.A.T, 2003 ; I.N.R.A.A, 2006).

Une Zone des plaines qui s'étend sur l'axe El Outaya- Sidi Okba- Zeribet El Oued et Doucen., elles sont caractérisées par des sols profonds et fertiles (A.N.A.T, 2003 ; I.N.R.A.A, 2006). Et enfin une Zone des dépressions Chatt- Melghigh, située dans la partie sud-est de la région de Biskra (A.N.A.T, 2003).

➤ **Facteurs pédologiques :**

Le sol constitue un élément essentiel du biotope, sa composition chimique et biologique présente une influence caractéristique de la distribution des végétaux et des animaux.

D'après (Halilat, 1998), les sols de la région de Biskra sont hétérogènes mais ils sont constitués des mêmes catégories rencontrées dans l'ensemble des régions arides de l'Algérie.

L'étude morpho-analytique des sols de la région de Biskra montre l'existence de plusieurs types de sols. Ces derniers ont comme traits pédologiques : la salinisation, les apports évolués, les remontées capillaires et les apports alluvionnaires et colluvionnaires (Bougherara & Lacaze, 2009).

L'étude morpho-analytique des sols de la région de Biskra montre l'existence de plusieurs types.

Les études de (Khachai, 2001) et A.N.A.T (2003) ont noté trois classes pédologiques :

- Les sols calci-magnésiques qui sont les plus répandus, se caractérisent par leur richesse en carbonates de calcium, en magnésium ou en sulfate de calcium et avec une structure bien développée. Ces sols se localisent dans le Sud et l'Est de la wilaya.
- Les chaînes montagneuses du Nord sont dominées par des sols peu évolués et peu fertiles et qui représente la deuxième classe.
- Les sols au niveau des plaines sont argileux-sodiques (plaine d'Eloutaya) ou halomorphes (Ain Naga et M'ziraa).

➤ **L'hydrographie :**

Divers oueds et cours d'eau temporaires à écoulement principal sillonnent la région et se déversent dans la dépression du Chott Melhrir. Les plus importants sont : l'Oued El Arab, à l'Est, qui prend sa source au Sud-Ouest de Khenchela, et l'Oued Djedi reçoit les eaux de ruissellement de l'aile Sud de l'Atlas saharien et parcourt le Sud de la région d'Ouest en Est (Bougherara & Lacaze, 2009; Dubost & Larbi-Youcef, 1998). Sur le plan hydrogéologique, Biskra se distingue par des ressources en eaux souterraines, relativement importantes par rapport aux régions du Nord, de même que celles du Sud du pays. Les 4 principaux aquifères inventoriés dans la région selon (A.N.A.T, 2003) sont les suivants :

- **La nappe phréatique** : localisée généralement dans les accumulations alluvionnaires.
- **La nappe de sable** : localisée au Sud-Ouest de la région, emmagasinée dans des roches mio-pliocènes, son toit est constitué d'une croûte calcaire-gypseuse et de dépôts alluvionnaires.
- **La nappe de calcaire** : aquifère piégé dans des calcaires, elle est soit captive soit artésienne. Avec la surexploitation elle est devenue moins productive et saumâtre.

- **La nappe du continental intercalaire** appelée improprement nappe albiennaise alors qu'elle est emmagasinée dans des roches barrémiennes. Cette nappe profonde, couvre essentiellement la région d'Ouled Djellal où elle est exploitée à une profondeur de plus de 2000 mètres.

➤ **Facteurs climatiques :**

(Dubief, 1959) a mis en évidence les grands traits du climat saharien et donne pour la région de Biskra et Ouled Djellal des précipitations qui dépassent les 100 mm. Cette région relativement arrosée est une zone de transition traduisant le passage progressif entre les conditions climatiques de l'Atlas saharien et celles du Sahara. Les aires climatiques semblent, donc se superposer sur les grands ensembles morphostructuraux. Ainsi, les derniers chaînons de l'Atlas saharien marquent la limite du climat aride

- **Température :**

La température est un facteur favorable lorsqu'il y a suffisamment d'eau, et de fait les mares, les suintements ou les oueds représentent un milieu biologique très riche. Mais en milieu sec la température devient un facteur aggravant car, elle augmente la vitesse de l'évapotranspiration, (Ozenda, 1991). Les oasis des Ziban sont parmi les zones arides caractérisées par un climat toujours peu pluvieux et parfois sec avec une pluviosité très irrégulière et inférieure à 200 mm/an (Dubost & Larbi-Youcef, 1998).

La température est un facteur limitant de première importance car elle contrôle l'ensemble des phénomènes métaboliques et conditionne de ce fait la répartition de la totalité des espèces et des communautés d'êtres vivants dans la biosphère (Ramade, 2009).

- **Pluviométrie :**

Elle constitue un facteur écologique d'importance fondamentale, non seulement pour le fonctionnement et la répartition des écosystèmes terrestres, mais aussi pour certains écosystèmes limniques tels que les mares et les lacs temporaires, et les lagunes saumâtres soumises à des périodes d'assèchement (Ramade, 2009). Les oasis des Ziban sont parmi les zones arides caractérisées par un climat toujours peu pluvieux et parfois sec avec une pluviosité très irrégulière et inférieure à 200 mm/an (Dubost & Larbi-Youcef, 1998).

- **Humidité relative :**

Selon (Ramade, 2009), l'humidité relative est le rapport entre la teneur en vapeur d'eau de l'air et la masse théorique de vapeur d'eau que peut renfermer l'atmosphère à saturation compte tenu de la température et de la pression barométrique existante. D'après (Stary, 1970), l'humidité relative est extrêmement liée aux températures. Cet auteur ajoute qu'une faible humidité associée à des températures élevées, affectent considérablement la vie des futures femelles des insectes et leur succès reproductif.

- **Vent :**

D'après (Fink & Völkl, 1995; Weisser Jr, 1997) cités par (Langer et al., 2004), les vents forts empêchent l'envol et la dispersion de l'insecte. Il constitue en certains biotopes un facteur écologique limitant. Sous l'influence des vents violents, la végétation est limitée dans son développement (Ramade, 2009). Il intervient des fois par sa violence, par les particules qu'il transporte et qui peuvent déchirer les parties aériennes des plantes et par les remaniements qu'il provoque dans le sol. Cependant son action peut être quelquefois favorable, par exemple lorsqu'il provoque un important dépôt de sable sur des sols salés qui étaient stériles, ou bien lorsqu'il contribue à la dispersion des végétaux et de leurs semences (Ozenda, 1991).

I.1.3. Facteurs biotiques

I.1.3.1. – Données bibliographiques sur la flore de la région d'étude

La structure végétale est fortement liée aux sols et aux climats d'après (Bougherara & Lacaze, 2009). La végétation naturelle de la région de Biskra est de type saharien, adaptée à un climat sec et chaud presque toute l'année. Ce milieu naturel propre à la région n'a bénéficié que de peu de travaux. L'étude effectuée par le comité local de la société botanique de France en 1892 citée par (Tarai, 1991) a fait ressortir une richesse floristique de 280 espèces. Les études phytosociologiques établies par (DES FORETS, 2003; Djebaili, 1984; Madani, 2008; Sana, 2003) ont mis en relief les groupements suivants :

- **Groupe à *Limoniastrum guyonianum* et *Traganum nudatum*** avec aussi localement *Zygophyllum cornutum* et *Limonium pruinosum*. Son taux de recouvrement est faible, oscille généralement entre 5 et 15 %. La liste floristique se compose également de : *Aristida plusoma*, *Astragalus guzhensis*, *Salsola tetrandra*, *Suaeda mollis*, *Fagonia microphylla* et *Beta macrocarpa*....
- **Groupe des Gypso- psammophiles et cryptosolontchaks :** Ce groupement s'observe sur des sols peu évolués et dont la végétation est dominée par *Thymelea microphylla* et

Traganum nudatum. Son taux de recouvrement est compris entre 5 et 20 % et il peut atteindre parfois 30%. Des plantes comme *Limonastrum guyonianum*, *Plantago ovata*, *Salsola vermiculata*, *Schismus barbatus* et *Erodium glaucophyllum* sont associées également à ce groupement.

□ **Groupement des hyper-halophiles** : Il est associé aux sols salés. Parmi les plantes halophiles, il y a *Arthrocnemum indicum*, *Aeluropus littoralis*, *Halocnemum strobiliaceum*, *Suaeda mollis*, *Limonium pruinosum* et *Frankenia corymbosa*.

□ **Groupement *Stipa tenacissima*** : Il est répandu sur les basses altitudes du versant sud de l'Atlas saharien. Son taux de recouvrement est de 35%. (Djebaili, 1984) a distingué que ce groupement comporte également 4 associations dont la plus importante est Centaureeto-Coronilletum-Anarrhinetosum. Elle est composée de : *Alyssum parviflora*, *Diploaxis catholica*, *Lolium rigidum*, et *Chrysanthemum macrotum*.

□ **Groupement à alliance**. Il est composé d'*Artemisia herba*, de *Plantago albicans*, de *Stipa parviflora*, d'*Astractylis serratuloides* et de *Schismus barbatus*, à l'exception des massifs montagneux au Nord-Est, où prédominent des formations essentiellement arborées et/ou arbustives décrites sous la dénomination forêt boisée. L'essentiel du paysage végétal du territoire est constitué par des formations steppiques naturelles et des oasis (Bougherara & Lacaze, 2009; Dubost & Larbi-Youcef, 1998; Gousko, 1964). Les Oasis sont particulièrement et essentiellement des palmeraies. Le palmier dattier *Phoenix dactylifera* (Linné, 1753) est en association avec une flore originale qui comprend des halophytes. La présence de ces dernières s'explique par la remontée de sels et des adventices liées aux cultures elles-mêmes (KAABECHE, 1990). Elle constitue l'essentiel du paysage dont la végétation très dense et stratifiée se compose de jardins-vergers. Les arbres fruitiers diversifiés : oliviers *Olea europaea*, figuiers *Ficus carica*, grenadiers *Punica granatum*, vigne grimpante *Vitis vinifera* sont d'autant plus rares que les palmiers qui les dominent sont plus nombreux. Les cultures annuelles sont représentées par : fève *Vicia faba* L., oignon *Allium cepa*, ail *Allium sativum*, petit pois *Pisum sativum*, courgette *Cucurbita pepo*, carotte *Daucus carota*, et navets *Brassica rapa* L. subsp. *Rapa*. Il est à noter ainsi que des aires de blé dur *Triticum turgidum* ssp *durum*, blé tendre *Triticum aestivum* et d'orge font place en été aux tomates *Solanum lycopersicum* L., piments *Capsicum annum*, melons *Cucumis melo* et pastèques *Citrullus lanatus* et parfois aux quelques aires de culture industrielle de tabac *Nicotiana tabacum* et le henné *Lawsonia inermis*. La culture d'oasis est intensive ; c'est une culture dont les travaux se font manuellement, et exigent beaucoup d'eau, surtout en été (Dubost & Larbi-Youcef, 1998; Ozenda, 1991).

Les cultures maraîchères en plein champ étaient pratiquées depuis très longtemps dans la région des Ziban. Ces cultures sont rencontrées spécifiquement dans le Zab Chergui. La culture de la fève verte est pratiquée le long des berges de l'Oued El Abiadh. Les cultures de pomme de terre et de melon - pastèque ont connu un essor dans le Zab Gherbi. Mais la plasticulture est relativement récente dans la région des Ziban, introduite en 1984 dans la zone d'El Ghrous et a connu depuis un essor considérable. Les cultures dominantes sous serres sont la tomate, le piment et les petits pois. L'installation des cultures sous abris a transformé le paysage de la région de Biskra, qui est passé d'une oasis à étages (palmiers dattiers, arboriculture et maraichage) à des cultures sous serres qui se développent à côté de plantations monospécifiques de palmiers dattiers. Aujourd'hui, le paysage est ainsi composé à perte de vue, de serres tunnels qui se sont développées sur de nouvelles terres, et de monoculture de palmiers (Amichi et al., 2015). Associée à toutes ces espèces cultivées s'installe un cortège floristique d'espèces spontanées ou adventices annuelles, bisannuelles ou /et vivaces très important (Deghiche-Diab, 2009; Deghiche, 2014).

I.1.3.2. Données bibliographiques sur la faune de la région d'étude :

(Deghiche-Diab, 2009; POPULAIRE, n.d.) ont réalisé un inventaire sur l'entomofaune des oasis de Biskra, ce qui leur a permis de collecter 115 espèces appartenant à 61 familles et 17 ordres de différentes classes : douze ordres d'Insecta, trois Arachnida, un Chilopoda et un Isopoda. Selon ce même auteur les ordres d'insectes les plus représentés sont les Coléoptères avec un pourcentage de 44,42%, les Hyménoptères (20,86%) et les Lépidoptères (7,87%).

Plusieurs groupes d'animaux sont représentés dans ce biotope, parmi lesquels nous citons :

- Les mammifères domestiques ; caprins (*Capra hircus*), ovins (*Ovis aries*), dromadaires (*Camelus dromedarius*), fennecs (*Fennecus zerda*),... (Belhamra et al., 2014),
- Les oiseaux ; moineau (*Passer domesticus*), pigeon (*Columba livia*), ... (Laamari & Hebbel, 2006; Le Berre, 1975),
- Les reptiles ; fouette-queue (*Uromastix alfredschmidti*), Poisson des sables (*Scincus scincus*),... (LE BERRE, 1973),
- Les rongeurs ; Gerboises (*Gerbillus campestris*), rats, ..., (Belhamra et al., 2014).
- Les hérissons Erinaceidae (Belhamra et al., 2014).
- Les arachnides (scorpions et araignées) et les insectes de différents ordres ; Orthoptères, Hyménoptères, Coléoptères, Diptères, Lépidoptères.... (Achoura & Belhamra, 2010; Deghiche-Diab, 2009; Deghiche, 2014; LE BERRE, 1973; MENACER, 2012; Moussi, 2012; Tarai, 1991),

**I.2 : Généralités sur Sesbania : *Sesbania bispinosa*
(Jacq.) W. Wight.**

I.2.1. – Origine et évolution de *Sesbania bispinosa* :

A / Dans le monde :

Les origines de *Sesbania bispinosa* (Jacq.) W. Wight., sont incertaines, l'espèce est peut-être originaire du sous-continent indien. Elle a été introduite dans de nombreuses régions et maintenant elle est largement répandue en Afrique tropicale, en Amérique centrale, dans les îles Vierges, en le Vietnam, en Chine, en Inde, au Sri Lanka, au Pakistan, à l'Ouganda, à Madagascar, aux îles Maurice, à la Réunion, et aux Seychelles pour la gamme exotique. La Gamme native, Ouganda Antigua-et-Barbuda, Bahamas, Barbade, Cuba.....(Orwa et al., 2009)

B /En Algérie :

Les conditions pédoclimatiques rudes du Sud algérien ; représentées principalement par les fortes chaleurs, les vents de sable et la salinité aussi bien du sol que de l'eau entraînent des rendements faibles des cultures fourragères. Dans le but d'améliorer cet état de fait, l'ITDAS a mené dans le cadre du projet de coopération avec l'ACSAD : « Programme de recherche appliquée sur l'utilisation des eaux saumâtres et salées en Afrique du Nord », des travaux d'introduction d'une plante fourragère « *Sesbania bispinosa* » qui allie à la fois rusticité et rendement élevé.

Des expérimentations menées durant plus de trois années au niveau de nos fermes de démonstration et qui étaient axées sur le comportement de cette plante d'une part et sur la qualité nutritive d'autre part, ont permis à l'ITDAS d'élaborer la fiche technique de la culture, dont nous relevons les aspects liés à sa productivité et à sa valeur nutritive (l'ITDAS ; 2013)

I.2.2. – Systématique et organes du *Sesbania bispinosa*

I.2.2.1. – Position systématique

Sesbania bispinosa, appartient à la famille des Fabaceae et au genre *Sesbania* Adans, qui comprend plus de 60 espèces originaires d'Afrique, d'Australie, d'Hawaii et de l'Asie, (Orwa et al., 2009), Le genre *Sesbania* se compose d'environ 60 espèces, comprenant les plantes annuelles, pérennes, herbes, arbustes et arbres distribués dans des climats tropical et subtropical (Veasey et al., 1999). Ce sont des excellents fixateurs d'azote et capable de se développer rapidement dans les sols qui ont un déficit en azote, possédant ainsi la haute utilité agroforestière comme l'inter récolte, couvre récolte, le fumier vert, le paillis et le fourrage (Chotechaungmanirat, 2010).

Cette espèce a comme classification :

- Ordre : **Fabales.**
- Famille : **Fabaceae.**
- Sous-famille : **Faboideae.**
- Tribu : **Robinieae.**
- Genre : **Sesbania Adans.**
- espèce : ***Sesbania bispinosa* (Jacq.) W. Wight.**

Synonymes :

- *Aeschynomene bispinosa* Jacq.
- *Coronilla aculeata* Willd.
- *Sesbania aculeata* (Willd.) Poir.
- *Sesbania aegyptiaca* auct. non Poir.

I.2.2.2. _ Description botanique

Sesbania bispinosa est un arbuste annuel à croissance rapide, ramifié pouvant atteindre une hauteur de 5 à 6 m, mais restant le plus souvent beaucoup plus modeste de 2 à 3 m (Fig.2) (Orwa et al., 2009).



Figure2 : *Sesbania bispinosa* (Mahmoud et al., 2015).

Sa tige cylindrique est semi-ligneuse, les branches et les rachis des feuilles sont plus ou moins épineux (Fig.3) (Orwa et al., 2009).



Figure 3 : La tige de *Sesbania bispinosa* (Mahmoud et al., 2015).

Les feuilles (Fig.4) sont composées, pennées avec 10 à 50 paires de folioles. Le rachis mesure 15 à 35 cm de long aux stipules lancéolées linéaires, dont la longueur atteint 5 à 10 mm. Les folioles sont linéaires oblongues, de 0,5 à 2 cm de long et 2 à 5 mm de large, à l'apex obtu, mucroné, à base aiguë, glabres sur les deux faces (Orwa et al., 2009).



Figure 4 : Les feuilles de *Sesbania bispinosa* (Mahmoud et al., 2015).

Les inflorescences et les pédicelles sont souvent aculéés. Les inflorescences sont en grappes retombantes, composées de 1 à 12 fleurs. La fleur (Fig.5) est portée par un pédicelle de 1 à 6 mm de long, le calice d'environ 3 à 5 mm de long sur 3 à 4 mm de large, glabre parfois pubérulent le long de la marge et des dents. La corolle est jaune pâle avec des taches brunâtres avec un étendard en forme de coin (Orwa et al., 2009).



Figure 5 : Fleur de *Sesbania bispinosa* (Mahmoud et al., 2015).

Le fruit est une fine gousse droite ou légèrement incurvée, d'environ 15 à 23 cm de long pour une largeur de 2 à 3 mm, contenant de nombreuses graines. Les graines sont ellipsoïdes d'environ 3 x 1,5 x 1,1 mm de couleur vert olive, vert-noir ou brun pâle (Orwa et al., 2009).

I.2.2.3. – Caractéristiques de la plante

Sesbania bispinosa est une plante annuelle avec des feuilles composées et des gousses lisses de 12 à 22 cm de long. Chaque gousse renferme entre 20 et 40 graines avec un poids de 17,5 g par 1000 graines et un rendement de 19 qx/ha. La racine est pivotante à nodosités et sa tige est longue atteignant 4 m (ITIDAS, 2013). Les fleurs sont principalement pollinisées par les abeilles, et les gousses mûres se brisent pour libérer les graines (Orwa et al., 2009).

- **Ecologie**

S.bispinosa est adaptée aux zones humides et aux sols lourds qui ne nécessitent pas beaucoup de préparation. En milieu humide, la tige produit une masse spongieuse de parenchyme, qui se développe dans une hauteur moyenne à élevée, le long des ruisseaux. Dans les zones humides ouvertes elle est souvent considérée comme une mauvaise herbe surtout dans les rizières. L'espèce pousse aussi le long des cours d'eau, dans les marais et sols sableux perturbés. Les feuilles de sesbania suivent la direction du soleil et elles se plient pendant la nuit (Orwa et al., 2009).

I.2.2.4. – Limites biophysiques de la plante

Sesbania bispinosa pousse bien à la fois dans des sols humides ou non irrigués, et elle est tolérante à l'alcalinité du sol même jusqu'à un pH de 10, avec des précipitations moyennes annuelles entre 550-1 200 mm et une altitude de 0 à 1200 m (Orwa et al., 2009).

I.2.2.5. – Techniques de production de la plante

La période de semis de *Sesbania bispinosa* est entre Avril – Mai avec une dose de 40 kg/ha et une distance entre lignes de 40 cm (Fig.6), la profondeur de semis est à 2 cm. La culture de *Sesbania* nécessite des fertilisants, une fumure de fond (organique) de 30 t/ha et une fumure minérale (P : 100 u K : 100 u et 20 u de N). L'irrigation se fait une fois/semaine et varie selon le stade de développement et les conditions du milieu (8000 à 10000 m³/ha) (ITDAS, 2013).



Figure 6: Semis en ligne de *Sesbania* (ITDAS ; 2013)

I.2.2.6. – Caractéristiques agronomiques de la plante

Les différents stades de développement de *Sesbania bispinosa* sont portés dans la figure 7



Figure 7 : Différents stades de développement de *Sesbania bispinosa* (ITDAS ; 2013)

I.2.2.7. – Production en fourrage

Sesbania bispinosa occupe une place dans la rotation après les fourrages d’hiver. Le rendement en matière verte est entre 35 à 40 t/ha avec un nombre de 3 coupes par cycle (Avril- Novembre) à un intervalle entre coupes de 30 à 40 jrs et une hauteur de la coupe qui atteint 40 à 50 cm en évitant de couper à ras de sol (7 à 8cm) (ITIDAS, 2013).

Le rendement annuel en matière verte de *Sesbania bispinosa* comparée à une autre plante fourragère (la luzerne) est présenté par la figure 8.

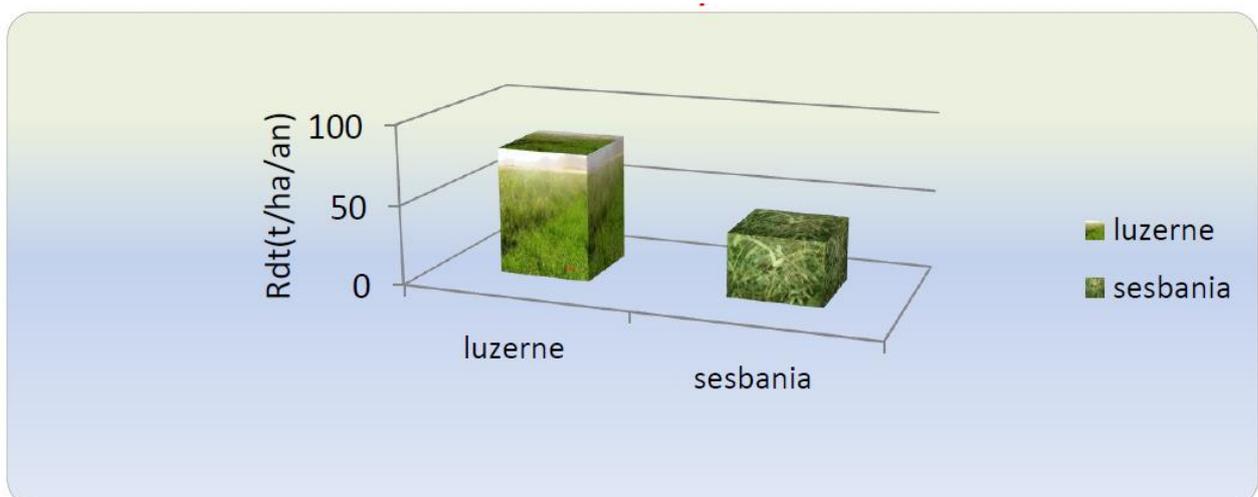


Figure 8 : Rendement annuel en matière verte de *Sesbania bispinosa* comparée à la luzerne (ITDAS, 2013)

La figure 8 montre que le rendement annuel en matière verte de la luzerne est plus grand comparativement à celui de *Sesbania bispinosa*

I.2.2.8. – Production et multiplication de semences

Après sa mise en expérimentation (3 années) et sa multiplication à travers nos fermes de démonstration dans des zones agro-écologiques différentes (zones des Ziban, Oued Righ et Touat), la semence fut répandue en milieu producteur au niveau de ces zones, ainsi quelques agriculteurs ont bénéficié de la semence de *Sesbania bispinosa* pour la diversification de leurs productions fourragères ; nous citons entre autres et à juste titre les agriculteurs de Tindouf, Touat et Tidikelt (ITDAS, 2013).

Les différentes étapes de production de semences de *Sesbania bispinosa* sont portées sur la figure 9



Figure 9 : production de semences de *Sesbania bispinosa* (ITDAS, 2013)

I.2.2.9. – Débouchés de *Sesbania bispinosa*

D'après (Orwa et al., 2009) *Sesbania bispinosa* est un arbuste polyvalent. Elle peut être utilisée comme :

- **Nourriture** : Les graines mûres de *S. bispinosa* sont cuites et mangées par les sectes tribales indiennes : les Katkharis et les Ghonds. (Orwa et al., 2009).
- **Fourrage** : *S. bispinosa* est utilisé comme fourrage pour les moutons, les bovins et les chèvres et peut également être transformé en ensilage. La production bovine aurait augmenté lorsque ces animaux auraient été nourris avec *S. bispinosa*. La Gomme de *S. bispinosa* pourrait être une source d'une quantité considérable d'une farine de graines hautement protéique pour l'alimentation du bétail (Orwa et al., 2009).

- **Carburant** : *S. bispinosa* produit du bois léger de petite taille. Lorsqu'il est complètement cultivé et séché, il fournit un bon carburant avec un pouvoir calorifique dont la valeur est de 4281 kcal / kg (Orwa et al., 2009).
- **Fibre** : La fibre est très utile et durable lorsqu'elle est utilisée dans des activités liées à l'eau. Au Bengale, cette dernière est utilisée pour les filets de pêche et la fabrication des cordes dont la durabilité et la force sont réputées pour être même supérieure, à la fibre de jute. Elle peut également être une bonne source de pâte à papier (Orwa et al., 2009).
- **Gomme ou résine** : la graine de *S. bispinosa* était une source potentielle de gomme de galactomannane de bon marché, car la plante peut être cultivée sur des sols de qualité inférieure sans soins supplémentaires ou d'investissement (Orwa et al., 2009).
- **Médicament** : Les feuilles et les fleurs sont préparées comme cataplasmes pour application externe ou prises comme décoction pour maladies. En raison des propriétés astringentes de *S. bispinosa*, les préparations faites à partir de celle-ci peuvent être utilisées contre l'inflammation, les infections bactériennes et les tumeurs. Dans la médecine traditionnelle, les graines mélangées avec de la farine sont utilisées pour traiter la teigne et d'autres maladies de la peau (Orwa et al., 2009).
- **Prestations de service** :
 - **Ombre ou abri** : *S. bispinosa* est planté comme une ombre temporaire, brise-vent ou comme haie.
 - **Récupération** : L'arbre est capable de croître dans les sols où peu ou pas d'autres cultures peuvent se développer, comme les sols alcalins ou salé et les sols de faible fertilité et de mauvaise texture. Elle joue donc un rôle dans la remise en état de ces sols.
 - **Fixation de l'azote** : Les nodules de racine qui fixent efficacement l'azote atmosphérique sont formés avec *Rhizobium*.
 - **Amélioration du sol** : *S. bispinosa* a une qualité de maintien remarquable sur les sols pauvres en fertilité et en texture, elle améliore le sol
 - **Perméabilité**. Les tiges restantes, les racines et les feuilles mortes enrichissent le sol en ajoutant de la matière organique. C'est aussi une importante culture de fumier vert. Des rendements de riz après une culture de fumier vert de *S. bispinosa* labourée en 60-70 jours après la plantation sont égales à celles obtenues avec l'application d'environ 80 kg N / ha d'engrais chimique.

- **Incorporation** : *S. bispinosa* a été incorporée dans les pratiques agroforestières dans les terres agricoles, à la ferme ou dans les systèmes d'élevage en allée (Orwa et al., 2009).
- **Gestion des arbres**

Comme *S. bispinosa* est habituellement cultivée sous forme de cultures non pluviales, elle n'a pas besoin d'irrigation. Les plantes de *S. bispinosa* dans des peuplements denses se ramifient moins. En raison de sa croissance très rapide, elle rivalise bien avec les mauvaises herbes et peut même supprimer *Imperata cylindrica* sur les sites où l'humidité est adéquate, donc elle ne nécessite pas de désherbage.

Sesbania peut produire une culture de fumier vert en 2-3 mois et une récolte de bois de feu en 5-6 mois. Dans certains domaines, elle est considérée comme une mauvaise herbe, si elle est utilisée comme engrais vert pour le riz, elle doit être labourée juste avant la plantation du riz, et retarder la plantation de ce dernier peut abaisser sa réponse au fumier vert (Orwa et al., 2009).

- **Gestion du germoplasme**

Les graines sont séchées au soleil pour maintenir leur viabilité et pour les protéger des attaques fongiques et des ravageurs comme les charançons.

Le comportement de stockage des semences est orthodoxe ; Un taux de germination de 24% a été enregistré après 41 ans de stockage ouvert à température ambiante (Orwa et al., 2009).

I.2.2.10. –Ravageurs et maladies de *Sesbania bispinosa*

S. bispinosa n'a pas besoin de beaucoup de soin, pendant sa croissance. Un certain nombre d'insectes ont été observés attaquant la plante, mais l'ampleur des dommages n'est jamais grave.

- **Les chenilles d'*Azygophleps scalaris*** (Fabricius, 1775) :

Elles attaquent les tiges ainsi que les racines et elles mangent la région de la moelle sans endommager l'épiderme. Les plantes à ce stade deviennent faibles, le meilleur contrôle est de déraciner ces plantes et de détruire les insectes. L'adulte d'*Azygophleps scalaris* est représenté par la figure 10. (Orwa et al., 2009).



Figure 10 : *Azygophleps scalaris* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera ; Cossidae) (*Pensoft.net*, 2011)

"Cossidae of the Socotra Archipelago (Yemen)". *Pensoft.net*. 2011-08-11. Retrieved 2011-12-19.

– La feuilleuse *Striglina scitaria* (Walker, 1862) :

Les larves endommagent les feuilles en tordant les parties terminales des feuillettes et vivent à l'intérieur. La figure 11 représente l'adulte de cette espèce



Figure 11: *Striglina scitaria* (Walker, 1862) (Lepidoptera; Thyrididae) (*Butterfly House*; 2016)

"*Striglina scitaria* (Walker, 1862)". *Butterfly House*. Retrieved 17 July 2016.

– *Thyposidra successara* et d'*Amsacta moorei* (BUTLER ; 1876) :

Leurs chenilles causent aussi des dégâts aux plantes, mais peuvent être contrôlées par pulvérisation de BHC ou de DDT. L'adulte d'*Amsacta moorei* est représenté par la figure 12



Figure 12 : *Amsacta moorei* (Butler ; 1876) (Lepidoptera ; Arctiidae) (Myers *et al* ; 2006)

Les insectes attaquent également la plante, ils peuvent attaquer les gousses et les graines. Ces dernières si elles ne sont pas correctement séchées sont sensibles à l'attaque des champignons et du charançon (Orwa *et al.*, 2009).

I.3 : Généralités sur les polyphénols et activité anti-oxydantes

I.3.1- Présentation générale sur les polyphénols :

Les polyphénols sont des phytomicronutriments synthétisés par les végétaux et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire. Ils participent à la défense des plantes contre les agressions environnementales (Gee & Johnson, 2001).

Les composés phénoliques sont divisés en une dizaine de classes chimiques en regroupant un vaste ensemble de plus de 8000 molécules. Ils présentent tous un point commun : la présence dans leurs structures d'au moins d'un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porte un nombre variable de fonctions hydroxyles. Les « Flavonoïdes » sont les représentants les plus nombreux (plus de 5 000 molécules isolées) et les plus connus (Dacosta, 2003). Parmi les antioxydants végétaux, les polyphénols apparaissent parmi les plus efficaces quant à leurs effets protecteurs dans l'organisme (Gee & Johnson, 2001). Néanmoins, de nombreuses autres structures existent, tels que les acides phénols (dérivés de l'acide Cinnamique, par exemple), tanins hydrolysables, coumarines, lignanes, quinones et autres phloroglucinols. Il est à noter que certains composés appartenant à ces groupes chimiques ne comportent en fait aucun hydroxyle libre. De même qu'on peut signaler la présence de fonctions phénoliques chez des composés naturels appartenant à d'autres groupes phytochimiques (terpènes, alcaloïdes...). (Dacosta, 2003).

I.3.2.- Principales sources et utilisations actuelles des polyphénols

Concernant la santé humaine les polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie puisque l'explication de l'efficacité supposée de nombreuses plantes médicinales repose en tout ou partie sur la présence de composés phénoliques dans ces plantes et l'hygiène alimentaire. De plus en plus d'études indiquent que les polyphénols pourraient diminuer le risque d'un certain nombre de pathologies, en particulier celles liées au vieillissement et aux lésions oxydatives (cancers, maladies cardiovasculaires ou neurodégénératives). En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (Bravo, 1998).

Ainsi les flavonoïdes les plus utilisés sont, d'une part ceux provenant du ginkgo (*Ginkgo biloba* L.), qui participent à la lutte contre la sénescence cérébrale et ses conséquences (altération de la mémoire, confusion...) et d'autre part, les citroflavonoïdes (flavonoïdes provenant de divers *Citrus*) et le rutoside (extrait de *Sophora japonica* L.), qui sont utilisés dans le traitement des troubles liés à la fragilité capillaire (insuffisance veino-lymphatique, crise

hémorroïdaire). Mais on attribue également aux polyphénols des propriétés neurosédatives (passiflore, *Passiflora incarnata* L.), antispasmodiques (thym, *Thymus vulgaris* L., *Thymus zygis* L.), anti-inflammatoires (camomille romaine, *Chamaemelum nobile* (L.) All. ; achillée millefeuille, *Achillea millefolium* L.) Et diurétiques (bouleau, *Betula* spp. Genêt à balai, *Cytisus scoparius* L. Link.).

Les coumarines sont utilisées pour leurs propriétés vasculoprotectrices (mélilot, *Melilotus officinalis* (L.) Pallas ; marronnier d'Inde, *Aesculus hippocastanum* L.), neurosédatives (aspérule odorante, *Galium odoratum* (L.) Scop.), diurétiques (piloselle, *Hieracium pilosella* L.), stomachiques et carminatives (angélique, *Angelica archangelica* L.) (Tapas et al., 2008). Si certains des effets qu'on prête aux dérivés phénoliques semblent indiscutables, il n'en convient pas moins de rester prudent : les polyphénols étant présents de façon ubiquitaire dans le règne végétal, leur responsabilité dans une action donnée semble souvent avoir été établie sur le fait qu'aucune autre molécule susceptible de justifier l'activité n'était présente dans telle ou telle plante réputée efficace ou par simple référence à un résultat obtenu *in vitro*, sans confirmation sur un modèle biologique pertinent. L'étude des polyphénols dans l'alimentation vise, quant à elle, plutôt à déterminer l'intérêt d'une alimentation plus riche en végétaux, qu'il s'agisse des fruits et légumes en général ou de certaines plantes en particulier. Le type d'avantage attendu est la prévention de pathologies inhérentes au mode de vie sédentaire favorisé par nos sociétés : lutte contre le cholestérol (isoflavones du soja) et la morbidité cardiovasculaire (vin rouge), le stress et la dépression (cacao, chocolat) et les cancers (thés vert et noir, café.). D'une manière générale, on peut dire qu'on cherche, à travers une alimentation plus saine, à vivre plus vieux et en meilleure santé (Bruneton, 1999).

I.3.3.- Classification des polyphénols

Leur classification a été proposée par (Harborne, 1980). On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant sur le nombre d'atomes constitutifs et de la structure de squelette de base. Deux principales classes sont largement répandues :

- Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques)
Les flavonoïdes.
- Les tanins et lignines

I.3.4.- Rôle des polyphénols dans les plantes

Parmi les fonctions majeures des flavonoïdes, citons leur contribution à la couleur des plantes notamment à celle des fleurs. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attractif sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de sa reproduction. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes. Les flavonoïdes montrent d'autres fonctions intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. D'autre part, ils possèdent souvent une activité antimicrobienne. Ainsi, il a été montré que les catéchines des feuilles du thé inhibent la croissance de micro-organismes en altérant des fonctions membranaires des pathogènes, les détruisant à plus ou moins long terme.

I.3.5.- Importance nutritionnelle des polyphénols

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans la qualité organoleptique des fruits et légumes, utilisés frais ou après transformation industrielle. L'intérêt thérapeutique potentiel des polyphénols date de la découverte de la vitamine C par Szent Gyorgyi (Prix Nobel 1937), chercheur à l'Université Szeged (Hongrie), qui a constaté que les symptômes hémorragiques du scorbut, liés à la fragilité ou l'hyperperméabilité des vaisseaux, étaient guéris par des extraits de paprika ou du jus de citron, riche en vitamine C et flavonoïdes. Cette action a été appelée propriété vitaminique P (P étant la première lettre de mot perméabilité). Malgré ces premiers résultats encourageants, les recherches ne permirent pas la suite d'attribuer un rôle essentiel aux divers polyphénols d'origine végétale. A partir des années quatre-vingts, c'est la découverte du rôle des radicaux libres dans les processus pathologiques qui a relancé l'intérêt pour les polyphénols dont les propriétés antioxydants sont remarquables (Dangles, 2006).

I.3.6.- Les polyphénols comme antioxydants

Les principaux mécanismes d'activité antioxydante sont :

- Le piégeage direct des EOR ;
- L'inhibition des enzymes impliquées dans le stress oxydant et la chélation des traces métalliques responsables de la production des EOR ;

- La protection des systèmes de défense antioxydants.
- Les polyphénols peuvent agir selon ces divers mécanismes :

a. Inhibition enzymatique :

Les phénomènes d'interaction polyphénols-protéines ont été largement étudiés *in vitro*, particulièrement dans le cas des flavonoïdes : inhibition d'une grande variété d'enzymes modulation du fonctionnement de divers récepteurs ainsi que du processus de transcription de certains gènes (par interaction du cytosol avec les facteurs de transcription ou certains précurseurs). Outre les effets antioxydants, ces interactions, qui sont encore à valider *in vivo*, sont vraisemblablement à la base des effets bénéfiques des flavonoïdes. Par exemples, les acides hydroxycinnamiques sont des inhibiteurs de protéines de coagulation, et jouent ainsi un rôle d'anticoagulant. L'inhibition de la production des EOR par les polyphénols, particulièrement les flavonoïdes, peut procéder directement par formation de complexe inhibiteur-enzyme et/ou par piégeage directe des EOR. Cette double action est bien illustrée par le cas de la xanthine oxydase, cette enzyme est considérée comme une source biologique importante de radical superoxyde. Hansaki et ses collaborateurs, dans une étude sur la maladie de la goutte, ont montré que les flavonoïdes peuvent agir sur l'activité de la xanthine oxydase et par conséquent, peuvent prévenir cette maladie en réduisant à la fois les concentrations de l'acide urique et celles du radical superoxyde dans les tissus humains. Les flavanones, les dihydroflavonols et les flavan-3-ols (cycle C non plan) ne sont pas inhibiteurs de la xanthine oxydase ; Les flavonols et les flavones (cycle C plan et conjugué avec les cycles A et B) ont la capacité d'inhiber l'enzyme (Hider et al., 2001).

b. Chélation des ions métalliques

Les ions du fer ou du cuivre sont essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques. Ils entrent notamment dans la composition des hémoprotéines et de cofacteurs d'enzymes du système de défense antioxydant (par exemple, les ions du fer pour la catalase, et ceux du cuivre pour le superoxyde dismutase). Mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction de Fenton :



En outre, l'autoxydation des ions Fe^{2+} et Cu^+ est une source de superoxyde et peroxyde d'hydrogène. Ainsi, complexer les ions du fer et du cuivre sous une forme qui bloque leur activité redox est un mécanisme d'action antioxydante. Divers polyphénols abondants dans les plantes et dans l'alimentation sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques.

La complexation des ions métalliques par les polyphénols induit typiquement un déplacement bathochrome de leur bande d'absorption dans le domaine UV-Visible. Les études menées par Van Acker et ses collaborateurs sur la chélation des ions du fer par certains flavonoïdes ont mis en évidence les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques (Hider et al., 2001).

b. Piégeage des radicaux libres

La réduction de divers radicaux par les polyphénols a été beaucoup étudiée afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydante. Grâce à leur faible potentiel redox, les polyphénols, plus particulièrement les flavonoïdes (Fl-OH), sont thermodynamiquement capables de réduire rapidement les radicaux superoxydes, peroxydes (ROO), alkoxydes (RO) et hydroxyle par transfert d'hydrogène :



Où X représente l'un des EOR mentionnés ci-dessus. Le radical aryloxyde (Fl-O \cdot) peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable. Eventuellement, le radical aryloxyde peut réduire le dioxygène pour donner une quinone et un anion superoxyde. Cette réaction est responsable d'un effet prooxydant des flavonoïdes. Ainsi, la capacité antioxydante des polyphénols dépend non seulement du potentiel redox du couple Fl-O \cdot /FlOOH mais aussi de la réactivité du radical Fl-O \cdot . Plusieurs travaux ont établi des relations entre la structure chimique des polyphénols et leur capacité à piéger les radicaux libres (Hider et al., 2001).

I.3.7. - Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6 000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires.

I.3.7.1. - Généralités sur les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont fréquemment décrits chez les Fabaceae. Ce sont des métabolites secondaires des plantes. Le terme flavonoïde provenant du latin "flavus", signifiant "jaune", désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ce groupe comprend comme son nom l'indique des composés jaunes mais aussi d'autres couleurs ou incolores. Structuralement les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules. En effet plus de 6500 structures ont été identifiées (Bruneton, 1999; Harborne, 1980).

Les structures de base des flavonoïdes *stricto sensu* sont représentées par la figure 13

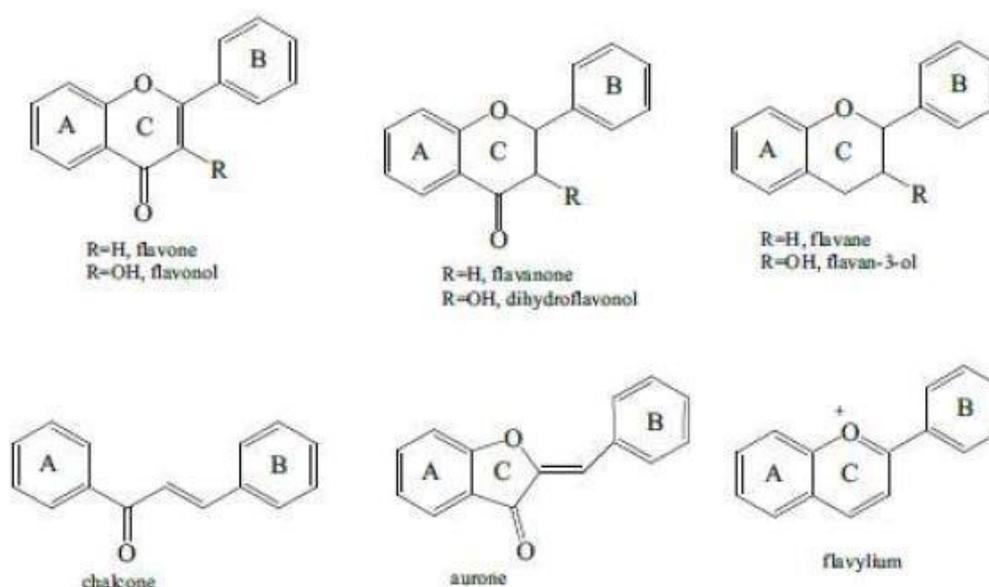


Figure 13 : Structures de base des flavonoïdes *stricto sensu* (Harborne, 1980).

I.3.7.2.- Fonctions des flavonoïdes pour les plantes

A/ Rôle de protection contre le stress environnemental

Les plantes étant immobiles, elles ont dû mettre en place un système de résistance pour combattre les effets de l'environnement et conserver leur forme. La dureté au gel et la résistance à la sécheresse sont parfois attribuées aux flavonoïdes et autres composés phénoliques. Il semblerait notamment que les flavonoïdes antioxydants ont un effet protecteur contre le stress attribué par la sécheresse. Les flavonoïdes pourraient également permettre aux plantes de survivre sur les sols riches en métaux toxiques comme l'aluminium. Ils jouent un rôle important dans la protection contre les UV en absorbant les radiations UV et en protégeant ainsi les tissus internes des tiges et des feuilles. Les flavonoïdes sont de puissants piègeurs des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et préviennent ainsi la peroxydation des lipides (Treutter, 2005).

B/ Rôles comme composés de défense

Les flavonoïdes de défense peuvent être divisés en deux groupes : ceux préformés, et ceux dont la synthèse va être induite par un phénomène physique, une infection ou un stress. Ils peuvent être présents de manière constitutive, mais leur synthèse va être augmentée par un facteur déclenchant, ou sont uniquement biosynthétisés après une agression et dans ce cas on parle de phytoalexines (Treutter, 2005).

C/ Interactions plantes-microorganismes

La plupart des plantes vivent en symbiose ou de manière commensale avec des microorganismes. Les racines de beaucoup de Légumineuses sont colonisées par des bactéries fixatrices d'azote. Beaucoup de flavonoïdes sont sécrétés par les racines des plantes et agissent comme des signaux d'induction de la transcription de gènes bactériens, nommés *nodD*, pour nodulation. Ceci représente une action significative des flavonoïdes dans la croissance et le maintien des plantes. Les flavonoïdes jouant le rôle de molécules de signalisation, sont variés : chalcones, flavones (lutéoline), dihydroxyflavones, flavanones (naringénine), isoflavonoïdes, flavonols, anthocyanidines. Les flavonoïdes, comme molécules de signalisation, interviennent à d'autres niveaux comme dans les interactions symbiotiques avec les champignons. La colonisation des plantes par des champignons mycorrhiziens apparaît comme un phénomène universel, permettant de transférer les minéraux, en particulier le phosphore aux plantes et de transférer les carbohydrates au champignon. La colonisation des racines de *Medicago truncatula* (alfalfa) par le champignon mycorrhizien *Glomus versiforme* entraîne des changements dans la composition en flavonoïdes et en isoflavonoïdes, ainsi qu'un changement de l'expression des gènes impliqués dans la biosynthèse de ces composés (Jiménez-González et al., 2008).

D/ Interactions plantes-plantes

Des activités antimicrobiennes des flavonoïdes ont été décrites comme participant dans les interactions allélopathiques plante-plante. Les rôles et les modes d'action ne sont pas encore élucidés complètement. Par exemple, la réduction de croissance de certaines graminées (maïs, riz...) peut être causée par la naringénine, entraînant une inhibition de la 4-coumarate CoA ligase et donc de la lignification. D'autre part, *Centaurea maculosa* sécrète au niveau de ses racines de la catéchine (flavanol) qui inhibe la croissance et la germination des graines de *Centaurea diffusa* et d'*Arabidopsis thaliana* (Treutter, 2005).

E/ Interactions plantes-pathogènes

Beaucoup de flavonoïdes possèdent des propriétés antifongiques : inhibition de cellulases microbiennes, de xylanases, pectinases, chélation de métaux nécessaires aux enzymes, formation d'une structure dure et cristalline agissant comme une barrière physique aux pathogènes. Les flavonoïdes jouent aussi un rôle important dans la résistance fongique, après la récolte, des fruits et des légumes. De fortes concentrations en flavonoïdes dans les fruits sont, en effet, très souvent corrélées avec une faible incidence de pathogènes. Cette constatation est

d'ailleurs mise à profit pour mieux conserver les fruits. Par exemple, l'irradiation UV de *Citrus aurantium* entraîne une augmentation de la concentration en flavonoïdes et réduit la contamination par *Penicillium digitatum* (Cushnie & Lamb, 2005).

F/ Interactions plantes-insectes et animaux

Le rôle des flavonoïdes dans les interactions plantes-insectes est très largement accepté. Certains insectes peuvent séquestrer des flavonoïdes synthétisés par les plantes dans leur cuticule pour s'en servir comme défense contre les prédateurs, ou dans leurs ailes pour attirer leurs congénères. Les flavonoïdes peuvent aussi avoir un effet négatif comme substances antiappétantes, comme réducteurs de la digestion et comme toxines. De plus, les flavonoïdes possèderaient des effets sur les herbivores. Il semble que des exsudats de *Cistus ladanifer* contenant de l'apigénine et du 3,7-diméthylkaempférol, inhibe le réticulum sarcoplasmique du muscle squelettique, entraînant ainsi une relaxation du muscle squelettique de la bouche de l'herbivore (Cushnie & Lamb, 2005).

I.3.7.3. Activités biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, ces dernières sont attribuées en partie aux propriétés anti-oxydantes de ces composés naturels. Les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (Fuhrman et al., 1995). L'action antioxydante de ces phytonutriments ne s'exerce pas seulement par l'inhibition et la désactivation des radicaux libres, elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation des traces d'ions métalliques responsables de la production de ROS (Cotelle, 2001; Halliwell, 1994). Le piégeage des ERO (R^{\cdot}) par les flavonoïdes est présenté par la figure 14.

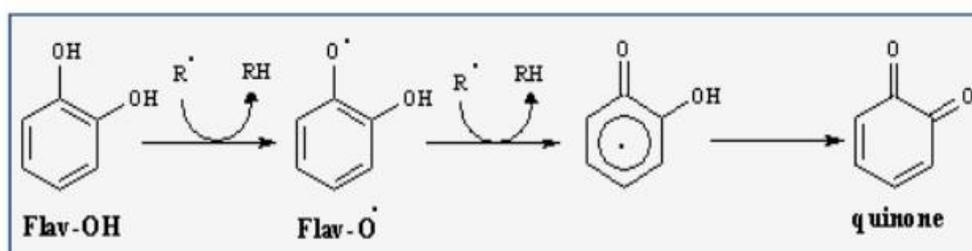


Figure 14 : Piégeage des ERO (R^{\cdot}) par les flavonoïdes (Jovanovic et al., 1998)

D'après (Cos et al., 1998; Zarei Hanzaki, 1994), les flavonoïdes sont des bons inhibiteurs d'enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la xanthine oxydase qui

est une source biologique importante du radical superoxyde. Les flavonoïdes sont aussi considérés comme de bons chélateurs d'ions métalliques (Dacosta, 2003), comme les ions du fer (Fe^{2+}) et du cuivre (Cu^+) qui sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques, mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



I.3.8. Les activités biologique et enzymatiques

I.3.8.1. Activité anti-inflammatoire

In vitro, plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire. Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens comme l'aspirine. Ces molécules bien qu'étant efficaces présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation au long cours (Gaziano & Gibson, 2006). Dans l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire on recherche les effets sur les premières phases de l'inflammation primaire et les effets sur l'inflammation secondaire. Sur l'inflammation primaire, on recherche les effets anti-érythémateux, anti-œdémateux et les effets de réduction du granulome. On étudie l'inflammation primaire et secondaire sur l'arthrite à l'adjuvant de Freund (LEQUESNE, 1983). À faibles concentrations, c'est la lipoxigénase qui est inhibée préférentiellement. Certains travaux suggèrent qu'elles posséderaient une bonne activité anti-inflammatoire sans les effets indésirables de type ulcérogène (Di Carlo et al., 1999).

I.3.8.2. Activité anti-cholinestérase

Il existe chez l'homme deux cholinestérases différents par leur origine, leur milieu de synthèse, leur structure, leur spécificité d'action, leur fonction physiologique et l'indication de la mesure de leur activité (Perry et al., 2000). L'acétylcholinestérase (AChE) est l'enzyme responsable de la métabolisation de l'acétylcholine, neurotransmetteur du système cholinergique qui est impliqué notamment dans les fonctions cognitives (Ellman et al., 1961). Son rôle physiologique est d'assurer le fonctionnement des synapses acétylcholinergique, en évitant l'accumulation du neurotransmetteur. Elle est aussi présente de façon anormale dans le liquide amniotique au cours du défaut de fermeture du tube neural. L'inhibition de cette enzyme va engendrer une diminution du turn-over de l'acétylcholine et donc augmenter les effets cholinergiques. Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase sont utilisés pour diminuer les symptômes de la maladie

d'Alzheimer. Dans la Maladie d'Alzheimer, les cellules nerveuses se détériorent progressivement, surtout celles produisant de l'acétylcholine, substance importante pour la mémoire (Perry et al., 2000). Le dosage de chacune de ces enzymes est effectué par une technique colorimétrique, mesurant la cinétique d'hydrolyse à l'aide d'un substrat défini : la butyrylthiocholine pour la cholinestérase sérique (très stable à température ambiante), l'acétylthiocholine pour la cholinestérase globulaire (Perry et al., 2000). Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChE) ont été utilisés dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Leur action favorise donc l'élévation de la concentration d'acétylcholine dans le cerveau. L'activité Acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase est déterminée par la méthode d'Ellman (Ellman et al., 1961).

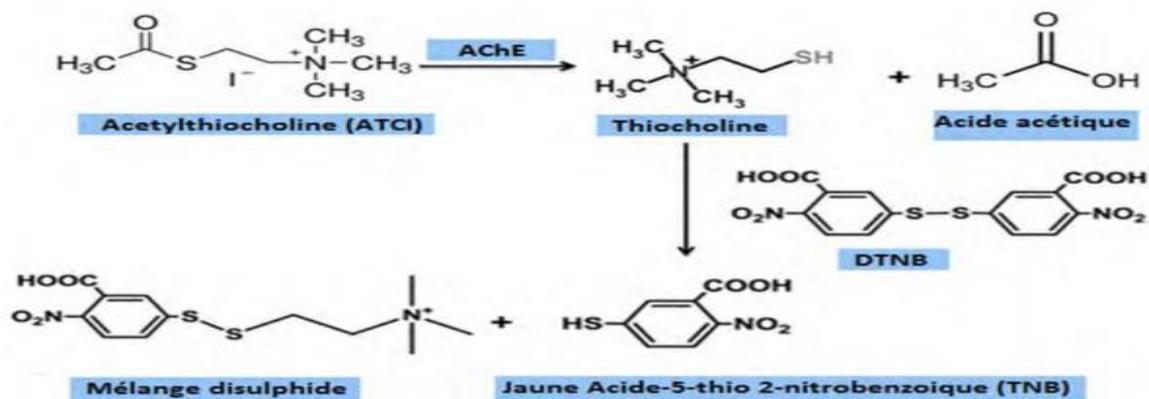


Figure 15 : Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman

I.3.9. Les éléments minéraux e

I.3.9.1 Introduction

Pour un bon développement et une bonne croissance des plantes les éléments minéraux sont indispensables, également pour la résistance aux maladies et ravageurs. Les éléments indispensables aux plantes sont : l'azote, le phosphore, le potassium, le calcium, le magnésium, le soufre, le manganèse, le molybdène, le cuivre, le zinc, le fer et le bore. À ceux-là viennent s'ajouter quelques autres éléments présentant une importance différente selon l'élément et les plantes concernées. En effet, selon le degré atteint par la carence ou l'excès, certains symptômes s'exprimeront et d'autres non. De plus, chaque genre voir même chaque espèce manifeste la carence ou l'excès d'un élément de manière très différente.

Les oligo-éléments sont des activateurs essentiels de nombreux mécanismes biologiques sur le plan digestif, musculaire, circulatoire ou cérébral. Bien que présents en très faibles quantités

dans le corps, ils sont indispensables à son fonctionnement et au maintien de son équilibre (Dubey et al., 2020; Gharibzahedi & Jafari, 2017; Soetan et al., 2010), Le tableau 1 résume le rôle et les sources alimentaires de quelques éléments de traces tels que Cr, Cu, Fe, F, I, Mn, Se et Zn.

Tableau 1 : Les bienfaits de la présence des oligo-éléments dans l'organisme humain

Oligo-éléments	Source alimentaire	Rôle
Fer (Fe)	Boudins, abats, cacao, légumineuses, jaunes d'œufs, fruits secs	Transporte l'oxygène dans les globules rouges
Fluor (F)	Eau de boisson, sels fluorés, poissons de mer	Participe à la fixation du calcium au niveau des os et de l'émail dentaire
Chrome (Cr)	Levure de bière, foie, rognons, germes de blé, pommes de terre	Agit sur le métabolisme des graisses et aide à diminuer le taux de cholestérol
Cuivre (Cu)	Foies d'animaux, coquillages, crustacés, légumes secs	Anti-inflammatoire, Anti-infectieux Affections rhumatismales inflammatoires.
Iode (I)	Algues, fruits de mer, ails, oignons, navets	Contribue au bon fonctionnement de la glande thyroïde.
Zinc (Zn)	Huîtres, pain complet, foies, jaunes d'œufs, viandes, coquillages,...	Cofacteur des différentes fonctions dont croissance, immunité et réparation de la peau.
Sélénium (Se)	Céréales complètes, viandes, volailles, poissons	Détruit les radicaux libres. Contribue à renforcer les défenses de l'organisme.
Manganèse (Mn)	Céréales, légumes, soja, œufs, café	Etats allergiques.

Source : (Dubey et al., 2020; Gharibzahedi & Jafari, 2017; Soetan et al., 2010)

I.4.- Généralités sur les nématodes à galles *Meloidogyne.ssp*

I.4. Généralités sur les nématodes à galles *Meloidogyne.spp*

➤ Introduction

Les nématodes du genre *Meloidogyne.spp* appelés communément nématodes sont les ravageurs les plus nuisibles sur cultures maraichères dans les pays tropicaux. Ces endoparasites sédentaires sont largement répandus dans le monde et se développent sur plus de 3000 espèces végétales comprenant les cultures maraichères, ornementales et arboricoles (Castagnone-Sereno, 2002). La présence du nématode a été signalée pour la première fois en Algérie par Delassus en 1928 dans les zones maraichères de la Mitidja (Scotto La Massese, 1961).

Ce nématode est toujours considéré comme le plus redoutable sur ces cultures, il est présent dans la quasi-totalité des parcelles des zones maraichères du pays (Mokabli, 1988; Sellami et al., 1999).

Il existe plus de 80 espèces décrites dans le monde dont quatre espèces représentent une importance économique particulière (Castagnone-Sereno, 2002) :

- ✓ *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949.
- ✓ *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949.
- ✓ *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White, 1919).
- ✓ *Meloidogyne hapla* (Chitwood, 1949)

Les trois premières espèces sont inféodées aux régions à climat chaud, en revanche *M.hapla* supporte les climats plus froids, elle est très fréquente dans les pays nordiques. (Agudelo et al., 2006; Castillo et al., 2006).

A/ Classification et position systématique:

(A. Hadwiger, 2005), énonce cette classification :

- Embranchement : Nematelminthe
- Classe : Secerentea
- Ordre : Tylenchida
- Sous ordre : Tilenchida
- Super famille : Tylenchoidea

- Famille : Heteroderidea
- Sous famille : Meloidogyninae
- Genre : Meloidogyne

B/ Description de *Meloidogyne spp*

Les nématodes phytoparasites sont des parasites obligatoires hétérotrophes, qui se nourrissent uniquement du cytoplasme des cellules vivantes. Ils possèdent tous un stylet buccal qui leur permet de perforer la paroi des cellules végétales, d'injecter des sécrétions salivaires dans ces cellules et d'en ingérer le contenu. Morphologiquement, le mâle des *Meloidogyne* est filiforme de 0.8 à 2 mm de longueur. A l'extrémité antérieure s'ouvre la bouche, elle est pourvue d'un stylet de 2 fois la largeur des lèvres, mince avec des boutons (Jacobs et al., 1996). C'est grâce à ce stylet que le nématode se nourrit. Il possède 1 ou 2 testicules débouchant, avec l'intestin, dans un cloaque où se trouvent deux spicules, ou organes copulateurs qui font saillie à l'extérieur.

Le stylet fin est composé de renflements basaux, possède un bulbe médian bien développé (Whitehead, 1998). Le système digestif est très développé, Le système nerveux n'est pas bien développé et l'appareil génital est constitué de deux cellules somatiques aplaties et de deux cellules germinales (De Guiran & Netscher, 1970). L'adulte présente un système nerveux constitué de 10 paquets de cellules nerveuses connectées aux organes des sens (amphides et phasmides) et aux muscles à travers tout le corps (Dropkin, 1989). Les femelles sédentaires des *Meloidogyne*, sont globuleuses et piriformes, de couleur blanchâtre, et mesurent environ 0.4 à 1.3 mm de long et de 0.27 à 0.75 mm de large. Chaque femelle pond environ 500 œufs dans une substance gélatineuse (A. Hadwiger, 2005). Les œufs en forme d'haricot ont des dimensions de longueur allant de 75 à 113 micromètres et de largeur variant entre 30 et 60 micromètres (Jones et al., 1992). Les mâles et les juvéniles du deuxième stade sont actifs et vermiformes et ont des tailles allant de 1 à 1.5 millimètres de longueur et de 300 à 500 micromètres de largeur respectivement, et de ce fait nous pouvons confondre entre ces deux formes pendant l'observation sous loupe binoculaire.

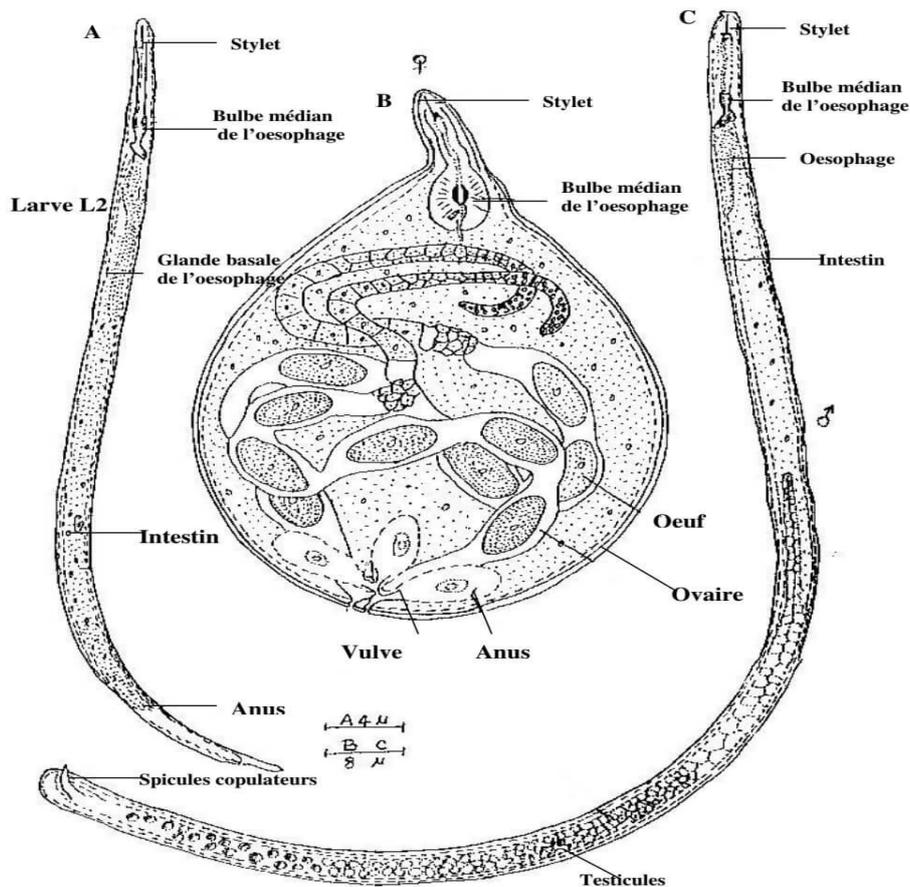


Figure 16 : Morphologie des *Meloidogyne* sp. (De Guiran & Netscher, 1970)

I.4.2.- Cycle de développement de *Meloidogyne.ssp*

Les nématodes à galles vivent dans le sol sous forme de larves du deuxième stade. Les juvéniles du deuxième stade pénètrent dans les poils des racines grâce à leur stylet et se fixent au voisinage du cylindre central où elles vont subir les différentes mues pour atteindre les stades mâle ou femelle (Figure 16). Les femelles de *Meloidogyne* en se fixant, causent ainsi des mitoses des cellules végétales, ce qui entraîne la formation des cellules multi-nucléées. Ces dernières constituent des sites nourriciers du nématode, qui sont localisés autour de la cellule géante et la tête du nématode (Keith G. Davies & Williamson, 2006). En réponse aux piqûres du parasite, les cellules corticales de l'hôte s'hypertrophient et donnent des galles d'un diamètre allant de 2 à 4 mm sur de petites racines, lorsqu'elles correspondent à un seul individu, mais peuvent devenir plus grosses dans le cas d'attaques multiples. La taille et la forme des galles dépendent de l'espèce de *Meloidogyne* mais aussi de la plante hôte. Pour se nourrir, et juste

après l'insertion du stylet à travers la paroi de la cellule, le nématode sédentaire secrète le contenu digestif des cellules des glandes de l'œsophage dans le tissu de la plante. Ces sécrétions enzymatiques synthétisées au niveau des glandes œsophagiennes du nématode induisent un changement dans l'expression génétique des cellules (Caillaud et al., 2008) en intervenant dans les étapes de pénétration et de migration intercellulaire, ainsi elles jouent un rôle dans la différenciation et le maintien du site nourricier et dans l'interaction plante- nématode (Jaubert et al., 2002). Chez *Meloidogyne incognita* et la plupart des espèces de *Meloidogyne* la reproduction est parthénogénétique. Les femelles sédentaires hypertrophiées continuent à grossir et pondent des œufs dans un sac gélatineux « masse d'œufs ».

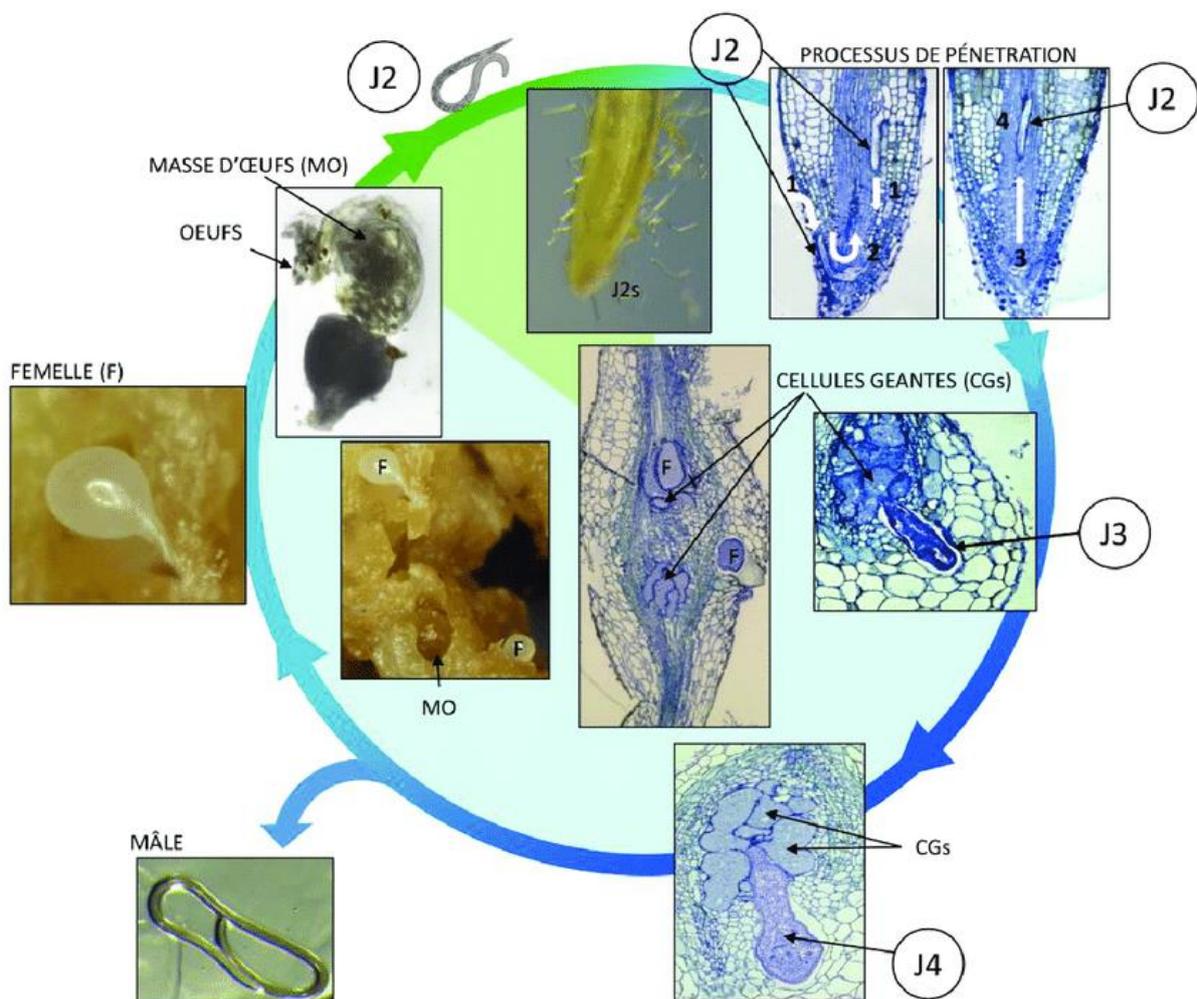


Figure 17 : cycle de développement de *Meloidogyne.ssp* (Abad et al., 2008; Khallouk et al., 2011)

I.4.3.- Symptômes et dégâts causés par les nématodes à galles

L'examen de l'aspect externe du végétal ne permet pas de faire un diagnostic exact d'une maladie due à un nématode. De ce fait, une analyse nématologique est obligatoire. Les symptômes souterrains et aériens sur la plante peuvent être ainsi décrits :

- **Sur la partie souterraine** : les symptômes caractéristiques de la présence des *Meloidogyne* sont le développement des galles sur les racines infestées. Cette altération morphologique de la racine est nocive pour la plante. Elle provoque une perturbation du métabolisme de l'absorption des nutriments et une augmentation du prélèvement des produits de la photosynthèse (Melakeberhan, 2006), ainsi qu'une inhibition de la croissance des racelles et un dysfonctionnement du système vasculaire de la plante infectée (Regnault-Roger et al., 2005).

- **Sur la partie aérienne** : Les racines infestées limitent le transport des nutriments vers le reste de la plante qui flétrissent rapidement et montrent des signes de carence en cas de forte infestation, et ne répondent pas normalement à la fertilisation. - Un retard de croissance de l'hôte et une réduction significative de la taille et de la vigueur des plants, sont aussi des signes d'infestation des plantes par les *Meloidogyne* (Siddiqui et al., 2002).

- **Au champ** : les symptômes sont caractérisés par la présence de « plages » dans les parcelles infestées représentant les foyers de regroupement des *Meloidogyne*. Même en absence de symptômes caractéristiques sur le système aérien, les rendements sont affectés par les attaques de *Meloidogyne*. Les pertes qualitatives et quantitatives de rendement augmentent avec l'intensité d'infestation (Coyne, 2007; Whitehead, 1998). L'évaluation des dégâts occasionnés par les nématodes reste difficile à établir de manière précise puisque leur incidence sur les rendements dépend de leur polyphagie, des densités initiales et des conditions du sol et du milieu, ainsi que de l'espèce voire même de la variété.

Ainsi, selon (Wesemael et al., 2006), des dégâts importants causés par les *Meloidogyne* dans les conditions de plein champ sont observés à une densité initiale de 5 à 10 larves par gramme de sol sur tomate. Sur cette même culture, (Van Damme et al., 2005), rapportent qu'une densité de 25 larves /cm³ de sol peut causer des pertes considérables. Enfin, ces pertes peuvent être plus importantes, du fait qu'il existe un rôle indirect des nématodes avec d'autres organismes. Ainsi, l'établissement des autres pathogènes à travers les blessures causées par la pénétration du nématode, accélèrent la dégradation du phloème des plantes et forment ainsi des maladies complexes avec les champignons tels que le *Fusarium spp*, le *Pythium*, et le *Rhizoctonia spp* (Gurr et al., 1992; Messiaen et al., 1991; Whitehead, 1998). Ainsi que les bactéries pathogènes

comme *Agrobacterium tumefaciens* agent causal du Grown Gall des plantes qui se développe plus intensément en présence du nématode à galles (Rubio-Cabetas et al., 2001). Les flétrissements dus aux bactéries *Pseudomonas solanacearum* et *Rolstonia marginata* sont accentués en présence d'espèces de *Meloidogyne* (A. Hadwiger, 2005; Whitehead, 1998). Chez les légumineuses fixatrices d'azote, Les *Meloidogyne* inhibent la symbiose entre légumineuses et bactéries en réduisant la nodulation (DUPONNOIS et al., n.d.; SHARMA & TRIVEDI, 1988)

En conclusion, s'il est difficile de chiffrer les pertes dues à ces bio-agresseurs, celles-ci peuvent être particulièrement graves dans certaines conditions climatiques et culturales.

I.4.4.- Gestion de nématodes phytoparasites

Il y a plusieurs méthodes pour lutter contre les nématodes phytoparasites. Selon la nature de la méthode employée, elles peuvent être regroupées en cinq catégories principales : les pratiques culturales ; les méthodes physiques; la lutte biologique ; la lutte chimique ; et la lutte génétique.

I.4.4.1. Les pratiques culturales

La rotation culturale est l'une des méthodes les plus anciennes et les plus importantes pour la gestion des ravageurs. La rotation avec des cultures résistantes ou non-hôtes pour deux à trois ans permet généralement un excellent contrôle des nématodes à galles pour les maintenir sous le seuil de dommage acceptable (Johnson & Fassuliotis, 1984). Cependant, Il est important d'éliminer des mauvaises herbes ou d'autres espèces qui peuvent servir comme réservoir des nématodes concernés. Par exemple, la rotation avec le maïs peut réduire les populations de *Meloidogyne hapla* (Johnson, 1982; Raymundo, 1985), et la rotation des cultures incluant le radis, le blé, le maïs, l'oignon et la tomate résistante peut être efficace contre les populations de *M. javanica* mais limitée car les nématodes à galles sont des polyphages (Kanwar & Bhatti, 1993). Les champs nus, sans plantes adventices, et labourés et exposés au soleil, privent les nématodes de leur alimentation, et sont, donc, un bon moyen de réduire la population des nématodes. L'irrigation pendant les périodes sèches peut aussi aider à réduire les populations de nématodes, sous réserve que les mauvaises herbes soient contrôlées efficacement (Averman, 1964; Johnson & Fassuliotis, 1984; Rhoades, 1982). L'incorporation de matières végétales décomposées dans le sol en grande quantité peut diminuer les populations de nématodes à galles. Ces matières organiques décomposées stimulent les populations de champignons, de bactéries et d'autres micro-organismes existant dans le sol qui sont des antagonistes aux nématodes (Badra et al., 1979; Muller & Gooch, 1982; Rhoades & Forbes, 1986; Rodriguez-Kabana et al., 1987).

I.4.4.2.- Les méthodes physiques

La solarisation est un processus hydrothermal qui consiste à couvrir pendant un mois et demi le sol, saturé d'eau en été, par un plastique fin transparent, afin d'élever la température du sol, qui peut atteindre 50-55 °C à 5 cm de profondeur, et 40-42 °C à 20-25 cm de profondeur. Ce processus désinfecte le sol des nématodes et des autres phytopathogènes (Guet, 2003). Cependant, cette solarisation change la microflore, qui peut engendrer des effets négatifs. Une autre méthode thermique pour désinfecter le sol est la vaporisation. Elle consiste à introduire de la vapeur d'eau dans le sol sous les bâches en plastique pour augmenter la température à un niveau létal pour les organismes nuisibles vivants dans le sol (Braga et al., 2001).

I.4.4.3.- La lutte biologique

La lutte biologique contre les nématodes phytoparasites emploie des organismes vivants antagonistes aux nématodes comme des champignons ou des bactéries (Keith G Davies & Spiegel, 2011; Stirling, 1991).

Des différents types des champignons utilisés en lutte contre les nématodes phytoparasites ont été décrits telles que : Les champignons prédateurs comme *Arthrobotrys irregularis*, un hyphomycète qui est capable de piéger rapidement les juvéniles de nématodes à galles (Cayrol, 1981). Les champignons ovicides comme *Paecilomyces lilacinus* (Cayrol et al., 1992; Jatala & BOCANGEL, 1979; Kiewnick & Sikora, 2006) ou *Verticillium chlamydosporium*, qui attaquent les embryons dans les œufs de nématodes (De Leij et al., 1993; Godoy et al., 1983; Kerry et al., 1984; Kerry & Deleu, 1991; Rodriguez-Kabana et al., 1984). Les nématophages à spores adhésives (Cayrol et al., 1992) incluent les oomycètes *Catenaria anguillulae*, *Myzocyttium lenticulare* et *Myzocyttium anomalum* qui forment des zoospores biflagellées, capables de se diriger vers les nématodes et de se fixer sur leur cuticule en s'y enkystant. Le zygomycète *Meristacrum asterospermum* qui produit des conidies sphériques, ces dernières se collent sur le corps du nématode et se développent dans le nématode; le Deuteromycète *Meriacioniospora* qui se développe en façon semblable à la précédente espèce; le basidiomycète *Nematoctonus leiosporus*, qui possède des spores adhésives en forme de bâtonnets se fixant sur la cuticule du nématode. Malgré leur grande ubiquité et leur polyphagie, ces organismes sont difficiles à cultiver sur des milieux synthétiques ; alors, leur utilisation en tant qu'agents de lutte biologique reste limitée. Cependant, les hypomycètes du genre *Hirsutella*, qui peuvent parasiter plusieurs espèces des nématodes phytoparasites se cultivent facilement sur plusieurs milieux synthétiques (Jaffee & Zehr, 1982; D Sturhan & Schneider, 1980). Ils existent aussi des

bactéries antagonistes des nématodes, par exemple, *Pasteuria spp.*, une bactérie à endospores. *Pasteuria spp* sont des agents pathogènes de plusieurs genres des nématodes phytoparasites (Alan & Peter, 1988; S. M. Brown et al., 1985; Gowen & Ahmed, 1990; Gowen & Tzortzakakis, 1994; Sayre & Starr, 1985; Stirling, 1985; Dieter Sturhan, 1988; Tzortzakakis & Gowen, 1994). Des populations différentes de la bactérie semblent être hautement spécifique, non seulement pour certains genres de nématodes (Starr & Sayre, 1988), mais aussi pour des populations de la même espèce (Channer & Gowen, 1992; K G Davies et al., 1988; Spaul, 1984; Stirling, 1985). Le cycle de vie de *Pasteuria penetrans* est parfaitement synchrone de celui de ses hôtes ; après adhésion, dans le sol, de ses spores libres sur la cuticule des nématodes, un tube germinatif entre dans la cavité générale de l'hôte où il se ramifie et finit par sporuler au détriment de la reproduction du nématode, qui ne produit plus d'œufs et meurt. Les nouvelles spores sont alors répandues dans le sol pour le cycle parasitaire suivant (Fould et al., 2000; Starr & Sayre, 1988). De nombreuses plantes, par exemple les tagetes, le ricin, le pois, les asperges et le sésame, possèdent des propriétés nématicides. Les tagetes sont les plantes le plus étudiées pour leur propriétés nématicides (McSorley, 1999; Ploeg, 1999). Ces plantes peuvent être cultivées en différentes façons pour protéger les cultures sensibles aux nématodes phytoparasites, en culture intercalaire ou en rotation en tant qu'autre culture. Ces plantes peuvent aussi être utilisées comme un engrais vert qui va être enfoui avant la culture sensible. De même, les extraits de ces plantes peuvent être appliqués dans le sol ou en traitant les plantules par ces extraits (Duval, 1993).

I.4.4.5.- La lutte chimique

Plusieurs nématicides chimiques sont utilisés pour lutter contre les nématodes phytoparasites, incluant des fumigants (1,3-dichloropropene, chloropicrin, dazomet, ethylene dibromide, métham-sodium, methyl bromide, methyl isothiocyanate) et de non-fumigants tels que des organophosphates (Ebufos, Ethoprophos, Fenamiphos, Fensulfothion, Isazofos, Terbufos, Thionazin) et des carbamates (Aldicarb, Aldoxycarb, Carbofuran, Cleothocarb, Oxamyl). En générale, les fumigants, et notamment le nétham-sodium et le 1,3- dichloropropene, sont plus efficaces contre les nématodes phytoparasites que les non-fumigants (R. H. Brown & Kerry, 1987; Noling & Becker, 1994), mais ils sont aussi plus nocifs pour l'environnement (Hutchinson et al., 1999). La majorité de nématodes phytoparasites passent leurs vies confinées dans le sol ou dans les racines des plantes, et la livraison d'un produit chimique directement à la rhizosphère de plantes est difficile. La surface extérieure de nématodes est biochimiquement une faible cible et imperméable à de nombreuses molécules organiques. La livraison d'un

composé toxique par une voie orale est presque impossible, car la plupart des nématodes phytoparasites ingèrent les molécules des nématicides seulement lors de l'alimentation sur les racines des plantes. Les nématicides efficaces sont généralement très toxiques à un large spectre d'espèces et leur utilisation présente un risque élevé pour la santé humaine et de l'environnement (Chitwood, 2003). Par conséquent, de nombreux nématicides ont été interdits dans l'UE, les Etats-Unis et d'autres pays. Plusieurs produits naturels ont été testés comme des alternatives potentielles des pesticides chimiques, incluent, par exemple, la chitine ou des extraits des algues. La décomposition de la chitine libère dans le sol de l'azote ammoniacal dans le sol qui probablement contribue à la réduction des populations de nématodes d'une façon directe (Mian et al., 1982), ou par la stimulation des activités lytiques des bactéries ou des champignons dans le sol (Godoy et al., 1983; Rodriguez-Kabana et al., 1987). Plusieurs recherches ont montré l'effet de la chitine sur la réduction des populations de *Meloidogyne incognita* (De Jin et al., 2005), *Heterodera trifolii*, *Tylenchus spp.*, et *Pratylenchus spp.* (Sarathchandra et al., 1996). De même, les extraits de certaines algues ont la capacité de réduire le nombre de nématodes phytoparasites dans le sol (Radwan et al., 2012; Wu et al., 1998).

I.4.4.6.- La lutte génétique

Finale, l'un des moyens le plus important de lutte contre les nématodes phytoparasites est l'utilisation de plantes cultivées résistantes. L'origine des résistances contre des nématodes phytoparasites sont très souvent des plantes sauvages apparentées, et les résistances ont été introgressées dans 17 plantes cultivées. La résistance peut s'appuyer sur un seul gène majeur ou sur plusieurs ou multiple gènes à caractère quantitatif. Le gène de résistance le plus caractérisé est le gène Mi, qui confère la résistance à plusieurs espèces de *Meloidogyne* sur tomate. Il a été transféré de l'espèce sauvage de tomate *Lycopersicon peruvianum* dans diverses variétés (Messiaen et al., 1991). La température est un facteur limitant du gène (Mi), les températures qui avoisinent ou dépassent les 28-30° C inactivent le gène. Il convient de préciser que cette température doit être effective dans le sol (CASTAGNONE, 1999).

I.4.4.7.- La lutte intégrée

La lutte intégrée repose sur l'association de plusieurs méthodes afin de maintenir les populations à un niveau assez bas pour que les dégâts occasionnés soient économiquement tolérables (Whitehead, 1998). Plusieurs options de lutte intégrée sont possibles. Ainsi, l'efficacité de l'incorporation d'amendements organiques au sol à l'égard de *Meloidogyne incognita* et *Meloidogyne javanica* est plus importante quand celle-ci est appliquée en

association avec la solarisation du sol (Oka et al., 2007). De même, l'application de la solarisation du sol avec *Bacillus firmus* est efficace contre les nématodes à galles (Giannakou et al., 2007). Les travaux de (Siddiqui et al., 2002) rapportent que l'application au sol de la rhizobactère : *Pseudomonas aeruginosa* cause une diminution significative des populations de *Meloidogyne javanica* sur la culture de tomate sous serre, cette efficacité est accentuée en présence d'un amendement riche en zinc. En fin, nous pouvons conclure que l'association raisonnée et bien étudiée de différentes méthodes de lutte contre les nématodes à galles a contribué à une réduction efficace des populations de nématodes dans le sol. De ce fait, cette méthode a diminué les risques apportés par l'abus de l'utilisation des produits chimiques qui ont des effets nocifs sur la qualité gustative ainsi que l'environnement et surtout sur l'équilibre biologique du sol

Matériels & méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1.- Description de la station d'étude l'ITDAS

La plante a été cultivée à la station ITDAS (Ain-Benoui, Biskra), une ferme de production de semences, située à El-Outaya (Biskra, Algérie). La longitude étant à 5,656 N, la latitude à 34,936 E avec une altitude de 207 m. La station d'El-Outaya est une propriété étatique de l'annexe ITDAS (Institut Technique de Développement de l'Agronomie Saharienne) dans la région des Zibans (Biskra), commune El-Outaya, localité Zmala. Elle se situe à côté de la région Nord (Biskra-Batna), sur une distance du centre urbain de 8 km. C'est une plaine avec un sol argileux–limoneux et non drainant, à texture fine. Elle est dominée par des vents Nord-Est et Nord-Ouest et le sirocco. Sa principale source d'eau est le forage avec une qualité de pH = 7,7, et CE : 4,53.

C'est une ferme qui occupe une superficie de 40 ha. Les cultures pratiquées sur le site expérimental sont l'olivier (3 ha), la vigne (1 ha), la luzerne (1,5 ha), les céréales (1 ha), les cultures sous serre (0,5 ha), le pistachier (1/3 ha), le poirier (1/3 ha), et un espace de (1/3 ha) destiné à l'essai de Sesbania et Quinoas pour la recherche appliquée dans le but de développer l'agriculture saharienne.

La figure 18 représente une vue générale de la station d'El-Outaya, et la figure 19 quelques cultures de la station.



Figure 18 : station d'El-Outaya (Originale)



Pistachier (Originale)



Poirier (Originale)



Sesbania (Originale)



Olivier (Originale)

Figure 19: espèces végétale de la strate arborescente et herbacée de la station Outaya

Il y a aussi d'autres cultures comme le maïs, le quinoa, la vigne et la luzerne

L'échantillon de la partie aérienne a été collecté en septembre 2019 et les graines en novembre 2019. Le matériel végétal a été identifié et confirmé botaniquement par le Professeur

Nacer Tarai à la station ITDAS, et le spécimen a été conservé sous la référence (N° 114 / Sb19 / DEDSPAZA).

II.2.- Réactifs et solvants utilisés :

- **LC-MS/GC-MS :** Le méthanol et l'hexane étaient de pureté HPLC ou de qualité analytique (Panreac, Barcelone, Espagne). Le sulfate de fer (II), l'hexacyanoferrate de potassium (III), le chlorure de fer (III), l'hydroxyanisole butylé (BHA), l'hydroxytoluène butylé (BHC), le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), la pyridine, le BSTFA, le TMSCl, le dichlorométhane (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Allemagne), HNO₃ (65%) (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Allemagne), l'acide chlorhydrique (37%) (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Allemagne). Plusieurs composés purs ont été utilisés comme étalons pour assurer l'identification des composés phytochimiques. Le Kaempferol-3-O-(6-p-coumaroyl) -glycoside (TransMIT, Marburg, Allemagne). Le Glycérol, la proline, l'acide malique, l'acide thréonique, le xylose, l'asparagine, le sorbitol, le ribose, le fructose, l'acide citrique, le pinitol, le mannose, la sérine, l'acide galactarique, l'acide palmitique, le myo-inositol, l'acide linoléique, l'acide oléique, l'acide stéarique, l'oléamide, le lactose, le cellobiose, le galactitol, le saccharose, la rutine, la quercétine, l'acide caféique, l'acide p-coumarique, l'acide p-hydroxybenzoïque, le stigmastérol, le β-sitostérol, le cycloartenol, le campestérol (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Allemagne). La (+) -Taxifoline et le kaempférol (Extrasynthèse, Paris, France).
- **ICP-OES:** HNO₃ (65%) (Sigma Aldrich-Germany), l'acide chlorhydrique (37%) (Sigma Aldrich-Germany) ; et l'eau distillée
- **Réactifs et standards de l'activité antioxydante et solutions enzymatiques :**
Le Folin-ciocalteu, le carbonate de sodium (Na₂CO₃), le trichlorure d'aluminium (AlCl₃), l'acide gallique, la quercitine, l'acide ascorbique, l'hydroxyanisole butylé (BHA), l'α-tocophérol et l'hydroxytoluène butylé (BHT), le diméthyl sulfoxyde (DMSO), le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•), (ABTS) 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique), le potassium de ferricyanide (K₂Fe), l'acide trichloracétique (TCA), le TBA (l'acide thiobarbiturique), le chlorure ferrique (FeCl₃), le β-carotène, l'acide linoléique, le Tween 40, le phosphate mono-potassique (KH₂PO₄) et le phosphate di-potassique (K₂HPO₄), l'eau distillé, l'acétate d'ammonium (NH₄Ac), la néocuproïne, le chlorure de cuivre (CuCl₂), DTNB 5,5'- dithiobis (l'acide 2-nitrobenzoïque), AchE, BchE, l'iodure d'acétylthiocholine (ACI), le chlorure de

butyrylthiocholine (BuCi) et la polyvinylpolypyrrolidone (PVPP). Le méthanol (CH₃OH), le chloroforme (CHCl₃), l'acétate d'éthyle, le n-butanol ont été obtenus auprès de Merck (Darmstadt, Allemagne) ; l'acide acétique, l'acarbose, la galantamine, l'amidon, la phénantroline, l'iodure de potassium (IKI), le tampon phosphate (pH=8), le tampon phosphate (pH=7). Tous les produits proviennent des laboratoires Sigma-Aldrich (Allemagne), Fluka (France), Riedel-de Haën et Prolabo.

II.3.- Techniques d'analyse chromatographique :

II.3.1.- Extraction et traitement du matériel végétal :

Dans le domaine des produits naturels, les scientifiques tentent d'extraire et de caractériser les métabolites secondaires produits par les plantes, en accordant plus d'attention à ceux utilisés en médecine traditionnelle. Pour mener à bien ce travail de thèse, on a choisi l'espèce *Sesbania bispinosa* (Jacq.) W. Wight) ; principalement en raison de son introduction en Algérie en 2013 en visant à lui trouver une valeur économique. L'extraction est une étape cruciale, non seulement parce qu'il est nécessaire d'extraire le plus de composants chimiques possibles pour établir les profils lipophiles (GC-MS) et polyphénoliques (UHPLC-MS), mais aussi sans effectuer de transformations chimiques. A cet égard, le travail a été structuré en plusieurs étapes (Fig.21) qui incluent les profils mentionnés ci-dessus.

Avant toute procédure expérimentale, la partie aérienne et les graines étaient souvent lavées à l'eau distillée pour éliminer les particules de sol. Elles ont été séchées à l'air, à l'abri du soleil et de l'humidité pendant 2 semaines. Les échantillons ont été broyés en une poudre fine à l'aide d'un mortier en agate, et le pilon a été passé à travers un tamis à mailles de 120 µm et stocké dans des récipients hermétiques à l'humidité.

10,5 g de chaque échantillon ont été extraits avec du méthanol (200 ml, cycles de 2 jours et trois fois) par macération. Le mélange a été filtré et les extraits combinés ont été concentrés sous vide par un évaporateur rotatif à une température de 40 °C, donnant respectivement 4,1 g et 2,56 g pour la partie aérienne et les graines respectivement. Le même mode opératoire a été adopté pour les extraits d'hexane, 15 g de chaque échantillon, après concentration sous vide ont donné respectivement 11,33 g et 11,55 g pour la partie aérienne et les graines.

Ces analyses ont été faites au niveau du laboratoire de chimie à l'Université d'Aveiro au Portugal



Figure 20 : Différentes étapes d'extraction de la partie aérienne et des graines (originale)

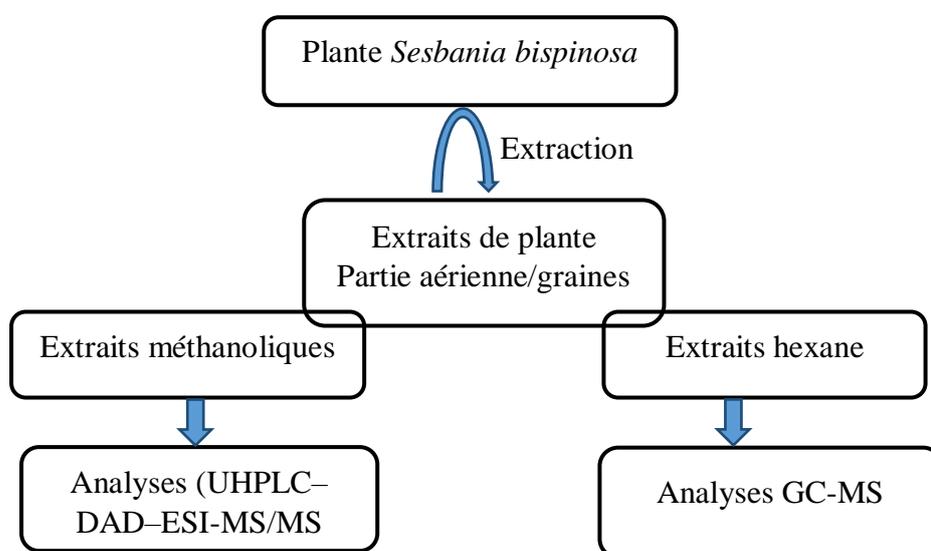


Figure 21 : Schéma d'extraction

II.3.2.- Analyse UHPLC-DAD-ESI / MSⁿ :

Pour l'UHPLC, 0,25 mg de l'extrait ont été dissous dans 2 ml de méthanol (2 mg/ml). La solution a été filtrée (membrane de nylon 0,2 micron, Whatman) et injectée dans un UHPLC-MS (Thermo Scientific Ultimate 3000RSLC Dionex). Trois analyses indépendantes ont été effectuées pour la reproductibilité. L'équipement contient un détecteur à barrette de diodes

Dionex UltiMate 3000 RS couplé à un spectromètre de masse. Une colonne d'or Thermo Scientific hypersil (N ° de pièce 25002-102130 ; Dim 100 mm x 2,1 mm ; Lot 14913 ; SN 10518298) avec une taille de pièce de 1,9 μm a été utilisée et la température a été maintenue à 30 °C. La phase mobile était composée de (A) 0,1% d'acide formique dans l'eau (v/v) et (B) d'acétonitrile, tous les deux dégazés et filtrés avant utilisation. Le débit était de 0,2 ml / min. Le gradient d'élution a été initié avec 5% de (solvant A) sur 14 min, 40% de (solvant B) sur 2 min, 100% (solvant A) sur 7 min et 5% au cours des 10 dernières minutes de rééquilibrage de la colonne. Le volume d'injection était de 2 μl . Les données spectrales UV-vis ont été recueillies dans une plage de 250 à 500 nm et les profils chromatographiques ont été documentés à 450 nm.

Le spectromètre de masse utilisé était un piège à ions linéaire LTQ XL 2D équipé d'une source d'ions électrospray orthogonale (ESI). L'équipement fonctionnait en mode ion négatif avec une source d'ionisation électrospray de 5,00 kV et une température de capillarité ESI de 275 °C. Le balayage complet couvrait une gamme de masse de 50 à 2000 m/z . Des expériences MS/MS et MS^n de dissociation induite par collision ont été acquises simultanément pour les ions précurseurs. L'identification des composés phénoliques a été réalisée en comparant les temps de rétention, les spectres de masse UV-vis et les données spectrales avec ceux des étalons de référence disponibles les plus proches et des données rapportées dans la littérature.

II.3.3.-Analyse GC-MS

Pour la procédure de silylation, 250 μl de pyridine, 250 μl de BSTFA et 50 μl de TMSCl ont été ajoutés dans un tube en verre à vis avec 20 mg de l'extrait dissous dans 1 ml de dichlorométhane. Le mélange a été placé dans un bain-marie à 70 °C pendant 40 minutes. Trois aliquotes de chaque échantillon ont été préparées de la même manière, puis chacune injectée dans l'appareil GC-MS. Les analyses GC-MS de chaque extrait d'hexane sillé ont été effectuées en utilisant un GC-MS QP2010 Ultra Shimadzu équipé d'une colonne capillaire ZB-5ms-J & W (30 m x 0,25 mm i.d. et une épaisseur de film de 0,25 μm).

Les échantillons ont été injectés avec un rapport de division 1:50 et de l'hélium comme gaz porteur avec un flux de 1,13 ml/min. La température de la colonne a été maintenue à 70 °C pendant 5 min puis augmentée, d'abord à 4 °C/min. jusqu'à 250 °C, suivie de 2 °C/min. jusqu'à atteindre 300 °C, qui a été maintenue pendant 5 min. La température de l'injecteur était de 320 °C et la température de la ligne de transfert était de 200 °C. Le spectromètre de masse a fonctionné en mode d'impact électronique (EI) avec une énergie de 70 eV, et les données ont

été collectées à une vitesse de 1 balayage / s sur une plage de m / z 50-1000. Les phytoconstituants des extraits des différents échantillons ont été identifiés sur la base d'une comparaison directe avec les entrées de bibliothèque de la base de données de spectres GC-MS (NIST14 Mass spectral et WILEY Registry™ of Mass Spectra Data) et en comparant les temps de rétention et les données spectrales du standard pur. Les composés disponibles (voir 2.1 Produits chimiques), ont été injectés dans les mêmes conditions chromatographiques.

II.4. Analyse minérale

Cette analyse a été réalisée au niveau du département de l'environnement à l'école nationale supérieure agronomique de Lisbonne au Portugal

II.4.1-Analyse des éléments minéraux ICP-OES

L'analyse des éléments minéraux nécessite, 0,3 g de poudre de *Sesbania bispinosa* de la partie aérienne placée dans une coupelle de combustion avec 3 ml de HNO₃ (65%) (Sigma Aldrich-Germany) et 3 ml d'acide chlorhydrique (37 %) (Sigma Aldrich-Germany). Ensuite, le mélange est chauffé à 105 °C sous agitation pendant environ 90 minutes (pour assurer que la poudre est devenue liquide). Pour diluer l'échantillon, le tube est recouvert jusqu'à 50 ml d'eau distillée, le mélange entier a été transféré dans un autre tube, et laissé s'homogénéiser et décanter. Enfin, le surnageant a été mis dans un ICP pour la détermination de l'élément minéral, et chaque échantillon a été analysé en triple.

II.5.- Analyses biologique et enzymatique

II.5.1.- Préparation des fractions de *Sesbania bispinosa*

Pour l'évaluation de l'activité *in vitro* de *Sesbania bispinosa*, partie aérienne et graines, différents procédés d'extraction ont été réalisés. Ces derniers sont regroupés en deux étapes majeures :

- **1^{ère} étape : Macération**

Cette étape consiste à mettre 200 gr de matériel végétal de la partie aérienne de *Sesbania bispinosa* dans un mélange hydro-alcoolique (MeOH / H₂O ; 80 : 20 ; V/V) 3 fois pendant 24 heures. Après, le mélange est filtré sur du papier filtre. Le filtrat est concentré sous vide à une température de 40 °C maximum par un évaporateur rotatif (R-210 BUCHI, Suisse) afin d'obtenir un extrait brut. A la fin de cette étape, un extrait hydrométhanolique de 7.28 g est obtenu. Quant aux graines de *Sesbania bispinosa* (140 g), et suivant le même protocole de macération, on a obtenu un extrait hydrométhanolique de 9.27 g.



Figure 22: Macération de *Sesbania bispinosa*, graines et partie aérienne

▪ **2^{ème} étape : Extraction**

Le produit obtenu (extrait hydrométhanolique) a été dilué avec de l'eau distillée tiède (300 ml), puis laissé au repos pendant 24 h pour décantation ; cette dernière permet le dépôt de la chlorophylle. Après, on filtre pour obtenir une solution aqueuse qui subit des extractions liquide-liquide par des solvants de polarité croissante : le chloroforme (300 ml), l'acétate d'éthyle (300 ml) et le butanol (300 ml) successivement. Les quatre fractions organiques récupérées sont concentrées et pesées conduisant à 0.85 g et 5.22 g de la partie aérienne et graines respectivement et ce, pour la fraction chloroformique, 1.88 g et 0.95 g pour la fraction acétate d'éthyle, 4.11 g et 0.36 g pour la fraction butanolique, et 2.08 g et 0.5 g pour la fraction aqueuse.



Figure 23: Les différentes fractions de *Sesbania bispinosa*, partie aérienne et graines

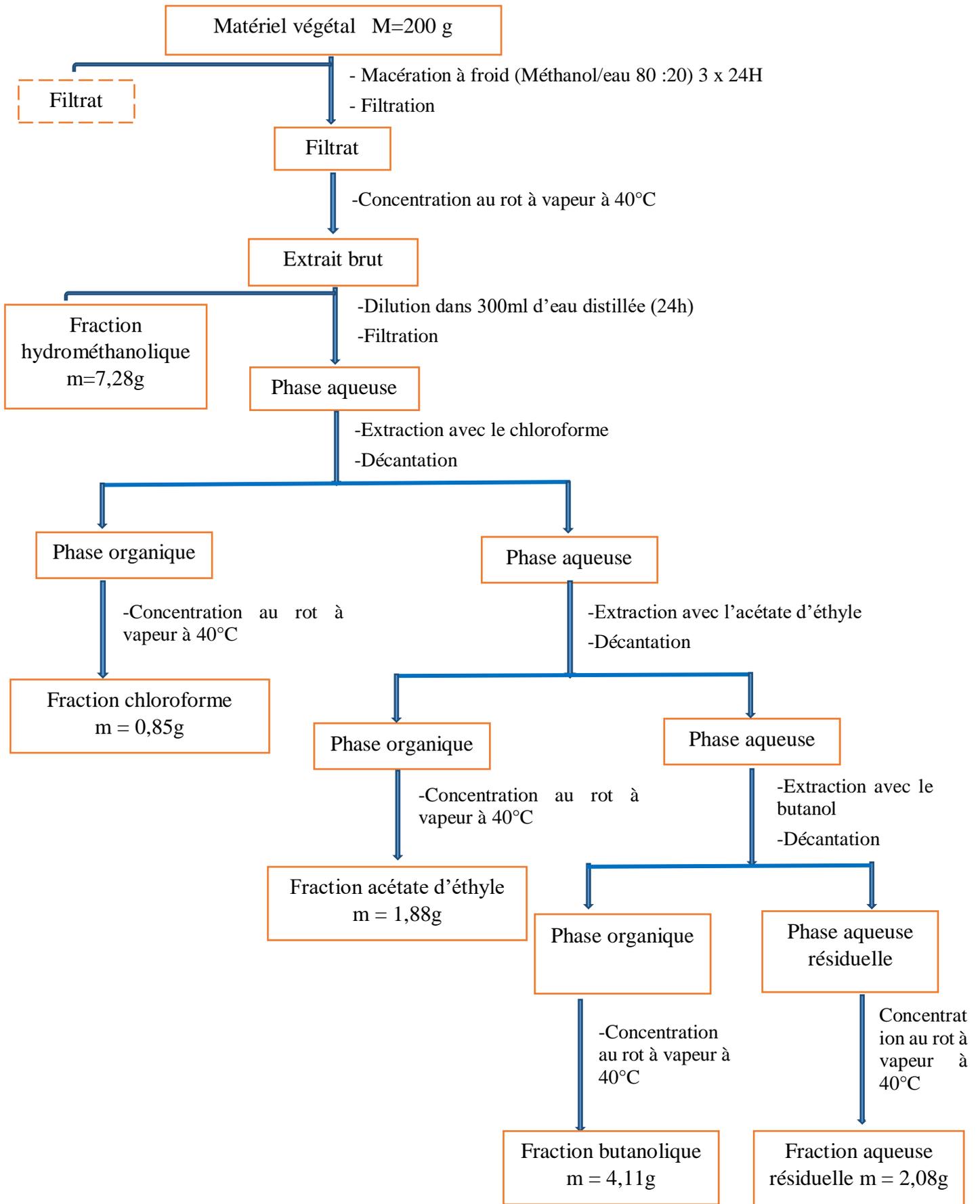


Figure 24: Schéma de la préparation des fractions de la partie aérienne de *Sesbania bispinosa*

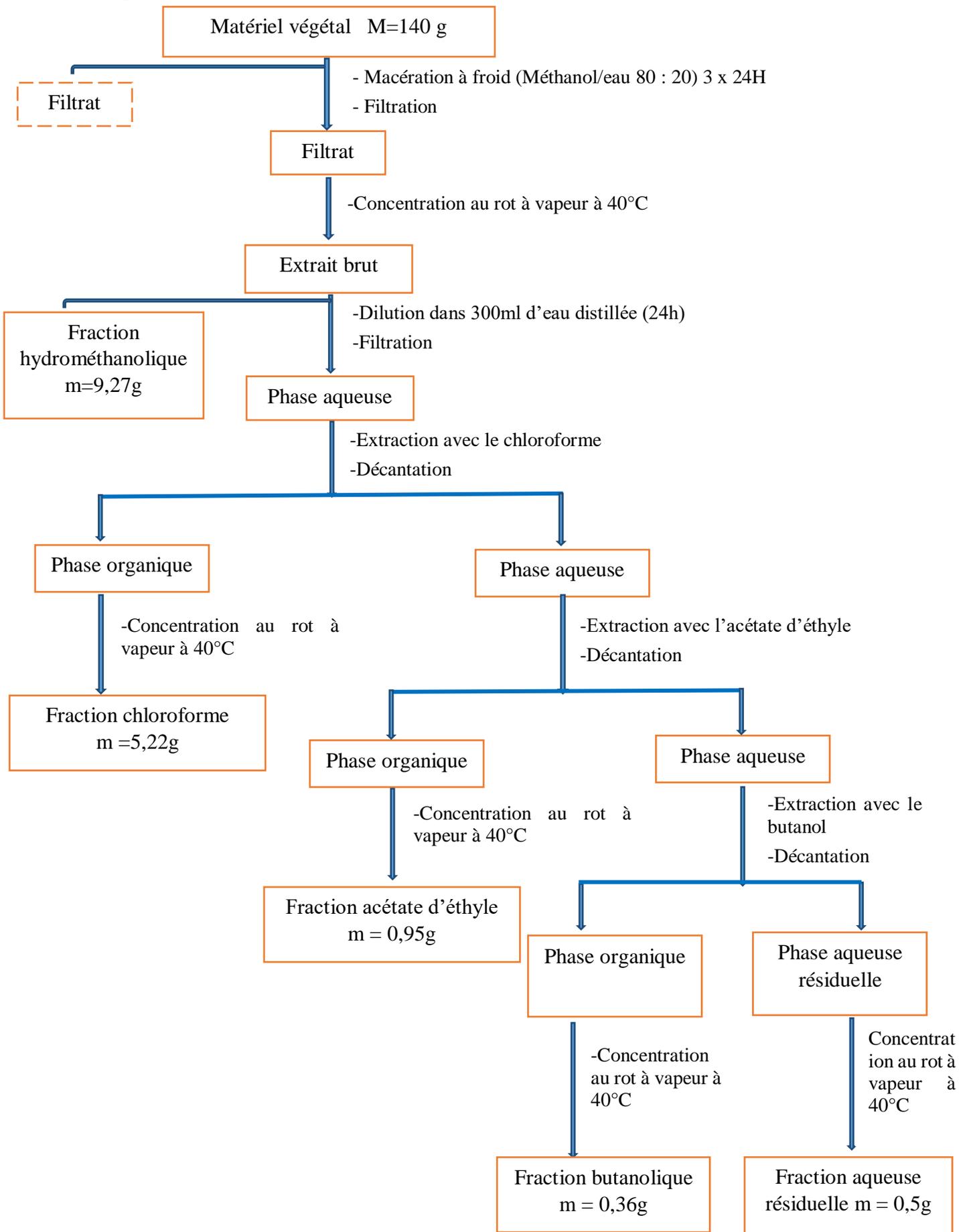


Figure 25: Schéma de la préparation des fractions de la partie aérienne de *Sesbania bispinosa*

II.5.2.- Activités biologiques :

Les mesures des absorbances des activités biologiques ont été faites à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits de marque Perkin Elmer (USA) avec son logiciel EnSpire au niveau du laboratoire de Biochimie au CRBT de Constantine.

II.5.2.1.- Détermination du contenu total en polyphénols et de la teneur des flavonoïdes :

➤ Estimation du contenu total en polyphénols (TPC) :

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965), selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par (Müller et al., 2010). Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximale aux environs de 750 -765 nm. Un volume de 20 μ l des échantillons est ajouté à 100 μ l de réactif de Folin-Ciocalteu dilué à (1:10) et 75 μ l de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (7,5%). Après 2 heures d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance de différentes intensités de la couleur bleue résultante a été mesurée à 765 nm. Un blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (méthanol). L'acide gallique (0-200 μ g /ml) a été utilisé pour la courbe d'étalonnage comme un standard. Les résultats ont été exprimés en μ g d'équivalent acide gallique (GAE) par milligramme d'extrait (μ g EAG / mg d'extrait) (Figure 26).

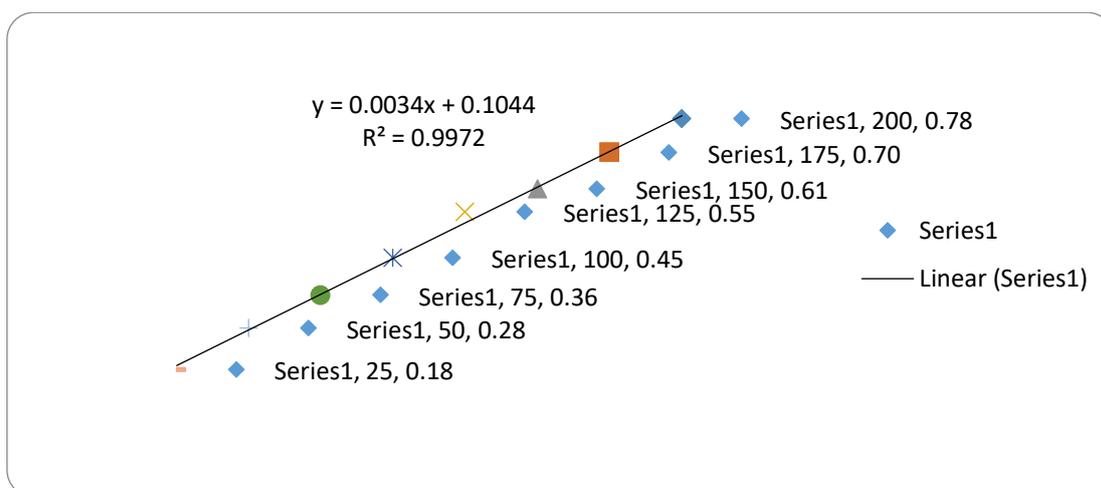


Figure 26: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Chaque valeur indique la moyenne \pm SD (n = 3).

➤ **Estimation du contenu total en flavonoïdes (TFC) :**

Le dosage des flavonoïdes des extraits est basé sur la formation d'un complexe entre Al^{+3} et les flavonoïdes. La méthode de (Topçu et al., 2007) est utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaques 96 puits. Un volume de 50 μ l de l'extrait est mélangé avec 130 μ l de méthanol, 10 μ l d'acétate de potassium et 10 μ l de nitrate d'aluminium. Après 40 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été lue à 415 nm. La concentration des flavonoïdes dans les extraits a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec la quercétine à différentes concentrations (0-40 μ g / ml). Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (μ g EQ / mg d'extrait) (Figure 27).

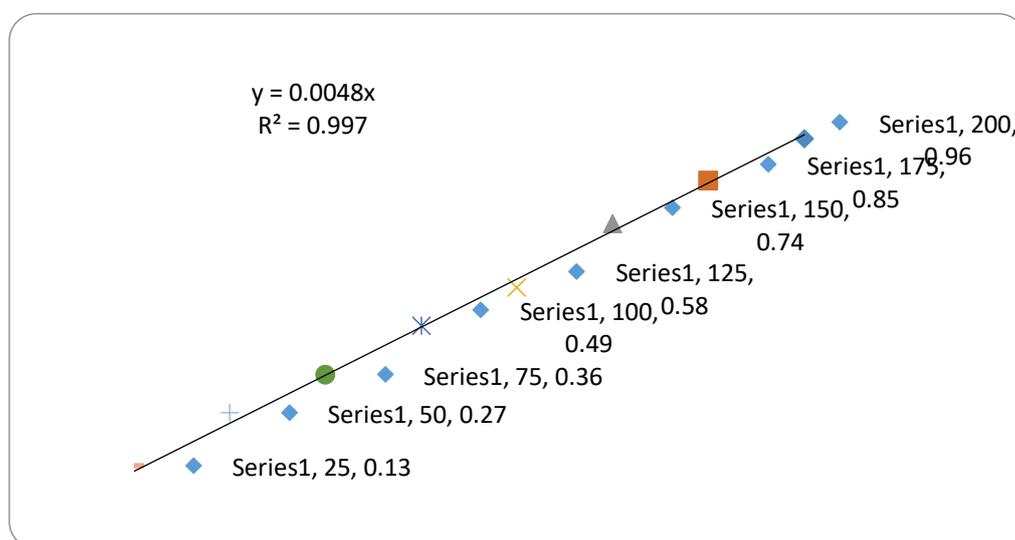


Figure 27 : Courbe d'étalonnage de la quercétine. Chaque valeur indique la moyenne \pm SD (n = 3).

II.5.2.2.- Activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits de la plante *Sesbania bispinosa*, partie aérienne et graines, a été réalisée par l'utilisation de sept méthodes : piégeage du radical libre DPPH, piégeage du radical Galvinoxyl GOR, piégeage de l'ABTS, réduction du complexe cuivre-néocuproïne CUPRAC, réduction par la formation du complexe Fe^{2+} -phénantroline, pouvoir réducteur et le test de blanchissement de β -carotène.

II.5.2.2.1.- Activité scavenger du radical libre DPPH, (2,2diphényl-1-picrylhydrazine)

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des extraits, la méthode colorimétrique est appliquée. En effet, le DPPH est utilisé comme radical libre relativement stable, selon le protocole décrit

par (Blois, 1958). En présence des piègeurs des radicaux libres, le DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyle) de coloration violette foncée se réduit en (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) de couleur jaune (Koleva et al., 2002).

Brièvement, à chaque volume de 40 µl de l'extrait préparé à plusieurs concentrations, il faut 160 µl de la solution de DPPH (0,004 %) préparé dans le méthanol. Après agitation, le mélange a été incubé à température ambiante pendant 30 min, la lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé dans les mêmes conditions dans le méthanol à 517 nm. Le pourcentage de l'activité antioxydante (I %) a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Effet de piégeage de DPPH\%} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

La concentration inhibitrice à 50 % (IC₅₀) est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la dégradation de 50 % de DPPH (c'est-à-dire les concentrations d'échantillons nécessaires pour piéger 50 % des radicaux libres) ; elle a été calculée par régression linéaire à partir des graphes des taux d'inhibition et elle est exprimée en µg / ml et comparée avec celle de standard BHT.

II.5.2.2.2.- Test de piégeage du cation radical ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique))

Ce test est la base de l'une des méthodes spectrophotométriques qui ont été appliquées dans la mesure de l'activité antioxydante totale des solutions de substances pures (Miller et al., 1996; Rice-evans et al., 1995). ABTS^{•+} est un radical organique synthétique de couleur bleu-vert, qui peut être réduit en présence d'antioxydants, avec la décoloration qui en résulte.

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de (Re et al., 1999). Un volume de 40 µl de l'extrait est dilué dans le méthanol à plusieurs concentrations. Le mélange a été maintenu à l'obscurité et à température ambiante. Après 10 min. d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 734 nm par un lecteur de microplaques de 96 puits. Un témoin blanc ou négatif approprié (solution ABTS avec le méthanol) a été utilisé. Le BHT et le BHA ont été utilisés comme produits antioxydants de référence. Le pourcentage d'inhibition a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Activité scavenger d'ABTS (\%)} = (A_C - A_E / A_C) \times 100$$

Où A_c : est l'absorbance du contrôle négatif, A_E : l'absorbance de l'échantillon d'essai. L'IC₅₀ de chaque échantillon a été déterminée graphiquement (n = 3)

II.5.2.2.3.- Activité du piégeage du radical Galvinoxyl (GOR) :

L'activité du piégeage du radical Galvinoxyl (GOR) est déterminée par la méthode décrite par (Shi et al., 2001). Dans une microplaque à 96 puits, un mélange contenant 160 µl du Galvinoxyl (4 mg dilués dans 100 ml de méthanol) et 40 µl de l'extrait dilué à plusieurs concentrations est déposé. Après incubation de 120 min, une lecture d'absorbance à 428 nm est réalisée. Le BHA et le BHT sont utilisés comme standards.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Activité du radical Galvinoxyl (\%)} = (A_C - A_E / A_C) \times 100$$

Où A_C : est l'absorbance du contrôle négatif, A_E : l'absorbance de l'échantillon d'essai. L' IC_{50} de chaque échantillon a été déterminée graphiquement ($n = 3$)

II.5.2.2.4.- Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC)

La capacité antioxydante réductrice cuivrique a été déterminée par la méthode d' (Apak et al., 2004) Brièvement, 40 µl des extraits à différentes concentrations ont été ajoutés à 60 µl d'acétate d'ammonium (NH_4Ac) (1 M, pH 7,0) ; ensuite 50 µl de néocuproïne (7,5 mM) et 50 µl de solution de chlorure de cuivre (10 mM) ont été ajoutés au mélange initial. Après 1h, l'absorbance à 450 nm est mesurée contre un réactif blanc. Les résultats ont été donnés et exprimés par des absorbances et comparés avec ceux du BHA et du BHT utilisés comme antioxydants standards. Les résultats ont été donnés en $A_{0,50}$ (µg/ml) qui correspond à la concentration fournissant une absorbance de 0.50.

II.5.2.2.5.-Activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phénantroline

L'activité de phénantroline est déterminée par la méthode de (Szydłowska-Czerniak et al., 2008). Un volume de 10 µl de l'extrait à différentes concentrations est déposé avec 50 µl de chlorure de fer anhydre (0.2% dilué dans 10ml d'eau distillée), 30 µl de phénantroline (0.5% dilué dans 10ml de méthanol) et 110µl de méthanol. Le mélange obtenu est incubé dans l'étuve à 30°C pendant 20min et l'absorbance est mesurée à 510 nm. Le BHA et le BHT sont utilisées comme des standards. Les résultats ont été calculés à titre de $A_{0,50}$ (µg/ml) correspond à la concentration indiquant 0.50 d'absorbance.

II.5.2.2.6.- Test de blanchissement du β -carotène

Cette étude de l'activité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition des composés volatils et les hydro-péroxydes à doubles liaisons conjugués qui apparaissent lors de l'oxydation de l'acide linoléique. Donc, elle consiste à mesurer la décoloration du β -carotène (orange) résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique (Gürsoy et al., 2012). La dispersion de l'acide linoléique et du β -carotène dans la phase aqueuse est assurée par du tween.

Le test du β -carotène est effectué selon la méthode décrite par (Marco, 1968). Brièvement, 1 mg de β -carotène a été dissous dans 2 ml de chloroforme, puis 50 μ l de l'acide linoléique et 400 mg de tween40 sont ajoutés à la solution obtenue. Après évaporation dans le chloroforme par l'évaporateur rotatif à 40°C, à la fin, 200 ml d'eau distillée saturée d'oxygène sont ajoutés sous une agitation vigoureuse de l'émulsion résultante. De cette nouvelle solution, 140 μ l sont transférés dans la micro-plaque et 60 μ l de chaque extrait à différentes concentrations sont ajoutés. La même procédure est répétée pour les contrôles positifs (BHT et BHA). L'absorbance a été mesurée à 490 nm à différents intervalles (0, 30, 60, 90 et 120 min.), avec l'incubation de la microplaque à 45 °C.

L'activité anti-oxydante (AA%) est calculée par l'équation suivante :

$$\text{Activité Antioxydante (\%)} = (A_C - A_E / A_c) \times 100$$

Où : A_C est le taux de blanchissement du β -carotène sans extrait et A_E est l'absorbance du β -carotène en présence de l'échantillon.

On a obtenu la concentration inhibitrice à 50 % (CI_{50}) à partir de l'équation de régression des pourcentages d'inhibitions calculés.

II.5.2.2.7.- Activité du pouvoir réducteur

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de fer ferrique (Fe^{3+}) dans le complexe ferricyanide à la forme fer ferreux (Fe^{2+}) qui est déterminé par la détection spectrophotométrique, ayant une forte absorbance (couleur verte) à 700 nm (Oyaizu, 1986).

En bref, 10 μ l des extraits de différentes concentrations ont été mélangé à 40 μ l de tompon phosphate (pH : 6.6) et 50 μ l de potassium ferricyanide $K_3Fe(CN)_6$ (1%), le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min après on ajoute 50 μ l d'acide trichloroacétique (TCA) (10%) et 40 μ L

H₂O et 10 µL de chlorure de Fer (FeCl₃) (0.1%) ont été ajoutés au mélange. L'absorbance a été mesurée à 700 nm contre le blanc.

II.5.3.- Activités enzymatiques

II.5.3.1.- Evaluation de l'activité antidiabétique

L'activité antidiabétique des divers extraits de *Sesbania bispinosa*, partie aérienne et graines, a été testée selon la méthode d'inhibition de l'alpha-amylase.

➤ Inhibition de l'alpha-amylase

L'activité de l'alpha-amylase a été déterminée par la méthode de (Zengin et al., 2014) avec quelques modifications. Sur une microplaque de 96 puits, un volume de 25 µl d'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 50 µl d'une solution d'α-amylase 1U, puis incubé pendant 10 min. à 37 °C. Ensuite, 50 µl d'amidon (0.1 %) sont additionnés. Le mélange est incubé une autre fois pendant 10 min. à 37 °C. Après incubation, 25 µl d'acide hypochlorique 1M (un volume de 4.17 ml d'HCl pur est dilué dans 45.83 ml d'eau) et 100 µl d'iodure de potassium iode sont ajoutés. La lecture de l'absorbance est réalisée à 630 nm. L'acarbose est utilisé comme standard.

Le pourcentage d'inhibition de l'α-amylase a été calculé par la formule suivante :

$$(\%) \text{ inhibition} = 1 - [(A_c - A_e) - (A_s - A_b)] / (A_c - A_e)$$

A_c=Absorbance [Amidon + IKI+ HCL + Vol de solvant d'extrait + Vol tampon Enzyme]

A_e=Absorbance [Enzyme +Amidon +IKI+HCl+ Vol. de solvant d'extrait]

A_s=Absorbance [Enzyme +Extrait +Amidon +IKI + HCl]

A_b=Absorbance [Extrait+IKI+125 µl de tampon]

II.5.3.2.- Evaluation de l'activité anti-cholinestérase

L'activité anti-cholinestérase des divers extraits de *Sesbania bispinosa*, partie aérienne et graines, a été réalisée par la méthode de l'inhibition de butyryl-cholinestérase et l'acétylcholinestérase.

➤ Inhibition de la butyrylcholinestérase et l'acétylcholinestérase :

L'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE) et de la butyrylcholinestérase (BChE) a été mesurée en modifiant légèrement la méthode spectrophotométrique développée par Ellman et al., (1961). AChE de l'anguille électrique et BChE du sérum de cheval ont été utilisés, tandis que l'iodure d'acétylthiocholine (ACI) et le chlorure de butyrylthiocholine (BuCi) ont été

utilisés comme substrats de la réaction. D-TNB a été utilisé pour la mesure de l'activité du cholinestérase.

Brièvement, 150 µl de tampon phosphate de sodium 100 mM (pH = 8), 10 µl de la solution échantillon (4 mg / ml) dissoute dans le méthanol à différentes concentrations, et 20 µl de solution AchE ou BchE préparés dans un tampon (pH =8) ont été mélangés et incubés pendant 15 minutes à 25 °C et 10 µl de D-TNB (0,5 mM) ont été ajoutés. La réaction a ensuite été initiée par l'addition de 10 µl d'iodure d'acétylthiocholine (0,71 mM) ou 10 µl de chlorure de butyrylthiocholine (0,2 mM). L'hydrolyse de ces substrats a été contrôlée par spectrophotométrie par la formation d'anion 5-thio-2-nitrobenzoate jaune résultant de la réaction du D-TNB avec la thiocholine, libérée par l'hydrolyse enzymatique de l'iodure d'acétylthiocholine ou du chlorure de butyrylthiocholine, respectivement à une longueur d'onde de 412 nm en utilisant un lecteur de microplaques de 96 puits. La galanthamine a été utilisée comme composé de référence. Les résultats ont été donnés en pourcentage d'inhibition contre des concentrations de 25, 50, 100 et 200 µg / ml, la CI₅₀ a également été donnée.

Le pourcentage d'inhibition de BChE et AChE a été déterminé en utilisant la formule suivante :

$$[(E - S)/E]*100.$$

E : l'activité de l'enzyme sans extrait

S : l'activité de l'enzyme avec l'extrait

II.6.- Activité anti-inflammatoire *in vitro*

L'activité anti-inflammatoire des divers extraits de *Sesbania bispinosa*, partie aérienne et graines, a été réalisée par la méthode d'inhibition de dénaturation du BSA.

➤ Inhibition du BSA

Le principe consiste en l'inhibition de la dénaturation du BSA provoquée par la chaleur (72 °C). L'activité anti-inflammatoire *in vitro* est déterminée par la méthode de (Karthik, 2013) avec de légères modifications. Brièvement, 1 ml de chaque concentration d'extrait ou du standard (Diclofénac) a été ajouté à 1 ml de solution de BSA 0,2 % préparé dans le tris-HCl (pH = 6,6). Les solutions ont été incubées à 37 °C pendant 15 min. dans l'étuve, puis, dans un bain-marie à 72 °C pendant 5 min. Après refroidissement, la turbidité a été mesurée à 660 nm dans un spectrophotomètre à cuve. Pour chaque concentration d'extrait, un blanc est préparé

dans 1 ml d'extrait et 1 ml de tris-HCl (ce blanc a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait des résultats obtenus).

II.7.- Analyse statistique

Les résultats des tests effectués *in vitro* sont exprimés en moyenne \pm SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de CI_{50} (concentration d'inhibition à 50 %) et de $A_{0,50}$ (la concentration indiquant 0,50 d'absorbance) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de deux courbes : [% inhibition = f (concentrations)] pour la CI_{50} et [% inhibition = f (Absorbance)] pour la $A_{0,50}$, les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification sont faites par "Student's t-test" et le test ANOVA univarié. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05.

II.8.- Effet nématocide de *S.bispinosa*

L'objectif de cette analyse consiste à déterminer l'effet nématocide des extraits des graines et de la partie aérienne de *S.bispinosa* (Fabacée) sur la mortalité des larves du deuxième stade (L2), et le potentiel d'éclosion des œufs, des nématodes à galles *Meloidogyne sp.*

II.8.1.- Matériel biologique

Les nématodes à galles du genre *Meloidogyne*, est le matériel biologique utilisé durant cette étude. Les individus sont extraits à partir des racines infestées de tomate sous serre de la région de Biskra (station Mzeraa), les larves du 2eme stade sont extraites des galles des racines de tomate (figure 28).



Figure 28: Racine de tomate infestée de la station mzeraa (originale)

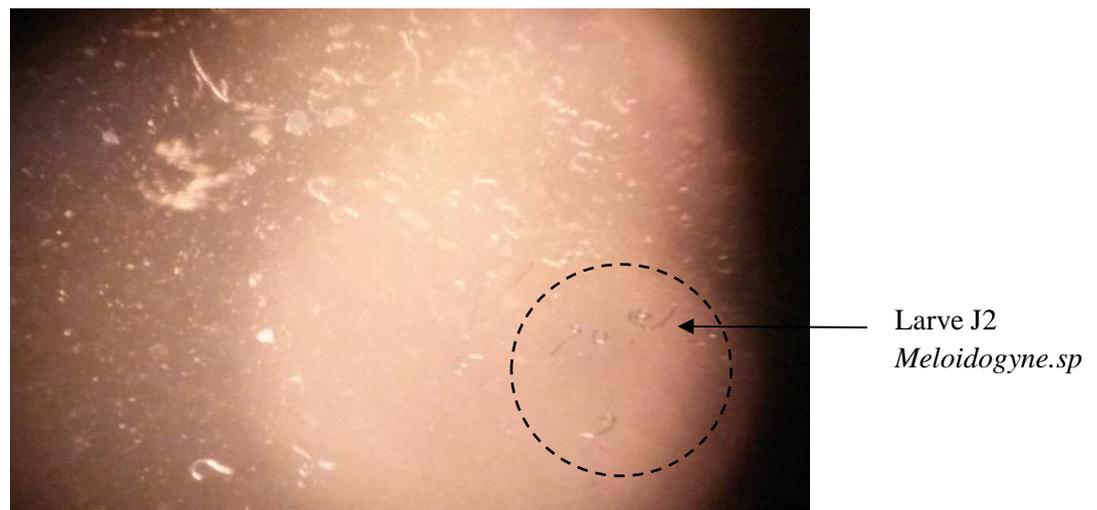


Figure 29 : Larve de *Meloidogyne* vu au microscope optique (GR×40) du deuxième stade (J_2) (Originale)



Figure 30: femelle et masse d'œufs de *Meloidogyne* vu au microscope optique (GR×40) (Originale)

II.8.2.- Echantillonnage des racines infestées de tomate

L'échantillonnage est effectué aléatoirement à l'intérieur des serres pourvus de cultures (tomate ; piment), ces échantillons sont à porter au laboratoire pour analyse, afin de déterminer quels nématodes sont présents et à quelle densité. Échantillon des racines de la station de Mzeraa, sont conservé dans des sacs en plastique étiquetés et placés au frais.

II.8.2.1- Station de Mzeraa

La Station Mzeraa est située au niveau de la zone agricole de Mzeraa à une distance de 70 km au sud-est de la ville de Biskra (34 ° 30 'N, 6 ° 30'E.) Altitude de 200 m. Cette dernière est une

exploitation agricole dont la spécialité est la serriculture notamment le piment variété “Corne de gazelle” et la tomate, variété “Sahra”.



Figure 31-a : Culture sous serre au niveau de la station de Mzeraa

II.8.2.2.- Nombre d'échantillons

Il est préférable de collecter assez d'échantillons de racine afin d'assurer une représentativité suffisante de la distribution des nématodes dans le champ (Coyne et al., 2010). 50 échantillons sont prélevés, dans des sachets fermés contenant des racines infestées.

II.8.3.- Extraction des nématodes

L'étape suivante consiste à extraire les nématodes des échantillons. Cette extraction doit être réalisée le plus vite possible après la collecte des échantillons pour éviter leur détérioration dans le temps (Coyne et al., 2010).

II.8.3.1.- Choix de la méthode d'extraction

Le choix de la méthode d'extraction dépend des conditions techniques et matérielles disponibles, du type d'échantillon et des espèces de nématodes présents. Quelques méthodes d'extraction sont plus adaptées à certaines espèces de nématodes tandis que d'autres sont plus générales (Coyne et al., 2010).

II.8.3.2.- Procédé d'extraction à partir des racines

- Rinçage des racines infestées avec de l'eau afin de retirer la terre, puis séchage avec un papier absorbant ou à l'air libre
- Découpage des radicelles
- Les radicelles sont déposées dans des passoire à mailles de petites tailles puis dans des boîtes pétries. Ces dernières sont trempées avec de l'eau
- Après 48h, les passoire contenant les radicelles sont enlevées pour que le milieu devient net
- Comptages des larves sous la loupe binoculaire
- Mettre 100 larves dans un 1ml d'eau distillée pour effectuer les tests *in vitro*

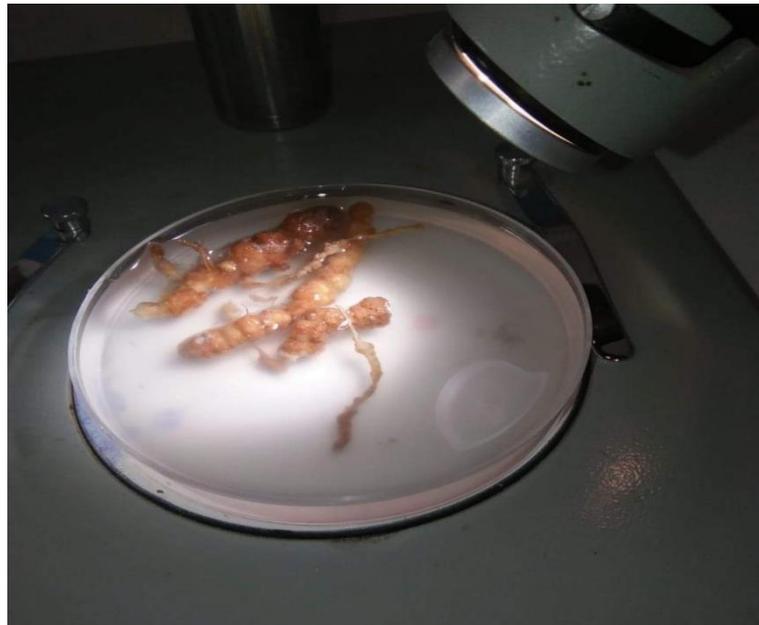


Figure 31-b : Éclosoirs des œufs de *Meloidogyne* (j2) (originale)

II.8.3.- L'effet des différents extraits de la partie aérienne et des graines de *S.bispinosa* sur la mortalité des juvéniles (L2) de *Meloidogyne sp.*

100 larves âgées de 48h sont placées dans des boîtes de pétries quadrillées, avec 5ml pour chaque extraits (butanolique, méthanolique, acétate d'éthyle, chloroformique et aqueux) de la partie aérienne et des graines de *S.bispinosa* à différentes concentrations (1 :x ; 1 :2x ; 1 :4x). L'incubation est faite à température ambiante, pour chaque concentration, nous avons réalisé

trois répétitions. L'effet de ces extraits est comparé à un témoin représenté par l'eau distillée, et le taux de mortalité s'est effectué après 12, 24 et 48h.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de mortalité selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de mortalité} = (\text{nombre de larves mortes} / \text{nombre total des larves}) \times 100$$

II.8.4.- Effet des différents extraits de la partie aérienne et des graines de *S.bispinosa* sur l'éclosion des œufs de *Meloidogyne.sp*

La masse d'œufs prélevé à partir des racines infestées est déposé dans des boites de pétries, contenant 5ml pour chaque extrait, à différentes concentrations (1 :x ; 1 :2x ; 1 :4x), et de l'eau distillée comme témoin. Les boites sont placées à température ambiante, trois répétitions sont effectuées pour chaque concentration et le comptage des larves écloses a été fait une semaine après (8 jours) sous loupe binoculaire, Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de l'éclosion.

$$\text{Inhibition\%} = (\text{nombre des larves éclos dans le témoin} - \text{nombre des larves éclos dans le traitement}) / \text{nombre des larves éclos dans le témoin}) \times 100$$

Résultats & discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Techniques d'analyse chromatographique :

III.1.1. Analyse UHPLC-DAD-ESI / MSⁿ :

L'étude comparative des fractions polaires de la partie aérienne et des graines de *S. bispinosa* par l'analyse UHPLC-DAD-ESI-MS/MS nous a permis d'établir leurs profils polyphénoliques.

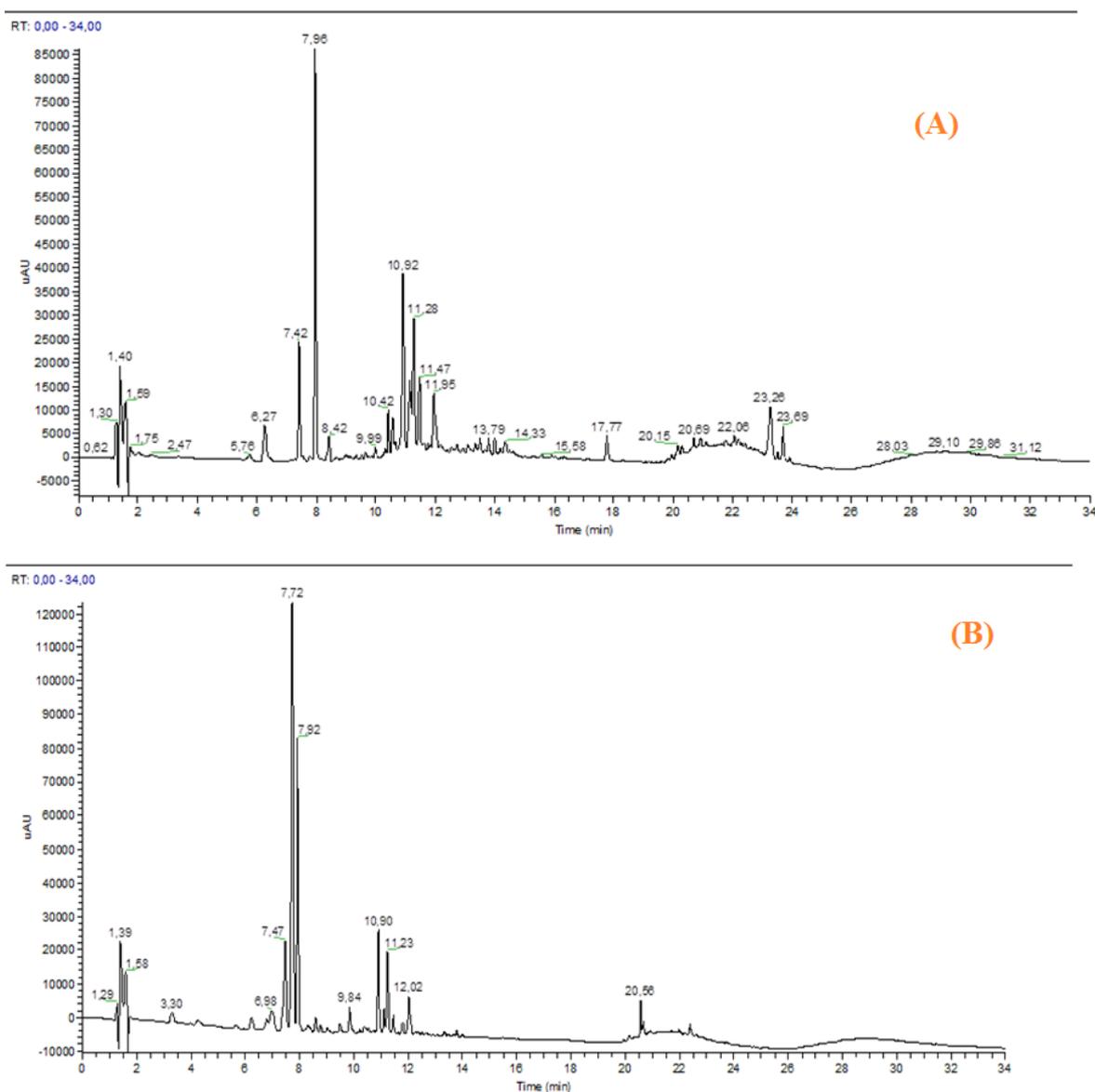


Figure 32 : HPLC-DAD-ESI-MS chromatogramme des extraits méthanolique de la partie aérienne (A) et graines (B) de *Sesbania bispinosa*

D'après le chromatogramme (Fig. 32), l'extrait de graines est moins riche en composés que la partie aérienne. Le tableau 2 détaille les données des composés identifiés dans les deux extraits et leur pourcentage dans l'extrait.

Tableau 2 : Temps de rétention (Rt) en min, absorption dans l'UV (λ) en nm, fragments d'ions pseudomoléculaires ($[M-H]^-$) et MS^2 en m/z , identification et pourcentage des composés détectés dans *S. bispinosa* partie aérienne (Pa) et graines (G).

Rt	λ	$[M-H]^-$	MS^2	Composés	Pa (%)	G (%)
1.6	206, 281sh	387 ^a	341, 109	Caffeoylglucose derivative ^c	7.51	1.08
6.3	218, 272	137	121, 93	<i>p</i> -Hydroxybenzoic acide ^b	3.50	-
7.4	285, 324, 368, 520	464	374, 344, 302, 285	Delphinidin 3- <i>O</i> -glucoside	6.98	10.74
7.7	207, 279, 350	335	317, 291, 173, 135	Caffeoylshikmic acide ^c	-	35.52
7.9	225, 294, 335	465	447, 375, 345, 303, 285	Taxifolin-3- <i>O</i> -glucoside ^c	-	29.64
8.0	224, 265, 325	945	927, 783, 621, 475	Glycosylated sterol	25.30	-
8.4	225, 294, 334	465	447, 375, 345, 313, 303	Taxifolin-4- <i>O</i> -glucoside ^c	1.57	-
10.4	220, 267, 324	1107	1089, 975, 945, 621, 459	Glycosylated sterol	3.65	-
10.6	243, 267, 331	755	443	Quercetin-3-(2 ^G -rhamnosylrutinoside) ^b	2.46	-
10.9	234, 267, 315	1091	939, 787, 635, 483, 331, 179	Hexagalloyl glucoside	14.21	8.12
11.1	242, 265, 344	739	285	Kaempferol-3- <i>O</i> -rutinoside derivative ^c	6.58	1.20
11.3	240, 267, 324	1077	945, 621, 459	Glycosylated sterol	8.81	7.22
11.5	242, 266, 333	1077	945, 621, 459	Glycosylated sterol	5.11	-
11.9	241, 267, 317	1047	927, 901, 885, 739	Saponin derivative	4.25	0.42
12.0	238, 273, 368	593	447, 285, 147	Kaempferol-3- <i>O</i> -(6- <i>p</i> -coumaroyl)-glycoside ^b	-	2.80
17.8	245, 272, 313	854 ^a	809, 647, 531, 515	Phytolaccagenin acid derivative	1.68	-
20.6	244, 272, 310	663 ^a	617, 541, 439	Prosaikogenin derivative	-	3.26
23.3	269, 365sh, 410	837	647, 395, 165	Phenolic acid derivative	5.16	-
23.7	270, 408, 664	870	591	Pheophytin <i>a</i>	1.55	-

^asolvent adduct ion $[M-H+HCO_2H]^-$; ^bCompounds identified by comparison with pure standards; ^cCompounds identified by comparison with pure aglycone

Une analyse minutieuse des résultats montre que l'extrait méthanolique de la partie aérienne comprend un composé, dont le pic est à 7,96 min (figure 32 (A)), qui a été identifié comme un stérol glycosylé (tableau 2). On sait que les espèces du genre *Sesbania* produisent des phytostérols, tels que le stigmastérol et le β -sitostérol (Afrin et al., 2019; Bunma & Balslev, 2019; Hossain & Becker, 2001; Miralles et al., 1992). de plus, on sait également que les stérols glycosylés sont en quelque sorte associés à des mécanismes de protection contre les conditions de stress (Ferrer et al., 2017; Schaller, 2003). Nos résultats ont montré un ion pseudomoléculaire ($[M-H]^-$) à 945 m/z et les fragments MS^2 cohérents avec un noyau de ginsenoside (Cui et al., 2000); cependant, ces types de phytostérols ne sont pas couramment présents dans le genre *Sesbania*. De plus, un fragment ionique à 927 m/z est détecté, qui correspond à une perte d'eau ($[M-H-18]^-$), qui n'a pas été rapporté dans la littérature (Cui et al., 2000). Bien que nous injectons plusieurs standards visant à identifier sans équivoque ces phytostérols, nous pouvons supposer qu'il s'agit de saponines de type dammarane, connues pour être impliquées dans la biosynthèse d'autres phytostérols. (Meunier-Christmann et al., 1991).

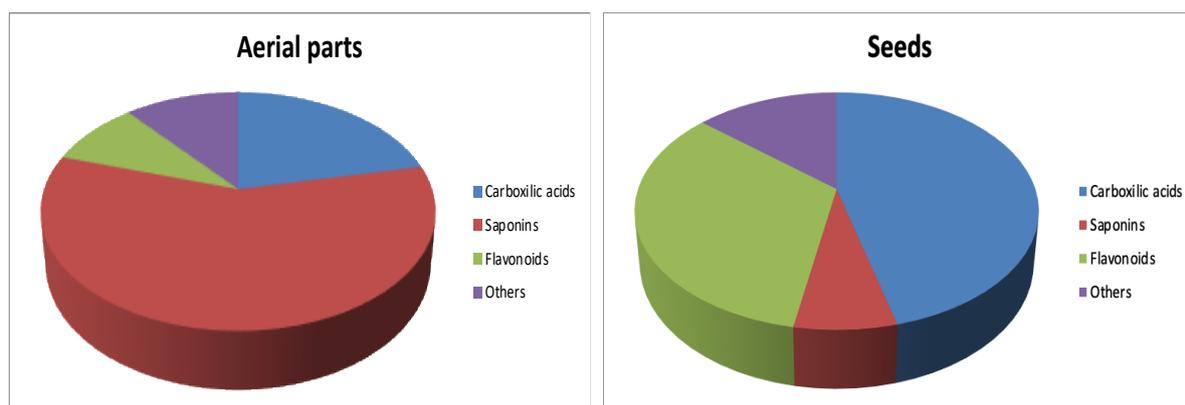


Figure 33 : Différentes classes de composés phénoliques et leur importance dans les parties de *S. bispinosa*.

L'extrait de graines comprend deux pics majeurs, à 7,72 min et 7,92 min (figure 32(B)), identifiés comme étant l'acide cafféoylshikmique et le glucoside de taxifoline, respectivement (tableau 2). Dans les deux cas, la configuration des fragments est analogue aux données précédemment rapportées par (Faustino et al., 2018; Simões et al., 2020), permettant leur identification sans équivoque.

L'extrait de la partie aérienne de *S. bispinosa* s'est révélé très riche en dérivés de saponine ; outre le dérivé de stérol glycosylé mentionné ci-dessus, trois autres ont été trouvés, à 10.42, 11.28 et 11.47 min, sont du même type, et là encore leurs principaux fragments MS^2 sont des

analogues à ceux rapportés dans la littérature (Cui et al., 2000). D'autres dérivés de saponines ont également été identifiés, à partir desquels un dérivé d'acide phytolaccagénine à 17,77 min peut être mis en évidence (Saleri et al., 2017). Au total, les dérivés de saponines correspondent à 49% du total des composés de la partie aérienne. En toute évidence, les graines sont moins abondantes dans les composés de cette famille (Fig.33).

En revanche, on remarque la présence de quelques dérivés d'acides carboxyliques (Benayad et al., 2014; Bianco et al., 2003), lesquels, en fait, représentent 16% de l'extrait total, et dont le dérivé caféoylglucose à 1,59 min et avec $[MH]^-$ à 387 est le plus significatif (tableau 2) (Rahmouni et al., 2018).

Enfin, l'extrait de la partie aérienne présente environ 19% de flavonoïdes (Fig.33), une importante famille de métabolites secondaires généralement associée à plusieurs propriétés médicinales. Les composés représentatifs de cette famille sont la taxifoline, la quercétine, le kaempférol et les glycosides de delphinidine. Tous ont déjà été rapportés et nos données sont similaires à celles trouvées dans la littérature (Faustino et al., 2018; Francisco et al., 2009; Rahmouni et al., 2018), ce qui a permis leur identification (Tableau 2). On peut souligner qu'à notre avis, le glucoside de taxifoline présent dans les parties aériennes est le 3-O-glucoside, alors que dans les graines est le 4-O-glucoside. Cela peut être déduit du fait du fragment MS^2 à 313 m/z correspondant au fragment ^{14}B , pour lequel la masse comprend une unité glucose. Un autre dérivé flavonoïde intéressant est le kaempférol-3-O- (6-p-coumaroyl) -glycoside, pour lequel les fragments MS^2 communs ont été observés (Fig.34). Dans le cas de la delphinidine 3-O-glucoside, l'ion pseudomoléculaire $[MH]^-$ (464 m/z) est détecté, ainsi que l'ion fragment attendu à 302 m/z en raison de la perte de l'unité glucose ($[M-H-glucose]^-$) (Strugała et al., 2016) et l'ion fragment à 285 m/z en raison de la perte de l'unité O-glucose ($[M-H-O-glucose]^-$). D'autres fragmentation typique du glucose, telles que $[M-H-C_3H_6O_3]^-$ (374 m/z) et $[M-H-C_4H_8O_4]^-$ (344 m/z), ont également été observées (Simões et al., 2020).

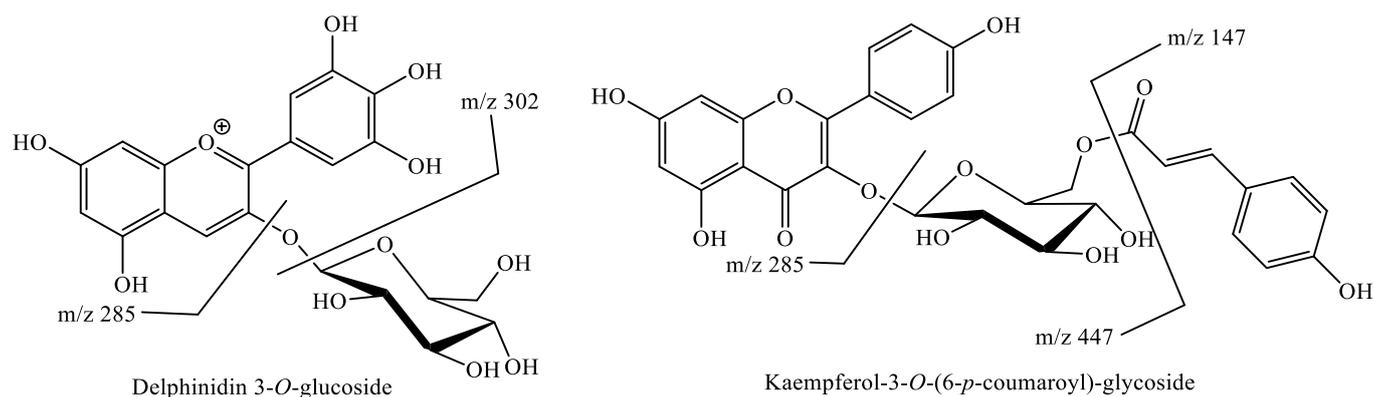


Figure 34 : Structure chimique de certains des flavonoïdes identifiés et des fragments d'ions observés les plus importants.

Concernant l'extrait de graines, il est évident que les familles prédominantes sont les acides carboxyliques (~ 37%) et les flavonoïdes (~ 44%), pour lesquels les deux composés mentionnés ci-dessus sont les principaux contributeurs (Fig.34). Quelques autres flavonoïdes et saponines ont également été trouvés, à partir desquels le dérivé de prosaïkogénine et la delphinidine 3-O-glucoside peuvent être mis en évidence (tableau 2). Les fragments MS² du pic à 20,56 min sont compatibles avec un glucoside de prosaïkogénine avec un ion pseudomoléculaire [MH]⁻ à 617m/z, qui est détecté comme un adduit avec l'acide formique présent dans le système d'élution ([M-H+HCO₂H]⁻ 663m/z). Les fragments MS² présentent l'ion pseudomoléculaire (617m/z) et des fragments communs de ces composés, ce qui a permis leurs identification (Lei et al., 2016).

III.1.2. Analyse GC-MS :

L'étude comparative de la partie aérienne et de l'extrait de graines par GC-MS démontre quelques différences (Fig.35), même s'il faut souligner que dans le chromatogramme d'extrait de graines (Fig.35B) apparaissent dans les premières minutes plusieurs composés qui sont dus aux réactifs utilisés dans la silylation. Dans l'extrait de la partie aérienne, 26 composés ont été identifiés, dont le pinitol et le turanose étaient les principaux composés, avec ~ 27% et 29% respectivement (tableau 3).

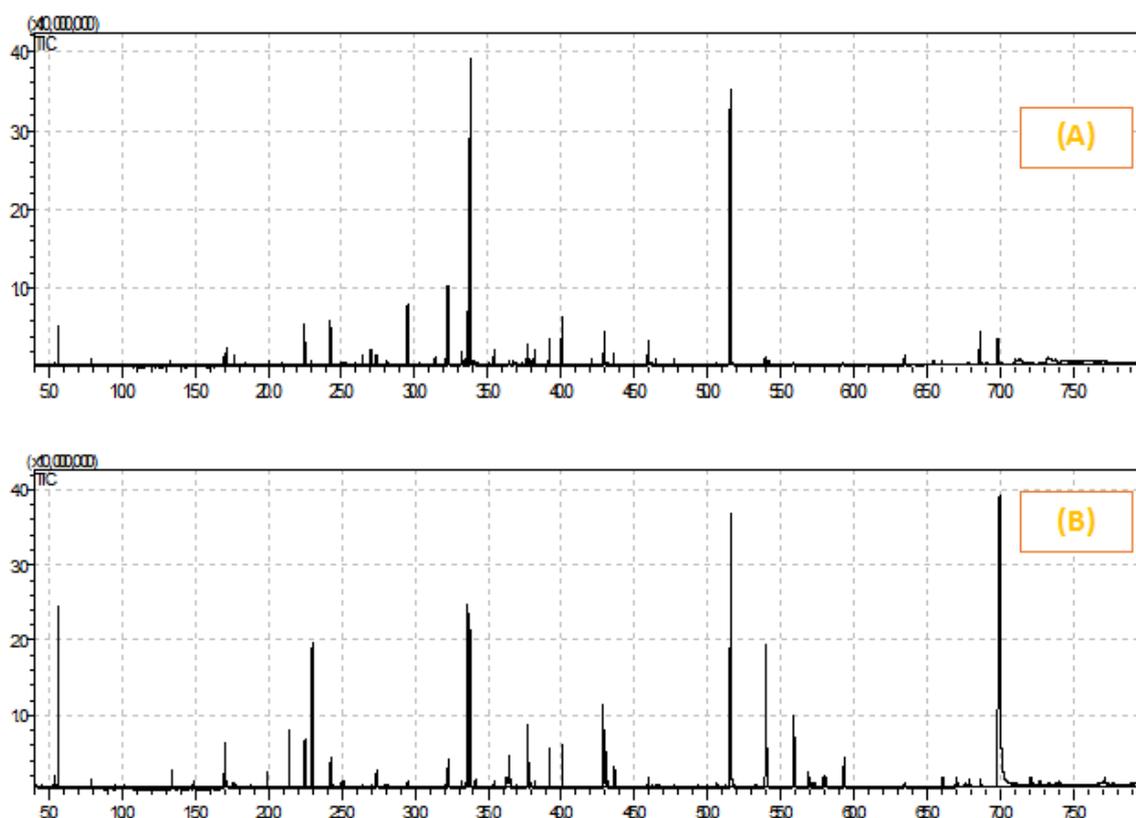


Figure 35: Total ion chromatogram (TIC) des composés identifiés par GC-MS de la partie aérienne (A) et graines (B) de *Sesbania bispinosa*

Tableau 3 : Les composés identifiés dans la partie aérienne et les graines de *S. bispinosa* par GC-MS

Rt(min) ^a	Composé	Partie aérienne (%)	Graines (%)
17.13	Glycerol ^A	1.06	-
17.73	Proline ^A	0.68	-
21.42	3-(5-Amino-1,3,4-thiadiazol-2-yl)propionic acid ^c	-	1.91
22.99	Homoserine ^{b,B}	-	5.73
24.25	Malic acid ^A	2.81	1.02
26.46	Threonic acid ^A	0.53	-
27.00	Xylose ^A	1.04	-
27.38	Asparagine ^{b,A}	4.30	-
31.46	Sorbitol ^A	0.62	-
32.27	Ribose ^A	5.37	0.92
33.19	Fructose ^A	0.87	-
33.61	Citric acid ^A	3.80	8.31
33.80	Pinitol ^A	26.53	6.45
35.95	Mannose ^{d,A}	1.39	0.97
37.69	Talose ^B	1.49	-

37.72	Serine ^{b,A}	-	2.75
38.20	Galactaric acid ^A	1.19	-
39.20	Palmitic Acid ^A	1.77	1.56
40.07	Myo-Inositol ^A	3.56	1.69
42.87	Linoleic acid ^A	0.88	3.81
43.01	Oleic acid ^A	2.57	1.55
43.64	Stearic acid ^A	0.80	0.73
45.96	Oleoamide ^A	1.82	-
51.56	Turanose	29.11	15.13
53.97	Lactose ^A	0.86	7.99
55.88	Cellobiose ^A	tr	4.08
59.32	Galactinol ^A	tr	1.77
68.64	1-Triacontanol ^B	3.78	-
69.89	Sucrose ^A	3.17	33.60

^aAverage of the retention time obtained in both samples; ^bThese aminoacids were detected in two different silylated forms [just *O*-Si(CH₃)₃ or both *O*- and *N*-Si(CH₃)₃]; ^cProbably is not a natural compound; ^dIt was detected in both pyranose and furanose forms; ^AIdentified with standards; ^Bidentified by retention index [calculated for silylated homoserine (RI = 1420) and for silylated 1-triacontanol (RI = 3284)]

Dans l'extrait de graines, 18 composés ont été divulgués, dont le saccharose et le turanose étaient les principaux composés, avec ~ 34% et 15% respectivement (tableau 2). Tous les composés présentés dans le tableau 2 ont été identifiés en comparant avec les bibliothèques spectrales de GC-MS, NIST14.lib et WILEY229.LIB, avec des spectres trouvés dans la littérature et l'interprétation du modèle de fragmentation du spectre MS. Dans certains cas, des standards silylés purs et un indice de rétention calculé ont été utilisés pour identifier sans équivoque les composés.

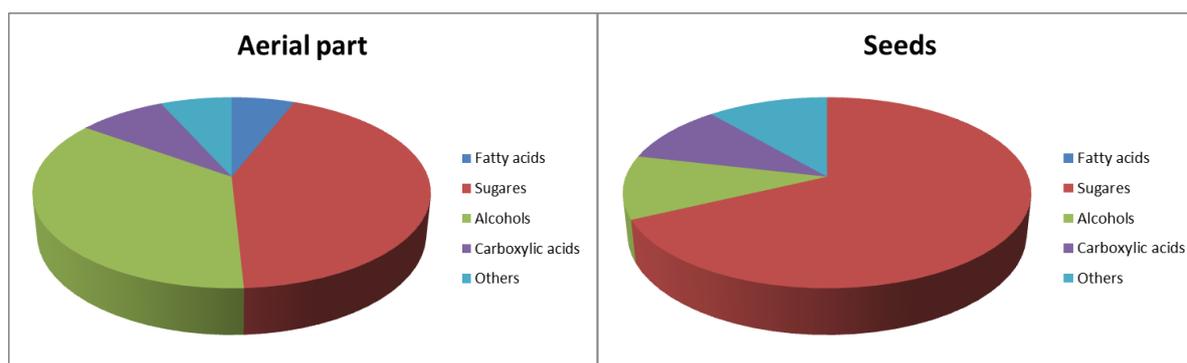


Figure 36 : Différentes classes de composés lipophéliques identifiés de *S. bispinosa* et leur importance

Dans le détail, il est clair que la partie aérienne de *S. bispinosa* est extrêmement riche en alcools, à partir desquels le pinitol et le sorbitol peuvent être mis en évidence car leur occurrence est associée à une réponse adaptative à la sécheresse de l'eau et à la salinité du sol (Chaubal *et al.*,

2005; Escobar Gutiérrez et Gaudillere, 1996; Orwa et *al.*, 2009). La teneur en pinitol confirme que *S. bispinosa* peut être utilisé pour traiter le diabète car il est connu que ce composé naturel est utilisé en médecine en association avec l'insuline (Chaubal et *al.*, 2005). Les sucres se retrouvent également dans un pourcentage élevé, naturellement, le turanose est celui qui contribue le plus, mais plusieurs autres ont également été trouvés. En fait, l'accumulation de ces composés est également associée à la réponse de la plante au stress environnemental (Faustino et *al.*, 2020).

Le profil GC/MS des graines (figure 35B) a été caractérisé par la présence dominante du saccharose avec 33,60% de l'extrait total des graines, puis le turanose avec 15,13% (tableau 3). La famille des alcools n'est pas aussi dominante que dans la partie aérienne (Fig.36), mais le pinitol est présent en teneur significative (~ 6%). Une autre différence notée est le pourcentage d'acides carboxyliques, acides gras, qui sont plus élevés dans les graines, vu que l'acide citrique, le plus représentatif, avec 8,31% (tableau 3). Il est important de souligner que la présence de ces composés est également associée à la réponse de la plante à la salinité du sol (Faustino et *al.*, 2020).

Plusieurs autres composés moins représentatifs mais importants ont été décrits, en particulier les acides palmitique, linoléique, oléique et stéarique, qui se trouvent à la fois dans la partie aérienne et les graines en un pourcentage significatif (tableau 3). Ces métabolites secondaires sont associés à une diminution du cancer et du développement cardiovasculaire (Chen et *al.*, 2013). Ils sont considérés comme des agents thérapeutiques potentiels pour les troubles neurologiques en raison de leurs activités antioxydantes et anti-inflammatoires potentielles (Lei et *al.*, 2016). Par conséquent, leur présence dans *S. bispinosa* souligne la valeur médicinale de l'espèce.

Enfin, il convient de mentionner que des acides aminés, tels que la proline, l'homosérine, l'asparagine et la sérine, ont également été trouvés dans les extraits de *S. bispinosa*. L'homosérine est la seule qui n'est pas essentielle mais qui est utilisée dans la biosynthèse d'autres substances essentielles, telles que la méthionine, la thréonine et l'isoleucine. Ces résultats corroborent également l'utilisation potentielle de *S. bispinosa* dans la production en tant qu'aliments intelligents.

III.1.3. Analyse des éléments minéraux ICP-OES :

Selon la définition de l'OMS (Organisation mondiale de la santé), les plantes médicinales traditionnelles sont considérées comme des matériaux naturels, qui sont utilisés pour traiter et atténuer de nombreuses affections à l'échelle locale (Jamshidi-Kia et *al.*, 2018). La surveillance de la teneur en minéraux des plantes médicinales est considérée comme l'un des aspects les plus importants de la sécurité avant d'évaluer l'utilisation pharmaceutique. Cette étude rapporte le contenu des concentrations en éléments minéraux dans la partie aérienne de *S. bispinosa* et évalue son risque pour la santé.

L'analyse des éléments minéraux (P, K, Ca, Mg, S, Zn, B, Mo, Fe, Cu, N, Na, Mn) de *S. bispinosa* a été réalisée en utilisant la spectrométrie d'émission optique à plasma de couplage inductif (ICP- OES) (modèle: série iCAP 7000, marque: ThermoScientific).

Les résultats obtenus des valeurs de l'intervalle, minimale, maximale, moyenne et erreur standard (SD) des éléments minéraux dans l'analyse de l'échantillon ont été présentés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Valeurs de la moyenne minimale, maximale et des écarts-types des fractions massiques des éléments minéraux dans l'étude de l'échantillon de la partie aérienne de *S.bispinosa* (mg/g sur la base de la masse sèche)

Elément	Minimum	Maximum	Moyenne ± SD
Na	1.904	2.253	2.034 ± 0.219
K	11.46	11.58	11.51 ± 0,07
Ca	26.28	27.28	26.82 ± 0,55
Mg	4.595	5.861	3.689 ± 0,029
P	1.968	2.207	2.062 ± 0,144
S	5.277	5.469	5.368 ± 0,100
Fe	0.1459	0.1757	0.1584 ± 0,017
Cu	6.970 x 10 ⁻³	11.10 x 10 ⁻³	9.350 x 10 ⁻³ ± 2 x 10 ⁻⁴
Zn	40.47 x 10 ⁻³	44.09 x 10 ⁻³	41.80 x 10 ⁻³ ± 2 x 10 ⁻⁴
Mn	49.36 x 10 ⁻³	50.24 x 10 ⁻³	49.75 x 10 ⁻³ ± 5 x 10 ⁻⁵
B	88.67 x 10 ⁻³	97.12 x 10 ⁻³	91.81 x 10 ⁻³ ± 6 x 10 ⁻⁴
Mo	18.94 x 10 ⁻³	19.77 x 10 ⁻³	19.31 x 10 ⁻³ ± 5 x 10 ⁻⁵
N	27.53	33.01	30.76 ± 0.323

Jusqu'à présent, il n'y a aucune information sur la composition multi-éléments (composés minéraux) de la partie aérienne de *S.bispinosa* ; le présent travail tente de combler cette lacune en utilisant la technique ICP-OES pour fournir des preuves scientifiques sur la composition

minérale de *S. bispinosa* et sa concentration élémentaire, ce résultat peut être utilisé comme base de données dans l'industrie pharmaceutique.

Selon un rapport de consultation d'experts conjoint entre l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, l'Organisation mondiale de la santé et les Nations Unies, la teneur en minéraux des aliments peut prévenir les problèmes nutritionnels et contribuer à la santé humaine. Le minéral appartient au groupe des micronutriments et leurs carences peuvent stimuler les troubles gastro-intestinaux, couvrant tous les organes du tube digestif et du foie (Lanham-New et *al.*, 2019). Pour cela, il est crucial d'estimer la concentration minérale de cette plante.

Une lecture des données du tableau 4 montre que cette plante est riche en certains éléments essentiels comme Na, K, Ca, Mg, P et S, à partir desquels les éléments électrolytiques de Na et K peuvent être mis en évidence car ils sont responsables de l'équilibre des fluides à l'intérieur et à l'extérieur des cellules et maintien en bonne santé (Begaa et Messaoudi, 2018; Garg et *al.*, 2007). Les concentrations de Na et K se trouvent respectivement à 2,034 et 11,51 mg/g.

L'apport de Ca et Mg est recommandé pour prévenir l'ostéoporose et pourrait être responsable de l'absence d'effets secondaires concernant les lésions gastriques (Prentice, 2004). Les concentrations de Ca et de Mg trouvées sont respectivement de 26,82 et 3,689 mg/g. Le manganèse, Mn, est considéré comme un élément essentiel en raison de son rôle vital dans la prévention du diabète et a été trouvé avec un taux de $49,75 \times 10^{-3}$ mg/g de plante séchée.

Le fer (Fe) est un autre élément essentiel requis pour plusieurs fonctions corporelles, y compris la respiration (Messaoudi et Begaa, 2018), et a été trouvé avec une concentration de 0,158 mg/g de plante séchée.

Enfin, nous avons mis en évidence le zinc (Zn) qui est un minéral essentiel pour la santé humaine avec un impact significatif sur la fonction immunitaire (Frossard et *al.*, 2000). Dans cette étude, la concentration de Zn a été $41,80 \times 10^{-3}$ mg/g de plante séchée. Le cuivre (Cu) possède de nombreuses propriétés qui jouent des rôles biologiques uniques et critiques (Festa et Thiele, 2011). Selon la FAO/OMS, la limite acceptable de concentration de Cu est de 4,5 mg/kg pour les échantillons des fruits (Codex, 1995). *S. bispinosa* a montré une concentration en Cu significative (9,350 mg/kg), soit deux fois plus élevée que la limite acceptable de l'OMS. Cependant, nous devons souligner que la valeur disponible est calculée pour les fruits, et dans notre cas nous analysons une plante qui est consommée en moins grande quantité. En plus de cette recherche, et sur la base d'études antérieures (Satnami et Yadava, 2012; Swami et *al.*,

2012), nous pouvons conclure que *S. bispinosa* a une valeur médicinale en raison de ses composants minéraux. En revanche, selon les travaux de (Hossain *et al.*, 2001; Khan *et al.*, 2007; Sahu *et al.*, 1988), la plante *S. bispinosa* est considérée comme plante fourragère qui peut être une bonne source d'éléments essentiels pour les ruminants.

Par exemple, en supposant un apport de 2,0 kg (poids sec/mouton pesant 50 kg de poids corporel), le mouton consommerait 4, 23, 57, 317 et 84 g/kg par jour de Ca, K, Na, Zn et Fe, respectivement. Comparée avec les valeurs requises par le Conseil national de recherches (NRC), qui sont respectivement de 0,5, 0,7, 0,1, 27 et 45 g/kg par jour de Ca, K, Na, Zn et Fe (Underwood, 1999), on peut conclure que *S. bispinosa* est une plante adaptée aux besoins fourragers des ruminants adultes.

III.2. Activité biologique

Dans la présente étude, nous avons tenté d'élucider le possible effet de différents solvants d'extraction sur les activités biologiques de la partie aérienne et des graines de *S. bispinosa*.

III.2.1. Extraction et détermination du contenu total en polyphénols et flavonoïdes des extraits de la partie aérienne et graine de *Sesbania bispinosa*

Tableau.5. Rendement d'extraction, contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes des extraits de la partie aérienne de *Sesbania bispinosa*

Extrait	Rendement d'extraction(%)	Contenu total de composés phénoliques (µg GAE/mg d'extrait)	Teneur en flavonoïdes (µg QE/mg d'extrait)
Extrait butanolique	2,05	31,25±0,16	103,75±0,44
Extrait méthanolique	3,64	6,05±0,29	41,31±0,14
Extrait acétate d'éthyle	0,94	44,78±1,69	38,75±0,14
Extrait chloroformique	0,42	42,43±0,16	48,61±0,29
Extrait aqueux	1,04	3,11±0,29	35±0,14

Values were expressed as means ± SD (n=3).

*Total phenolic compounds were expressed as µg gallic acid equivalent/ml (µg GAE/ml)

**Flavonoids contents were expressed as µg quercetin equivalent /ml (µg QE/ml)

Le rendement d'extraction de la partie aérienne de *S. bispinosa* par cinq solvants (méthanol, butanol, acétate d'éthyle, chloroforme et l'eau) est représenté dans le tableau 5. Les résultats montrent que le rendement le plus élevé a été obtenu par extraction en méthanol, avec 3,64%

suivie par le butanol avec 2,05%, et l'extrait aqueux avec 1,04% et enfin l'acétate d'éthyle et le chloroforme avec un faible pourcentage de 0,94% et 0,42% respectivement. Selon (Goli et al., 2004) le rendement d'extraction dépend du solvant et de la méthode d'extraction.

La quantité totale de composés phénoliques varie selon les différents extraits et elle est comprise entre 3,11 et 44,78 μ g EAG/mg d'extrait (Tableau5). La teneur en composés phénoliques (TCP) la plus élevée a été trouvée dans la plante lorsqu'elle a été extraite avec de l'acétate d'éthyle (44,78 \pm 1,69 μ g EAG /mg), suivi par le chloroforme (42,43 \pm 0,16 μ g EAG /mg d'extrait), puis le butanol avec (31,25 \pm 0,16 μ g EAG /mg d'extrait), et enfin le méthanol et l'extrait aqueux (6,05 \pm 0,29 et 3,11 \pm 0,29 μ g EAG /mg d'extrait), respectivement. D'après les résultats on constate que la partie aérienne de *Sesbania bispinosa* est riche en composés phénoliques.

Plusieurs études ont démontré que le genre *Sesbania* a un résultat différent en termes de contenu phénolique total, mais les recherches concernant l'espèce *S. bispinosa* n'ont pas encore été rapportées. Quattara a indiqué que la teneur totale en composés phénolique de l'extrait méthanolique des feuilles de *S. rostrata* est de 46,33mgGAE/100mg, alors qu'une étude faite par Kalpana indique que l'extrait acétone des fleurs de *S. grandiflora* contient 49,1 μ GAE/mg. En comparaison avec ces espèces du genre *Sesbania*, notre étude a montré que *S. bispinosa* possède un TCP plus au moins élevé.

La teneur en flavonoïdes (TF) dans la partie aérienne de *S. bispinosa* a été quantifiée par la méthode trichlorure d'aluminium (AlCl₃). D'après le tableau 5, on remarque que le butanol est le solvant qui a pu extraire le maximum de flavonoïdes avec (103,75 \pm 0,44 μ g QE /mg), suivie par les extraits de chloroforme (48,61 \pm 0,29 μ g QE /mg), méthanol (41,31 \pm 0,14 μ g QE /mg), acétate d'éthyle (38,75 \pm 0,14 μ g QE /mg) et eau avec (35 \pm 0,14 μ g QE /mg).

Selon l'étude de Kathiresh et al., (2012) sur la teneur en flavonoïdes des pétales des fleurs de *S. sesban* de l'extrait méthanolique s'élève à 135mgQE/100g. une autre étude de Kalpana et al., (2012), sur les fleurs de *S. grandiflora* montre que la teneur en flavonoïdes est de 12,86 μ gQE/mg.

Tableau.6. Le contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes des extraits des graines de *Sesbania bispinosa*

Extrait	Rendement d'extraction (%)	Contenu total de composés phénoliques ($\mu\text{g GAE/mg d'extrait}$)	Teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g QE/mg d'extrait}$)
Extrait butanolique	0,25	51,05 \pm 0,29	33,88 \pm 0,14
Extrait méthanolique	6,62	27,23 \pm 0,29	30,13 \pm 0,14
Extrait acétate d'éthyle	0,67	9,09 \pm 0,33	24,72 \pm 0,14
Extrait chloroformique	3,72	37,82 \pm 0,29	30,83 \pm 0,29
Extrait aqueux	0,35	400,37 \pm 0,61	257,63 \pm 0,14

Values were expressed as means \pm SD (n=3).

*Total phenolic compounds were expressed as μg gallic acid equivalent/ml ($\mu\text{g GAE/ml}$)

**Flavonoids contents were expressed as μg quercetin equivalent /ml ($\mu\text{g QE/ml}$)

Le tableau 6 montre que l'extrait méthanolique a donné le rendement d'extraction le plus élevé avec (6,62%), suivie par l'extrait chloroformique (3,72%), acétate d'éthyle (0,67%), aqueux (0,35%), et l'extrait butanolique avec un rendement très faible (0,25%).

D'après le tableau 6, l'extrait aqueux est le plus riche en polyphénols avec (400,37 \pm 0,61 μg EAG/mg) que les extraits butanolique (51,05 \pm 0,29 μg EAG/mg) et chloroformique (37,82 \pm 0,29 μg EAG /mg), méthanolique (27,23 \pm 0,29 μg EAG /mg) des graines de *S. bispinosa* et que l'extrait d'acétate d'éthyle est le plus pauvre en polyphénols (9,09 \pm 0,33 μg EAG /mg).

Il est intéressant de comparer la teneur en composés phénoliques (TCP) des graines de *S. bispinosa* cultivé ici en Algérie avec celle d'autres pays. Selon Sahni et *al.*, (2020), Les graines de *S. aculeata* ou *S. bispinosa* de Panjab (Inde), contient une TCP comprise entre (21,94 et 28,48 GAEmg/g) ce qui est inférieur par rapport aux TCP de *S. bispinosa* de cette étude.

Les résultats obtenus suite au dosage des flavonoïdes des différents extraits des graines de *S. bispinosa* montrent que l'extrait eau est le plus riche en flavonoïdes (257,63 \pm 0,14 μg QE/mg), comparativement aux extraits butanolique (33,88 \pm 0,14 μg QE/mg), chloroformique (30,83 \pm 0,29 μg QE/mg), méthanolique (30,13 \pm 0,14 μg QE/mg) qui sont relativement proches et contrairement à l'extrait acétate d'éthyle qui s'est avéré le plus pauvre en flavonoïdes avec (24,72 \pm 0,14 μg QE/mg)

De même pour la comparaison de la teneur en flavonoïdes (TF) des graines de *S. bispinosa* analysée dans cette étude avec celle de Panjab avec une TF comprise (0,94 à 1,41 QE mg/g) (Sahni et al., 2020), a révélé que *S. bispinosa* cultivée en Algérie est plus riche en flavonoïdes. Cependant, il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la bibliographie car la méthode et les conditions d'extraction appliquées sont différentes, notamment la température, la durée d'extraction et le rapport solide/liquide (Santos et al., 2011).

Aussi une autre étude de Vinothini et al., (2017), sur les graines de *S. grandiflora* montre que la teneur en phénols et en flavonoïdes est de $(16,05 \pm 2,2 \mu\text{g EAG /mg})$ et $(21,51 \pm 2,2 \mu\text{g QE/mg})$ respectivement.

Conclusion

Le dosage des polyphénols et flavonoïdes de la partie aérienne et graines de *S. bispinosa* ont montré que : pour l'extrait butanolique, méthanolique et aqueux les graines sont plus riches en polyphénols comparativement à ceux de la partie aérienne tandis que pour les extraits acétate d'éthyle et chloroforme les graines sont les plus pauvres (fig.37).

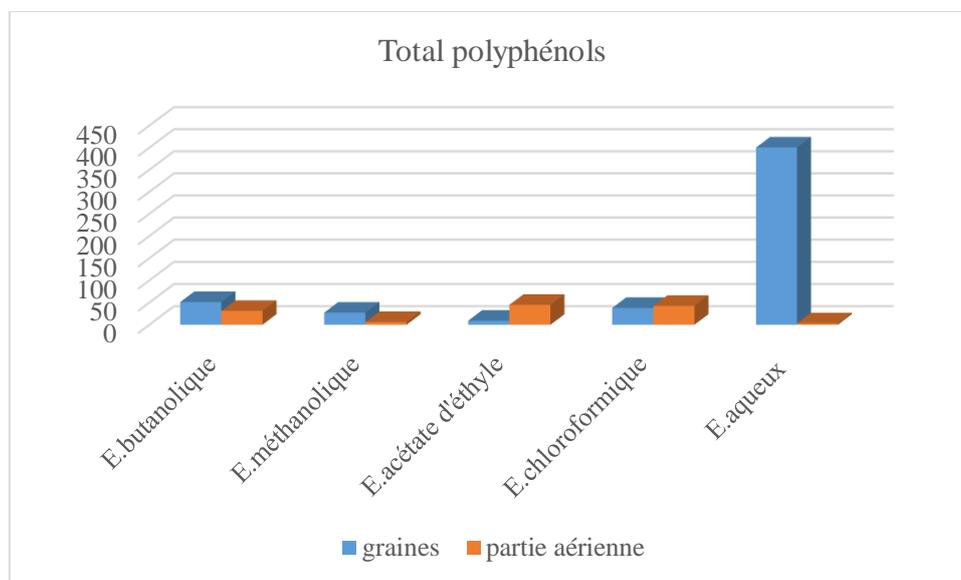


Figure 37: dosage des polyphénols des différents extraits des deux parties étudiées de *S.bispinosa*

Pour la teneur en flavonoïdes et pour les différents extraits, la partie aérienne est la plus riche à l'exception de l'extrait aqueux elle est moins riche que les graines. Par la suite, il serait intéressant d'identifier et de quantifier les différents composés phénoliques présents dans les extraits testés (fig.38).

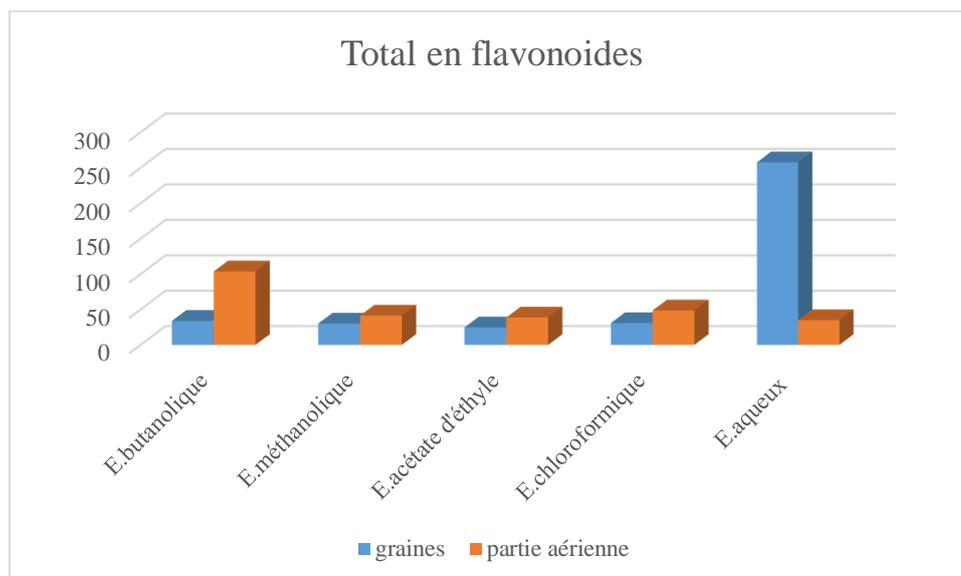


Figure 38 : dosage des flavonoïdes des différents extraits des deux parties étudiées de *S.bispinosa*

III.2.2. Activités antioxydante

III.2.2.1. Activité antiradicalaire (DPPH)

Dans cette étude les résultats de l'activité antiradicalaire au DPPH sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50% (CI₅₀), en se basant sur la capacité d'une substance à réduire le radical DPPH ; par rapport à un antioxydant standard (BHA, BHT, α -Tocophérol). Les résultats sont présentés ci-dessous :

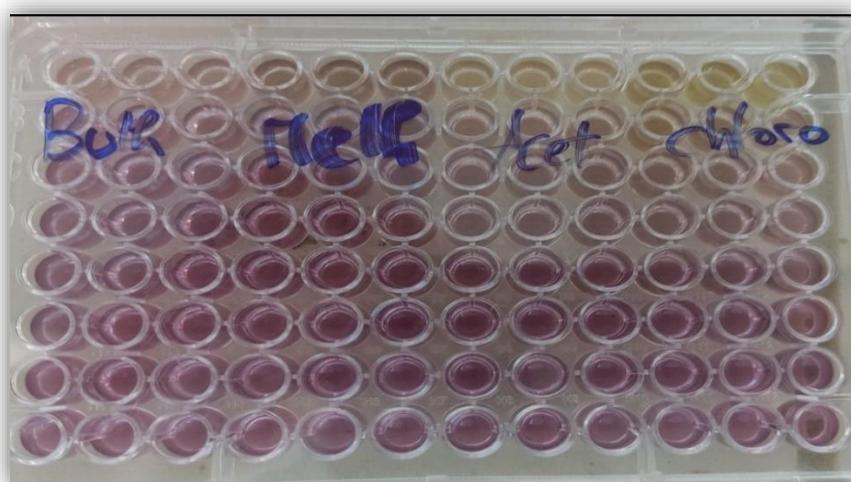


Figure 39 : la plaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits de *sesbania bispinosa*

Tableau 7 : inhibition du radical DPPH par les extraits de *S. bispinosa* partie aérienne

Extraits	Inhibition du DPPH (%)							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	CI ₅₀ µg/ml
Extrait chloroformique	7,94±0,08	13,82±0,08	21,79±0,08	37,09±0,08	54,48±0,08	68,72±0,08	71,24±0,08	199,21±0,17
Extrait acétate d'éthyle	6,44±0,15	12,17±0,08	19,50±0,08	36,46±0,08	59,68±0,08	81,54±0,08	85,23±0,08	169,43±0,20
Extrait butanolique	-3,67±8,42	6,19±0,08	7,51±0,08	16,25±0,08	26,89±0,08	52,68±0,17	78,53±0,42	434,14±1,82
Extrait méthanolique	1,53±0,08	7,55±0,08	4,44±0,08	6,05±0,08	14,99±0,08	31,75±0,08	53,90±0,08	725,82±1,32
Extrait aqueux	3,58±0,08	5,41±0,08	9,81±0,08	13,16±0,08	25,08±0,08	47,13±0,08	76,19±0,01	473,02±0,24
BHA ^b	76,55±0,48	79,89±0,26	81,73±0,10	84,18±0,10	87,13±0,17	89,36±0,19	90,14±0,00	6.14±0.41
BHT ^b	49,09±0,76	72,63±2,06	88,73±0,89	94,00±0,31	94,97±0,08	95,38±0,41	95,02±0,23	12,99±0,41
α-Tocophérol ^b	37,21±1,82	81,53±1,51	89,23±0,12	89,38±0,19	89,45±0,22	89,99±0,23	89,52±0,33	13,02±5,17

^a Les valeurs exprimées sont des moyennes ±S.D des trois mesures parallèles

^bReference composés.

BHA: Butylatedhydroxyanisole, EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acide, nt: non testé, na: non absorbance.

D'après les résultats obtenus (tableau 7), on constate que les extraits de la partie aérienne de *S. bispinosa* ont montré une activité anti-radicalaire faible par rapport aux valeurs des standards BHA, BHT et α-Tocophérol.

Les extraits d'acétate d'éthyle et du chloroforme montrent les activités de piégeage les plus élevées avec (CI₅₀ : 169,43 et CI₅₀ : 199,21 µg/ml respectivement), suivies directement par les extraits butanolique, aqueux et méthanolique. Cette bonne activité de piégeage des radicaux libres est probablement liée à leur richesse en composés phénoliques déjà trouvés. Ces résultats sont en accord avec de nombreuses études sur l'activité anti-oxydante des extraits de plantes qui ont montré une corrélation linéaire significative entre la teneur totale en phénols et l'activité antioxydante. Ceci est particulièrement mis en évidence par le test DPPH (Yaici et *al.*, 2019; Bouaziz et *al.*, 2015).

L'étude de l'activité anti-radicalaire des callosités séchées de *S. grandiflora* montre que l'activité la plus significative a été obtenu dans l'extrait hexane avec (CI₅₀ : 71,66 µg/ml), suivie par l'extrait méthanolique avec (CI₅₀ : 72,31 µg/ml) (Vinothini et *al.*, (2017)

Tableau 8 : inhibition du radical (DPPH) par les extraits de *S. bispinosa* graines

Extraits	Inhibition du DPPH (%)							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	CI ₅₀ µg/ml
Extrait chloroformique	3,26±0,11	6,43±0,11	12,98±0,11	24,64±0,11	48,61±0,11	66,50±0,11	67,99±0,11	259,15±0,75
Extrait acétate d'éthyle	3,26±0,11	5,07±0,11	7,01±0,11	8,18±0,11	15,57±0,11	36,30±0,11	50,11±0,11	761,68±1,98
Extrait butanolique	-0,83±0,11	2,28±0,11	11,42±0,11	12,98±0,11	13,95±0,11	41,23±0,11	63,78±0,11	597,31±0,76
Extrait méthanolique	5,39±0,11	7,66±0,11	9,93±0,11	20,17±0,11	49,98±0,11	55,03±0,11	58,92±0,11	313,55±1,07
Extrait aqueux	4,54±0,11	6,19±0,11	7,20±0,11	14,57±0,11	32,09±0,11	47,19±0,11	59,70±0,11	550,09±1,03
BHA ^b	76,55±0,48	79,89±0,26	81,73±0,10	84,18±0,10	87,13±0,17	89,36±0,19	90,14±0,00	6.14±0.41
BHT ^b	49,09±0,76	72,63±2,06	88,73±0,89	94,00±0,31	94,97±0,08	95,38±0,41	95,02±0,23	12,99±0,41
α-Tocophérol ^b	37,21±1,82	81,53±1,51	89,23±0,12	89,38±0,19	89,45±0,22	89,99±0,23	89,52±0,33	13,02±5,17

De même, les extraits des graines de *S. bispinosa* montrent une activité anti-radicalaire (DPPH) faible par rapport aux valeurs des standards : BHA, BHT et α-Tocophérol (tableau 8). L'extrait chloroformique a montré la plus forte activité anti-radicalaire (DPPH), par rapport aux extraits, suivie par les extraits méthanolique, aqueux, butanolique et l'acétate d'éthyle. Cette forte activité de l'extrait chloroformique est due à sa richesse en polyphénols.

Selon Vinothini, l'activité du piégeage du radical libre (DPPH) de l'extrait chloroformique des graines de *S. grandiflora* a été obtenue avec un CI₅₀ (CI₅₀ : 72,75 µg/ml).

Conclusion

L'étude des activités antioxydantes des différents extraits de la partie aérienne et des graines de *S. bispinosa* par le test chimique DPPH a montré que les piègeurs des radicaux libres les plus puissants sont de nature moyennement-polaires.

Après comparaison de l'activité anti-radicalaire de la partie aérienne et des graines de *S. bispinosa*, on constate que l'extrait chloroformique et de l'acétate d'éthyle de la partie aérienne présente une activité plus intéressante que celle des graines.

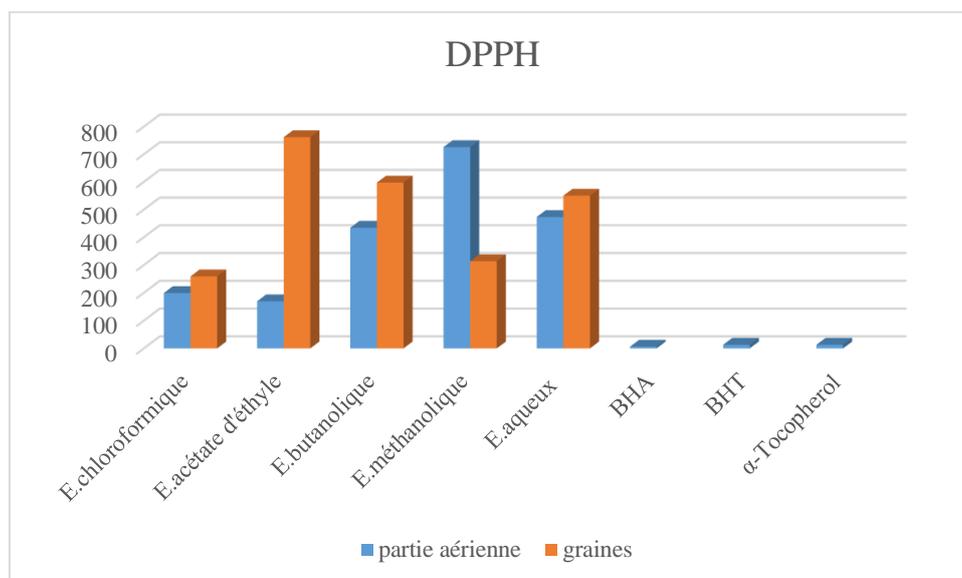


Figure 40 : Test (DPPH) des différents extraits des deux parties étudiées de *S.bispinosa*

III.2.2.2. Activité de piégeage du cation radical ABTS⁺

Dans cette étude les résultats de l'activité ont été suivie par la mesure de l'absorbance et la détermination de la concentration inhibitrice des différents extraits en comparaison avec les standards BHA et BHT. Les résultats obtenus sont illustrés ci-dessous :



Figure 41: la plaque de dosage de l'activité du piégeage du cation radical ABTS⁺ des extraits de *sesbania bispinosa*

Tableau 9 : inhibition du cation radical ABTS^{•+} par les extraits de *S. bispinosa* partie aérienne

Extraits	% Inhibition de l'ABTS							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/ml
Extrait chloroformique	6,05 ± 2,98	16,06±2,93	23,73 ± 3,11	37,78 ± 0,34	52,17 ± 0,34	76,08 ± 0,17	88,46 ± 0,81	191,14±1,95
Extrait acétate d'éthyle	-0,72±7,32	27,27±4,36	22,75±17,02	22,70 ± 0,31	38,71 ± 0,39	60,47 ± 0,17	96,60 ± 11,28	309,30±1,43
Extrait butanolique	13,27±3,39	22,31±1,62	43,62 ± 0,09	68,18 ± 0,26	82,52 ± 0,43	89,00 ± 2,15	91,11 ± 0,89	67,24±0,51
Extrait méthanolique	17,45±1,84	28,79±0,09	53,64 ± 0,31	71,37 ± 0,34	85,91 ± 1,12	90,82 ± 0,76	91,21 ± 0,95	55,98±0,18
Extrait aqueux	-1,51±0,97	6,04 ± 1,64	14,05 ± 3,20	28,88 ± 0,28	45,86 ± 1,20	73,16 ± 0,42	91,35 ± 1,33	238,12±1,56
BHT	69.21±0,40	78.23±1,34	88.12±1,28	88,76±3,07	90.85±1,74	90.95±0,51	96.68±0,39	1.29±0,30
BHA	92.83±1,42	94.68±0,42	94.95±0,90	95.32±0,25	95.59±0,47	95.83±0,15	95,86±0,10	1.81±0,10

Dans ce test, on remarque que les extraits de la partie aérienne de *S. bispinosa* sont faibles par rapport aux standards utilisés (BHT, BHA).

L'extrait méthanolique a présenté une meilleure capacité du piégeage de l'ABTS avec (IC₅₀ = 55,98±0,18µg/ml) comparativement aux autres extraits. Cette forte activité de piégeage des radicaux libres est probablement liée à la présence des formes glycosidiques, de kaempférol, de quercétine et d'acide phénolique qui sont déjà identifiés par LC-MS dans l'extrait. D'après Cao *et al.*, (1997) et Yang *et al.*, (2012). Il a été signalés que les groupes hydroxyles dans la structure des composés phénoliques sont les principaux contributeurs à l'activité antioxydante.

Cette capacité est une fois plus forte que celle de l'extrait butanolique (67,24±0,51µg/ml), suivie par les extraits chloroformique (191,14±1,95µg/ml), aqueux (238,12±1,56µg/ml) et de l'acétate d'éthyle (309,30±1,43µg/ml).

Dans cette activité, les extraits ont manifesté un pouvoir de piégeage des radicaux libres meilleur que celui de l'activité anti-radicalaire au (DPPH), et ceci peut être justifié par la capacité du radical du cation (ABTS) d'être plus polyvalent que le (DPPH) parce qu'il est soluble dans l'eau et dans les solvants organiques, ce qui permet une évaluation d'activité anti-radicalaire pour les composés hydrophiles et lipophiles (Gülçin, 2010).

Notre étude est la première réalisée par l'utilisation de la méthode du piégeage du radical (ABTS) pour la partie aérienne de *S. bispinosa*. Cependant une étude sur les polysaccharides et Trolox de *S. cannabina* a révélé une activité de piégeage de (0,504±0,015mg/ml) et (0,021±0,024Mg/ml) respectivement (Li et al., 2020).

Tableau 10 : inhibition du cation radical (ABTS⁺) par les extraits de *S. bispinosa* graines

Extrait	(%) Inhibition ABTS							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/ml
Extrait chloroformique	-6,05±0,56	-12,42±0,91	-5,76 ± 1,26	6,81 ± 0,10	28,97 ± 1,90	51,24 ± 0,18	55,98 ± 0,93	580,83 ±19,07
Extrait acétate d'éthyle	2,43 ± 0,27	-4,36 ± 0,63	6,11 ± 0,97	28,91 ± 1,34	76,50 ± 0,18	86,67 ± 0,46	79,95 ± 0,54	151,82 ± 4,61
Extrait butanolique	-4,00±0,61	-10,84 ±0,61	-9,50 ± 0,44	4,59 ± 0,18	11,08 ± 0,46	46,92 ± 1,00	68,96 ± 0,35	546,69 ± 3,91
Extrait méthanolique	9,79 ± 0,37	2,54 ± 0,71	20,14 ± 0,37	45,63 ± 0,30	87,84 ± 0,56	87,08 ± 0,27	91,52 ± 1,62	109,70 ± 3,41
Extrait aqueux	0,70 ± 0,10	9,46 ± 0,82	9,58 ± 0,99	36,16 ± 0,52	66,16 ± 2,08	2,38 ± 0,27	2,32 ± 0,37	138,60 ±19,77
BHT	69.21±0,40	78.23±1,34	88.12±1,28	88,76±3,07	90.85±1,74	90.95±0,51	96.68±0.39	1.29±0.30
BHA	92.83±1,42	94.68±0,42	94.95±0,90	95.32±0,25	95.59±0,47	95.83±0,15	95,86±0,10	1.81±0.10

Dans ce test, on remarque que les extraits des graines de *S. bispinosa* sont faibles par rapport aux standards utilisés (BHT, BHA).

L'extrait méthanolique a présenté une meilleure capacité du piégeage de l'ABTS avec (IC₅₀ : 109,70 ± 3,41µg/ml) comparativement aux autres extraits, suivie par les extraits aqueux (IC₅₀ : 138,60 ±19,77µg/ml), de l'acétate d'éthyle (IC₅₀ : 138,60 ±19,77µg/ml), butanolique (IC₅₀ : 546,69± 3,91µg/ml) et chloroformique (IC₅₀ : 580,83 ±19,07µg/ml).

Après comparaison de l'activité du piégeage du radical ABTS des graines de *S. bispinosa* de cette étude avec celle cultivée en Panjab (Inde), avec une activité de piégeage comprise entre (161,21 à 261,27 mg/g) (Sahni et al., 2020), on constate que nos extraits sont les plus actifs.

Conclusion

Ces résultats de l'activité de piégeage des radicaux libres de la partie aérienne de *S. bispinosa* confirment la forte capacité anti-oxydante de ces extraits par rapport à ceux des graines.

L'extrait méthanolique a présenté la meilleure activité du piégeage du radical ABTS dans les deux parties (aérienne et graines).

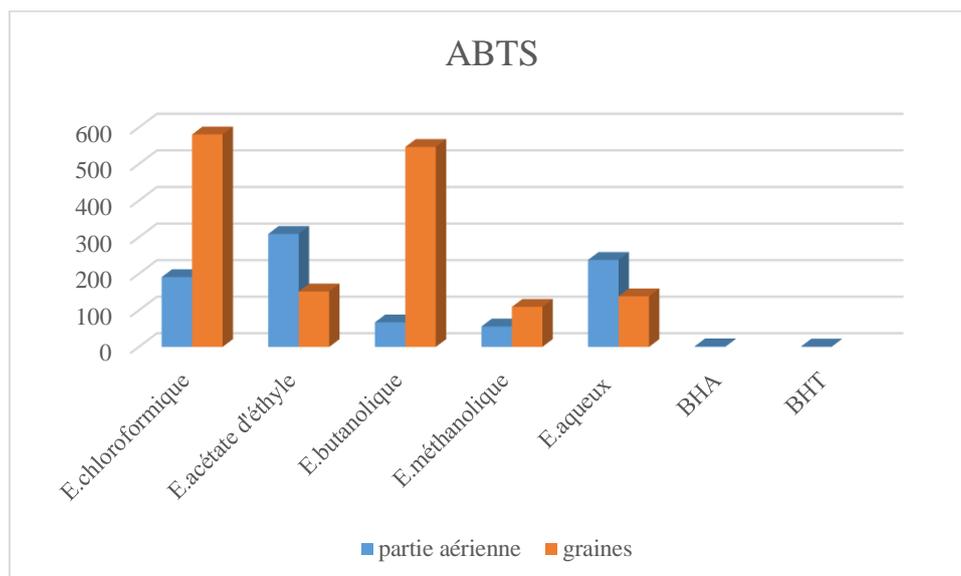


Figure 42 : Test ABTS des différents extraits des deux parties étudiées de *S.bispinosa*

III.2.2.3. Activité du piégeage du radical Galvinoxyl (GOR)

L'étude de cette activité basée sur la mesure de la capacité d'une substance à réduire le radical stable de galvinoxyl (Gox*) ; et ce en comparaison avec les concentrations inhibitrices (CI₅₀) de deux antioxydants standards (BHA et BHT) a donné les résultats suivants :



Figure 43 : la plaque de dosage de l'activité du piégeage du radical Galvinoxyl (GOR) des extraits de *sesbania bispinosa*

Tableau 11: inhibition du radical Galvinoxyl (GOR) par les extraits de *S. bispinosa* partie aérienne

Extrait	(%) Inhibition du radical Galvinoxyl (GOR)							
	1.5625	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	IC ₅₀ µg/mL
Extrait butanolique	12,94±0,16	26,35±0,02	32,05±0,02	41,14±0,02	53,72±0,02	61,59±0,02	67,61±0,02	199,79±0,18
Extrait méthanolique	11,22±0,02	12,78±0,02	30,77±0,02	39,59±0,02	40,92±0,02	50,43±0,02	55,98±0,02	504,24±0,69
Extrait acétate d'éthyle	11,78±0,02	33,96±0,02	41,89±0,02	58,04±0,02	65,54±0,02	69,94±0,02	72,87±0,16	81,31±0,11
Extrait chloroformique	12,63±0,02	14,30±0,02	30,06±0,02	42,14±0,02	49,78±0,02	57,32±0,02	62,41±0,02	139,23±0,42
Extrait aqueux	2,41±0,02	20,37±0,02	37,31±0,02	52,77±0,02	56,06±0,02	57,03±0,02	57,77±0,02	90,14±0,02
BHT	34,66±2,62	49,23±0,77	61,29±0,69	68,89±0,26	70,02±0,50	70,49±0,55	71,13±0,74	3.32±0,18
BHA	25,99±2,56	39,15±0,88	54,16±0,27	65,02±1,26	70,19±0,51	70,32±0,65	70,60±0,10	5.38 ±0,06

Les résultats de l'activité du piégeage du radical Galvinoxyl de la partie aérienne de *S. bispinosa* (tableau 11) ont montré que l'extrait de l'acétate d'éthyle a présenté la plus forte activité (IC₅₀: 81,31±0,11µg/ml). Ce résultat est seize fois plus faible que celui du standard BHA (IC₅₀: 5,38±0,06µg/ml), et égal à l'extrait aqueux (CI₅₀: 90,14±0,02µg/ml). Aussi cette activité est suivie par les extraits chloroformique, butanolique et méthanolique avec des valeurs de CI₅₀ égales à (139,23±0,42µg/ml ; 199,79±0,18µg/ml ; et 504,24±0,69µg/ml respectivement).

Cette variabilité des extraits est due aux types de polyphénols contenus dans un extrait ou dans un autre. En effet, il est bien connu que l'antioxydant donneur d'hydrogène réagit rapidement avec le radical Galvinoxyl. Donc, cette méthode peut être utilisée pour la détermination et la comparaison de l'activité anti-oxydante des composés donneurs d'hydrogène, que ce soit dans des substances pures ou dans des mélanges (Pokorny *et al.*, 2001).

Notre étude est la première dans l'évaluation de l'activité du piégeage du radical Galvinoxyl de la plante *S. bispinosa* ou bien même du genre *Sesbania*.

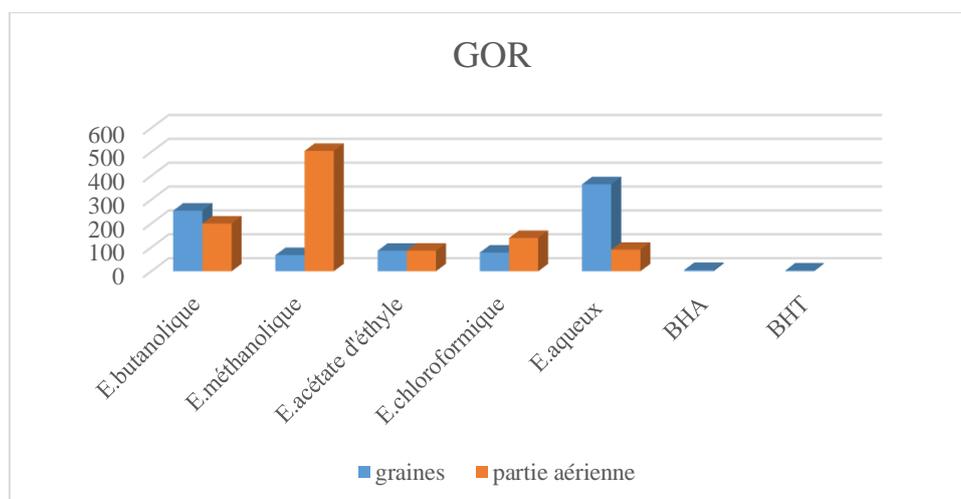
Tableau 12 : inhibition du radical Galvinoxyl (GOR) par les extraits de *S. bispinosa* graines

Extrait	(%) Inhibition du radical Galvinoxyl (GOR)							
	1.5625	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	IC ₅₀ µg/mL
Extrait butanolique	11,36±0,16	21,93±0,02	31,34±0,02	37,22±0,02	47,49±0,02	55,20±0,02	61,31±0,02	254,19±0,50
Extrait méthanolique	11,36±0,02	20,48±0,02	46,64±0,02	55,81±0,02	67,44±0,02	70,04±0,02	73,82±0,02	67,74±0,16
Extrait acétate d'éthyle	20,42±0,02	36,56±0,02	41,48±0,02	53,24±0,02	58,48±0,02	64,43±0,02	71,22±0,16	86,15±0,10
Extrait chloroformique	11,23±0,02	21,89±0,02	44,43±0,02	56,00±0,02	62,72±0,02	66,54±0,02	70,82±0,02	78,24±0,10
Extrait aqueux	3,67±0,02	14,85±0,02	19,89±0,02	33,94±0,02	43,18±0,02	51,20±0,00	54,20±0,00	364,51±0,21
BHT	34,66±2,62	49,23±0,77	61,29±0,69	68,89±0,26	70,02±0,50	70,49±0,55	71,13±0,74	3.32±0,18
BHA	25,99±2,56	39,15±0,88	54,16±0,27	65,02±1,26	70,19±0,51	70,32±0,65	70,60±0,10	5.38 ±0,06

Les résultats de l'activité du piégeage du radical Galvinoxyl des graines de *S. bispinosa* (tableau 12) ont montré que l'extrait méthanolique a présenté la plus forte activité (CI₅₀: 67,74±0,16µg/ml), ce résultat est douze fois plus faible que celle du standard BHA (CI₅₀: 5,38±0,06µg/ml), et une fois supérieur à l'extrait chloroformique (CI₅₀: 78,24±0,10µg/ml). Aussi cette activité est suivie par les extraits de l'acétate d'éthyle, butanolique et aqueux avec des valeurs de CI₅₀ égales aux (86,15±0,10µg/ml ; 254,19±0,50µg/ml ; et 364,51±0,21µg/ml respectivement).

Conclusion

On remarque que l'extrait méthanolique qui a montré une activité de piégeage du radical Galvinoxyl la plus forte dans les graines, était le plus faible dans la partie aérienne, et que les extraits des graines sont les plus actifs.

**Figure 44** : Test GOR des différents extraits des deux parties étudiées de *S.bispinosa*

III.2.2.4. Test de blanchiment du β -carotène

Cette activité consiste à mesurer la décoloration du β -carotène (orange) résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique, en comparaison avec les concentrations inhibitrices (CI_{50}) de deux antioxydants standards (BHA et BHT)

Tableau 13 : test de blanchiment du β -carotène par les extraits de la partie aérienne de *S. bispinosa*

Extrait	(%) Inhibition de la β -carotène/acide linoléique							
	12.5 μ g	25 μ g	50 μ g	100 μ g	200 μ g	400 μ g	800 μ g	IC_{50} μ g/ml
Extrait chloroformique	10,52 \pm 0.17	15,20 \pm 0.07	21,16 \pm 0.20	29,03 \pm 0.22	43,38 \pm 0.21	54,65 \pm 0.11	65,96 \pm 0.15	338,47 \pm 2,83
Extrait acétate d'éthyle	14,47 \pm 0.23	42,33 \pm 0.22	43,97 \pm 0.21	65,52 \pm 0.15	76,91 \pm 0.19	77,58 \pm 0.13	80,01 \pm 0.04	56,47 \pm 0.25
Extrait butanolique	30,17 \pm 0.16	31,36 \pm 0.22	42,44 \pm 0.13	62,90 \pm 0.05	64,02 \pm 0.15	68,12 \pm 0.14	70,08 \pm 0.07	68,92 \pm 0.09
Extrait méthanolique	34,50 \pm 0.24	41,18 \pm 0.13	41,63 \pm 0.06	55,45 \pm 0.10	56,90 \pm 0.10	80,30 \pm 0.14	90,0 \pm 0.01	101,78 \pm 0.49
Extrait aqueux	7,08 \pm 0.29	17,25 \pm 0.25	27,91 \pm 0.30	31,80 \pm 0.19	36,07 \pm 0.10	36,90 \pm 0.18	60,83 \pm 0.13	589,76 \pm 1,72
BHT ^b	88.29 \pm 0.10	91.70 \pm 0.36	93.65 \pm 0.30	93.68 \pm 0.46	94.49 \pm 0.07	94.88 \pm 0.10	95.58 \pm 0.19	0.91 \pm 0.01
BHA ^b	93.48 \pm 0.44	95.52 \pm 0.33	96.34 \pm 0.55	97.56 \pm 0.19	97.64 \pm 2.22	97.85 \pm 0.32	99.66 \pm 0.52	1.05 \pm 0.03

Le test β -carotène/acide linoléique a été utilisé pour évaluer l'effet antioxydant des extraits de la partie aérienne de *S. bispinosa*. Comme le montre le Tableau 13, tous les extraits ont montré une faible activité par rapport aux standards. Les valeurs de la CI_{50} se sont avérées être dans l'ordre suivant : BHT < BHA < acétate d'éthyle < butanol < méthanol < chloroforme < eau.

Une étude faite par (Chanda et al., 2018) sur la richesse des feuilles de trois espèces de *Sesbania* en β -carotène, qui a montré que *S. bispinosa* était la plus riche avec (0.351 \pm 0.108mg/100g).

Tableau 14 : test de blanchiment du β -carotène par les extraits des graines de *S. bispinosa*

Extrait	(%) Inhibition du β -carotène/acide linoléique							
	12.5 μ g	25 μ g	50 μ g	100 μ g	200 μ g	400 μ g	800 μ g	IC_{50} μ g/ml
Extrait Chloroformique	26,10 \pm 0.20	29,90 \pm 0.04	57,27 \pm 0.13	73,69 \pm 0.06	84,91 \pm 0.04	90,69 \pm 0.13	93,95 \pm 0.00	51,73 \pm 0.07
Extrait acétate d'éthyle	23,58 \pm 0.19	25,12 \pm 0.20	38,87 \pm 0.20	59,05 \pm 0.14	74,63 \pm 0.10	82,17 \pm 0.02	88,33 \pm 0.05	83,56 \pm 0.70
Extrait butanolique	4,31 \pm 0.33	14,79 \pm 0.26	25,52 \pm 0.24	35,58 \pm 0.20	44,02 \pm 0.10	64,67 \pm 0.05	75,83 \pm 0.06	252,84 \pm 0.68
Extrait méthanolique	23,86 \pm 0.21	25,22 \pm 0.17	31,72 \pm 0.21	60,97 \pm 0.05	74,41 \pm 0.10	76,33 \pm 0.05	80,65 \pm 0.02	95,01 \pm 0.23
Extrait aqueux	2,54 \pm 0.26	14,20 \pm 0.17	26,37 \pm 0.22	33,15 \pm 0.19	65,44 \pm 0.08	71,56 \pm 0.07	81,16 \pm 0.05	147,65 \pm 0.30
BHT ^b	88.29 \pm 0.10	91.70 \pm 0.36	93.65 \pm 0.30	93.68 \pm 0.46	94.49 \pm 0.07	94.88 \pm 0.10	95.58 \pm 0.19	0.91 \pm 0.01
BHA ^b	93.48 \pm 0.44	95.52 \pm 0.33	96.34 \pm 0.55	97.56 \pm 0.19	97.64 \pm 2.22	97.85 \pm 0.32	99.66 \pm 0.52	1.05 \pm 0.03

Tous les extraits des graines de *S. bispinosa* ont montré une faible activité par rapport aux standards utilisés (BHT et BHA).

On note que l'extrait chloroformique et d'acétate d'éthyle possèdent l'activité la plus forte tandis que l'extrait butanolique est le plus faible.

Les résultats obtenus pour le test de blanchiment du β -carotène peuvent être dus à la présence de polyphénols et des flavonoïdes qui ont la plus grande contribution au potentiel antioxydant des fractions des graines. En fait, la littérature a démontré une bonne corrélation entre l'activité antioxydante et la teneur élevée en polyphénols et en flavonoïdes (Aouachriaa et *al.*, 2017, Bouaziz et *al.*, 2020).

Conclusion

La partie aérienne de *S. bispinosa* a montré une forte activité du β -carotène pour les extraits chloroformique, acétate d'éthyle, et butanolique comparativement à celle des graines. Par contre pour l'extrait méthanolique et aqueux les graines étaient les plus actifs.

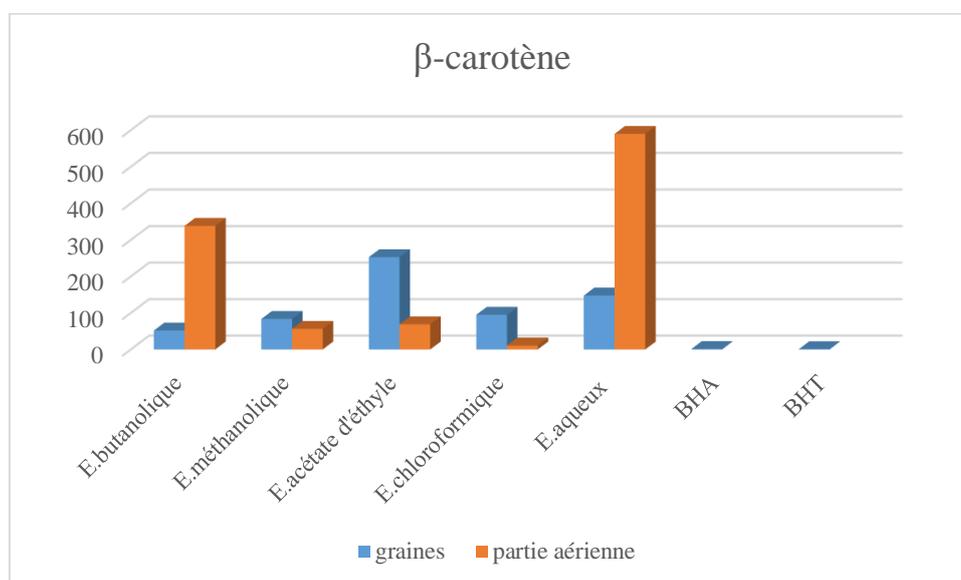


Figure 45 : Test β -carotène des différents extraits des deux parties étudiées de *S.bispinosa*

III.2.2.5. Activité de réduction du complexe cuivre- néocuproïne (CUPRAC)

C'est une réaction de réduction du complexe cuivre- néocuproïne, le dosage de cette réaction est mesuré à titre de valeurs $A_{0.50}$ des extraits de *S. bispinosa* et des standards BHA et BHT mentionnées ci-dessous :



Figure 46 : la plaque de dosage de l'activité de réduction du complexe cuivre- néocuproïne (CUPRAC) des extraits de *sesbania bispinosa*

Tableau 15 : activité de réduction du complexe cuivre- néocuproïne (CUPRAC) de la partie aérienne de *S. bispinosa*

Extrait	Absorbances du CUPRAC							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	$A_{0.50}$ (µg/ml)
Extrait Chloroformique	0,16±0,00	0,21±0,00	0,28±0,00	0,51±0,00	0,81±0,00	1,47±0,00	2,52±0,00	107,00±0,29
Extrait acétate d'éthyle	0,10±0,00	0,12±0,00	0,16±0,00	0,19±0,00	0,37±0,00	0,65±0,00	1,46±0,00	302,89±0,69
Extrait butanolique	0,11±0,00	0,12±0,00	0,15±0,00	0,17±0,00	0,23±0,00	0,31±0,00	1,04±0,00	264,29±0,36
Extrait méthanolique	0,14±0,00	0,18±0,00	0,29±0,00	0,41±0,00	0,60±0,00	1,01±0,00	2,15±0,00	150,50±0,43
Extrait aqueux	0,10±0,00	0,12±0,00	0,15±0,00	0,21±0,00	0,40±0,00	0,82±0,00	1,44±0,00	249,67±0,14
BHA ^b	1,12±0,05	1,95±0,31	3,14±0,46	3,58±0,42	3,35±0,20	3,77±0,19	3,92±0,13	5,35±0,71
BHT ^b	1.41±0.03	2.22±0.05	2.42±0.02	2.50±0.01	2.56±0.05	2.86±0.07	3.38±0.13	8.97±3.94

Les résultats de l'activité de réduction du complexe cuivre- néocuproïne (CUPRAC) de la partie aérienne de *S. bispinosa* (tableau 15) ont montré que l'extrait chloroformique a présenté la plus forte activité ($A_{0.50}$: 54,83±0,00µg/ml), ce résultat est sept fois plus faible que celui du standard BHT ($A_{0.50}$: 9,97±3,94µg/ml), et égal à l'extrait acétate d'éthyle ($A_{0.50}$: 63,50±0,06µg/ml). Et cette activité est suivie par les extraits butanolique, méthanolique et

aqueux. Selon Murugan et *al.*, 2018 sur l'activité de réduction du complexe cuivre- néocuproïne (CUPRAC) de l'extrait aqueux des fleurs de *S. sesban* a montré une activité comprise entre (81,3 et 89,9 µg/ml)

Tableau 16 : activité de réduction du complexe cuivre- néocuproïne (CUPRAC) des graines de *S. bispinosa*

Extraits	Absorbances du CUPRAC							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	A _{0.50} (µg/mL)
Extrait Chloroforme	0,24±0.00	0,33±0.00	0,47±0.00	0,77±0.00	1,36±0.00	2,14±0.00	3,07±0.00	54,83±0.00
Extrait Ethyle acétate	0,21±0.00	0,28±0.00	0,42±0.00	1,69±0.00	1,16±0.00	1,90±0.00	2,44±0.00	63,50±0.06
Extrait Butanol	0,15±0.00	0,17±0.00	0,28±0.00	0,33±0.00	0,54±0.00	0,89±0.00	1,53±0.00	189,48±5,49
Extrait méthanol	0,14±0.00	0,18±0.00	0,23±0.00	0,37±0.00	0,50±0.00	0,75±0.00	1,18±0.00	201,79±0.59
Extrait aqueux	0,22±0.00	0,22±0.00	0,25±0.00	0,30±0.00	0,33±0.00	0,41±0.00	0,69±0.00	518,61±0.48
BHA ^b	1,12±0,05	1,95±0,31	3,14±0,46	3,58±0,42	3,35±0,20	3,77±0,19	3,92±0,13	5,35±0,71
BHT ^b	1.41±0.03	2.22±0.05	2.42±0.02	2.50±0.01	2.56±0.05	2.86±0.07	3.38±0.13	8.97±3.94

Tous les extraits des graines de *S. bispinosa* présentent une activité faible par rapport aux standards (BHT, BHA), et c'est l'extrait chloroformique qui a présenté la meilleure activité par rapport à celle des autres extraits. Cet extrait est douze fois plus faible que le standard BHT, suivi par les extraits méthanolique, aqueux, butanolique et l'acétate d'éthyle.

Conclusion

On constate que l'activité de réduction du complexe cuivre- néocuproïne (CUPRAC), est moins efficace pour les extraits des graines que pour la partie aérienne. Cette étude nous a permis de confirmer la forte activité de la partie aérienne de *S. bispinosa*

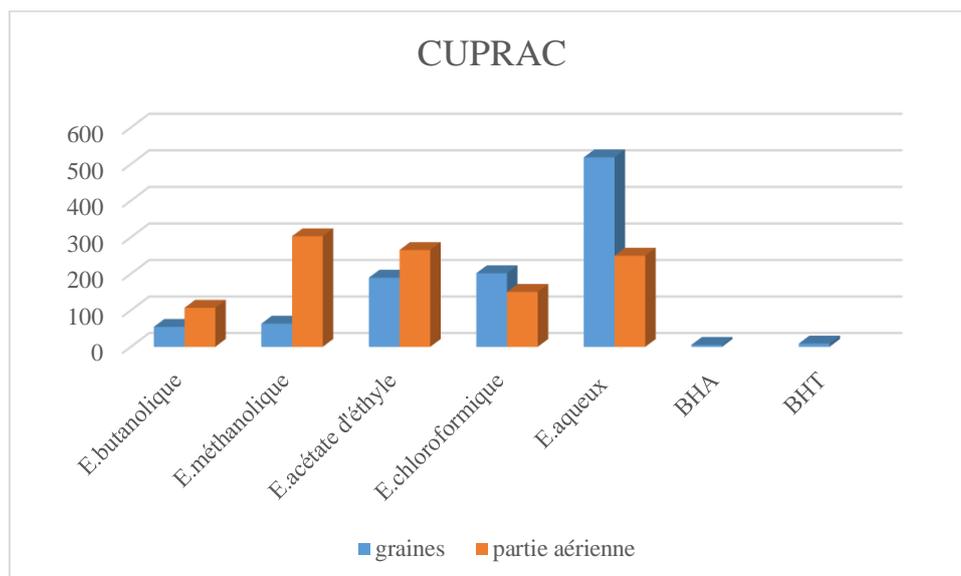


Figure 47 : Test CUPRAC des différents extraits des deux parties étudiées de *S.bispinosa*

III.2.2.6. Activité de réduction par la formation du complexe Fe^{2+} -phénantroline

Cette réduction est déterminée par la mesure de valeurs d' $A_{0.50}$ des extraits de la plante et celles des standards BHA et BHT ce qui a permis d'obtenir les résultats suivants :

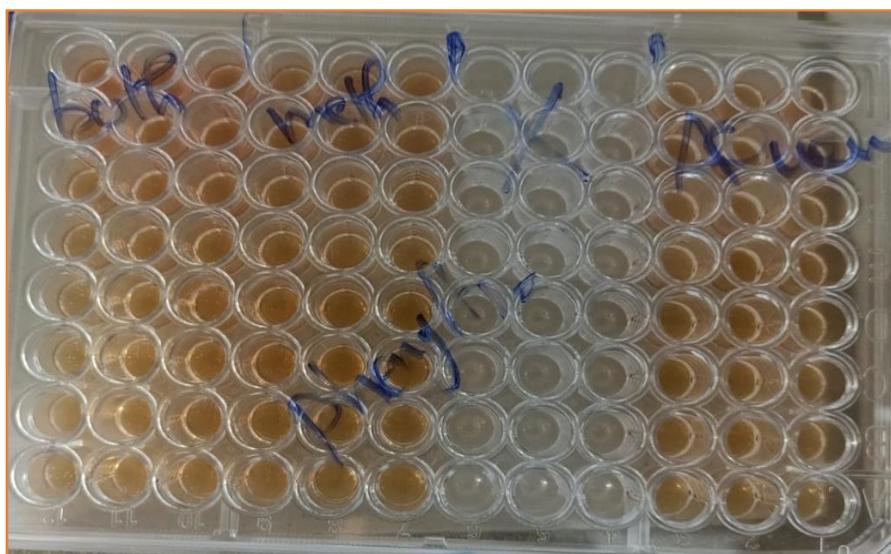


Figure 48 : la plaque de dosage de l'activité de réduction par la formation du complexe Fe^{2+} -phénantroline des extraits de *sesbania bispinosa*

Tableau 17 : activité de réduction par la formation du complexe Fe²⁺-phénantroline de la partie aérienne de *S. bispinosa*

Extrait	Absorbances phénantroline							
	3,125	6,25	12,5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	A _{0,5} µg/ml
Extrait butanolique	0,33±0,00	0,36±0,00	0,37±0,00	0,43±0,00	0,51±0,00	0,71±0,00	0,74±0,00	45,32±0,28
Extrait méthanolique	0,32±0,00	0,35±0,00	0,39±0,00	0,40±0,00	0,46±0,00	0,63±0,00	0,89±0,01	60,61±0,35
Extrait chloroformique	0,36±0,00	0,38±0,00	0,40±0,00	0,46±0,00	0,53±0,00	0,56±0,00	01,36±0,00	44,58±0,72
Extrait Acétate d'éthyle	0,36±0,00	0,38±0,00	0,40±0,00	0,46±0,00	0,54±0,00	0,68±0,00	0,80±0,00	37,24±0,46
Extrait aqueux	0,32±0,00	0,37±0,00	0,41±0,00	0,42±0,00	0,45±0,00	0,51±0,00	1,85±0,00	27,92±0,07
BHA	0,49±0,01	0,59±0,01	0,73±0,02	0,93±0,01	1,25±0,04	2,10±0,05	4,89±0,06	0,93±0,07
BHT	0,47±0,01	0,47±0,01	0,53±0,03	1,23±0,02	1,84±0,01	3,48±0,03	4,84±0,01	2,24±0,17

Les résultats obtenus par cette activité montrent que tous les extraits se sont révélés capables de réduire le fer et de former un complexe Fe²⁺-phénantroline. A partir du tableau 17, on peut déduire que l'extrait chloroformique montre le pouvoir réducteur le plus élevé (A_{0,50}: 23±0,14µg/ml) par rapport aux autres extraits. Ce dernier est deux fois supérieur à l'extrait d'acétate d'éthyle, et trois fois plus que l'extrait butanolique, et quatre fois plus que l'extrait méthanolique. Cependant l'extrait aqueux a montré l'activité la plus faible. Toutefois les deux standards BHT et BHA présentent les plus fortes activités réductrices.

Notre étude de l'activité de réduction par la formation du complexe Fe²⁺-phénantroline est la première réalisée sur la plante *S. bispinosa*.

Tableau 18: activité de réduction par la formation du complexe Fe²⁺-phénantroline des graines de *S. bispinosa*

Extrait	Absorbance phénanthroline							
	3,125	6,25	12,5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	A _{0,5} µg/ml
Extrait butanolique	0,30±0,00	0,31±0,00	0,34±0,00	0,38±0,00	0,45±0,00	0,63±0,00	0,92±0,00	62,54±0,96
Extrait méthanolique	0,29±0,00	0,31±0,00	0,33±0,00	0,35±0,00	0,48±0,00	0,49±0,00	0,63±0,01	86,02±2,16
Extrait aqueux	0,31±0,00	0,32±0,00	0,36±0,00	0,38±0,00	0,40±0,00	0,49±0,00	0,53±0,00	149,17±1,30
Extrait acétate d'éthyle	0,29±0,00	0,33±0,00	0,36±0,00	0,42±0,00	0,55±0,00	0,75±0,00	1,18±0,00	40,85±0,18
Extrait chloroformique	0,31±0,00	0,38±0,00	0,41±0,00	0,55±0,00	0,67±0,00	1,04±0,00	2,00±0,00	23±0,14
BHA	0,49±0,01	0,59±0,01	0,73±0,02	0,93±0,01	1,25±0,04	2,10±0,05	4,89±0,06	0,93±0,07
BHT	0,47±0,01	0,47±0,01	0,53±0,03	1,23±0,02	1,84±0,01	3,48±0,03	4,84±0,01	2,24±0,17

Selon les résultats obtenus dans cette étude (tableau 18), on constate que tous les extraits des graines de *S. bispinosa* ont manifesté une activité réductrice du fer considérable, et on peut déduire que l'extrait aqueux montre le pouvoir le plus important. Aussi ce dernier est douze fois plus faible que le standard BHT. Cette activité est suivie par les extraits acétate d'éthyle, chloroformique, butanolique et méthanolique.

Conclusion

On conclut que les graines de *S. bispinosa* ont manifesté la forte activité anti-oxydante comparativement à la partie aérienne.

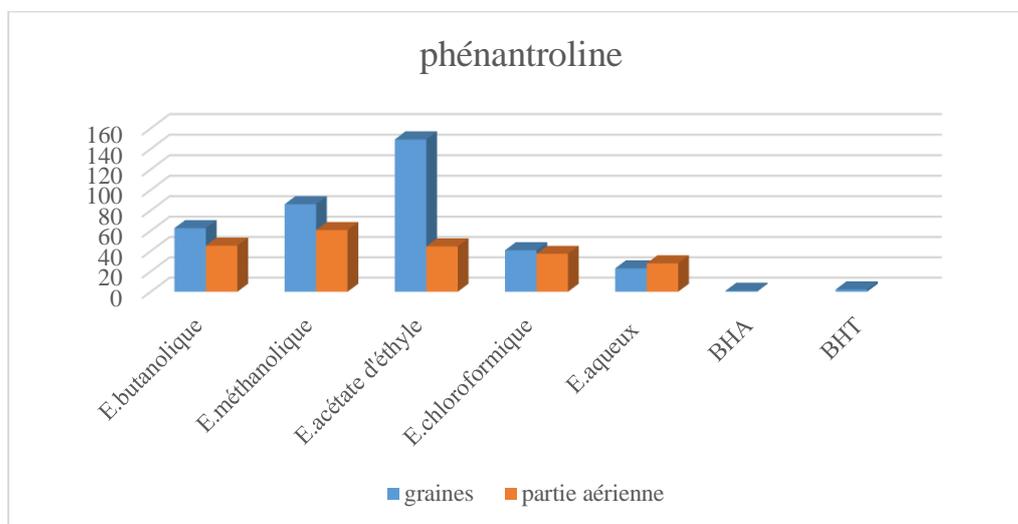


Figure 49 : Test phénantroline des différents extraits des deux parties étudiées de *S.bispinosa*

III.2.2.7. Activité du pouvoir réducteur (RP)

Le suivi de cette activité est basé sur l'aptitude des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}), de couleur jaune en fer ferreux (Fe^{2+}) de couleur bleu verte par la mesure des valeurs $A_{0.50}$ et par comparaison avec les standards acides ascorbique et α -Tocophérol, le test nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

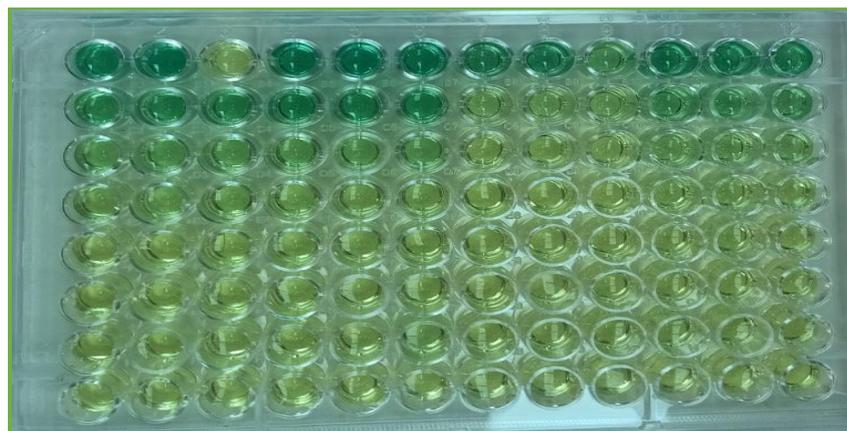


Figure 50: la plaque de dosage de l'activité de pouvoir réducteur des extraits de *S.bispinosa*

Tableau 19 : Absorbance du pouvoir réducteur par les extraits de la partie aérienne de *S. bispinosa*

Extraits	Absorbance pouvoir réducteur							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	A _{0,5} µg/ml
Extrait butanolique	0,05±0,00	0,04±0,00	0,05±0,00	0,06±0,01	0,08±0,01	0,15±0,00	0,16±0,01	>200
Extrait méthanolique	0,04±0,00	0,05±0,00	0,05±0,00	0,06±0,00	0,07±0,00	0,12±0,00	0,24±0,01	>200
Extrait acétate d'éthyle	0,05±0,00	0,06±0,00	0,07±0,00	0,13±0,02	0,20±0,00	0,36±0,01	0,62±0,01	155,56±1,60
Extrait chloroformique	0,05±0,01	0,07±0,00	0,13±0,01	0,21±0,01	0,32±0,02	0,52±0,01	0,88±0,01	93,16±1,34
Extrait aqueux	0,04±0,00	0,05±0,00	0,07±0,00	0,09±0,01	0,12±0,00	0,14±0,01	0,21±0,01	>200
Acide ascorbique	0,35±0,05	0,46±0,03	0,84±0,12	0,93±0,30	1,18±0,34	1,37±0,20	1,44±0,21	6.77±1.15
α-Tocophérol	0.11±0,00	0.16±0.00	0,21±0,03	0,35±0,03	0,73±0,03	1,37±0,08	1,81±0,09	34.93±2.38

Pour mesurer l'activité anti-oxydante des extraits, on a utilisé un autre test qui est le pouvoir réducteur. Nous avons étudié la transformation de l'ion Fe^{3+} en Fe^{2+} en présence des extraits qui ont servi d'indicateurs de leurs activités anti-oxydantes (Olorunnisola et *al.*, 2012). La transformation de la couleur jaune du complexe Fe^{3+} /ferricyanure en bleu de Prusse de la forme ferreuse (Fe^{2+}) a été mesurée à 700 nm (Nur Alam et *al.*, 2013).

Les valeurs du pouvoir réducteur des extraits de la partie aérienne de *S.bispinosa* sont de l'ordre suivant (extrait chloroformique > extrait acétate d'éthyle), les autres extraits (butanolique, méthanolique, et aqueux) ont manifesté une faible activité.

Les résultats de cette recherche sont moins encourageant par rapport à l'étude de (Sahni et *al.*, 2020) sur *S.bispinosa* de Pendjab avec (12,18 à 17,05mg/g), cette différence est probablement due à l'effet de la région et des conditions climatiques , la saison de récolte affectant la biosynthèse des composés phénoliques, et les conditions d'extraction qui influencent aussi.

Tableau 20 : Absorbance du pouvoir réducteur par les extraits des graines de *S. bispinosa*

Extrait	Absorbance pouvoir réducteur							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	A _{0.5} µg/ml
Extrait butanolique	0,06±0,01	0,06±0,00	0,07±0,00	0,13±0,00	0,21±0,00	0,37±0,01	0,57±0,02	167,17±3,82
Extrait méthanolique	0,05±0,00	0,06±0,00	0,07±0,00	0,10±0,01	0,20±0,02	0,47±0,01	0,62±0,00	143,84±0,42
Extrait acétate d'éthyle	0,04±0,01	0,05±0,00	0,06±0,00	0,06±0,00	0,09±0,00	0,11±0,01	0,32±0,01	>200
Extrait chloroformique	0,05±0,01	0,06±0,00	0,06±0,00	0,11±0,01	0,18±0,00	0,32±0,00	0,56±0,02	175,89±5,57
Extrait aqueux	0,04±0,00	0,05±0,00	0,05±0,00	0,09±0,00	0,16±0,00	0,43±0,02	1,67±0,03	92,13±1,58
Acide ascorbique	0,35±0,05	0,46±0,03	0,84±0,12	0,93±0,30	1,18±0,34	1,37±0,20	1,44±0,21	6.77±1.15
α-Tocophérol	0.11±0,00	0.16±0.00	0,21±0,03	0,35±0,03	0,73±0,03	1,37±0,08	1,81±0,09	34.93±2.38

D'après le tableau 20, on a observé que l'extrait aqueux a présenté la meilleure activité du pouvoir réducteur (92,13±1,58 µg/ml), suivie par les extraits méthanolique, butanolique, et chloroformique avec (143,84±0,42 µg/ml), (167,17±3,82 µg/ml), et (175,89±5,57 µg/ml) respectivement. L'extrait de l'acétate d'éthyle a manifesté une faible activité par rapport aux extraits et aux standards : l'acide ascorbique et α-Tocophérol.

Conclusion :

On conclut que les graines de *S. bispinosa* ont manifesté la forte activité anti-oxydante du pouvoir réducteur par rapport à la partie aérienne.

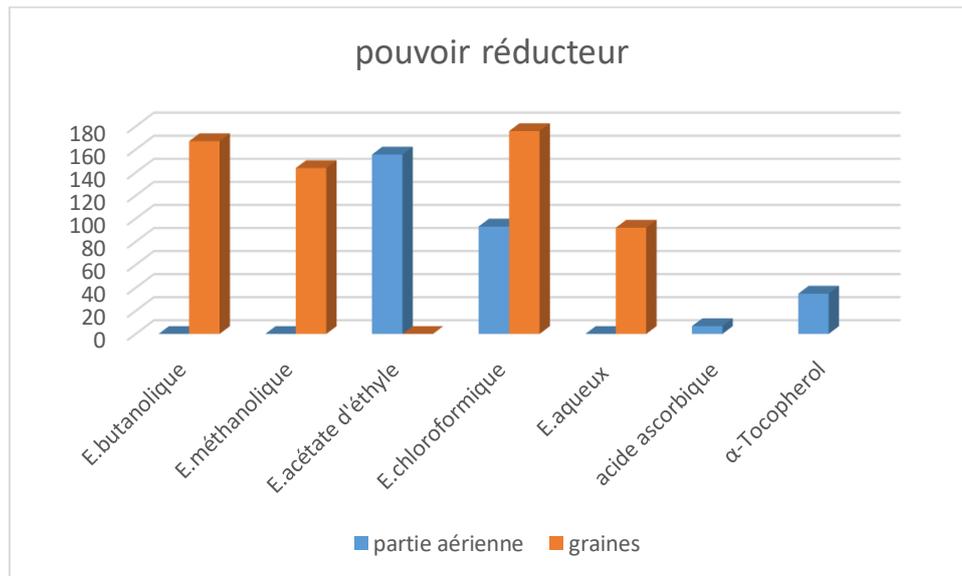


Figure 51 : pouvoir réducteur des différents extraits des deux parties étudiées de *S. bispinosa*

➤ **Conclusion de l'activité anti-oxydante des deux parties étudiées de *S.bispinosa* :**

A l'issue de ces résultats, il apparaît que les extraits chloroformique, de l'acétate d'éthyle, et méthanolique de la partie aérienne et des graines de *S.bispinosa* ont montré une meilleure activité pour les sept méthodes utilisées : anti-radicalaire DPPH, ABTS, GOR, CUPRAC, Phénantroline, blanchissement du bêta-carotène, et pouvoir réducteur.

Les résultats d'étude des différentes activités de *S. bispinosa* sont comme suit :

- Les extraits acétate d'éthyle et chloroformique de la partie aérienne, et l'extrait chloroformique des graines, ont montré la meilleure activité avec le test DPPH.
- L'extrait méthanolique des deux parties a manifesté la meilleure activité avec le test ABTS
- Les extraits acétate d'éthyle de la partie aérienne, et l'extrait méthanolique des graines, ont présenté l'activité la plus élevée avec le test Galvinoxyl (GOR).
- L'extrait chloroformique des deux parties a montré la meilleure activité avec le test CUPRAC.
- L'extrait acétate d'éthyle de la partie aérienne, et les extraits chloroformiques, et acétate d'éthyle des graines ont manifesté la meilleure activité avec le test du blanchissement du bêta-carotène.
- L'extrait chloroformique de la partie aérienne et l'extrait aqueux des graines, ont présenté la meilleure activité avec le test Fe^{2+} -phénantroline.

Il est à noter que l'ordre d'efficacité des extraits étudiés est pratiquement le même dans les sept méthodes, ce qui confirme la corrélation entre les méthodes étudiées, et la bonne pratique expérimentale.

L'activité anti-oxydante de la plante *S.bispinosa* est due à sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdes.

III.2.3. Activité enzymatique

L'évaluation de l'activité enzymatique des extraits de la partie aérienne et des graines de *S. bispinosa* a été réalisée par l'inhibition de trois enzymes.

III.2.3.1. Evaluation de l'activité antidiabétique

L'activité enzymatique des différents extraits de *S. bispinosa* a été évaluée en mesurant leurs capacités à inhiber l'enzyme alpha-amylase.

➤ Inhibition de l'alpha amylase

Dans cette étude, l'activité inhibitrice de l'enzyme alpha-amylase des différents extraits de *S. bispinosa* a été évaluée par la détermination des concentrations inhibitrices CI_{50} par rapport au standard l'acarbose en se basant sur la capacité d'une substance à inhiber cette enzyme. Les résultats sont présentés ci-dessous :



Figure 52 : la plaque de dosage de l'activité inhibitrice d'alpha-amylase des extraits de *sesbania bispinosa*

Tableau 21: Inhibition de l'alpha-amylase par les extraits de la partie aérienne de *S. bispinosa*

Extrait	% d'inhibition							
	62,5 µg	125 µg	250 µg	500 µg	1000 µg	2000 µg	4000 µg	IC ₅₀ (µg/ml)
Extrait butanol	39,69±0,05	40,82±0,05	46,51±0,05	50,93±0,05	55,78±0,05	56,59±0,05	59,27±0,05	49,38±0,06
Extrait méthanol	40,17±0,05	46,59±0,05	50,98±0,05	52,93±0,05	60,52±0,05	60,95±0,05	61,47±0,05	28,08±0,01
Extrait acétate d'éthyle	41,18±0,05	44,81±0,05	48,38±0,05	52,93±0,05	60,11±0,05	65,58±0,08	67,18±0,05	33,69±0,15
Extrait chloroforme	71,20±0,00	77,41±0,08	88,13±0,08	100,78±0,08	135,42±0,00	136,27±0,15	153,56±0,15	<4000
Extrait aqueux	49,30±0,08	64,00±0,08	71,37±0,08	77,32±0,08	77,14±0,08	78,79±0,08	79,37±0,08	4,01±0,10
Acarbose	7,76±0,17	8,08±0,30	9,46±0,11	10,70±0,96	31,81±2,89	37,21±3,54	53,05±1,59	3650,93±10,7

D'après les résultats obtenus (tableau 21), on remarque que l'activité inhibitrice de l'alpha amylase la plus importante a été enregistrée au niveau de l'extrait aqueux avec une (CI_{50} : $4,01 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$). Cette activité est neuf-cent-dix fois supérieure à celle du standard l'acarbose (CI_{50} : $3650,93 \pm 10,70 \mu\text{g/ml}$) qui réagit *in vivo* mieux qu'*in vitro*.

Cette activité est suivie par les extraits méthanolique, acétate d'éthyle, butanolique et chloroformique, qui présentent tous une activité meilleure que celle du standard.

L'activité inhibitrice de l'alpha amylase de la plante *S. bispinosa* est la première réalisée sur cette espèce. De plus une étude sur l'extrait DMSO de *S. grandiflora* a donné une activité inhibitrice de l'alpha amylase égale à $50,95 \mu\text{g/ml}$ (Shreya et al., 2017), ce résultat est faible par rapport aux résultats obtenus de la partie aérienne de *S. bispinosa*.

Tableau 22 : Inhibition de l'alpha-amylase par les extraits des graines de *S. bispinosa*

Extrait	(%) inhibition							
	62,5 μg	125 μg	250 μg	500 μg	1000 μg	2000 μg	4000 μg	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Extrait butanolique	24,62 \pm 0,04	26,61 \pm 0,04	35,28 \pm 0,04	44,70 \pm 0,04	54,35 \pm 0,04	67,89 \pm 0,04	85,91 \pm 0,08	79,51 \pm 0,13
Extrait méthanolique	28,66 \pm 0,04	32,32 \pm 0,04	34,99 \pm 0,04	35,54 \pm 0,04	43,68 \pm 0,04	53,36 \pm 0,04	61,14 \pm 0,04	184,14 \pm 0,16
Extrait acétate d'éthyle	25,73 \pm 0,04	27,42 \pm 0,04	30,45 \pm 0,04	33,05 \pm 0,04	41,45 \pm 0,04	45,19 \pm 0,04	59,12 \pm 0,04	256,82 \pm 0,43
Extrait Chloroformique	37,79 \pm 0,07	39,22 \pm 0,07	41,47 \pm 0,07	58,33 \pm 0,07	70,08 \pm 0,07	76,41 \pm 0,07	82,43 \pm 0,07	39,95 \pm 0,09
Extrait aqueux	42,46 \pm 0,07	73,53 \pm 0,07	82,67 \pm 0,07	89,35 \pm 0,07	109,18 \pm 0,07	130,00 \pm 0,07	111,28 \pm 0,07	6,23 \pm 0,01
Acarbose	7,76 \pm 0,17	8,08 \pm 0,30	9,46 \pm 0,11	10,70 \pm 0,96	31,81 \pm 2,89	37,21 \pm 3,54	53,05 \pm 1,59	3650,93 \pm 10,70

Selon les résultats obtenus dans cette étude (tableau 22), on constate que tous les extraits de graines de *S. bispinosa* ont manifesté une activité inhibitrice d'alpha amylase importante comparé à celle du standard l'acarbose (CI_{50} : $3650,93 \pm 10,70 \mu\text{g/ml}$).

A partir du tableau 22, on peut déduire que l'extrait aqueux montre l'activité inhibitrice la plus importante (CI_{50} : $6,23 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$) par rapport aux autres extraits. Cette activité est suivie par les extraits chloroformique et butanolique avec (CI_{50} : $39,95 \pm 0,09$ et $79,51 \pm 0,13$ respectivement). Par contre les extraits méthanolique et acétate d'éthyle ont montré l'activité la plus faible.

Une étude sur les graines d'une espèce du même genre que *S. bispinosa*, à savoir *S. sesban* a donné une activité inhibitrice de l'alpha amylase de 81,43% (Vadivel *et al.*, 2012) qui est une activité faible comparée à nos résultats.

Conclusion

On conclut que la partie aérienne de *S. bispinosa* a présenté une excellente activité antidiabétique par rapport à celle des graines et du standard l'acarbose. Cela peut être justifié par la richesse de la partie aérienne en composé déjà détecté, le Pinitol, (26,53%) par rapport aux graines (6,45%).

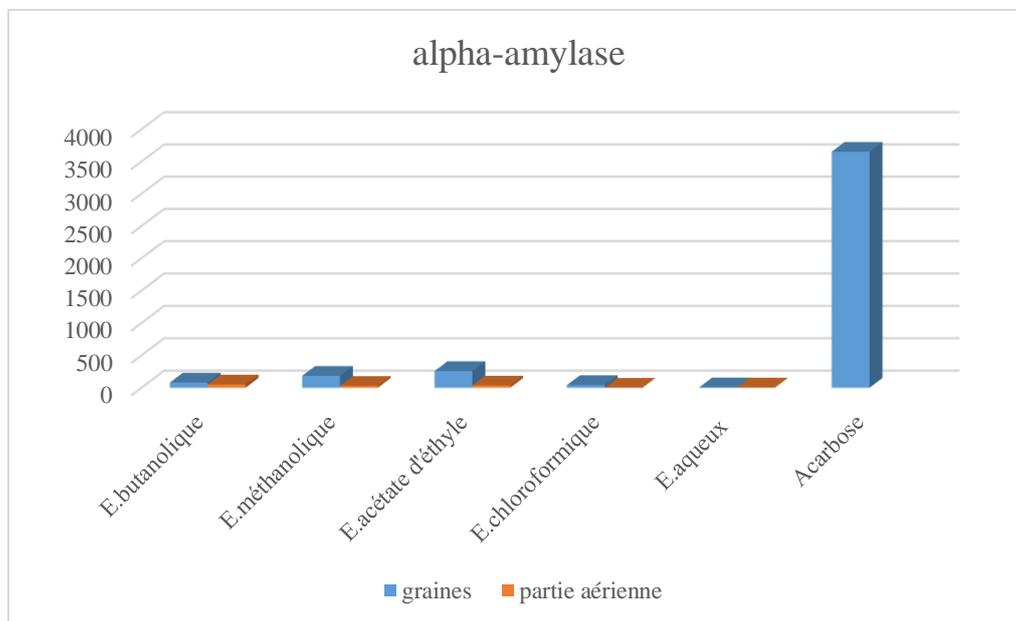


Figure 53 : Activité alpha amylase des différents extraits des deux parties étudiées de *S.bispinosa*

III.2.3.2. Evaluation de l'activité anti-cholinestérase

L'activité anti-cholinestérase des divers extraits de la plante *S. bispinosa* est testée par la méthode d'inhibition de la butyrylcholinestérase et l'acétylcholinestérase selon la méthode d'Ellman et *al.*, (1961).

➤ Inhibition de la butyrylcholinestérase et l'acétylcholinestérase

Cette inhibition est suivie par la mesure de l'absorbance et la détermination de la concentration inhibitrice (CI₅₀) des différents extraits en comparaison avec le standard, la galantamine. Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous :

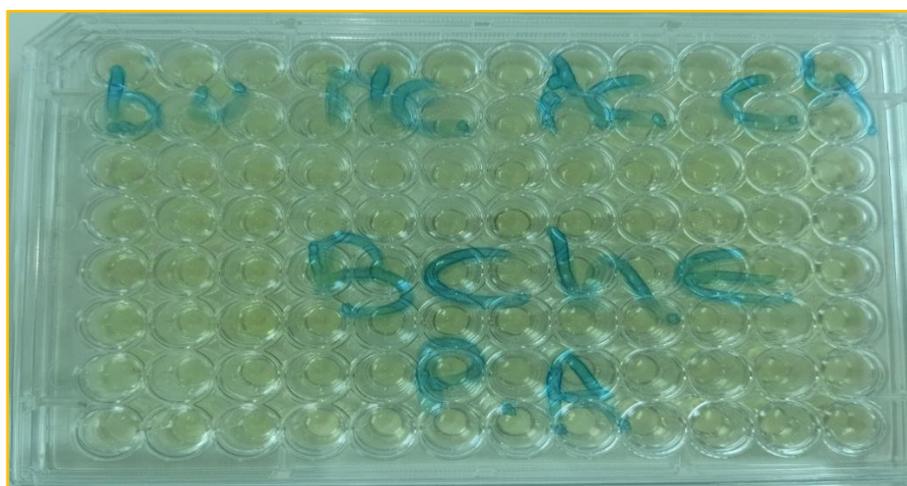


Figure 54 : la plaque de dosage de l'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase et l'acétylcholinestérase des extraits de *sesbania bispinosa*

Tableau 23 : Inhibition de la butyrylcholinestérase par les extraits de la partie aérienne de *S. bispinosa*

Extrait	Inhibition Butyrylcholinestérase							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	CI ₅₀ µg/mL
Extrait butanolique	16,72±0,50	20,23±0,00	27,93±0,58	34,62±0,29	42,31±0,00	50,67±0,29	54,68±0,29	94,14±1,53
Extrait méthanolique	12,21±0,00	12,54±0,29	12,71±0,50	17,39±0,29	32,11±0,29	41,30±0,00	65,55±0,58	132,97±1,06
Extrait acétate d'éthyle	-6,35±0,50	-9,36±1,11	-21,24±0,29	-23,91±0,50	-40,30±0,29	-46,82±0,29	-43,81±0,29	na
Extrait chloroformique	14,12±0,50	14,72±0,60	15,38±0,99	20,40±0,9	36,12±0,23	39,63±0,12	51,84±0,00	186,30±0,71
Extrait aqueux	-61,98±0,56	-75,25±1,41	-70,20±0,86	-75,25±1,80	-59,18±2,02	-66,28±0,86	-69,27±1,12	na
Galantamine ^b	3,26± 0,62	6,93± 0,62	24,03± 2,94	45,13± 2,60	63,87± 2,85	73,57± 0,77	78,95± 0,58	34.75±1.99

A partir du tableau 23, on remarque que l'extrait butanolique de la partie aérienne de *S.bispinosa* a montré une activité modérée contre la BChE (CI_{50} : $94,14 \pm 1,53 \mu\text{g/ml}$), qui est deux fois plus faible que celle du standard la galantamine (CI_{50} : $34,75 \pm 1,99 \mu\text{g/ml}$). Par contre, les extraits chloroformique et méthanolique ont montré une faible activité. Cependant, l'extrait d'acétate d'éthyle a été inactif pour les différentes concentrations.

L'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase par la partie aérienne de *S.bispinosa* peut être due à la présence des polyphénols. Elle peut également être due aux alcaloïdes, terpènes, et coumarines, qui sont des composés possédant des propriétés anti-cholinestérasiques (Tundis et al., 2009).

Tableau 24 : Inhibition de l'acétylcholinestérase par les extraits de la partie aérienne de *S. bispinosa*

Extrait	Inhibition acetylcholinestérase							
	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	CI_{50} $\mu\text{g/ml}$
Extrait butanolique	-15,11 \pm 0,04	-18,74 \pm 0,09	-19,46 \pm 0,00	-20,77 \pm 0,17	-24,25 \pm 0,04	-20,89 \pm 0,04	-21,31 \pm 0,00	na
Extrait méthanolique	-21,06 \pm 0,04	-21,76 \pm 0,07	-30,30 \pm 0,09	-31,68 \pm 2,18	-32,96 \pm 0,04	-30,00 \pm 0,11	-33,33 \pm 0,04	na
Extrait acétate d'éthyle	-9,86 \pm 2,03	12,31 \pm 0,13	-15,14 \pm 0,04	-19,68 \pm 1,12	25,52 \pm 0,04	-32,35 \pm 0,55	53,34 \pm 0,07	188,16 \pm 0,26
Extrait chloroformique	-265,01 \pm 1,91	-276,73 \pm 4,78	-274,71 \pm 2,52	-248,68 \pm 0,39	-245,47 \pm 1,86	-244,72 \pm 1,13	-225,62 \pm 1,40	na
Extrait aqueux	-75,27 \pm 0,09	-72,62 \pm 0,32	-80,16 \pm 0,39	-82,44 \pm 0,41	-82,75 \pm 0,09	-87,64 \pm 0,56	-73,56 \pm 0,32	na
Galantamine ^b	35,93 \pm 2,28	43,77 \pm 0,00	68,50 \pm 0,31	80,69 \pm 0,41	85,78 \pm 1,63	91,80 \pm 0,20	94,77 \pm 0,34	6.27 \pm 1.15

D'après les résultats obtenus (tableau 24), on remarque que l'activité inhibitrice de l'AChE a été enregistrée uniquement au niveau de l'extrait d'acétate d'éthyle avec une (CI_{50} : $188,16 \pm 0,26 \mu\text{g/ml}$). Cette activité est trente fois plus faible que celle du standard, la galantamine (CI_{50} : $6,27 \pm 1,15 \mu\text{g/ml}$).

Par comparaison de l'activité des deux enzymes AChE et BChE avec les extraits de la partie aérienne de *S.bispinosa*, on constate que la plupart des extraits ont montré une activité d'inhibition importante contre la BChE par rapport à l'AChE.

Une étude sur l'activité inhibitrice du BChE et l'AChE des extraits aqueux et éthanolique des fleurs de *S.grandiflora* a révélé que les deux extraits sont inactifs contre la BChE, et que c'est

uniquement l'extrait aqueux qui a donné un pourcentage d'inhibition de ($CI_{50} : 7,51 \pm 0,81 \text{ mg/ml}$), contre l'AChE (Baessa et al., 2018).

Tableau 25 : Inhibition de la butyrylcholinestérase par les extraits des graines de *S. bispinosa*

Extrait	Inhibition butyrylcholinestérase							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	CI_{50} µg/ml
Extrait butanolique	-50,44±2,74	-9,21±0,66	4,82±2,66	33,99±1,00	55,26±0,66	73,68±3,48	94,52±1,66	49,86±1,38
Extrait méthanolique	-83,99±3,25	-15,57±3,62	5,48±1,48	21,27±1,37	39,04±0,033	52,19±2,11	76,75±2,49	90,62±4,58
Extrait acétate d'éthyle	-3,51±0,11	-5,04±0,28	-14,25±2,31	-23,25±3,62	-48,25±1,60	-52,85±1,52	-90,57±2,49	na
Extrait chloroformique	-45,61±1,00	-78,51±2,01	-91,01±0,38	-99,34±4,11	-86,18±4,61	-87,06±2,11	-96,93±2,11	na
Extrait aqueux	-77,30±2,27	-80,10±1,17	-84,21±1,41	-83,65±2,27	-84,21±1,29	-96,92±0,86	-124,19±0,00	na
Galantamine ^b	3,26± 0,62	6,93± 0,62	24,03± 2,94	45,13± 2,60	63,87± 2,85	73,57± 0,77	78,95± 0,58	34.75±1.99

Le tableau 25 présente les activités inhibitrices de l'BChE des extraits des graines de *Sesbania bispinosa*, comparées à celle de la galantamine. Les extraits butanolique et méthanolique présentent une activité inhibitrice de la BChE modérée (valeur CI_{50} : 49,86±1,38 et 90,62±4,58 µg/ml, respectivement) mais cette activité inhibitrice de la BChE est inférieure à la norme galantamine (valeur CI_{50} : 34,75±1,99 µg/ml), Cependant, les extraits acétate d'éthyle, chloroformique, et aqueux ont été inactifs.

Tableau 26 : Inhibition de l'acétylcholinestérase par les extraits des graines de *S. bispinosa*

Extraits	Inhibition Acétylcholinestérase							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	IC_{50} µg/mL
Extrait Butanol	0,13±0,05	1,12±0,23	5,30±0,23	5,61±0,17	6,16±0,17	6,22±0,45	11,37±0,17	>200
Extrait Methanol	-9,79±0,19	-1,16±0,11	1,64±0,27	9,75±0,11	16,76±0,17	24,63±0,19	30,57±0,32	>200
Extrait acetate Ethyl	-20,68±0,20	-10,91±0,14	-0,26±0,19	8,11±0,20	13,08±0,27	27,19±0,17	36,11±0,17	>200
Extrait Chloroforme	-5,13±0,61	-2,28±0,17	2,15±0,04	4,65±0,31	7,71±0,13	12,18±0,11	18,80±0,15	>200
Extrait aqueux	-109,14±0,31	-109,66±0,24	-114,81±0,36	-122,86±1,12	-119,90±0,54	-116,68±0,48	-126,86±0,45	na
Galantamine ^b	35,93 ± 2,28	43,77 ± 0,00	68,50 ± 0,31	80,69 ± 0,41	85,78 ± 1,63	91,80 ± 0,20	94,77 ± 0,34	6.27±1.15

D'après le tableau 26, les extraits butanolique, méthanolique, acétate d'éthyle, et chloroformique des graines de *S.bispinosa* ont manifesté une faible activité inhibitrice de

l'acétylcholinestérase (CI_{50} : $>200\mu\text{g/ml}$), et ils sont loin d'être comparés à la galantamine. Cependant l'extrait aqueux a été inactif.

Conclusion

L'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase par les extraits des graines a été faible (CI_{50} : $>200\mu\text{g/ml}$), alors celle de la partie aérienne a été enregistrée uniquement au niveau de l'extrait d'acétate d'éthyle.

Les extraits butanoliques, et méthanoliques des deux parties ont manifesté une activité modérée contre la BChE.

D'après ces résultats, on peut dire que les graines de *S.bispinosa* ont présenté une activité modérée de l'inhibition de la butyrylcholinestérase par rapport à celle de la partie aérienne.

Il est important de souligner que la plupart des extraits ont montré une activité d'inhibition importante contre la BChE par rapport à l'AChE.

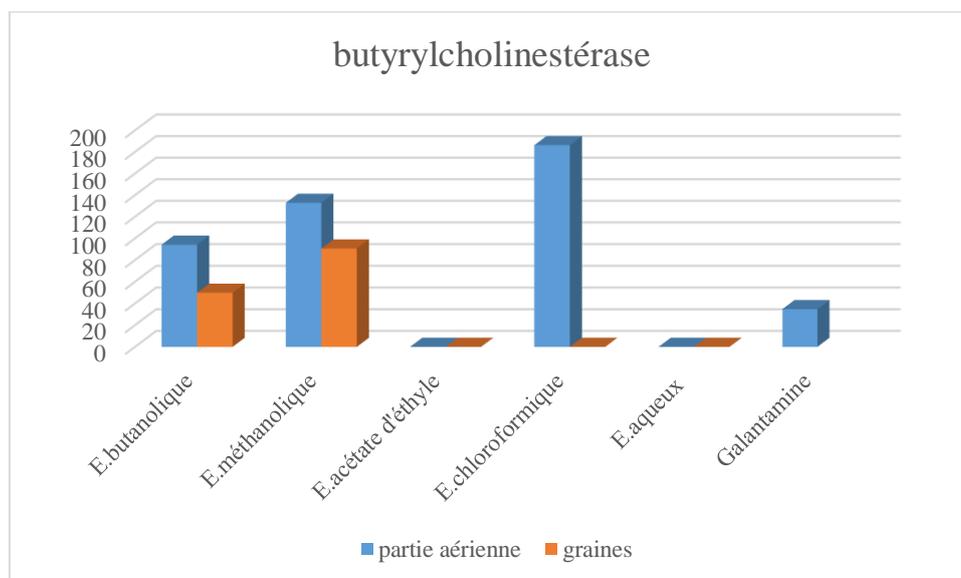


Figure 55 : Activité butyrylcholinestérase des différents extraits des deux parties étudiées de *S.bispinosa*

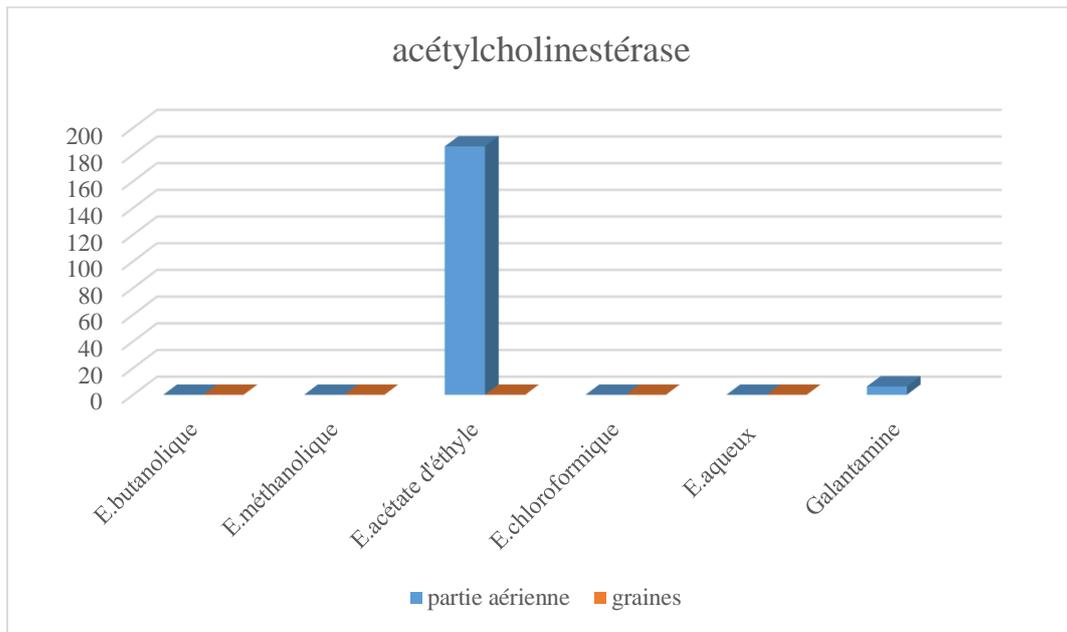


Figure 56 : Activité acétylcholinestérase des différents extraits des deux parties étudiées de *S.bispinosa*

III.2.4. Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits de *S.bispinosa* a été évaluée par dénaturation de BSA (albumine de sérum bovin)

Tableau 27 : Inhibition de l'acétylcholinestérase par les extraits des graines de *S. bispinosa*

PPM	(%)Inhibition partie aérienne					
	Extrait butanol	Extrait méthanol	Extrait acétate d'éthyle	Extrait chloroforme	Extrait aqueux	Voltarene (75 mg)
2000 µg/ml	52,88±1,16	28,71±3,34	92,41±4,24	61,76±1,76	99,82±0,41	100±0.18
1000 µg/ml	9,18±2,38	-63,88±2,19	63,06±1,06	29,82±1,59	99,08±0,84	92 ± 0.15
500 µg/ml	1,01±0,71	-60,00±1,67	29,71±0,27	-60,82±2,77	97,66±0,08	61 ± 0.15
250 µg/ml	-23,59±1,95	- 106,35±0,88	-33,06±0,64	-115,29±2,04	88,45±0,08	37 ±0.18
PPM	(%)Inhibition graines					
	Extrait butanol	Extrait méthanol	Extrait acétate d'éthyle	Extrait chloroforme	Extrait aqueux	Voltarene (75 mg)
2000 µg/ml	94,47±3,56	89,41±0,18	83,82±0,27	99,06±0,27	66,54±2,04	100±0.18
1000 µg/ml	85,76±0,53	74,94±1,40	62,53±2,04	97,88±0,18	35,38±1,23	92 ± 0.15
500 µg/ml	29,06±0,37	35,59±0,88	27,53±1,84	94,82±0,27	19,48±1,37	61 ± 0.15
250 µg/ml	-52,00±0,27	-58,65±0,98	-10,82±1,62	88,47±1,37	-79,74±1,59	37 ±0.18

Les résultats de la partie aérienne montrent que les extraits aqueux et acétate d'éthyle ont une capacité élevée d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'ordre de 99,82% et 92,41% respectivement, et ce pour une concentration de 4mg/ml, suivie par les extraits chloroformique, butanolique, et méthanolique avec un pourcentage d'inhibition 61,76%, 52,88% et 28,71% respectivement. Une concentration du voltarène (75mg), possède un effet anti-inflammatoire avec un pourcentage d'inhibition de 100%.

Pour les graines, on constate que les extraits chloroformique et butanolique ont un pourcentage d'inhibition maximale de 99,06% et 94,47% respectivement, (effet plus efficace que le Diclofénac[®], médicament anti-inflammatoire non-stéroïdien), suivi par les extraits

méthanolique, acétate d'éthyle, et aqueux qui ont présente une activité importante avec 89,41%, 83,82%, et 66,54% respectivement.

Une étude faite par Sharma et *al.*, 2014, montre que les extraits hexanique et acétate d'éthyle des feuilles de *S.aculeata* (*S.bispinosa*) à une dose de 10µg/ml présentent une inhibition significative contre les cytokines pro-inflammatoire. Une autre étude sur les saponines extraites à partir des graines de *S.sesban* montre une activité anti-inflammatoires très prometteuse, et elle peut être évaluée pour une utilisation comme un anti-inflammatoire (Dande et al., 2010).

L'extrait méthanolique des feuilles de *S.bispinosa* présente une activité anti-inflammatoire *in vivo* importante avec 15,22% d'inhibition du œdème en 180min (Boddawar et al., 2016).

Conclusion

On conclue que les deux parties de *S.bispinosa* présentent un effet anti-inflammatoire important par rapport à Diclofénac®.

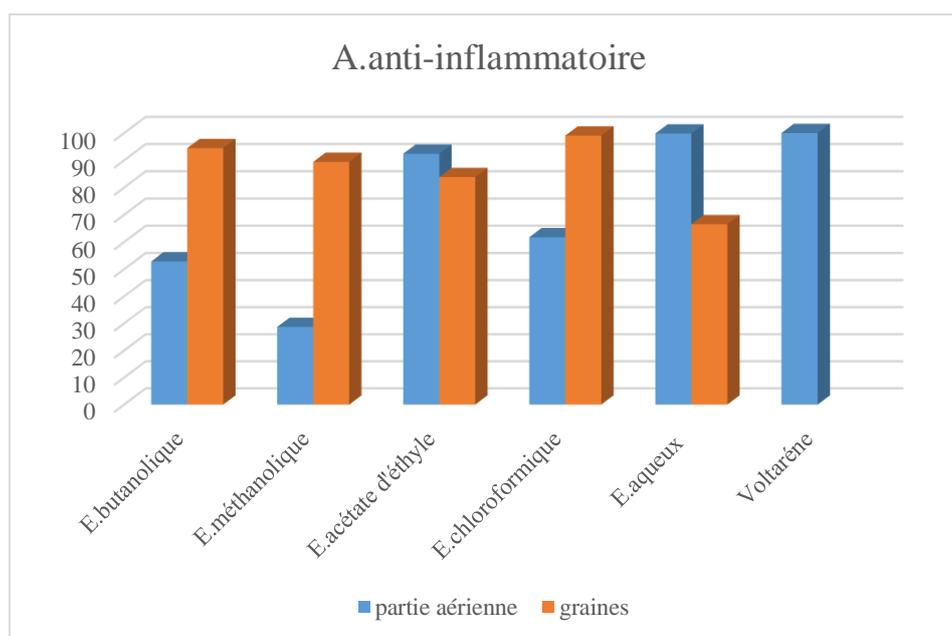


Figure 57 : Activité anti-inflammatoire des différents extraits des deux parties étudiées de *S.bispinosa*

III.3. Effet des extraits de la partie aérienne et des graines de *S.bispinosa* sur les nématodes à galles *Meloidogyne spp*

L'évaluation de l'efficacité d'un produit biocide sur les nématodes est évaluée par la mortalité de ces derniers.

III.3.1. Effet des extraits de la partie aérienne et des graines de *S.bispinosa* sur la mortalité des larves du 2eme stade (L2) de *Meloidogyne.sp*

Tableau 28: Effet des extraits de *S.bispinosa* sur la mortalité des larves (L2) de *Meloidogyne.sp*.

Extraits testés / temps d'exposition	Pourcentage % de mortalité corrigé de la partie aérienne		
	Concentration		
	1x	1 :2x	1 :4x
Extrait butanolique			
-24h	86,33	75,66	71,33
-48h	94,27	87,33	76,29
-72	100	96,66	89,19
Extrait méthanolique			
-24h	85,95	81,94	75,24
-48h	97,99	91,97	81,59
-72h	100	93,63	88,62
Extrait acétate d'éthyle			
-24h	85,23	83,21	71,47
-48h	91,94	90,59	84,55
-72h	100	100	95,63
Extrait chloroformique			
-24h			
-48h	91,21	83,43	79,05
-72h	93,91	86,82	84,45
	98,98	91,54	87,83
Extrait aqueux			
-24h	89	79	73
-48h	90	85	77
-72h	94	88	79
Extraits testés / temps d'exposition	Pourcentage de mortalité corrigé des graines		
	Concentrations		
	1 :x	1 : 2x	1 :4x
Extrait butanolique			
-24h	83,33	82	79,66
-48h	87,66	86	82,33
-72	93,33	90,66	88,33

Extrait méthanolique			
-24h	85,66	82,33	78
-48h	90,33	88,66	83
-72h	100	98	92
Extrait acétate d'éthyle			
-24h	83,60	79,26	74,91
-48h	88,29	83,94	79,44
-72h	95,98	91,63	86,28
Extrait chloroformique			
-24h	88,17	83,78	78,03
-48h	95,60	91,21	83,43
-72h	100	97,62	94,93
Extrait aqueux			
-24h	86,66	82	78
-48h	93	89,33	83,23
-72h	100	95	89,66
Témoin			
-24h	1,23	-	-
-48h	2,33	-	-
-72h	3,06	-	-

D'après les résultats présentés dans le tableau 28, les différents extraits (butanolique, méthanolique, acétate d'éthyle, chloroformique, et aqueux), des deux parties étudiées (aérienne et graines), de *S.bispinosa* présentent une activité nématocide à l'égard de *Meloidogyne sp.* Cette activité augmente lorsque la concentration et la période de l'exposition augmentent.

Les extraits de *Sesbania*, partie aérienne et graines, montrent un grand effet nématocide, vu qu'à une très faible concentration (1 : 4x) et après 24 heures d'exposition, tous les extraits enregistrent des taux de mortalité dépassant les 50%.

Ainsi, à une dose plus élevée (1 : x) et après une période d'exposition de 72 heures, les pourcentages de mortalité corrigés sont de 100% pour les extraits butanolique, méthanolique et acétate d'éthyle de la partie aérienne et les extraits méthanolique, chloroformique et aqueux des graines. A cette même concentration, et après 72h, les extraits chloroformique et aqueux de la partie aérienne atteignent 98,98% et 94% respectivement et les extraits butanolique et acétate d'éthyle des graines atteignent 93,33% et 95,98% respectivement.

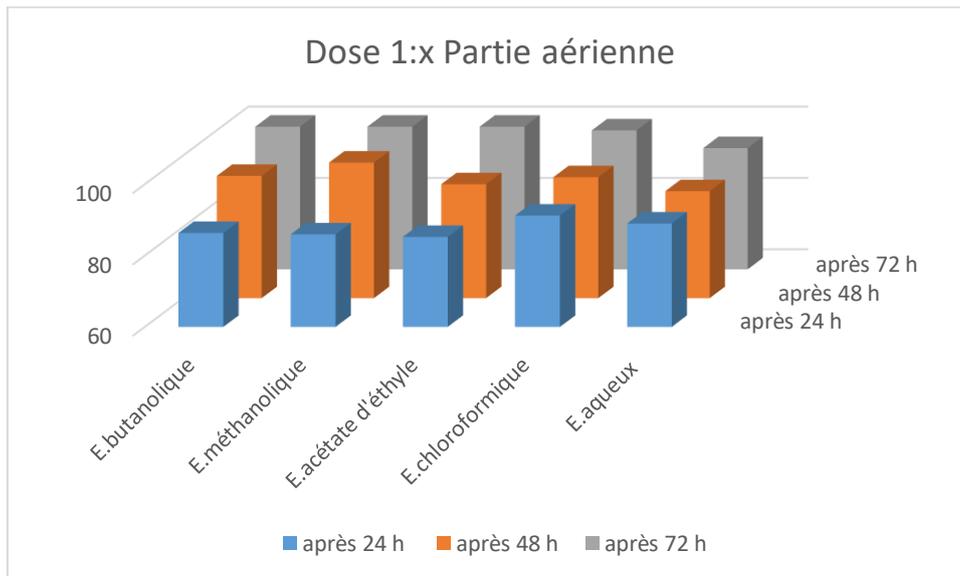


Figure 58 : Efficacité des différents extraits de la partie aérienne de *S. bispinosa* pour la plus forte dose par rapport aux temps utilisés sur les larves (L2) de *Meloidogyne.sp.*

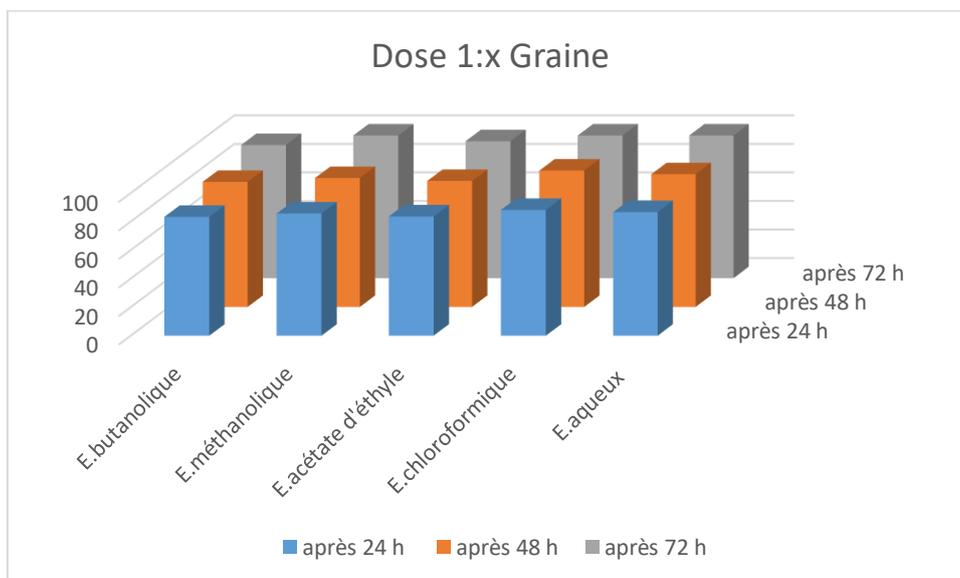


Figure 59: Efficacité des différents extraits des graines de *S. bispinosa* pour la plus forte dose par rapport aux temps utilisés sur les larves (L2) de *Meloidogyne.sp.*

A une concentration moyenne (1 : 2x) et après 72h de traitement, l'extrait acétate d'éthyle de la partie aérienne enregistre une mortalité de 100%, suivi par les extraits butanolique, méthanolique, chloroformique, et aqueux avec un pourcentage de mortalité de 96,66%, 93,63%, 91,54%, 88% respectivement. Concernant les graines l'extrait méthanolique cause une mortalité de 98% sur les larves (L₂) de *Meloidogyne sp.*, suivi par les extraits chloroformique, aqueux, acétate d'éthyle, et butanolique avec 97,62%, 95%, 91,63%, 90,66% respectivement.

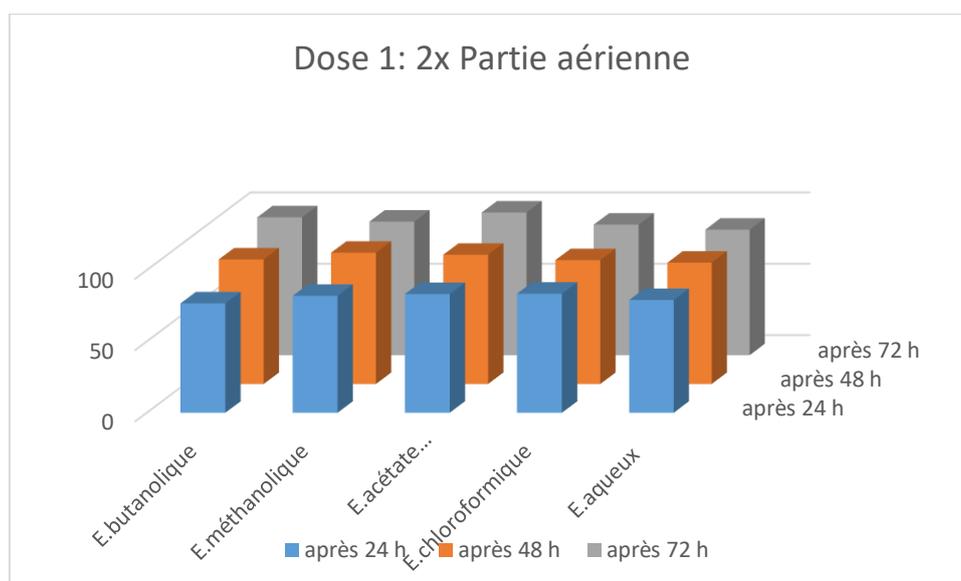


Figure 60 : Efficacité des différents extraits de la partie aérienne de *S. bispinosa* pour la moyenne dose par rapport aux temps utilisés sur les larves (L₂) de *Meloidogyne.sp.*

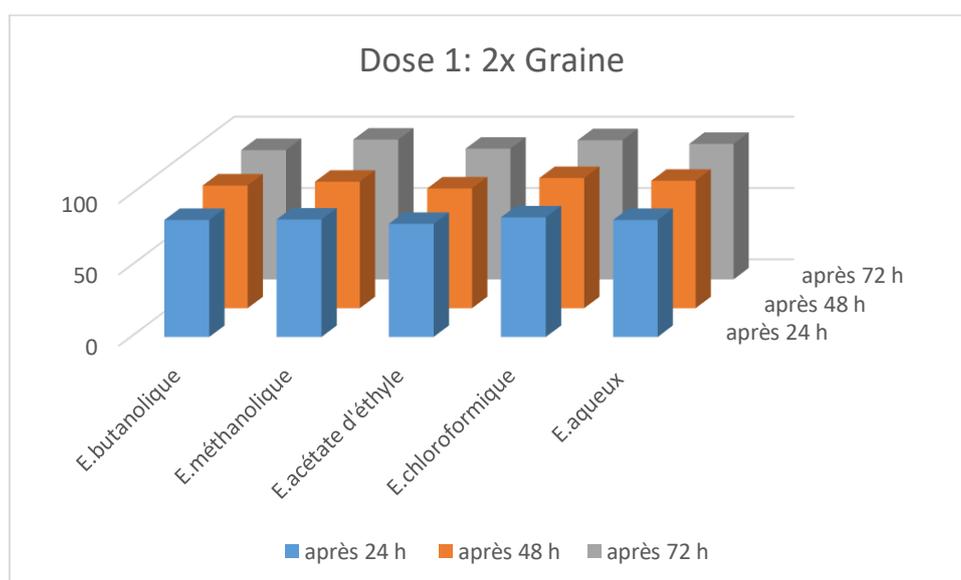


Figure 61 : Efficacité des différents extraits des graines de *S. bispinosa* pour la moyenne dose par rapport aux temps utilisés sur les larves (L₂) de *Meloidogyne.sp.*

Enfin, pour une faible dose (1 :4x) et pour 72h d'exposition, tous les extraits des deux parties testées engendrent des taux de mortalités remarquables avec 89,19% ; 88,62% ; 95,63% ; 87,83% et 74% pour les extraits butanolique, méthanolique, acétate d'éthyle, chloroformique, et aqueux respectivement. De même les extraits des graines butanolique, méthanolique, acétate d'éthyle, chloroformique et aqueux avec 88,33% ; 92% ; 86,28% ; 94,93% ; 89,66% respectivement.

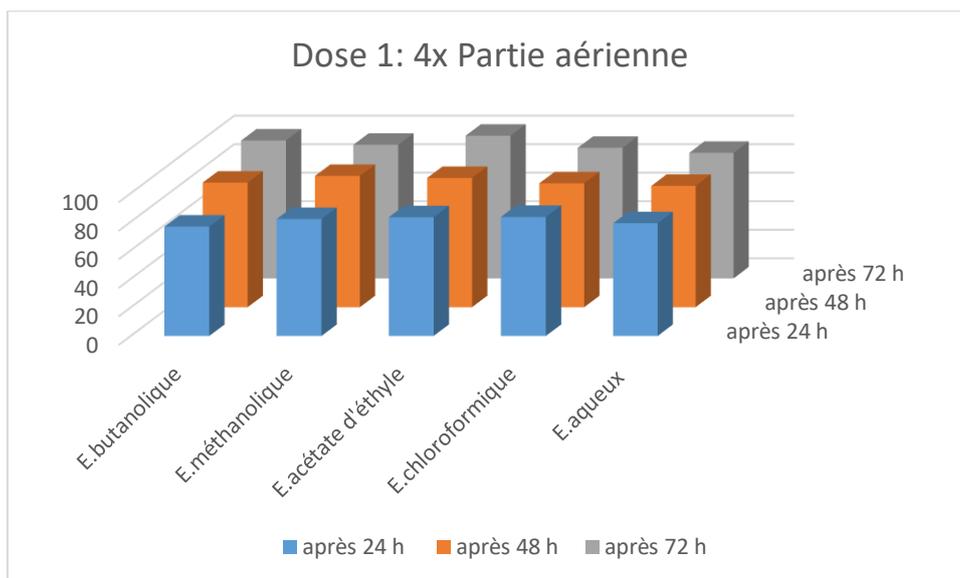


Figure 62 : Efficacité des différents extraits de la partie aérienne de *S.bispinosa* pour la faible dose par rapport aux temps utilisés sur les larves (L2) de *Meloidogyne.sp.*

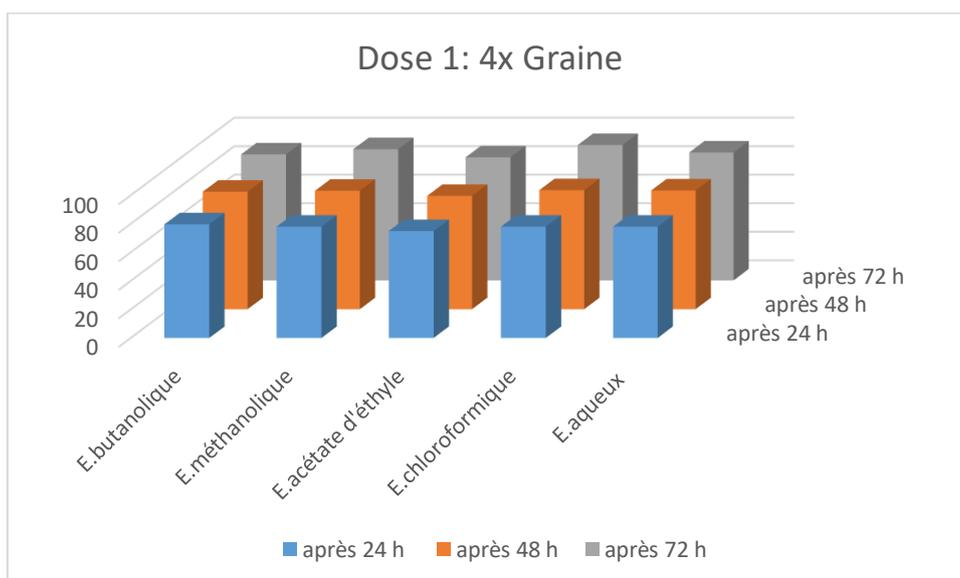


Figure 63 : Efficacité des différents extraits des graines de *S.bispinosa* pour la faible dose par rapport aux temps utilisés sur les larves (L2) de *Meloidogyne.*

Quant aux témoins, la majorité des larves sont restées vivantes; seulement 1.23% à 3,06% ont été inactives.

Les travaux effectués par Khurma & Mangotra (2004) rapportent que le taux de mortalités des juvéniles augmente, avec l'augmentation de la concentration, et notent un taux de mortalité de *Meloidogyne.sp* de 100% pour l'extrait des graines de *S.sesban*, même genre que *S.bispinosa*, qui sont en accord avec nos résultats.

Une étude faite par Kesba et *al.*, 2021, sur les extraits de 13 plantes médicinales montre que les deux premières dilutions sont très toxiques pour les larves de *Meloidogyne.sp*.

Les tests phytochimiques effectués au cours de notre expérimentation sur la plante testée révèle la richesse en composés comme les flavonoïdes et les acides carboxyliques. Ces constituants peuvent jouer un rôle important dans les mécanismes de défense contre les nématodes et particulièrement les *Meloidogyne* (Chitwood, 2002). D'ailleurs de nombreux travaux rapportent leur efficacité, ainsi les extraits de *Tagetes patula* (Asteraceae) contre les *Meloidogyne* a été signalée par El Allagui et *al.*, (2006). Ces derniers révèlent que cette efficacité est due principalement à sa teneur élevée en composés phénoliques comme les flavonoïdes, et les tanins.

Chez les nématodes, les mécanismes d'action de ces substances restent encore peu connus. Certains auteurs émettent l'hypothèse de la relative sensibilité des différents groupes de nématodes aux composés chimiques contenus dans les plantes en fonction de la perméabilité de la cuticule, en effet, les molécules ne peuvent avoir accès aux tissus des nématodes pénètrent à travers la cuticule. Par contre, d'autres auteurs avancent l'hypothèse que le mode d'action est similaire à celui des insectes c'est-à-dire qu'ils agissent par inhibition des acétyl cholinestérase et rapportent que l'action des huiles et des extraits et de leurs constituants pourraient agir au niveau du système nerveux des nématodes (Oka et *al.*, 2000 ; Abbaly et *al.*, 2004).

III.3.1. Effet des extraits de la partie aérienne et des graines de *S.bispinosa* sur l'éclosion des larves du 2eme stade (L2) de *Meloidogyne.sp*

Tableau 29 : Effet des extraits de *S.bispinosa* sur l'éclosion de *Meloidogyne sp*.

Nombre de larve éclos % partie aérienne						
Extrait testé / temps d'exposition	Nombre moyen de larve écloses après 8 jours			Pourcentage d'inhibition de l'éclosion par rapport au témoin		
	Concentration			Concentration		
	1x	1 :2x	1 :4x	1x	1 :2x	1 :4x
Extrait butanolique	12,66	22	31,66	91,98	86,07	79,96
Extrait méthanolique	25,44	38,12	42,86	83,89	75,87	72,87
Extrait acétate d'éthyle	8,31	16,14	21,86	94,74	89,78	86,16
Extrait chloroformique	18,75	21,69	28,72	88,13	86,27	81,82
Extrait aqueux	31,14	38,79	44,52	80,29	75,44	71,82
Nombre de larve écloses % graines						
Extrait testé / temps d'exposition	Pourcentage de larves écloses après 8 jours			Pourcentage d'inhibition de l'éclosion par rapport au témoin		
	Concentration			Concentration		
	1 :x	1 : 2x	1 :4x	1 :x	1 : 2x	1 :4x
Extrait butanolique	19,45	24,58	33,12	87,68	84,44	79,03
Extrait méthanolique	9,23	16,38	20,62	94,15	89,63	86,94
Extrait acétate d'éthyle	24,31	30,97	44,83	84,61	80,39	71,62
Extrait chloroformique	14,24	19,69	23,45	90,98	87,53	85,15
Extrait aqueux	7,86	11,72	23,31	95,02	92,58	85,24
Témoin	158	-	-	-	-	-

Après 8 jours d'incubation des masses d'œufs de *Meloidogyne.sp* dans les différents extraits de la partie aérienne et des graines de *S.bispinosa*, ainsi que le témoin (eau distillée), le total d'œufs éclos est présenté sous forme d'histogrammes (figures 64,65).

L'analyse des résultats obtenus pour les différents extraits de *S.bispinosa* qui sont consignés dans le tableau 29, montre que ces derniers ne réagissent pas de la même façon vis-à-vis des *Meloidogyne sp*. Plus la concentration est élevée, plus l'éclosion des œufs est faible. Le taux d'inhibition le plus élevé est enregistré pour les extraits acétate d'éthyle et butanolique de la partie aérienne avec 94,74% et 91,98% respectivement, suivi de l'extrait chloroformique,

méthanolique, et aqueux avec 88,13%, 83,89%, et 80,29% respectivement, et ce après (08) jours d'exposition pour la concentration (1 : x).

Le taux d'inhibition pour les extraits des graines montre que c'est l'extrait aqueux qui présente l'effet le plus élevé sur l'éclosion des œufs de *Meloidogyne.sp*, suivi par les extraits méthanolique, chloroformique, butanolique et acétate d'éthyle avec 94,15%, 90,98%, 87,68% et 84,61% respectivement.

Un essai *in vitro* a été mené par Kesba et al., 2021 pour tester l'effet des extraits de 13 plantes médicinales sur l'éclosion des œufs de *Meloidogyne sp*, il a prouvé qu'il n'y'a aucune différence significative entre les différents extraits aqueux et méthanoliques des différentes plantes testées.

El-Nagdi et Youssef (2013) ont prouvé l'effet nématocide de l'extrait d'ail sur la mortalité des j2 et l'inhibition d'éclosion de *M. incognita*. Une expérience qui a été mené par Seo et al., (2013) *in vitro* a montré que la cannelle a exercé un effet d'inhibition de l'éclosion de *M. incognita*.

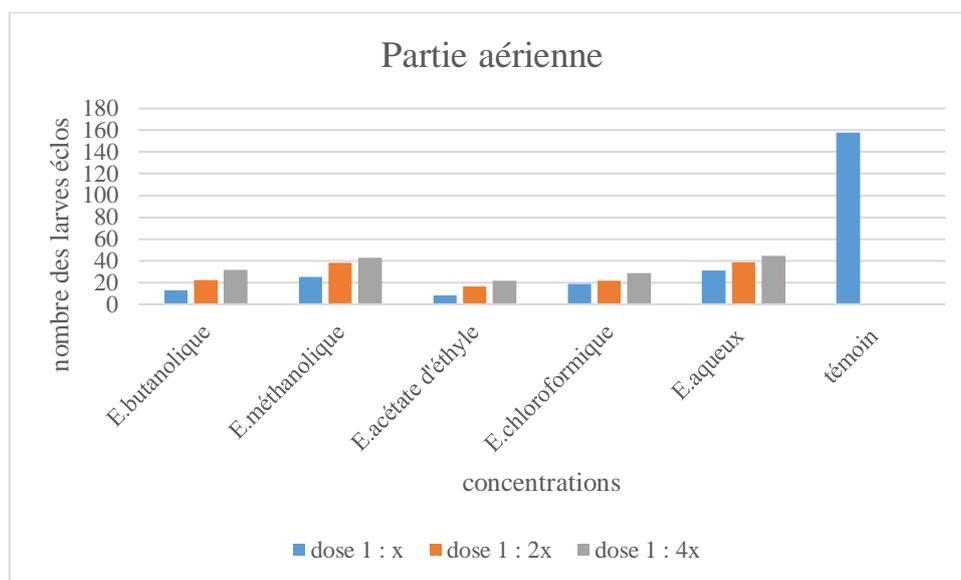


Figure 64 : Efficacité des différents extraits de la partie aérienne de *S.bispinosa* sur l'éclosion des larves de *Meloidogyne.sp*.

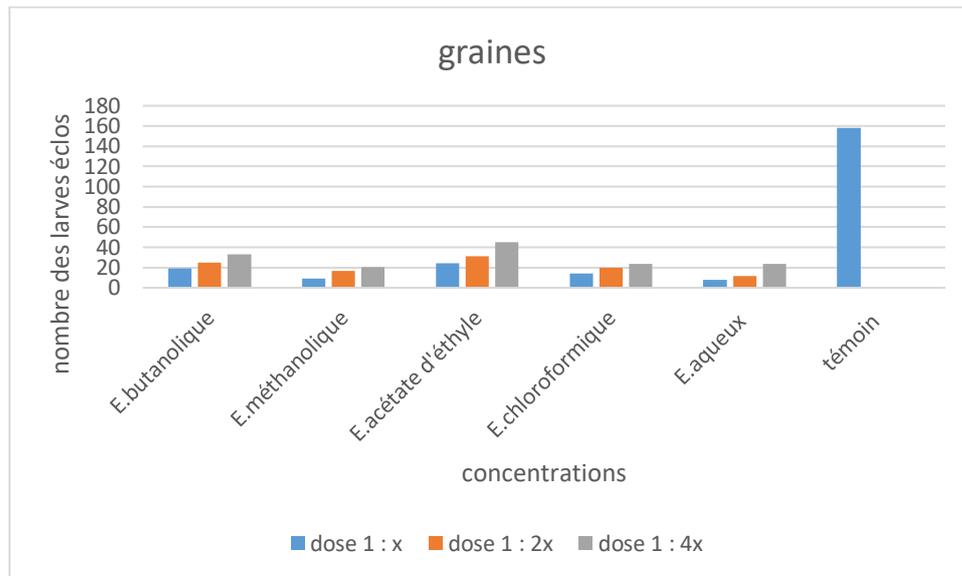


Figure 65 : Efficacité des différents extraits des graines de *S.bispinosa* sur l'éclosion des larves de *Meloidogyne.sp.*

Conclusion

Bien que toutes les concentrations testées *in vitro* aient un effet sur la mortalité des j2 et l'éclosion des œufs, les extraits des graines se sont révélée les plus efficaces avec une légère différence par rapport à ceux de la partie aérienne. En effet ils engendrent un taux d'inhibition d'éclosion de 95,02% et un taux de mortalité des j2 de 100% avec la concentration (1 :x) à la fin de l'essai.

Ces résultats semblent très prometteurs. Ils ont démontré l'efficacité *in vitro* des extraits de *S.bispinosa* testés. Il est à noter que l'effet nématocide des deux parties sur la mortalité des j2 et l'inhibition d'éclosion de *Meloidogyne.sp* est plus important notamment avec les concentrations les plus élevées. Ainsi, ces produits ouvrent la voie à la possibilité de leur utilisation dans le cadre d'un programme de lutte intégrée.

L'analyse de la variance des moyennes de l'éclosion et de la mortalité des juvéniles des différents extraits de la plante (annexe V) montre qu'il n'y'a aucune significativité entre les différents traitements est les variables selon les différentes concentrations et les différents temps d'exposition.

Conclusion générale

Conclusion générale

Conclusion générale

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation d'une plante nouvellement introduite en Algérie, *Sesbania bispinosa*, de la famille des Fabacées, par l'évaluation des activités biologiques, enzymatiques, l'étude de sa composition chimique et l'effet nématocide des différents extraits contre *Meloidogyne.ssp.*

L'analyse GC-MS s'est avérée être une méthode pratique et efficace pour l'identification des constituants lipophiles de *S. bispinosa*. Elle a montré que la partie aérienne et les graines sont riches en sucres. De plus, la partie aérienne est particulièrement riche en alcools. Une analyse qualitative par UHPLC-DAD-ESI-MS/MS a révélé la présence de plusieurs composés phénoliques. L'extrait méthanolique de la partie aérienne est riche en saponines et en acides carboxyliques, tandis que les graines sont riches en acides carboxyliques et en flavonoïdes.

L'analyse quantitative par la méthode ICP-OES de la partie aérienne de *S. bispinosa* a révélé la présence de 13 éléments minéraux à savoir P, K, Ca, Mg, S, Zn, B, Mo, Fe, Cu, N, Na et Mn.

Dans cette étude, des teneurs modérées en polyphénols et en flavonoïdes de la partie aérienne et des graines ont été estimées par des méthodes colorimétriques.

Tous les extraits bruts présentent des activités anti-oxydantes intéressantes dans les différents systèmes utilisés : piégeage des radicaux DPPH et ABTS, le pouvoir réducteur, le test CUPRAC, l'inhibition du blanchissement β -carotène, piégeage du radical Galvinoxyl GOR, et réduction par la formation du complexe Fe^{2+} phénantroline. Les extraits de la partie aérienne ont montré une activité anti-oxydante très remarquable par rapport à ceux des graines ; ce pouvoir antioxydant pourrait expliquer la capacité de ces extraits à inhiber l'activité du cholinestérase et maintenir la structure des protéines. Ceci nous permet de suggérer que les extraits de *S.bispinosa* pourraient être utilisés comme une bonne source d'antioxydants naturels, utiles pour prévenir ou ralentir la progression de diverses maladies liées au stress oxydant, et qui pourraient avoir des applications pharmaceutiques ou diététiques.

D'autre part, la partie aérienne de *S. bispinosa* a présenté une excellente activité antidiabétique par rapport à celle des graines. Cela peut être justifié par la richesse de la partie aérienne en le composé déjà détecté, en l'occurrence, le Pinitol.

Conclusion générale

Ces activités sont probablement liées à la richesse de l'espèce en métabolites secondaires, notamment les flavonoïdes.

En outre, la plante *S. bispinosa* possède une très bonne activité anti-inflammatoire *in vitro*, et les résultats indiquent que tous les extraits empêchent la dénaturation de l'albumine sérum du bovin d'une manière dose-dépendante. Ils sont donc capables d'empêcher l'altération des liaisons électrostatiques, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintiennent la structure tridimensionnelle des protéines et peuvent contrôler la production d'auto-antigène provenant de la dénaturation des protéines constituant ainsi des agents anti-arthritiques et anti-inflammatoires efficaces.

Ce travail a aussi comme objectif d'évaluer les effets toxiques des différents extraits de *S. bispinosa* contre les nématodes à galles. L'analyse a porté d'une part sur leur action sur la mortalité des juvéniles après une période de 24, 48 et 72 heures d'exposition, et l'éclosion des œufs de *Meloidogyne.ssp* après 8 jours d'incubation, dans le but de sélectionner la partie nématocide susceptible d'être utilisée dans un cadre de la lutte raisonnée.

Ce travail marque la première étude approfondie des composants phytochimiques et des éléments minéraux, ainsi que des activités anti-oxydante, antidiabétique, anticholinestérase, et anti-inflammatoire de la partie aérienne et des graines et l'effet nématocide de *Sesbania bispinosa* cultivée en Algérie.

Comme perspectives, il serait intéressant d'identifier et de quantifier les différents composés phénoliques présents dans les extraits testés. Et aussi d'effectuer une évaluation biologique approfondie de cette plante afin d'isoler les substances responsables de l'effet nématocide et, pourquoi pas, la synthèse de ces substances. La validation de nos résultats *in vitro* par des tests *in vivo*, et la réalisation d'autres activités biologiques telles que les activités antimicrobienne, antifongique, antivirale, sont également à envisager, ainsi que l'élargissement du spectre des propriétés biologiques *in vitro et in vivo* telles que l'activité antitumorale, antivirale, insecticide et allélopathique, analgésique, cicatrisante et antiulcéreuse.

Références bibliographiques

Références bibliographies

- A. Hadwiger, L. (2005). George N. Agrios, Plant Pathology (5th ed.), Elsevier Academic Press, Amsterdam (2005) Price: £39.99, ISBN: 0-12-044565-4. *Plant Science - PLANT SCI*, 168.
- Abad, P., Gouzy, J., Aury, J.-M., Castagnone-Sereno, P., Danchin, E. G. J., Deleury, E., Perfus-Barbeoch, L., Anthouard, V., Artiguenave, F., & Blok, V. C. (2008). Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Nature Biotechnology*, 26(8), 909–915.
- Aballay, E., Sepúlveda, R., & Insunza, V. (2004). Evaluation of five nematode-antagonistic plants used as green manure to control *Xiphinema index* Thorne et Allen on *Vitis vinifera* L. *Nematropica*, 45–52.
- Achoura, A., & Belhamra, M. (2010). *Aperçu sur la faune arthropodologique des palmeraies d'El-Kantara*.
- Afrin, S., Sohrab, M., & Ahmed, M. (2019). Terpenoids and steroids from the stem bark of *Sesbania grandiflora* and biological studies of the plant extracts. *Pharmacy & Pharmacology International Journal*, 7(6), 307–313.
- Agudelo, P. A., Lewis, S. A., & Abril, M. A. (2006). First Report of Root-Knot Nematode *Meloidogyne javanica* on *Chrysanthemum* in Colombia . *Plant Disease*, 90(6). <https://doi.org/10.1094/pd-90-0828a>
- Alan, F., & Peter, G. (1988). The influence of *Pasteuria penetrans* in field soils on the reproduction of root-knot nematodes. *Revue Nematol*, 11(1), 75–81.
- Amichi, F., Bouarfa, S., Lejars, C., Kuper, M., Hartani, T., Daoudi, A., Amichi, H., & Belhamra, M. (2015). *Des serres et des hommes: des exploitations motrices de l'expansion territoriale et de l'ascension socioprofessionnelle sur un front pionnier de l'agriculture saharienne en Algérie*.
- A.N.A.T. (2003). *Etude "Schéma Directeur des Ressources en Eau" wilaya de Biskra*. Dossier agro-pédologique. Ed. A.N.A.T, P231.
- A.N.I.R.F., 2010. *Rubrique Monographie*. Wilaya de Biskra, P6.
- Aouachria, S., Boumerfeg, S., Benslama, A., Benbacha, F., Guemmez, T., Khennouf, S., Arrar, L., & Baghiani, A. (2017). Acute, sub-acute toxicity and antioxidant activities (in vitro and in vivo) of *Reichardia picroide* crude extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 208, 105–116.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26). <https://doi.org/10.1021/jf048741x>
- Averman, A. J. (1964). *The effect of temperature and flooding on nematode survival in fallow sandy soil*.
- Badra, T., Saleh, M. A., & Oteifa, B. A. (1979). *Nematicidal activity and composition of some organic fertilizers and amendments*.
- Baessa, M., Rodrigues, M. J., Pereira, C., Santos, T., da Rosa Neng, N., Nogueira, J. M. F., Barreira, L., Varela, J., Ahmed, H., Asif, S., Boukhari, S. A., Kayani, W. K., Ahmad, K. S., Zengin, G., Mollica, A., & Custódio, L. (2019). A comparative study of the in vitro enzyme inhibitory and antioxidant activities of *Butea monosperma* (Lam.) Taub. and *Sesbania grandiflora* (L.) Poiret from Pakistan: New sources of natural products for public health problems. *South African Journal of Botany*, 120. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.04.006>
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C., Pinkas, M., & Battez-Lebègue, S. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung/Drug Research*, 46(11).

Références bibliographiques

- Begaa, S., & Messaoudi, M. (2018). Thermal neutron activation analysis of some toxic and trace chemical element contents in *Mentha pulegium* L. *Radiochimica Acta*, 106(9), 769–774. <https://doi.org/10.1515/ract-2018-2942>
- Belhamra, M., Farhi, Y., Deghiche-Diab, N., Farhi, K., Mezerdi, F., Abssi, K., Drouai, H., & Boukrabouza, A. (2014). État des lieux, conservation et possibilité de valorisation des ressources biologiques dans le Sud et l'Est algérien 14th Annual Sahelo-Saharan. *Interest Group Meeting-Research Center in Biodiversity and Genetic Resources of the University of Porto. Communication Orale*.
- Bertrand, C., Lizot, J. F., Diwo, S., & Auger, J. (1999). Vegetable growing. Plant products against root knot nematodes. *Alter Agri (France)*.
- Bianco, A., Buiarelli, F., Cartoni, G. P., Coccioli, F., Jasionowska, R., & Margherita, P. (2003). Analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry of biophenolic compounds in olives and vegetation waters, Part I. *Journal of Separation Science*, 26(5). <https://doi.org/10.1002/jssc.200390053>
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical [10]. In *Nature* (Vol. 181, Issue 4617). <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Blok, V. C., Jones, J. T., Phillips, M. S., & Trudgill, D. L. (2008). Parasitism genes and host range disparities in biotrophic nematodes: The conundrum of polyphagy versus specialisation. In *BioEssays* (Vol. 30, Issue 3). <https://doi.org/10.1002/bies.20717>
- Bouaziz, A., Djidel, S., Bentaher, A., & Khennouf, S. (2020). Polyphenolic content, Antioxidant and Anti-inflammatory activities of Melon (*Cucumis melo* L. var. *inodorus*) Seeds. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(2-s), 22–26.
- Bougherara, A., & Lacaze, B. (2009). Etude préliminaire des images Landsat et Alsat pour le suivi des mutations agraires des Ziban (extrême nord-est du Sahara algérien) de 1973 à 2007. *Journées d'Animation Scientifique (JAS09) de l'AUF Alger, Journées d'Animation Scientifique (JAS09) de l'AUF Alger, Journées d'Animation Scientifique (JAS09) de l'AUF Alger*.
- Braga, R., Labrada, R., Fornasari, L., & Fratini, N. (2001). Des alternatives au bromure de méthyle pour la fumigation du sol. *Manuel de Formation Pour Les Vulgarisations et Les Paysans. Unité Energie et Action de l'ozone. Programme Des Nations Unies Pour l'environnement. Organisation Des Nations Unies Pour l'agriculture et l'alimentation. Rome*, 59–60.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317–333.
- Brown, R. H., & Kerry, B. R. (1987). *Principles and practice of nematode control in crops*.
- Brown, S. M., Kepner, J. L., & Smart Jr, G. C. (1985). Increased crop yields following application of *Bacillus penitans* to field plots infested with *Meloidogyne incognita*. *Soil Biology and Biochemistry*, 17(4), 483–486.
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème éd. *Lavoisier, Paris*, 1120.
- Buchanan, B., Gruissem, W., & Jones, R. (2000). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, American Society of Plant Physiologists. Courier Companies. *Inc. Waldorf, MD*.
- Bunma, S., & Balslev, H. (2019). A review of the economic botany of *Sesbania* (Leguminosae). *The Botanical Review*, 85(3), 185–251.
- Caillaud, M. C., Dubreuil, G., Quentin, M., Perfus-Barbeoch, L., Lecomte, P., de Almeida Engler, J., Abad, P., Rosso, M. N., & Favery, B. (2008). Root-knot nematodes manipulate plant cell functions during a compatible interaction. *Journal of Plant Physiology*, 165(1). <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.05.007>
- Cao, G., Sofic, E., & Prior, R. L. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(5). <https://doi.org/10.1016/S0891->

- 5849(96)00351-6
- Castagnone-Sereno, P. (2002). Genetic variability in parthenogenetic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., and their ability to overcome plant resistance genes. *Nematology*, 4(5), 605–608.
- Castagnone-Sereno, P., Bongiovanni, M., & Djian-Caporalino, C. (2001). New data on the specificity of the root-knot nematode resistance genes Me1 and Me3 in pepper. *Plant Breeding*, 120(5), 429–433.
- Castillo, P., Landa, B. B., Navas Cortés, J. A., Vovlas, N., & Jiménez-Díaz, R. M. (2006). *First report of Meloidogyne arenaria parasitizing lettuce in Southern Spain*.
- Cayrol, J.-C. (1981). *Nouvel agent nématophage et procédé pour maîtriser la croissance des nématodes du genre méloidogyne*. Google Patents.
- Cayrol, J.-C., Djian-Caporalino, C., & Panchaud-Mattei, E. (1992). La lutte biologique contre les Nématodes phytoparasites. *COURRIER DE LA CELLULE ENVIRONNEMENT INRA*, 17(17), 31–44.
- Chabane, S., Boudjelal, A., Napoli, E., Benkhaled, A., & Ruberto, G. (2021). Phytochemical composition, antioxidant and wound healing activities of *Teucrium polium* subsp. *capitatum* (L.) Briq. essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 33(2). <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1842260>
- Chanda, S. C., Islam, M. M., Sadik, M. A., Haque, M. E., & Sarwar, A. K. M. G. (n.d.). *ESTIMATION OF CHLOROPHYLL, BETA CAROTENE AND LYCOPENE CONTENT IN LEAVES OF SESBANIA SPECIES*.
- Channer, A. G. D. R., & Gowen, S. R. (1992). Selection for increased host resistance and increased pathogen specificity in the *Meloidogyne-Pasteuria* penetrans interaction. *Fundamental and Applied Nematology*.
- Chaubal, R., Pawar, P. V., Hebbalkar, G. D., Tungikar, V. B., Puranik, V. G., Deshpande, V. H., & Deshpande, N. R. (2005). Larvicidal activity of *Acacia nilotica* extracts and isolation of D-pinitol - A bioactive carbohydrate. *Chemistry and Biodiversity*, 2(5). <https://doi.org/10.1002/cbdv.200590044>
- Chen, B., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2013). Design of foods with bioactive lipids for improved health. *Annual Review of Food Science and Technology*, 4(1). <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032112-135808>
- Chitwood, D. J. (2003). Nematicides. *Encyclopedia of Agrochemicals*.
- Chitwood, D. J. (2002). Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review of Phytopathology*, 40(1), 221–249.
- Chotechaungmanirat, S. (2010). Potential of three tropical legumes for rotation of corn-based cropping system in Thailand. *Agriculture and Natural Resources*, 44(6), 1004–1009.
- Comparative nutritional evaluation of little known legumes, *tamarindus indica*, *erythrina indica* and *sesbania bispinosa*. (2004). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 4(3).
- Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J. P., Cimanga, K., Van Poel, B., Pieters, L., Vlietinck, A. J., & Berghe, D. Vanden. (1998). Structure– activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of Natural Products*, 61(1), 71–76.
- Cotelle, N. (2001). Role of flavonoids in oxidative stress. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 1(6), 569–590.
- Coyne, D. L. (2007). *Practical plant nematology: a field and laboratory guide*. IITA.
- Coyne, D. L., Nicol, J. M., Claudius-Cole, B., & Quénéhervé, P. (2010). *Les nématodes des plantes: Un guide pratique des techniques de terrain et de laboratoire*.
- Cui, M., Song, F., Zhou, Y., Liu, Z., & Liu, S. (2000). Rapid identification of saponins in plant extracts

- by electrospray ionization multi-stage tandem mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 14(14). [https://doi.org/10.1002/1097-0231\(20000730\)14:14<1280::AID-RCM26>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/1097-0231(20000730)14:14<1280::AID-RCM26>3.0.CO;2-C)
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343–356.
- Dangles, O. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. *Ed Tec et Doc Lavoisier*, 29–50.
- Davies, K G, Kerry, B. R., & Flynn, C. A. (1988). Observations on the pathogenicity of *Pasteuria penetrans*, a parasite of root-knot nematodes. *Annals of Applied Biology*, 112(3), 491–501.
- Davies, Keith G., & Williamson, V. M. (2006). Host specificity exhibited by populations of endospores of *Pasteuria penetrans* to the juvenile and male cuticles of *Meloidogyne hapla*. *Nematology*, 8(3). <https://doi.org/10.1163/156854106778493493>
- Davies, Keith G, & Spiegel, Y. (2011). Biological control of plant-parasitic nematodes: towards understanding field variation through molecular mechanisms. In *Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions* (pp. 493–516). Springer.
- De Guiran, G., & Netscher, C. (1970). Les nématodes du genre *Meloidogyne*, parasites de cultures tropicales. *Cahiers de l'ORSTOM*, 11.
- De Jin, R., Suh, J. W., Park, R. D., Kim, Y. W., Krishnan, H. B., & Kim, K. Y. (2005). Effect of chitin compost and broth on biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Nematology*, 7(1), 125–132.
- De Leij, F., Kerry, B. R., & Dennehy, J. A. (1993). *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent for *Meloidogyne incognita* and *M. hapla* in pot and micro-plot tests. *Nematologica*, 39(1–4), 115–126.
- Deghiche-Diab, N. (2009). *Inventory of insects in the oases of Ziban, Biskra-Algeria*. Thesis Master of Science, Iam-Bari, Italy.
- Deghiche, L. (2014). Inventaire qualitatif et quantitatif des arthropodes de l'oasis des Ziban. *Mémoire Ingénieur, Université de Biskra*. 80p.
- DES FORETS, D. G. (2003). *Fiche descriptive sur les zones humides Ramsar*.
- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., & Capasso, F. (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences*, 65(4), 337–353.
- Diab, N. (2015). *Étude de la biodiversité des arthropodes et des plantes spontanées dans l'agro-écosystème oasien*. Université Mohamed Khider-Biskra.
- Djebaili, S. (1984). *Steppe algérienne phytosociologie et écologie*. Office des publications universitaires.
- Djian-Caporalino, C., Védie, H., & Arrufat, A. (2009). Gestion des nématodes à galles: lutte conventionnelle et luttés alternatives. L'atout des plantes pièges. *Phytoma*, 624, 21–25.
- Dreux PH., (1980). *Précis d'écologie*. Ed. Presses universitaires, Paris, P 23.1
- Dropkin, V. H. (1989). *Introduction to plant nematology*. (Issue Ed 2nd). John Wiley and Sons Inc.
- Dubey, P., Thakur, V., & Chattopadhyay, M. (2020). Role of minerals and trace elements in diabetes and insulin resistance. In *Nutrients* (Vol. 12, Issue 6). <https://doi.org/10.3390/nu12061864>
- Dubief, J. (1959). Le Climat du Sahara, Vol. I. *Alger: Mémoire Hors-Série de l'Institut de Recherches Sahariennes*.
- Dubost, D., & Larbi-Youcef, Y. (1998). Mutations agricoles dans les oasis algériennes: l'exemple des Ziban. *Sécheresse (Montrouge)*, 9(2), 103–110.
- Duke, J. A. (1981). Handbook of LEGUMES of World Economic Importance. In *Handbook of LEGUMES of World Economic Importance*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4684-8151-8>
- DUPONNOIS, R., BA, A., & MATEILLE, T. (n.d.). *Etude des microorganismes auxiliaires de processus antagonistes dans la rhizosphère Study of the effect of some bacterial helper on antagonistic processes in the rhizosphere*.

Références bibliographiques

- Duval, J. (1993). *Les plantes nématicides. Agrobio 360-04*. EAP Publications. McGill University, Canada.
- El-Nagdi, W.-E., & Youssef, M. M. A. (2013). Comparative efficacy of garlic clove and castor seed aqueous extracts against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* infecting tomato plants. *Journal of Plant Protection Research*, 53(3).
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2). [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- El Allagui, N., Bourijate, M., Tahrouch, S., & Hatimi, A. (2006). Effet de cinq extraits végétaux sur *Meloidogyne* spp de la tomate. *Congrès International de Biochimie*, 357–360.
- Es-Safi, N. E., & Gómez-Cordovés, C. (2014). Characterization of flavonoid glycosides from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) crude seeds by HPLC-DAD-ESI/MS analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11). <https://doi.org/10.3390/ijms151120668>
- Escobar Gutiérrez, A. J., & Gaudillère, J. P. (1996). Distribution, métabolisme et rôle du sorbitol chez les plantes supérieures. *Synthèse. Agronomie*, 16(5). <https://doi.org/10.1051/agro:19960502>
- Faustino, M. V., Faustino, M. A. F., Silva, H., Silva, A. M. S., & Pinto, D. C. G. A. (2020). Lipophilic Metabolites of *Spartina maritima* and *Puccinellia maritima* Involved in Their Tolerance to Salty Environments. *Chemistry and Biodiversity*, 17(10). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000316>
- Faustino, M. V., Pinto, D. C. G. A., Gonçalves, M. J., Salgueiro, L., Silveira, P., & Silva, A. M. S. (2018). *Calendula L.* species polyphenolic profile and in vitro antifungal activity. *Journal of Functional Foods*, 45. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.04.013>
- Ferrer, A., Altabella, T., Arró, M., & Boronat, A. (2017). Emerging roles for conjugated sterols in plants. In *Progress in Lipid Research* (Vol. 67). <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2017.06.002>
- Festa, R. A., & Thiele, D. J. (2011). Copper: An essential metal in biology. In *Current Biology* (Vol. 21, Issue 21). <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.09.040>
- Fink, U., & Völkl, W. (1995). The effect of abiotic factors on foraging and oviposition success of the aphid parasitoid, *Aphidius rosae*. *Oecologia*, 103(3), 371–378.
- Fould, S., Ndiaye-Faye, N., Normand, P., & Mateille, T. (2000). Détection de *Pasteuria penetrans* sensu lato, bactérie parasite des nématodes telluriques, dans les jachères en zone sahélienne. *Etud Gest Sols*, 7, 279–286.
- Francisco, M., Moreno, D. A., Cartea, M. E., Ferreres, F., García-Viguera, C., & Velasco, P. (2009). Simultaneous identification of glucosinolates and phenolic compounds in a representative collection of vegetable *Brassica rapa*. *Journal of Chromatography A*, 1216(38). <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.07.055>
- Free radical scavenging and antioxidant activity of leaves from Agathi (*Sesbania grandiflora*) (L.) Pers. (2010). *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 5(2).
- Frossard, E., Bucher, M., Mächler, F., Mozafar, A., & Hurrell, R. (2000). Potential for increasing the content and bioavailability of Fe, Zn and Ca in plants for human nutrition. In *Journal of the Science of Food and Agriculture* (Vol. 80, Issue 7). [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7<861::AID-JSFA601>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<861::AID-JSFA601>3.0.CO;2-P)
- Fuhrman, B., Lavy, A., & Aviram, M. (1995). Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 61(3), 549–554.
- G., R. V., Jones, B., Jones, J. P., Stall, R. E., & Zitter, T. A. (1992). Compendium of Tomato Diseases. *Mycologia*, 84(1). <https://doi.org/10.2307/3760420>
- Garg, A. N., Kumar, A., Nair, A. G. C., & Reddy, A. V. R. (2007). Analysis of some Indian medicinal herbs by INAA. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 271(3). <https://doi.org/10.1007/s10967-007-0316-9>

Références bibliographiques

- Gaziano, J. M., & Gibson, C. M. (2006). Potential for drug–drug interactions in patients taking analgesics for mild-to-moderate pain and low-dose aspirin for cardioprotection. *The American Journal of Cardiology*, 97(9), 23–29.
- Gee, J. M., & Johnson, I. T. (2001). Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Current Medicinal Chemistry*, 8(11), 1245–1255.
- Gharibzahedi, S. M. T., & Jafari, S. M. (2017). The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 62). <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.017>
- Giannakou, I. O., Anastasiadis, I. A., Gowen, S. R., & Prophetou-Athanasiadou, D. A. (2007). Effects of a non-chemical nematicide combined with soil solarization for the control of root-knot nematodes. *Crop Protection*, 26(11), 1644–1654.
- Godoy, G., Rodriguez-Kabana, R., & Morgan-Jones, G. (1983). Fungal parasites of *Meloidogyne arenaria* eggs in an Alabama soil. A mycological survey and green-house studies. *Nematropica*, 201–213.
- Godoy, G., Rodriguez-Kabana, R., Shelby, R. A., & Morgan-Jones, G. (1983). Chitin amendments for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. II. Effects on microbial population. *Nematropica*, 13(1), 63–74.
- Goli, A. H., Barzegar, M., & Sahari, M. A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92(3). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.020>
- Gómez-Caravaca, A. M., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(4). <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.03.002>
- Gousko, V. (1964). Notice explicative de la Carte géologique au 1/200 000. *Biskra. Serv. Géol.*
- Gowen, S. R., & Ahmed, R. (1990). *Pasteuria penetrans* for control of pathogenic nematodes. *Aspects of Applied Biology*, 24, 25–32.
- Gowen, S. R., & Tzortzakakis, E. (1994). Biological control of *Meloidogyne* spp. with *Pasteuria penetrans* 1. *EPPO Bulletin*, 24(2), 495–500.
- Guet, G. (2003). *Mémento d'agriculture biologique: guide pratique à usage professionnel*. France Agricole Editions.
- Gülçin, I. (2010). Antioxidant properties of resveratrol: A structure-activity insight. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11(1). <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.07.002>
- Gurr, S. J., McPherson, M. J., & Bowles, D. J. (1992). *Molecular plant pathology. A practical approach. Volume I*.
- Gürsoy, N., Tepe, B., & Aşkin Akpulat, H. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of the essential oils of *Salvia palaestina* (Benth) and *S. ceratophylla* (L.). *Records of Natural Products*, 6(3).
- Halilat, M. T. (1998). *Etude expérimentale de sable additionné d'argile. Comportement physique et organisation en conditions salines et sodiques*. Institut National Agronomique Paris Grignon.
- Halliwell, B. (1994a). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *The Lancet*, 344(8924), 721–724.
- Halliwell, B. (1994b). Free Radicals and Antioxidants: A Personal View. In *Nutrition Reviews* (Vol. 52, Issue 8). <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1994.tb01453.x>
- Heinrich, M., & Teoh, H. L. (2004). Galanthamine from snowdrop - The development of a modern drug against Alzheimer's disease from local Caucasian knowledge. In *Journal of Ethnopharmacology* (Vol. 92, Issues 2–3). <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.012>
- Hider, R. C., Liu, Z. D., & Khodr, H. H. (2001). Metal chelation of polyphenols. *Methods in*

- Enzymology*, 335, 190–203.
- High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis. (2010). In *High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis*. <https://doi.org/10.1201/b10320>
- Hossain, M. A., & Becker, K. (2001). Nutritive value and antinutritional factors in different varieties of *Sesbania* seeds and their morphological fractions. *Food Chemistry*, 73(4). [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00317-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00317-4)
- Hutchinson, C. M., McGiffen Jr, M. E., Ohr, H. D., Sims, J. J., & Becker, J. O. (1999). Evaluation of methyl iodide as a soil fumigant for root-knot nematode control in carrot production. *Plant Disease*, 83(1), 33–36.
- Jacobs, J. M. E., Van Eck, H. J., Horsman, K., Arens, P. F. P., Verkerk-Bakker, B., Jacobsen, E., Pereira, A., & Stiekema, W. J. (1996). Mapping of resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* from the wild potato species *Solanum vernei*. *Molecular Breeding*, 2(1). <https://doi.org/10.1007/BF00171351>
- I.N.R.A.A. (2006). *Gestion participative de la lutte biologique contre les ravageurs du palmier dattier dans les oasis Algériennes*. Unité I.N.R.A de Biskra. P 53.
- Jaffee, B. A., & Zehr, E. I. (1982). Parasitism of the nematode *Criconebella xenoplax* by the fungus *Hirsutella rhossiliensis*. *Phytopathology*, 72(10), 1378–1381.
- Jamshidi-Kia, F., Lorigooini, Z., & Amini-Khoei, H. (2018). Medicinal plants: Past history and future perspective. *Journal of Herbmmed Pharmacology*, 7(1).
- Jatala, P., & BOCANGEL, M. (1979). *Biological control of Meloidogyne incognita acrita and Globodera pallida on potatoes*.
- Jaubert, S., Laffaire, J.-B., Abad, P., & Rosso, M.-N. (2002). *Cell wall degrading enzymes in the root-knot nematode Meloidogyne incognita*.
- Jiménez-González, L., Alvarez-Corral, M., Muñoz-Dorado, M., & Rodríguez-García, I. (2008). Pterocarpan: interesting natural products with antifungal activity and other biological properties. *Phytochemistry Reviews*, 7(1), 125–154.
- Johnson, A. W. (1982). Managing nematode populations in crop production. *Nematology in the Southern Region of the United States. Southern Cooperative Series Bulletin*, 276, 193–203.
- Johnson, A. W., & Fassuliotis, G. (1984). Nematode parasites of vegetable crops. *Plant and Insect Nematodes*, 323–373.
- Joint FAO/WHO. (2001). Codex Alimentarius: General requirements (food hygiene), Volume 1. In *Codex Alimentarius general requirements (food hygiene)*.
- Jovanovic, D. V., Di Battista, J. A., Martel-Pelletier, J., Jolicoeur, F. C., He, Y., Zhang, M., Mineau, F., & Pelletier, J.-P. (1998). IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL- β and TNF- α , by human macrophages. *The Journal of Immunology*, 160(7), 3513–3521.
- KAABECHE, M. (1990). *Les groupements vegetaux de la region de bou saada (algerie); essai de synthese sur la vegetation steppique du maghreb*. Paris 11.
- Kanwar, R. S., & Bhatti, D. S. (1993). Management of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) by poor host crops in three crop rotations. *International Journal of Pest Management*, 39(3), 304–308.
- Karmakar, I., Dolai, N., Saha, P., Sarkar, N., Bala, A., & Haldar, P. K. (2011). Scavenging activity of *Curcuma caesia* rhizome against reactive oxygen and nitrogen species. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 11(4). <https://doi.org/10.1007/s13596-011-0030-6>
- Karthik, I. (2013). *Evaluation of anti-inflammatory activity of canthium parviflorum by in-vitro method*.
- Kathires, M., & Devi, Ps. (2012). Bioactive compounds in *Sesbania sesban* flower and its antioxidant and Antimicrobial activity. *Journal of Pharmacy Research*, 5(1).

Références bibliographiques

- Kathiresh, M., Suganya, P., & Saravanakumar, M. (2011). Antioxidant effect of Sesbania sesban flower extract. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3(2), 1307–1312.
- Kerry, B. R., & Deleu, F. (1991). New nematocidal strain of *Verticillium chlamydosporium* for control of *Meloidogyne* spp., well maintained in soil without damage to plants. *Brevet WO9101642 (A1)*.
- Kerry, B. R., Simon, A., & Rovira, A. D. (1984). Observations on the introduction of *Verticillium chlamydosporium* and other parasitic fungi into soil for control of the cereal cyst-nematode *Heterodera avenae*. *Annals of Applied Biology*, 105(3), 509–516.
- Kesba, H., Abdel-Rahman, A., Sayed, S., & Al-Sayed, A.-S. (2021). Screening the nematicidal potential of indigenous medicinal plant extracts against *Meloidogyne incognita* under lab. and greenhouse conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31(1), 1–12.
- Khachai, S. (2001). Contribution à l'étude du comportement hydro physique des soles des périmètres de ITDAS, plaine de l'Outaya». *Mémoire de Magister, Institut d'agronomie de Batna*, 223p.
- Khallouk, S., Voisin, R., Van Ghelder, C., Engler, G., Amiri, S., & Esmenjaud, D. (2011). Histological mechanisms of the resistance conferred by the Ma gene against *Meloidogyne incognita* in *Prunus* spp. *Phytopathology*, 101(8), 945–951.
- Khan, Z. I., Ashraf, M., & Hussain, A. (2007). Evaluation of macro mineral contents of forages: Influence of pasture and seasonal variation. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 20(6). <https://doi.org/10.5713/ajas.2007.908>
- Khurma, U. R., & Mangotra, A. (2004). Screening of some Leguminosae seeds for nematicidal activity. *The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences*, 22(1), 51–53.
- Kiewnick, S., & Sikora, R. A. (2006). Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* strain 251. *Biological Control*, 38(2), 179–187.
- Koleva, I. I., Van Beek, T. A., Linssen, J. P. H., De Groot, A., & Evstatieva, L. N. (2002). Screening of plant extracts for antioxidant activity: A comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*, 13(1). <https://doi.org/10.1002/pca.611>
- Kothari, S., Thangavelu, L., & Roy, A. (2018). Anti-diabetic activity of *Sesbania grandiflora* - alpha amylase inhibitory effect. *Journal of Advanced Pharmacy Education and Research*, 7(4).
- Laamari, M., & Hebbel, S. (2006). Les principaux insectes ravageurs de la fève dans une région de Biskra. *Recherche Agronomique*, 18, 72–78.
- Laffitte, R. (1939). *Etude géologique de l'Aurès*. Service de la carte géologique de l'Algérie.
- Langer, A., Boivin, G., & Hance, T. (2004). Oviposition, flight and walking capacity at low temperatures of four aphid parasitoid species (Hymenoptera: Aphidiinae). *European Journal of Entomology*, 101(3), 473–480.
- Lanham-New, S. A., Hill, T. R., Gallagher, A. M., & Vorster, H. H. (2019). *Introduction to human nutrition*. John Wiley & Sons.
- Larkem, I., Benchikha, N., Domandji, S., & Domandji, M. B. (2017). Inventory of arthropods on *Sesbania acuelata* in the Algerian Sahara and quantification of phenolic compounds by HPLC. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 9(3). <https://doi.org/10.4314/jfas.v9i3.20>
- LE BERRE, J. R. (1973). Physiologie de la vie de nutrition. *Cours d'enseignement. Laboratoire d'entomologie, Orsay*.
- Le Berre, M. (1975). *rapport d'activité et de recherche du laboratoire d'entomologie saharienne. MARA*.
- Lei, E., Vacy, K., & Boon, W. C. (2016). Fatty acids and their therapeutic potential in neurological disorders. In *Neurochemistry International* (Vol. 95). <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.02.014>
- LEQUESNE, M. (1983). Méthodes d'étude des anti-inflammatoires non-stéroïdiens dans la coxarthrose et la gonarthrose. *Thérapie (Paris)*, 38(6), 683–688.
- Li, R., Zhu, C., Bian, X., Jia, X., Tang, N., & Cheng, Y. (2020). An antioxidative galactomannan extracted from Chinese: *Sesbania cannabina* enhances immune activation of macrophage cells.

- Food and Function*, 11(12). <https://doi.org/10.1039/d0fo02131h>
- Linné, C. (1753). *Species plantarum*, tomus 1. *Impensis Laurentii Salvii, Holmiae.*(560).
- Madani, D. (2008). *Relation entre le couvert végétal et les conditions édaphiques en zone à déficit hydrique*. Batna, Université El Hadj Lakhdar. Faculté des sciences.
- Mahmoud, T., Gairola, S., Shabana, H., & El-Keblawy, A. (2015). *Sesbania bispinosa* (Jacq.) W. Wight and *Trifolium repens* L.(Fabales Fabaceae) two new legume records for natural flora of the United Arab Emirates. *Biodiversity Journal*, 6(3), 719–722.
- Manach, C., Regeat, F., Texier, O., Agullo, G., Demigne, C., & Remesy, C. (1996). Bioavailability, metabolism and physiological impact of 4-oxo-flavonoids. In *Nutrition Research* (Vol. 16, Issue 3). [https://doi.org/10.1016/0271-5317\(96\)00032-2](https://doi.org/10.1016/0271-5317(96)00032-2)
- Marco, G. J. (1968). A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 45(9). <https://doi.org/10.1007/BF02668958>
- McSorley, R. (1999). Host suitability of potential cover crops for root-knot nematodes. *Journal of Nematology*, 31(4S), 619.
- Melakeberhan, H. (2006). Fertiliser use efficiency of soybean cultivars infected with *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus penetrans*. *Nematology*, 8(1), 129–137.
- Menaa, F., Menaa, A., & Tréton, J. (2014). Polyphenols against skin aging. In *Polyphenols in Human Health and Disease* (pp. 819–830). Elsevier.
- MENACER, S. (2012). *Influence des facteurs microclimatiques de la palmeraie sur la diversité du peuplement aphidien dans la région de Biskra*.
- Messiaen, C.-M., Blancard, D., & Rouxel, F. (1991). *Les maladies des plantes maraîchères*, 3e éd. Editions Quae.
- Meunier-Christmann, C., Albrecht, P., Brassell, S. C., Ten Haven, H. L., Van Der Linden, B., Rullkötter, J., & Trendel, J. M. (1991). Occurrence of dammar-13 (17)-enes in sediments: Indications for a yet unrecognized microbial constituent? *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 55(11), 3475–3483.
- Mian, I. H., Godoy, G., Shelby, R. A., Rodriguez-Kabana, R., & Morgan-Jones, G. (1982). Chitin amendments for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. *Nematropica*, 71–84.
- Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M., & Rice-Evans, C. A. (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters*, 384(3). [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)00323-7](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)00323-7)
- Miralles, J., Sy, M. O., Spencer-Barreto, M. M., Diallo, N., Gaydou, E. M., & Ba, A. T. (1992). Fatty acids and sterols from *Sesbania rostrata*. *Phytochemistry*, 31(3). [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)80028-D](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)80028-D)
- Mokabli, A. (1988). *Principaux facteurs qui déterminent l'importance et l'agressivité des Meloidogyne sous abris serres*.
- Moussi, A. (2012). *Analyse systématique et étude bio-écologique de la faune des acridiens (Orthoptera, Acridomorpha) de la région de Biskra*.
- Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., & Böhm, V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Science and Technology*, 43(6), 992–999.
- Muller, R., & Gooch, P. S. (1982). Nematological reviews: Organic amendments in nematode control. An examination of the literature. *Nematropica*, 319–326.
- Munde-Wagh, K. B., Wagh, V. D., Toshniwal, S. S., & Sonawane, B. R. (2012). Phytochemical, antimicrobial evaluation and determination of total phenolic and flavonoid contents of *Sesbania grandiflora* flower extract. *Int. J. Pharm. Sci*, 4(4), 229–232.
- Murugan, M., & Muniyappan, N. (2018). Bio-inspired synthesis of silver nanoparticles using *Sesbania sesban* and their pharmacological applications. *Journal of Bionanoscience*, 12(2), 211–219.
- Noling, J., & Becker, J. (1994). The challenge of research and extension to define and implement alternatives to methyl bromide. *Journal of Nematology*, 26(4S), 573.

Références bibliographiques

- Oka, Y., Nacar, S., Putievsky, E., Ravid, U., Yaniv, Z., & Spiegel, Y. (2000). Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. *Phytopathology*, 90(7), 710–715.
- Oka, Y., Shapira, N., & Fine, P. (2007). Control of root-knot nematodes in organic farming systems by organic amendments and soil solarization. *Crop Protection*, 26(10), 1556–1565.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Simons, A. (2009). Psidium Guajava. *Agroforestry Database: A Tree Reference and Selection Guide Version, 4*.
- Ouattara, M. B., Konate, K., Kiendrebeogo, M., Ouattara, N., Compaore, M., Meda, R., Millogo-Rasolodimby, J., & Nacoulma, O. G. (2011). Antibacterial potential and antioxidant activity of polyphenols of *Sesbania grandiflora*. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 3(4), 351–356.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307–315.
- Ozenda, P. (1992). Flore et végétation du Sahara. *Geobios*, 25(2). [https://doi.org/10.1016/s0016-6995\(06\)80408-0](https://doi.org/10.1016/s0016-6995(06)80408-0)
- Ozenda, Paul. (1991). *Flora and vegetation of the Sahara*. CNRS.
- Perry, N. S. L., Houghton, P. J., Theobald, A., Jenner, P., & Perry, E. K. (2000). In-vitro inhibition of human erythrocyte acetylcholinesterase by *Salvia lavandulaefolia* essential oil and constituent terpenes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 52(7), 895–902.
- Ploeg, A. T. (1999). Greenhouse studies on the effect of marigolds (*Tagetes* spp.) on four Meloidogyne species. *Journal of Nematology*, 31(1), 62.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. H. (2001). *Antioxidants in food: practical applications*. CRC press.
- Prentice, A. (2004). Diet, nutrition and the prevention of osteoporosis. *Public Health Nutrition*, 7(1a). <https://doi.org/10.1079/phn2003590>
- Radwan, M. A., Farrag, S. A. A., Abu-Elamayem, M. M., & Ahmed, N. S. (2012). Biological control of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato using bioproducts of microbial origin. *Applied Soil Ecology*, 56, 58–62.
- Rahmouni, N., Pinto, D. C. G. A., Beghidja, N., Benayache, S., & Silva, A. M. S. (2018). *Scabiosa stellata* L. Phenolic content clarifies its antioxidant activity. *Molecules*, 23(6). <https://doi.org/10.3390/molecules23061285>
- Ramade, F. (2009). *Eléments d'écologie: Ecologie fondamentale-4e édition*. Dunod.
- Raymundo, S. A. (1985). *Cropping systems research and root-knot nematode control*.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10). [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Regnault-Roger, C., Fabres, G., & Philogène, B. J. R. (2005). *Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement*.
- Rhoades, H. L. (1982). Effect of temperature on survival of *Meloidogyne incognita* in flooded and fallow muck soil. *Nematropica*, 33–37.
- Rhoades, H. L., & Forbes, R. B. (1986). Effects of fallow, cover crops, organic mulches, and fenamiphos on nematode populations, soil nutrients, and subsequent crop growth. *Nematropica*, 141–151.
- Rice-evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., & Pridham, J. B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 22(4). <https://doi.org/10.3109/10715769509145649>
- Rinaudo, G., Dreyfus, B., & Dommergues, Y. (1983). *Sesbania rostrata* green manure and the nitrogen content of rice crop and soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 15(1). [135](https://doi.org/10.1016/0038-</p></div><div data-bbox=)

- 0717(83)90127-X
- Rodriguez-Kabana, R., Morgan-Jones, G., & Chet, I. (1987). Biological control of nematodes: Soil amendments and microbial antagonists. *Plant and Soil*, *100*(1), 237–247.
- Rodriguez-Kabana, R., Morgan-Jones, G., Godoy, G., & Gintis, B. O. (1984). Effectiveness of species of *Gliocladium*, *Paecilomyces*, and *Verticillium* for control of *Meloidogyne arenaria* in field soil. *Nematropica*, 155–170.
- Rubio-Cabetas, M.-J., Minot, J.-C., Voisin, R., & Esmenjaud, D. (2001). Interaction of root-knot nematodes (RKN) and the bacterium *Agrobacterium tumefaciens* in roots of *Prunus cerasifera*: evidence of the protective effect of the Ma RKN resistance genes against expression of crown gall symptoms. *European Journal of Plant Pathology*, *107*(4), 433–441.
- Sahni, P., Sharma, S., & Singh, B. (2021). Impact of different processing treatments on techno and biofunctional characteristics of dhaincha (*Sesbania aculeata*). *Food Science and Technology International*, *27*(3). <https://doi.org/10.1177/1082013220949812>
- Sahu, B. K., Panda, S. K., & Panda, N. C. (1988). Yield, chemical composition and nutritive value of banicha (*Sesbania aculeata*) fodder for goats. *Indian Journal of Animal Nutrition*, *5*(1), 61–63.
- Saleri, F. D., Chen, G., Li, X., & Guo, M. (2017). Comparative analysis of saponins from different phytolaccaceae species and their antiproliferative activities. *Molecules*, *22*(7), 1077.
- Sana, A. K. (2003). Inventaire des adventices des cultures dans la région de Biskra. *Station Régionale de La Protection Des Végétaux, Biskra*.
- Santos, S. A. O., Freire, C. S. R., Domingues, M. R. M., Silvestre, A. J. D., & Neto, C. P. (2011). Characterization of phenolic components in polar extracts of eucalyptus globulus labill. Bark by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(17). <https://doi.org/10.1021/jf201801q>
- Sarathchandra, S. U., Watson, R. N., Cox, N. R., Di Menna, M. E., Brown, J. A., Burch, G., & Neville, F. J. (1996). Effects of chitin amendment of soil on microorganisms, nematodes, and growth of white clover (*Trifolium repens* L.) and perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Biology and Fertility of Soils*, *22*(3), 221–226.
- Satnami, D. K., & Yadava, R. N. (2012). Natural antioxidant (flavone glycoside) from *Sesbania aculeata* pers. and its potential activity. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *3*(8), 2819.
- Sayre, R. M., & Starr, M. P. (1985). *Pasteuria penetrans* (ex Thorne, 1940) nom. rev., comb. n., sp. n., a mycelial and endospore-forming bacterium parasitic in plant-parasitic nematodes. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, *52*(2), 149–165.
- Schaller, H. (2003). The role of sterols in plant growth and development. In *Progress in Lipid Research* (Vol. 42, Issue 3). [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(02\)00047-4](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(02)00047-4)
- Scotto La Massese, C. (1961). Aperçu sur les problèmes posés par les nématodes phytoparasites en Algérie. *Journée d'Etude et d'Information. Association de Coordination Technique Agricole, FNGPC, Paris*, 1–27.
- Sedrati, N., Chaib, W., & Boucham, N. (2011). Les fluctuations piézométriques affectant la nappe du complexe terminal de la région de Biskra – Sud – Est algérien. *1^{er} Séminaire International sur la Ressource en eau au Sahara : Evaluation, économie et protection, 19-20 janvier, Ouargla, Algérie*, 275-282.
- Sellami, S., Lounici, M., Eddoud, A., & Benseghir, H. (1999). Distribution et plantes hôtes associées aux *Meloidogyne* sous abri plastique en Algérie. *Nematol. Medit*, *27*, 295–301.
- Aballay, E., Sepúlveda, R., & Insunza, V. (2004). Evaluation of five nematode-antagonistic plants used as green manure to control *Xiphinema index* Thorne et Allen on *Vitis vinifera* L. *Nematropica*, 45–52.
- Chitwood, D. J. (2002). Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review of*

- Phytopathology*, 40(1), 221–249.
- El-Nagdi, W.-E., & Youssef, M. M. A. (2013). Comparative efficacy of garlic clove and castor seed aqueous extracts against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* infecting tomato plants. *Journal of Plant Protection Research*, 53(3).
- El Allagui, N., Bourijate, M., Tahrouch, S., & Hatimi, A. (2006). Effet de cinq extraits végétaux sur *Meloidogyne* spp de la tomate. *Congrès International de Biochimie*, 357–360.
- Kesba, H., Abdel-Rahman, A., Sayed, S., & Al-Sayed, A.-S. (2021). Screening the nematicidal potential of indigenous medicinal plant extracts against *Meloidogyne incognita* under lab. and greenhouse conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31(1), 1–12.
- Oka, Y., Nacar, S., Putievsky, E., Ravid, U., Yaniv, Z., & Spiegel, Y. (2000). Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. *Phytopathology*, 90(7), 710–715.
- Seo, D.-J., Kim, K.-Y., Park, R.-D., Kim, D.-H., Han, Y.-S., Kim, T.-H., & Jung, W.-J. (2013). Nematicidal activity of 3, 4-dihydroxybenzoic acid purified from *Terminalia nigrovenulosa* bark against *Meloidogyne incognita*. *Microbial Pathogenesis*, 59, 52–59.
- Shakya, A. K. (2016). Medicinal plants: Future source of new drugs. *International Journal of Herbal Medicine*, 4(4).
- SHARMA, A., & TRIVEDI, P. C. (1988). Interaction of *Meloidogyne incognita* and *Rhizobium* sp and their effect on growth of *Trigonella foenum-graecum*. *Indian Botanical Contactor*, 5(4), 137–139.
- Shi, H., Noguchi, N., & Niki, E. (2001). Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. *Methods in Enzymology*, 335, 157–166.
- Siddiqui, I. A., Shaukat, S. S., & Hamid, M. (2002). Role of zinc in rhizobacteria-mediated suppression of root-infecting fungi and root-knot nematode. *Journal of Phytopathology*, 150(10), 569–575.
- Simões, M. A. M., Pinto, D. C. G. A., Neves, B. M. R., & Silva, A. M. S. (2020). Flavonoid Profile of the *Genista tridentata* L., a Species Used Traditionally to Treat Inflammatory Processes. *Molecules*, 25(4). <https://doi.org/10.3390/molecules25040812>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.
- Soetan, K. O., Olaiya, C. O., & Oyewole, O. E. (2010). The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review. *African Journal of Food Science*, 4(May).
- Spaull, V. W. (1984). Observations on *Bacillus penetrans* infecting *Meloidogyne* in sugarcane fields in South Africa. *Rev. Nematol.*, 7(3), 277–282.
- Starr, M. P., & Sayre, R. M. (1988). *Pasteuria thornei* sp. nov. and *Pasteuria penetrans* sensu stricto emend., mycelial and endospore-forming bacteria parasitic, respectively, on plant-parasitic nematodes of the genera *Pratylenchus* and *Meloidogyne*. *Annales de l'Institut Pasteur/Microbiologie*, 139(1), 11–31.
- Sary, P. (1970). Biology of Aphid Parasites (Hymenoptera: Aphidiidae) with respect to integrated control. *Series Entomologica.*, 6.
- Stirling, G. R. (1985). Host specificity of *Pasteuria penetrans* within the genus *Meloidogyne*. *Nematologica*, 31(2), 203–209.
- Stirling, G. R. (1991). *Biological Control of Plant Parasitic Nematodes*. Wallingford. Oxon: CAB International. ISBN0-85198703-6.
- Strugała, P., Gładkowski, W., Kucharska, A. Z., Sokół-Łętowska, A., & Gabrielska, J. (2016). Antioxidant activity and anti-inflammatory effect of fruit extracts from blackcurrant, chokeberry, hawthorn, and rosehip, and their mixture with linseed oil on a model lipid membrane. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118(3), 461–474.
- Sturhan, D., & Schneider, R. (1980). *Hirsutella heteroderae*, ein neuer nematodenparasitärer Pilz.

- Journal of Phytopathology*, 99(2), 105–115.
- Sturhan, Dieter. (1988). New host and geographical records of nematode-parasitic bacteria of the *Pasteuria penetrans* group. *Nematologica*, 34(3), 350–356.
- Swami, C., Saini, S., & Gupta, V. B. (2012). A study on green dyeing of cotton with ethanolic extract of *Sesbania aculeata*. *Universal Journal of Environmental Research and Technology*, 2(2).
- Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szłyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899–905.
- Tapas, A. R., Sakarkar, D. M., & Kakde, R. B. (2008). Flavonoids as nutraceuticals: a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1089–1099.
- Tarai, N. (1991). Contribution l'étude bioécologique des peuplements orthoptérologiques dans la région de Biskra et régime alimentaire d'*Aiolopus thalassinus* (Fabricius 1781). *Institut National Agronomique El Harrach, Alger*, 120.
- Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., & Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, 103(3), 816–822.
- Treutter, D. (2005). Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. *Plant Biology*, 7(06), 581–591.
- Tundis, R., Menichini, F., Conforti, F., Loizzo, M. R., Bonesi, M., Statti, G., & Menichini, F. (2009). A potential role of alkaloid extracts from *Salsola* species (Chenopodiaceae) in the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24(3). <https://doi.org/10.1080/14756360802399662>
- Turquin, M.-J. (1974). R. Dajoz.—Précis d'écologie. 1971. Dunod, Paris. *Publications de La Société Linnéenne de Lyon*, 43(6), 180–181.
- Tyler, V. E. (1993). *The Honest Herbal*. 375 pp. Pharmaceutical Products Press, New York.
- Tzortzakakis, E. A., & Gowen, S. R. (1994). Evaluation of *Pasteuria penetrans* alone in combination with oxamyl, plant resistance and solarization for control of *Meloidogyne* spp. on vegetables grown in greenhouses in Crete. *Crop Protection*, 13(6), 455–462.
- Underwood, E. J. (1999). *The mineral nutrition of livestock*. Cabi.
- Vadivel, V., Patel, A., & Biesalski, H. K. (2012). Effect of traditional processing methods on the antioxidant, α -amylase and α -glucosidase enzyme inhibition properties of *Sesbania sesban* Merrill seeds. *CYTA - Journal of Food*, 10(2). <https://doi.org/10.1080/19476337.2011.601427>
- Van Damme, V., Hoedekie, A., & Viaene, N. (2005). Long-term efficacy of *Pochonia chlamydosporia* for management of *Meloidogyne javanica* in glasshouse crops. *Nematology*, 7(5). <https://doi.org/10.1163/156854105775142973>
- Variation of chemical characteristics and pulpability of dhaincha (*Sesbania bispinosa*) on location. (2017). *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 2(1). <https://doi.org/10.21967/jbb.v2i1.128>
- Veasey, E. A., Schammas, E. A., Vencovsky, R., Martins, P. S., & Bandel, G. (1999). Morphological and agronomical characterization and estimates of genetic parameters of *Sesbania Scop.*(Leguminosae) accessions. *Genetics and Molecular Biology*, 22(1), 81–93.
- Vinothini, K., Devi, M. S., Shalini, V., Sekar, S., Semwal, R. B., Arjun, P., & Semwal, D. K. (2017). In vitro micropropagation, total phenolic content and comparative antioxidant activity of different extracts of *Sesbania grandiflora* (L.) Pers. *Current Science*, 113(6). <https://doi.org/10.18520/cs/v113/i06/1142-1147>
- Visioli, F., Galli, C., Bornet, F., Mattei, A., Patelli, R., Galli, G., & Caruso, D. (2000). Olive oil phenolics are dose-dependently absorbed in humans. *FEBS Letters*, 468(2–3). [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(00\)01216-3](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(00)01216-3)
- Weisser Jr, F. J. (1997). *Mediation of open advanced intelligent network in SS7 protocol open access environment*. Google Patents.

Références bibliographiques

- Wesemael, W. M. L., Perry, R. N., & Moens, M. (2006). The influence of root diffusate and host age on hatching of the root-knot nematodes, *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. *Nematology*, 8(6). <https://doi.org/10.1163/156854106779799204>
- Whitehead, A. G. (1998). Sedentary endoparasits of roots and tubers *Meloidogyne* and *Nacobbus* in plant nematode control. *CAB International London*.
- Wu, Y., Jenkins, T., Blunden, G., von Mende, N., & Hankins, S. D. (1998). Suppression of fecundity of the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*, in monoxenic cultures of *Arabidopsis thaliana* treated with an alkaline extract of *Ascophyllum nodosum*. *Journal of Applied Phycology*, 10(1), 91–94.
- Yang, B., Chen, F., Hua, Y., Huang, S.-S., Lin, S., Wen, L., & Jiang, Y. (2012). Prooxidant activities of quercetin, p-courmaric acid and their derivatives analysed by quantitative structure–activity relationship. *Food Chemistry*, 131(2), 508–512.
- Zarei Hanzaki, A. (1994). *Transformation characteristics of Si-Mn TRIP steels after thermomechanical processing*.
- Zengin, G., Sarikurkcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R., & Ceylan, O. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*, 53. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.043>

Annexes

Analyse de la variance à un seul facteur ; Concentration

Analyse de variance: un facteur

Mortalité corrigée partie aérienne

RAPPORT DÉTAILLÉ

<i>Groupes</i>	<i>Nombre d'échantillons</i>	<i>Somme</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Variance</i>
Conc X1	15	1398,81	93,254	28,1446971
Conc X2	15	1314,78	87,652	43,4675743
Conc X3	15	1214,24	80,9493333	52,723921

ANALYSE DE VARIANCE

<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Entre Groupes	1138,56483	2	569,282416	13,735721	2,5722E-05	3,21994229
A l'intérieur des groupes	1740,70669	42	41,4453975			
Total	2879,27152	44				

Analyse de la variance à deux facteurs sans répétitions

Concentration et temps d'exposition

Analyse de variance: deux facteurs sans répétition d'expérience

<i>RAPPORT DÉTAILLÉ</i>	<i>Nombre d'échantillons</i>	<i>Somme</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Variance</i>
-----------------------------	----------------------------------	--------------	----------------	-----------------

-48h		3	257,89	85,9633333	82,2209333
	-72	3	285,85	95,2833333	30,6354333
-24h		3	243,13	81,0433333	29,2790333
-48h		3	271,55	90,5166667	68,8241333
-72h		3	282,25	94,0833333	32,5302333
-24h		3	239,91	79,97	55,2076
-48h		3	267,08	89,0266667	15,4860333
-72h		3	295,63	98,5433333	6,36563333
-24h		3	253,69	84,5633333	37,9297333
-48h		3	265,18	88,3933333	24,2294333
-72h		3	278,35	92,7833333	32,2400333
-24h		3	241	80,3333333	65,3333333
-48h		3	252	84	43
-72h		3	261	87	57
	86,33	14	1312,48	93,7485714	26,3584286
	75,66	14	1239,12	88,5085714	34,9589209
	71,33	14	1142,91	81,6364286	49,1533786

ANALYSE DE VARIANCE

<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Extraits	1308,70011	13	100,669239	20,5416216	2,0361E-10	2,11916569
Concentrations	1033,14378	2	516,571888	105,406819	3,368E-13	3,36901636
Erreur	127,419357	26	4,90074451			
Total	2469,26324	41				

Chemical profile and antioxidant activity of *Sesbania bispinosa* (Jacq.) W. Wight aerial parts and seeds extracts

Imene Larkem¹  | Nacer Tarai¹  | Naima Benchikha²  | Mohammed Messaoudi^{2,3}  | Samir Begaa³  | Miguel Martins⁴ | Artur M. S. Silva⁵  | Diana C. G. A. Pinto⁵ 

¹Laboratory of Diversity of Ecosystems and Dynamics of Agricultural Production Systems in Arid Zones, Department of Agronomy, Faculty of Nature and Life Science, Biskra University, Biskra, Algeria

²Chemistry Department, University of Hamma Lakhdar, El-Oued, Algeria

³Reactor Chemistry Department, Nuclear Research Centre of Birine, Djelfa, Algeria

⁴Environment Department, School of Agriculture, University of Lisbon (ISA) (Instituto Superior de Agronomia), Lisbon, Portugal

⁵LAQV-REQUIMTE and Department of Chemistry, University of Aveiro, Aveiro, Portugal

Correspondence

Samir Begaa, Nuclear Research Centre of Birine, P.O. Box 180, Ain Oussera, 17200 Djelfa, Algeria.

Email: samirbegaa@yahoo.fr

Funding information

Instituto Superior de Agronomia, Grant/Award Number: UIDB/50006/2020 + UIDP/50006/2020

Abstract

Sesbania bispinosa (Jacq.) W. Wight is a medicinal plant used by traditional healers from India and now introduced in southern Algeria, for which the chemical composition still needs to be uncovered. This work aimed to establish the chemical profile of this important medicinal plant and determine the antioxidant effects of the 80% methanol extract of the aerial parts of the plant via the study of DPPH radical scavenging activity (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Chemical profiling of its extract's major constituents was tentatively done by using liquid and gas chromatography coupled with mass spectrometry. The mineral analysis was conducted using an inductively coupled plasma optical emission spectrometry technique (ICP-OES).

Practical applications

The secondary metabolites were identified using ultra-high-performance liquid chromatography coupled to photodiode-array detection and electrospray ionization/ion trap mass spectrometry (UHPLC-DAD-ESI-MS/MS) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Sesbania bispinosa* (Jacq.) W. Wight aerial part and seeds are rich in known bioactive secondary metabolites such as glycosylated sterols, flavonoid, cinnamic acid, sugar, and fatty acid derivatives. Several of these compounds can explain this species' remarkable antioxidant power (DPPH with IC₅₀ equals 59.7 µg/ml extract) and some of its medicinal uses. The results showed that *S. bispinosa* is rich in some health-promoting minerals like Na (2.034 mg/g), K (11.51 mg/g), Ca (26.82 mg/g), and Fe (0.16 mg/g), whose levels are within the World Health Organization's (WHO) permissible limits. Moreover, the results herein presented can also establish the nutritional value of *S. bispinosa*.

1 | INTRODUCTION

Sesbania bispinosa (Jacq.) W. Wight is a tropical vegetable belonging to the Leguminosae family, whose origin is uncertain. Still, maybe it is from the Indian subcontinent (Orwa et al., 2009). This species

has been introduced in Algeria, more precisely in the Biskra province (South Algeria), where the pedoclimatic conditions are harsh. The station of the ITIDAS (Technical Institute for the Development of Saharan Agriculture) led within the framework of the cooperation project with ACSAD (Applied research program on the use of

Abbreviations: ACSAD, applied research program on the use of brackish waters and salted in North Africa; BHA, butylated hydroxyanisole; BHC, butylated hydroxytoluene; DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; GC-MS, gas chromatography-mass spectrometry; ICP-OES, inductively coupled plasma optical emission spectrometry technique; IEA, European institute of antioxidants; ITIDAS, technical Institute for the Development of Saharan Agriculture; ROS, reactive oxygen species; UHPLC-DAD-ESI-MS/MS, ultra-high-performance liquid chromatography coupled to photodiode-array detection and electrospray ionization/ion trap mass spectrometry; WHO, World of Health Organization.

brackish waters and salted in North Africa), a work to introduce this plant which is known to develop in harsh conditions. Plants of the genus *Sesbania* are excellent nitrogen fixers (Rinaudo et al., 1983), capable of quickly producing soils with a deficit in the latter, thus possessing high agroforestry utility (Chotechaungmanirat, 2010).

S. bispinosa is a fast-growing branched annual shrub that can reach a height of 2 to 3 m, thus excellent for cultivated production. The stem is cylindrical, the leaves are pinnate and compound glabrous on both sides, provided with small yellowish flowers with small brown spots, and the fruit is a straight and fine pod which contains the seeds inside with brown color. All these parts are being introduced in human nutrition; besides that, *S. bispinosa* can be used as fuel, fiber, gum, or resin (Orwa et al., 2009). However, it is its use in folk medicine that should be highlighted. Oxidative stress is responsible for many pathologies from which cancer, Alzheimer's, and Parkinson's diseases can be highlighted. This is why manufacturers in multiple fields such as the cosmetics, food, and pharmaceutical industries are always looking for new antioxidant molecules that can reduce the effects of oxidative stress to improve consumers' health (European institute of antioxidants IEA). Indeed, the reactive oxygen species (ROS) released by the human organism during the various attacks are eliminated or trapped by molecules endowed with antioxidant properties. Their roles go far beyond that of simple scavengers or suppressors of free radicals; they are useful in preventing and/or treating parasitic and non-parasitic diseases. All plants produce secondary metabolites with antioxidant properties. These compounds exhibit several pharmacological properties, among which we will cite the antibacterial, anti-inflammatory, vasodilator anticarcinogenic, antithrombotic, anti-atherogenic, antipyretic, and analgesic (Gómez-Caravaca et al., 2006; Muanda, 2011). Our previous study reported that the leaves of *S. bispinosa* are a potential source of natural antioxidants given their richness in polyphenols (Larkem et al., 2017).

This plant is traditionally used to treat cancer, dysentery, stomach ache, diabetes, liver disease, headaches, bacterial infection, and inflammation (Orwa et al., 2009).

It is recognized that *S. bispinosa* was used as a green manure crop. According to Khan et al. (2000), organic manures enhance fertilizer efficiency and reduce inorganic fertilizers. Traditional green manures (*S. bispinosa*), organic manure, and problematic weeds (*Ipomoea Carnea* and *Gliricidia maculata*) may serve as an alternative source of nutrients to the plants and may supplement any chemical fertilizers. In addition, Sarker et al. (2017) mentioned that *S. bispinosa* could be used as a raw material for pulp production, even the stems provide a strong fiber, which is used in the paper industry (Duke, 1981). In this study, Pugalenti et al. (2004) recommended *S. bispinosa* for large-scale consumption as a potential alternative source of protein.

Considering that *S. bispinosa* is now being cultivated in Algerian Sahara, its nutritional and medicinal value must be validated. Therefore, the present study aimed to investigate the chemical composition of *S. bispinosa* extracts. Using ultra-high-performance liquid chromatography coupled to photodiode-array detection and electrospray ionization/ion trap mass spectrometry (UHPLC-DAD-ESI-MS/MS) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

established the secondary metabolites profile. Inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) was used to set the mineral profile. The antioxidant potential was demonstrated through the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay. The results obtained in this research may enrich the Algerian database of medicinal herbs and validate the *S. bispinosa* use by the local population.

This work aims to provide in-depth information about the species' nutritional value and, in doing so, incentivize its consumption. Simultaneously, the results are essential to validate some medicinal claims. The analyses herein reported and discussed (HPLC-DAD-ESI-MS/MS; GC-MS; ICP-OES; and DPPH assay) were performed for the first time on this plant reason why they are essential to validate the species use.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Chemicals

Methanol and hexane were of HPLC purity or analytical grade (Panreac, Barcelona, Spain). Iron(II) sulfate, potassium hexacyanoferrate(III), iron(III) chloride, butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHC), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), pyridine, BSTFA, TMSCl, dichloromethane (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany), HNO₃ (65%) (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany), hydrochloric acid (37%) (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany). Several pure compounds were used as standards to ensure the identification of the phytochemicals. Kaempferol-3-O-(6-*p*-coumaroyl)-glycoside (TransMIT, Marburg, Germany); glycerol, proline, malic acid, threonic acid, xylose, asparagine, sorbitol, ribose, fructose, citric acid, pinitol, mannose, serine, galactaric acid, palmitic acid, myo-inositol, linoleic acid, oleic acid, stearic acid, oleamide, lactose, cellobiose, galactitol, sucrose, rutin, quercetin, caffeic acid, *p*-coumaric acid, *p*-hydroxybenzoic acid, stigmaterol, β -sitosterol, cycloartenol, campesterol (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany). (+)-Taxifolin and kaempferol (Extrasynthese, Paris, France).

2.2 | Plant collection and extracts preparation

The plant was cultivated at the ITDAS station (Ain Benoui Biskra), a farm of demonstration and seeds production, located in El Outaya (Biskra, Algeria). The longitude is 5.656°N, Latitude 34.936°E, and at an altitude of 207 m. The sample was collected in September 2019. The plant material was botanically identified and confirmed by Professor Tarai Nacer at the ITDAS station, and the voucher specimen was preserved under the reference (N°114/Sb19/DEDSPAZA). Before any experimental procedure, the aerial part and the seeds were washed often with distilled water to remove soil particles. They were air dried in the shade and away from sunlight and moisture for 2 weeks. The samples were ground to a fine powder using an agate mortar, and pestle passed through a 120 μ m mesh sieve and stored in airtight containers moisture. About 10.5 g

of each sample was extracted with methanol (200 ml, 2 days cycles, and 3 times) using a Soxhlet. The mixture was filtered, and the combined extracts were concentrated under vacuum giving 4.1 and 2.56 g for the aerial part and seeds, respectively. The same procedure was adopted for hexane extracts, 15 g of each sample, and then concentrated under vacuum giving 11.33 and 11.55 g for the aerial part and seeds.

2.3 | UHPLC-DAD-ESI/MSⁿ analysis

For the UHPLC, 25 mg of the extract was dissolved in 2 ml of methanol (2 mg/ml). The solution was filtered (0.2 micron nylon membrane, Whatman) and injected in a UHPLC-MS (Thermo Scientific Ultimate 3000RSLC Dionex); three independent analyses were carried out for reproducibility. The equipment contains a Dionex UltiMate 3000 RS diode array detector coupled to a mass spectrometer. A Thermo scientific hypersil gold column (Part no 25002-102130; Dim 100 mm × 2.1 mm; Lot 14,913; SN 10518298) with a part size of 1.9 μm was used, and the temperature was maintained at 30°C. The mobile phase was composed of (A) 0.1% formic acid in water (vol/vol) and (B) acetonitrile, both degassed and filtered before use. The flow rate was 0.2 ml/min. The elution gradient was initiated with 5% of (solvent A) over 14 min, 40% of (solvent B) over 2 min, 100% (solvent A) over 7 min, and 5% over the last 10 min re-equilibration of the column. The injection volume was 2 μl. UV-vis spectral data were gathered in a range of 250 to 500 nm, and the chromatographic profiles were documented at 450 nm. The mass spectrometer used was an LTQ XL linear ion trap 2D equipped with an orthogonal electrospray ion source (ESI). The equipment was operated in a negative-ion mode with an electrospray ionization source of 5.00 kV and ESI capillary temperature of 275°C. The full scan covered a mass range of 50 to 2000 *m/z*. Collision-induced dissociation MS/MS and MSⁿ experiments were simultaneously acquired for precursor ions.

The phenolic compounds identification was carried out by comparing the retention times, UV-vis mass spectra and spectra data with those of the closest available reference standards and data reported in the literature.

2.4 | ICP-OES analysis

For mineral elemental analysis, 0.3 g of the powder sample of *S. bispinosa* was put into a burning cup and 3 ml HNO₃ (65%) (Sigma Aldrich-Germany) and 3 ml of hydrochloric acid (37%) (Sigma Aldrich-Germany) were added. Then, the mixture was heated at 105°C with the agitation of about 90 min (to make sure that all the powder returned to be liquid). Next, the tube was covered up to 50 ml with distilled water to dilute the sample, and the whole mixture was transferred to another tube and let to homogenize and settle. Lastly, the supernatant was put ICP for the determination of the mineral element; each sample was analyzed in triplicate.

2.5 | GC-MS analysis

For the silylation procedure, 250 μl of pyridine, 250 μl of BSTFA, and 50 μl of TMSCl were added to a screw glass tube with 20 mg of the extract dissolved in 1 ml of dichloromethane. The mixture was placed in a water bath at 70°C for 40 min. Three aliquots of each sample were prepared in the same way and then each one injected into the GC-MS apparatus.

GC-MS analyses of each silylated hexane extract were performed using a GC-MS QP2010 Ultra Shimadzu equipped with a ZB-5ms- J & W capillary column (30 m × 0.25 mm i.d. and a film thickness of 0.25 μm). The samples were injected with a split ratio 1:50 and helium as carrier gas with a flux of 1.13 ml/min. The temperature of the column was maintained at 70°C for 5 min and then increased, first at 4°C/min. until 250°C, followed by 2°C/min until achieved 300°C, which was maintained for 5 min. Injector temperature was at 320°C, and the transfer-line temperature was at 200°C. The mass spectrometer was operated in the electronic impact (EI) mode with energy of 70 eV, and data were collected at a rate of 1 scan/s over a range of *m/z* 50–1000.

The phytochemicals of the extracts from the different samples were identified based on direct comparison with the library entries of GC-MS spectra database (NIST14 Mass spectral and WILEY RegistryTM of Mass Spectra Data) and by comparing the retention times and spectra data of the pure standard compounds available, which were injected in the same chromatographic conditions.

2.6 | DPPH radical scavenging capacity assay

To determine the rate of inhibition of free radical (DPPH), the ascorbic acid was used as a standard reference to compare it with the extract of *S. bispinosa* (Sirivibulkovit et al., 2018). Each of the prepared concentrations was put into the cells (1 ml). To this volume, 200 μl of methanol and 800 μl of DPPH solution (0.4 mmol) were added, and the samples were incubated in the dark for 30 min, then the optical density was read at a wavelength of 515 nm. The rate of inhibition of free radicals (DPPH) was calculated using the obtained absorbance values with mathematical calculations using the following relationship (1).

$$I\% = \left[\frac{(A_0 - A)}{A_0} \right] \times 100 \quad (1)$$

*A*₀: absorbance of DPPH at λ = 517 nm. *A*: absorbance of DPPH in presence of the sample after 30 min at λ = 517 nm. *I*%: antioxidant inhibition ratio.

2.7 | Statistical analyses

All data were presented in this paper as mean ± *SD* and were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's multiple range tests. *p* < .05 was considered as significant.

3 | RESULTS AND DISCUSSION

3.1 | Mineral elemental concentrations analysis

Under the definition WHO (World of Health Organization), traditional medicinal plants are considered as natural materials, which are used to treat and moderate numerous ailments at a local scale (Jamshidi-Kia et al., 2018). Monitoring the mineral content in medicinal plants is considered one of the most important aspects of safety before evaluating pharmaceutical use. This study reports the mineral elemental concentrations content in the aerial part of *S. bispinosa* and assesses its health risk. The analysis of mineral elements (P, K, Ca, Mg, S, Zn, B, Mo, Fe, Cu, N, Na, Mn) in *S. bispinosa* was carried out using the inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) technique (Model: iCAP 7000 series, Brand: ThermoScientific). The results obtained of the range's values, minimum, maximum, mean, and standard error (SD) of mineral elements in the sample analysis were presented in Table 1.

Until now, there is no information about the multi-element (mineral compounds) composition of *S. bispinosa* aerial part; the present work attempts to fill that gap using the ICP-OES technique to provide scientific evidence about the mineral composition of *S. bispinosa* and its elemental concentration; this result may be used as a database in the pharmaceutical industry.

According to a joint expert consultation report between the Food and Agriculture Organization, the World Health Organization, and the United Nations, the mineral content in food can prevent nutritional problems and contribute to human health. The mineral belongs to the micronutrient group, and their deficiencies can stimulate gastrointestinal disorders, covering every organ of the digestive tract and the liver (Lanham-New et al., 2019). For this purpose, it is crucial to estimate the mineral concentration in this plant.

A perusal of data in Table 1 shows that this plant is rich in some essential elements like Na, K, Ca, Mg, P, and S, from which the electrolytic elements of Na and K can be highlighted because they are responsible for maintaining healthy fluid balance inside and

outside cells (Begaa & Messaoudi, 2019; Begaa et al., 2020; Garg et al., 2007). The concentrations of Na and K are found in 2.034 and 11.51 mg/g, respectively.

The intake of Ca and Mg is recommended to prevent osteoporosis and might be responsible for the absence of side effects regarding stomach lesions (Prentice, 2004). The concentrations of Ca and Mg found are 26.82 and 3.689 mg/g, respectively. Manganese, Mn, is considered an essential element due to its vital role in preventing diabetes and was found in 49.75×10^{-3} mg/g of dried plant. Iron (Fe) is another essential element required for several body functions, including respiration (Begaa & Messaoudi, 2018; Messaoudi & Begaa, 2018) and was found with a concentration of 0.158 mg/g of dried plant. Finally, we highlight that the zinc (Zn) is an essential mineral for human health with a significant impact on immune function (Frossard et al., 2000). In this study, Zn concentration was 41.80×10^{-3} mg/g of dried plant.

Copper (Cu) has many properties that play unique and critical biological roles (Festa & Thiele, 2011). According to FAO/WHO, the acceptable limit of Cu concentration is 4.5 mg/kg for fruit samples (Codex, 1995). *S. bispinosa* showed a significant Cu concentration (9.350 mg/kg) and represent twice higher than WHO acceptable limit. However, we should highlight that the available value is for fruits, and here we are analyzing a plant that is consumed in less amount.

In addition to this research, and based on previous studies (Satnami & Yadava, 2012; Swami et al., 2012), we can conclude that *S. bispinosa* has medicinal value due to its mineral components. On the other hand, according to the works of Hossain et al. (2001); Khan et al. (2007); and Sahu et al. (1988), the plant *S. bispinosa* is considered as forages to ruminants. So *S. bispinosa* may be a good source of essential elements, even for ruminants.

For provide some information about potential nutritional of ruminants' forages from the *Sesbania aculeata*, we have estimated the dietary intake values of some mineral elements from this plant as fodder by ruminants. By assuming an intake of 2.0 kg (dry weight/ruminant weighing 50 kg body weight), the ruminants would consume

Elements	Minimum	Maximum	Mean \pm SD
Na	1.904	2.253	2.034 \pm 0.219
K	11.46	11.58	11.51 \pm 0.07
Ca	26.28	27.28	26.82 \pm 0.55
Mg	4.595	5.861	3.689 \pm 0.029
P	1.968	2.207	2.062 \pm 0.144
S	5.277	5.469	5.368 \pm 0.100
Fe	0.1459	0.1757	0.1584 \pm 0.017
Cu	6.970×10^{-3}	11.10×10^{-3}	$9.350 \times 10^{-3} \pm 2 \times 10^{-4}$
Zn	40.47×10^{-3}	44.09×10^{-3}	$41.80 \times 10^{-3} \pm 2 \times 10^{-4}$
Mn	49.36×10^{-3}	50.24×10^{-3}	$49.75 \times 10^{-3} \pm 5 \times 10^{-5}$
B	88.67×10^{-3}	97.12×10^{-3}	$91.81 \times 10^{-3} \pm 6 \times 10^{-4}$
Mo	18.94×10^{-3}	19.77×10^{-3}	$19.31 \times 10^{-3} \pm 5 \times 10^{-5}$
N	27.53	33.01	30.76 \pm 0.323

TABLE 1 Values of minimum, maximum mean, and standard deviations of minerals elements mass fractions in the plant sample study (mg/g on dry mass basis)

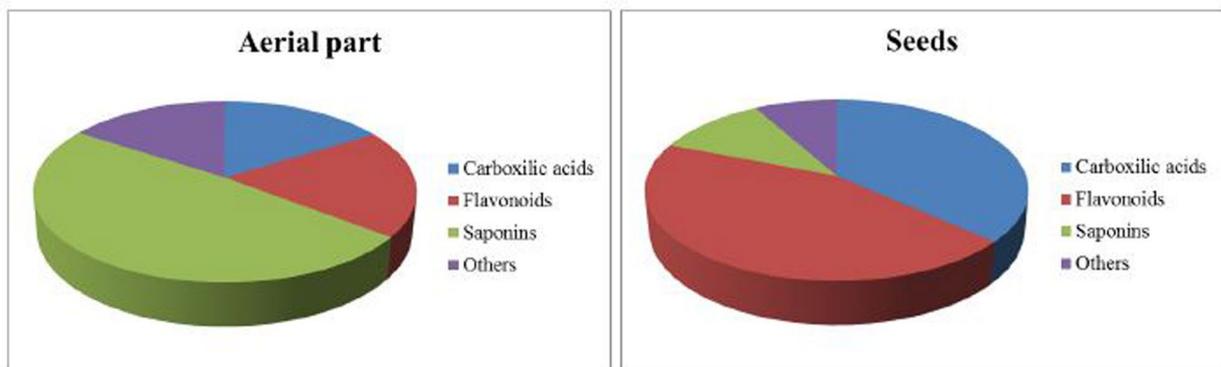
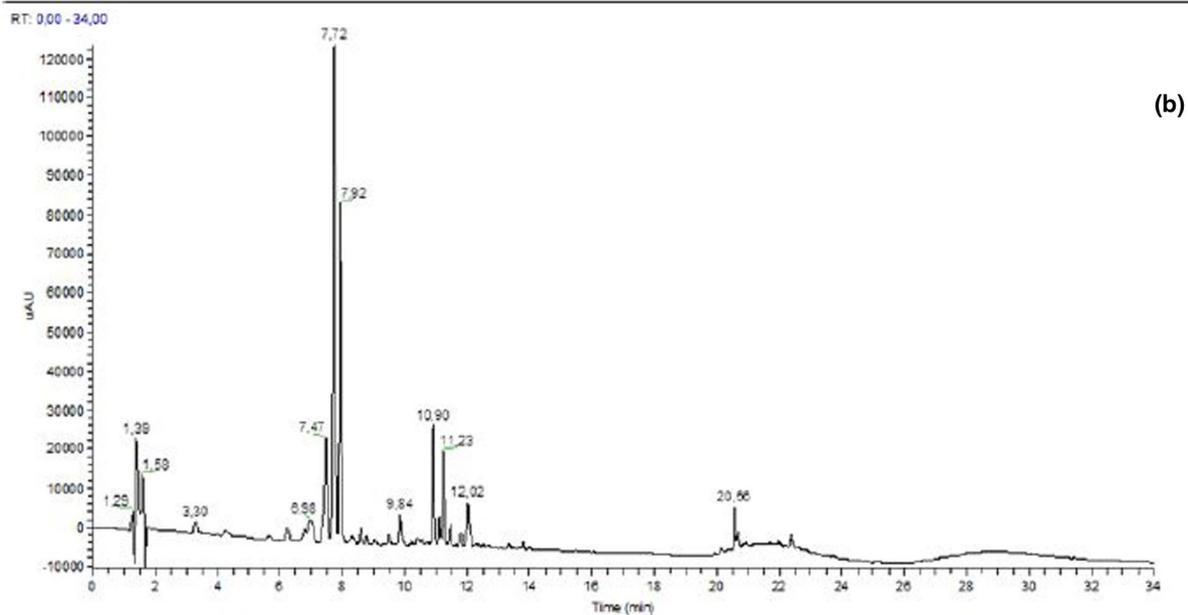
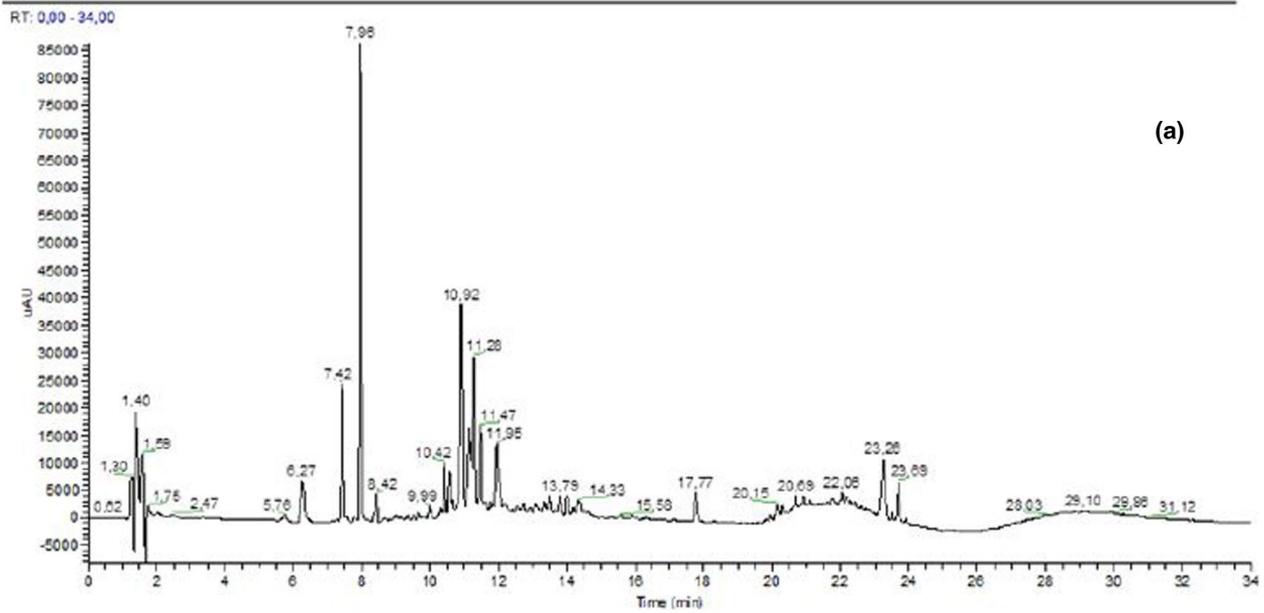


FIGURE 1 Ultra-high-performance liquid chromatography coupled to photodiode-array detection and electrospray ionization/ion trap mass spectrometry (UHPLC-DAD-ESI-MS) chromatogram of *Sesbania bispinosa* extract; (a) aerial part; (b) seeds, and classes of the compounds identified by UHPLC-MS and their significance in *S. bispinosa*

4, 23, 57, 317, and 84 g/kg per day of Ca, K, Na, Zn, and Fe, respectively. Compared to the National Research Council (NRC) required values, which are 0.5, 0.7, 0.1, 27, and 45 g/kg per day of Ca, K, Na, Zn, and Fe, respectively (Underwood, 1999), *S. bispinosa* is an appropriate plant for adult ruminants forage requirements; also, this plant is a good source of essential elements.

3.2 | HPLC-DAD-ESI-MS/MS analysis

The comparative study of the polar fractions using UHPLC-DAD-ESI-MS/MS allowed us to establish the *S. bispinosa* aerial part and seeds' profiles. It is evident from the chromatogram (Figure 1) that seeds extract is less rich in compounds than the aerial part. Table 2 details the data of the identified compounds in both extracts and their percentage in the extract.

A careful analysis of the results shows that aerial part extract comprises one compound, the peak at 7.96 min (Figure 1a), which was identified as a glycosylated sterol (Table 2). It is known that *Sesbania* species produce phytosterols, such as stigmasterol and β -sitosterol (Afrin et al., 2019; Bunma & Balslev, 2019; Hossain & Becker, 2001;

Miralles et al., 1992); moreover, it is also known that glycosylated sterols are somehow associated with mechanisms of protection against stress conditions (Ferrer et al., 2017; Schaller, 2003). Our results showed a pseudomolecular ion ($[M-H]^-$) at m/z 945, and the MS^2 fragments consistent with a ginsenoside core (Cui et al., 2000); however, these types of phytosterols are not commonly found in the *Sesbania* genus. Furthermore, in our results is detected the ion fragment at m/z 927, which corresponds to a loss of water ($[M-H-18]^-$) and was not reported in the literature (Cui et al., 2000). Although we inject several standards aiming to unequivocally identify these phytosterols, we can propose that they are dammarane-type saponins, known to be involved in the biosynthesis of other phytosterols (Meunier-Christmann et al., 1991).

The seeds extract comprises two peaks, at 7.72 and 7.92 min (Figure 1b), identified as caffeoylshikmic acid and taxifolin glucoside, respectively (Table 2). In both cases, the fragment pattern is analogous to previously reported data (Faustino et al., 2018; Simões et al., 2020), allowing their unequivocal identification.

The aerial part extract of *S. bispinosa* revealed to be very rich in saponin derivatives; besides the above mentioned glycosylated sterol derivative, three more were found, at 10.42, 11.28, and 11.47 min,

TABLE 2 Retention time (Rt) in min, absorption in the UV (λ) in nm, pseudomolecular ($[M-H]^-$) and MS^2 fragment ions in m/z , identification and area percentage of the compounds detected in *S. bispinosa* aerial part (Ap) and in seeds (S)

Rt	λ	$[M-H]^-$	MS^2	Compound	Ap	S
1.6	206, 281sh	387 ^a	341, 109	Caffeoylglucose derivative ^c	7.51	1.08
6.3	218, 272	137	121, 93	<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid ^b	3.50	-
7.4	285, 324, 368, 520	464	374, 344, 302, 285	Delphinidin 3- <i>O</i> -glucoside	6.98	10.74
7.7	207, 279, 350	335	317, 291, 173, 135	Caffeoylshikmic acid ^c	-	35.52
7.9	225, 294, 335	465	447, 375, 345, 303, 285	Taxifolin-3- <i>O</i> -glucoside ^c	-	29.64
8.0	224, 265, 325	945	927, 783, 621, 475	Glycosylated sterol	25.30	-
8.4	225, 294, 334	465	447, 375, 345, 313, 303	Taxifolin-4- <i>O</i> -glucoside ^c	1.57	-
10.4	220, 267, 324	1,107	1,089, 975, 945, 621, 459	Glycosylated sterol	3.65	-
10.6	243, 267, 331	755	443	Quercetin-3-(2 ^G -rhamnosylrutinoside) ^b	2.46	-
10.9	234, 267, 315	1,091	939, 787, 635, 483, 331, 179	Hexagalloyl glucoside	14.21	8.12
11.1	242, 265, 344	739	285	Kaempferol-3- <i>O</i> -rutinoside derivative ^c	6.58	1.20
11.3	240, 267, 324	1,077	945, 621, 459	Glycosylated sterol	8.81	7.22
11.5	242, 266, 333	1,077	945, 621, 459	Glycosylated sterol	5.11	-
11.9	241, 267, 317	1,047	927, 901, 885, 739	Saponin derivative	4.25	0.42
12.0	238, 273, 368	593	447, 285, 147	Kaempferol-3- <i>O</i> -(6- <i>p</i> -coumaroyl)-glycoside ^b	-	2.80
17.8	245, 272, 313	854 ^a	809, 647, 531, 515	Phytolaccagenin acid derivative	1.68	-
20.6	244, 272, 310	663 ^a	617, 541, 439	Prosaikogenin derivative	-	3.26
23.3	269, 365sh, 410	837	647, 395, 165	Phenolic acid derivative	5.16	-
23.7	270, 408, 664	870	591	Pheophytin <i>a</i>	1.55	-

^asolvent adduct ion $[M-H+HCO_2H]^-$.

^bCompounds identified by comparison with pure standards.

^cCompounds identified by comparison with pure aglycone.

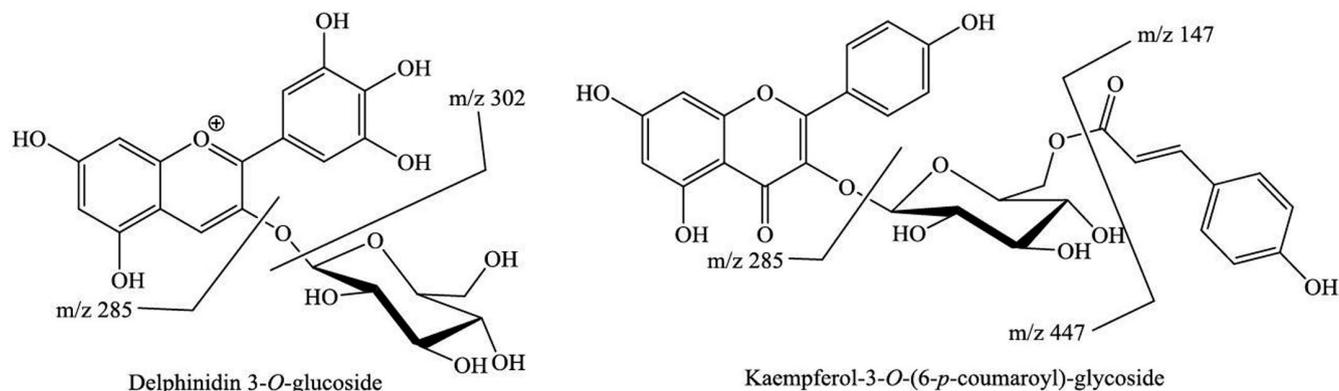


FIGURE 2 Chemical structure of some of the identified flavonoids and some of the most significant fragment ions observed

are from the same type, and again their main MS² fragments are analogs to the ones reported in the literature (Cui et al., 2000). Other saponin derivatives were also identified, from which a phytolaccagenin acid derivative at 17.77 min can be highlighted (Salari et al., 2017). Altogether, the saponin derivatives correspond to 49% of the total aerial part compounds. Clearly, the seeds are less abundant in compounds from this family (Figure 1).

On the other hand, we notice the presence of the few carboxylic acids derivatives (Benayad et al., 2014; Bianco et al., 2003), which, in fact, represent 16% of the total extract, being the caffeoylglucose derivative (Rahmouni et al., 2018) at 1.59 min and with [M-H]⁻ *m/z* 387 the more significant one (Table 2). Finally, the aerial part extract presents around 19% of flavonoids (Figure 1), an important family of secondary metabolites usually associated with several medicinal properties. The representative compounds of this family are taxifolin, quercetin, kaempferol, and delphinidin glycosides. All of them were previously reported, and our data are similar to the one found in the literature (Faustino et al., 2018; Francisco et al., 2009; Rahmouni et al., 2018), which allowed their identification (Table 2). It can be highlighted that in our opinion, the taxifolin glucoside present in the aerial parts is the 3-O-glucoside, whereas in seeds is the 4-O-glucoside. This can be inferred due to the MS² fragment at *m/z* 313 corresponding ^{1,4}B fragment, for which the mass includes a glucose unit. Another interesting flavonoid derivative is the kaempferol-3-O-(6-*p*-coumaroyl)-glycoside, for which the common MS² fragments were observed (Figure 2). In the case of delphinidin 3-O-glucoside, the pseudomolecular ion [M-H]⁻ (*m/z* 464) is detected, as well as the expected fragment ion at *m/z* 302 due to the loss of the glucose unit ([M-H-glucose]⁻) (Strugała et al., 2016) and the fragment ion at *m/z* 285 due to the loss of the O-glucose unit ([M-H-O-glucose]⁻). Other typical glucose fragmentation, such as [M-H-C₃H₆O₃]⁻ (*m/z* 374) and [M-H-C₄H₈O₄]⁻ (*m/z* 344), were also observed (Simões et al., 2020).

Concerning the seeds extract, it is evident that the predominant families are carboxylic acids (~37%) and flavonoids (~44%), for which the two compounds above mention are the major contributors (Figure 1). A few other flavonoids and saponins were also found, from which the prosaikogenin derivative and delphinidin

3-O-glucoside can be highlighted (Table 2). The MS² fragments of the peak at 20.56 min are consistent with a prosaikogenin glucoside with a pseudomolecular ion [M-H]⁻ at *m/z* 617, which is detected as an adduct with the formic acid present in the elution system ([M-H+HCO₂H]⁻ *m/z* 663). The MS² fragments present the pseudomolecular ion (*m/z* 617) and common fragments of these compounds, which allowed identification (Lei et al., 2016).

Finally, we would like to call attention to the peak at 10.9 min that appears in both extracts and was assigned to hexagalloyl glucoside, pseudomolecular ion [M-H]⁻ (*m/z* 1091), which is consistent with six galloyl units and presents typical fragmentation with a sequential galloyl unit break (Regazzoni et al., 2013). Although hexagalloyl glucoside is just one example of this type of compounds, their occurrence in the plant is interesting because polygalloylglucosides have been associated with several biological activities (Zhang et al., 2009).

3.3 | GC-MS analysis

The comparative study of the aerial part and seeds extracts by GC-MS demonstrates a few differences (Figure 3), although it should be highlighted that in the seeds extract chromatogram (Figure 3b) in the first minutes appears several compounds that are due to the reagents used in the silylation.

In the aerial part, extracts were identified 26 compounds, from which pinitol and turanose were the major ones, respectively ~27% and 29% (Table 3). In the seeds extract, 18 compounds were disclosed, from which sucrose and turanose were the major ones, respectively ~34% and 15% (Table 3). All the compounds presented in Table 3 were identified by comparing with GC-MS spectral libraries NIST14.lib and WILEY229.LIB, with spectra found in literature and interpretation of the MS spectrum fragmentation pattern. In some cases, pure silylated standards and calculated retention index were used to unequivocally identify the compounds.

In detail, it is clear that *S. bispinosa* aerial part is extremely rich in alcohols, from which pinitol and sorbitol can be highlighted since their occurrence is associated to an adaptive response to water drought and soil salinity (Chaubal et al., 2005; Gutiérrez &

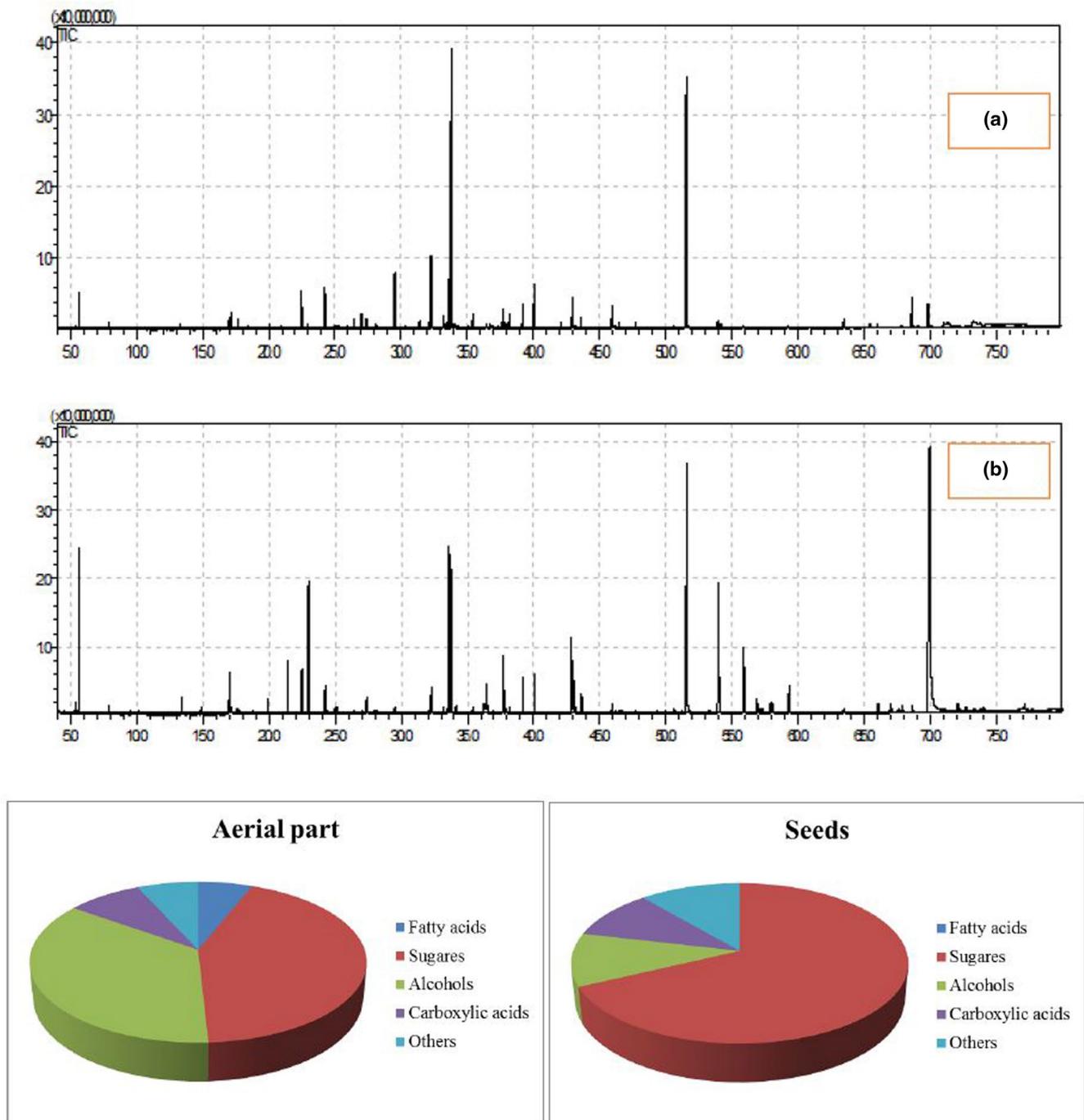


FIGURE 3 Total ion chromatogram (TIC) of aerial part (a), seeds (b) samples, and classes of the compounds identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and their significance in *Sesbania bispinosa*

Gaudillere, 1996; Orwa et al., 2009). The pinitol content confirms that *S. bispinosa* can be used to treat diabetes because it is known that this natural compound is used in medicine combined with insulin (Chaubal et al., 2005).

The sugars are also found in a high percentage; naturally, turanose is the one that contributes more, but several others were also found. In fact, this compound accumulation is also associated with the plant response to environmental stress (Faustino et al., 2020).

The seeds GC/MS profile (Figure 3b) was characterized by sucrose's dominating presence with 33.60% of the total seeds extract

then the turanose with 15.13% (Table 3). The alcohol's family is not as dominant as in the aerial part (Figure 3a), but pinitol is present in significant content (~6%). Another noticed difference is the percentage of carboxylic acids, both small and fatty ones, which are higher in seeds, being citric acid, the more representative one, with 8.31% (Table 3). It is important to focus that these compounds' presence is also associated with the plant response to the soil salinity (Faustino et al., 2020).

Several other less representative but important compounds were disclosed, particularly palmitic, linoleic, oleic, and stearic acids, which occur both in aerial part and seeds in a significant percentage

TABLE 3 Compounds identified in *Sesbania bispinosa* aerial part and seeds extract by GC-MS

Rt (min) ^a	Compound	Aerial part (%)	Seeds (%)
17.13	Glycerol ^A	1.06	-
17.73	Proline ^A	0.68	-
21.42	3-(5-Amino-1,3,4-thiadiazol-2-yl)propionic acid ^c	-	1.91
22.99	Homoserine ^{b,B}	-	5.73
24.25	Malic acid ^A	2.81	1.02
26.46	Threonic acid ^A	0.53	-
27.00	Xylose ^A	1.04	-
27.38	Asparagine ^{b,A}	4.30	-
31.46	Sorbitol ^A	0.62	-
32.27	Ribose ^A	5.37	0.92
33.19	Fructose ^A	0.87	-
33.61	Citric acid ^A	3.80	8.31
33.80	Pinitol ^A	26.53	6.45
35.95	Mannose ^{d,A}	1.39	0.97
37.69	Talose ^B	1.49	-
37.72	Serine ^{b,A}	-	2.75
38.20	Galactaric acid ^A	1.19	-
39.20	Palmitic Acid ^A	1.77	1.56
40.07	Myo-Inositol ^A	3.56	1.69
42.87	Linoleic acid ^A	0.88	3.81
43.01	Oleic acid ^A	2.57	1.55
43.64	Stearic acid ^A	0.80	0.73
45.96	Oleoamide ^A	1.82	-
51.56	Turanose	29.11	15.13
53.97	Lactose ^A	0.86	7.99
55.88	Cellobiose ^A	tr	4.08
59.32	Galactinol ^A	tr	1.77
68.64	1-Triacontanol ^B	3.78	-
69.89	Sucrose ^A	3.17	33.60

Abbreviation: GC-MS, gas chromatography-mass spectrometry.

^aAverage of the retention time obtained in both samples.

^bThese aminoacids were detected in two different silylated forms [just O-Si(CH₃)₃ or both O- and N-Si(CH₃)₃].

^cProbably is not a natural compound.

^dIt was detected in both pyranose and furanose forms.

^AIdentified with standards.

^BIdentified by retention index [calculated for silylated homoserine (RI = 1,420) and for silylated 1-triacontanol (RI = 3,284)].

(Table 3). These secondary metabolites are associated with a decrease in cancer and cardiovascular development (Chen et al., 2013). They are considered potential therapeutic agents for neurological disorders due to their potential antioxidant and anti-inflammatory activities (Lei et al., 2016). Therefore, their occurrence in *S. bispinosa* points out the species medicinal value.

Finally, it is worth mentioning that amino acids, such as proline, homoserine, asparagine, and serine, were also found in *S. bispinosa* extracts. Homoserine is the only one that is not essential but is used in the biosynthesis of other essential ones, such as methionine, threonine, and isoleucine. These findings also corroborate the *S. bispinosa* potential use in the production as smart foods.

3.4 | DPPH radical-scavenging assay

To our knowledge, no studies have so far been reported on the antioxidant activity of *S. bispinosa*, so a DPPH test to establish the plant antioxidant potential was done. The obtained results showed that *S. bispinosa* aerial part extract IC₅₀ is 59.7 ± 0.104 µg/ml, similar to the BHA value (IC₅₀ = 66.5 ± 0.662 µg/ml) and much lower than the BHT value (IC₅₀ 163.8 ± 0.07 µg/ml). These results show that the extract is significantly more active than the used standards, suggesting that *S. bispinosa* may have good antioxidant activity.

Through a bibliographic survey, it is possible to establish a correlation between lower IC₅₀ values and high content of polyphenols,

such as flavonoids (Athamena et al., 2010). So it can be associated with the antioxidant activity of *S. bispinosa* aerial part extract to its richness in polyphenolic compounds (Table 2), from which quercetin and kaempferol derivatives can be highlighted. This result validates not only some properties and medicinal uses attributed to the plant but also incentive its use to obtain biologically active compounds.

4 | CONCLUSION

This work marks the first extensive study of the phytochemical and mineral components from Algerian *S. bispinosa*. The results obtained could help us to explain the past usage of *S. bispinosa* as a medicinal plant and as a fodder plant for its richness in pinitol and essential elements (Ca, Mg, Na, P). The GC-MS analysis proved to be a convenient and effective method for the identification of the lipophilic constituents of *S. bispinosa*. It shows that the aerial part and the seeds are rich in sugars (43% and 63%), respectively. Moreover, the aerial part is particularly rich in alcohols (36%).

A qualitative analysis by UHPLC-DAD-ESI-MS/MS revealed the presence of several phenolic compounds. The aerial part extract is rich in saponin and carboxylic acids with percentage (57.96%) and (21.77%), respectively, while the seeds are rich in carboxylic acids and flavonoids with (43.94%), (43.81%), respectively. Finally, the results of the plant's antiradical activity analysis using the DPPH method have shown the presence of antioxidant properties, which can be explained by the presence of several flavonoids.

ACKNOWLEDGMENTS

Thanks are due to the University of Aveiro and FCT/MCT for the financial support of the LAQV-REQUIMTE (UIDB/50006/2020) through national funds and, where applicable, co-financed by the FEDER, within the PT2020 Partnership Agreement, the Environment Department, School of Agriculture University of Lisbon (ISA) (Instituto Superior de Agronomia), and the Department of Agriculture, Laboratory DEDSPAZA, University Mohamed Khider, Biskra.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceptualization; Formal analysis; Investigation; Resources: Imane Larkem. *Formal analysis; Investigation:* Tarai NACER. *Project administration; Resources; Supervision; Validation:* Naima Benchikha. *Formal analysis; Investigation; Resources:* Mohammed Messaoudi. *Investigation; Validation:* Samir Begaa. *Formal analysis; Investigation:* Miguel Martins. *Formal analysis; Investigation; Software:* Artur M. S. Silva. *Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Investigation; Project administration:* Diana C. G. A. Pinto.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author, [S. Begaa], upon reasonable request.

ORCID

Imene Larkem  <https://orcid.org/0000-0002-4336-685X>
Nacer Tarai  <https://orcid.org/0000-0002-3321-7869>
Naima Benchikha  <https://orcid.org/0000-0001-5957-0751>
Mohammed Messaoudi  <https://orcid.org/0000-0002-3536-6358>
Samir Begaa  <https://orcid.org/0000-0003-1841-2153>
Artur M. S. Silva  <https://orcid.org/0000-0003-2861-8286>
Diana C. G. A. Pinto  <https://orcid.org/0000-0003-4249-7089>

REFERENCES

- Afrin, S., Sohrab, M., & Ahmed, M. (2019). Terpenoids and steroids from the stem bark of *Sesbania grandiflora* and biological studies of the plant extracts. *Pharmacy & Pharmacology International Journal*, 7(6), 307–313.
- Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., & Khebri, S. (2010). Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal*, 11(1), 69–81.
- Begaa, S., & Messaoudi, M. (2018). Thermal neutron activation analysis of some toxic and trace chemical element contents in *Mentha pulegium* L. *Radiochimica Acta*, 106(9), 769–774. <https://doi.org/10.1515/ract-2018-2942>
- Begaa, S., & Messaoudi, M. (2019). Toxicological aspect of some selected medicinal plant samples collected from Djelfa, Algeria Region. *Biological Trace Element Research*, 187(1), 301–306. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1365-3>
- Begaa, S., Messaoudi, M., & Benarfa, A. (2020). Statistical approach and neutron activation analysis for determining essential and toxic elements in two kinds of Algerian Artemisia plant. *Biological Trace Element Research*, 1–7. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02358-7>
- Benayad, Z., Gómez-Cordovés, C., & Es-Safi, N. E. (2014). Characterization of flavonoid glycosides from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) crude seeds by HPLC–DAD–ESI/MS analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11), 20668–20685. <https://doi.org/10.3390/ijms151120668>
- Bianco, A., Buiarelli, F., Carloni, G., Coccioli, F., Jasionowska, R., & Margherita, P. (2003). Analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry of biophenolic compounds in olives and vegetation waters, Part I. *Journal of Separation Science*, 26(5), 409–416. <https://doi.org/10.1002/jssc.200390053>
- Bunma, S., & Balslev, H. (2019). A review of the economic botany of *Sesbania* (Leguminosae). *The Botanical Review*, 85(3), 185–251. <https://doi.org/10.1007/s12229-019-09205-y>
- Chaubal, R., Pawar, P. V., Hebbalkar, G. D., Tungikar, V. B., Puranik, V. G., Deshpande, V. H., & Deshpande, N. R. (2005). Larvicidal activity of *Acacia nilotica* extracts and isolation of D-Pinitol—a bioactive carbohydrate. *Chemistry & Biodiversity*, 2(5), 684–688. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200590044>
- Chen, B., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2013). Design of foods with bioactive lipids for improved health. *Annual Review of Food Science and Technology*, 4, 35–56. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032112-135808>
- Chotechaungmanirat, S. (2010). Potential of three tropical legumes for rotation of corn-based cropping system in Thailand. *Kasetsart Journal*, 44, 1004–1009.
- Codex, F. (1995). Alimentarius, general requirements (food hygiene). FAO.
- Cui, M., Song, F., Zhou, Y., Liu, Z., & Liu, S. (2000). Rapid identification of saponins in plant extracts by electrospray ionization multi-stage tandem mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 14(14), 1280–1286. [https://doi.org/10.1002/1097-0231\(20000730\)14:14<1280:AID-RCM26>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/1097-0231(20000730)14:14<1280:AID-RCM26>3.0.CO;2-C)

- Duke, J. A. (Ed.). (1981). Legume species. In *Handbook of legumes of world economic importance* (pp. 5–310). Springer.
- Faustino, M. V., Faustino, A., Silva, H., Silva, A., & Pinto, D. (2020). Lipophilic metabolites of *Spartina maritima* and *Puccinellia maritima* involved in their tolerance to salty environments. *Chemistry & Biodiversity*, 17(10), e2000316.
- Faustino, M. V., Pinto, D. C., Gonçalves, M. J., Salgueiro, L., Silveira, P., & Silva, A. M. (2018). *Calendula L.* species polyphenolic profile and in vitro antifungal activity. *Journal of Functional Foods*, 45, 254–267. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.04.013>
- Ferrer, A., Altabella, T., Arró, M., & Boronat, A. (2017). Emerging roles for conjugated sterols in plants. *Progress in Lipid Research*, 67, 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2017.06.002>
- Festa, R. A., & Thiele, D. J. (2011). Copper: An essential metal in biology. *Current Biology*, 21(21), R877–R883. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.09.040>
- Francisco, M., Moreno, D. A., Cartea, M. E., Ferreres, F., García-Viguera, C., & Velasco, P. (2009). Simultaneous identification of glucosinolates and phenolic compounds in a representative collection of vegetable *Brassica rapa*. *Journal of Chromatography A*, 1216(38), 6611–6619. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.07.055>
- Frossard, E., Bucher, M., Mächler, F., Mozafar, A., & Hurrell, R. (2000). Potential for increasing the content and bioavailability of Fe, Zn and Ca in plants for human nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 861–879. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7<861:AID-JSFA601>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<861:AID-JSFA601>3.0.CO;2-P)
- Garg, A., Kumar, A., Nair, A., & Reddy, A. (2007). Analysis of some Indian medicinal herbs by INAA. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 271(3), 611–619. <https://doi.org/10.1007/s10967-007-0316-9>
- Gómez-Caravaca, A., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(4), 1220–1234. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.03.002>
- Gutiérrez, A. E., & Gaudillere, J. (1996). Distribution, métabolisme et rôle du sorbitol chez les plantes supérieures. *Synthèse*, 5(16), 281–298.
- Hossain, M., & Becker, K. (2001). Nutritive value and antinutritional factors in different varieties of *Sesbania* seeds and their morphological fractions. *Food Chemistry*, 73(4), 421–431. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00317-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00317-4)
- Hossain, M., Focken, U., & Becker, K. (2001). Evaluation of an unconventional legume seed, *Sesbania aculeata*, as a dietary protein source for common carp, *Cyprinus Carpio L.* *Aquaculture*, 198(1–2), 129–140. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00574-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00574-3)
- Jamshidi-Kia, F., Lorigooini, Z., & Amini-Khoei, H. (2018). Medicinal plants: Past history and future perspective. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 7(1), 1–7. <https://doi.org/10.15171/jhp.2018.01>
- Khan, A., Ghorai, A., & Singh, S. (2000). Improvement of crop and soil sustainability through green manuring in a rainfed lowland rice ecosystem. *Agrochimica*, 44(1/2), 21–29.
- Khan, Z. I., Ashraf, M., & Hussain, A. (2007). Evaluation of macro mineral contents of forages: Influence of pasture and seasonal variation. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 20(6), 908–913. <https://doi.org/10.5713/ajas.2007.908>
- Lanham-New, S. A., Hill, T. R., Gallagher, A. M., & Vorster, H. H. (2019). *Introduction to human nutrition*. John Wiley & Sons.
- Larkem, I., Benchikha, N., Domandji, S., & Domandji, M. (2017). Inventory of arthropods on *Sesbania aculeata* in the Algerian Sahara and quantification of phenolic compounds by HPLC. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 9(3), 1569–1584.
- Lei, E., Vacy, K., & Boon, W. C. (2016). Fatty acids and their therapeutic potential in neurological disorders. *Neurochemistry International*, 95, 75–84. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.02.014>
- Messaoudi, M., & Begaa, S. (2018). Application of INAA technique for analysis of essential trace and toxic elements in medicinal seeds of *Carum carvi L.* & *Foeniculum vul-gare Mill.* used in Algeria. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 9, 39–45.
- Meunier-Christmann, C., Albrecht, P., Brassell, S., Ten Haven, H., Van Der Linden, B., Rullkötter, J., & Trendel, J. (1991). Occurrence of dammar-13 (17)-enes in sediments: Indications for a yet unrecognized microbial constituent? *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 55(11), 3475–3483. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(91\)90509-4](https://doi.org/10.1016/0016-7037(91)90509-4)
- Miralles, J., Sy, M. O., Spencer-Barreto, M. M., Diallo, N., Gaydou, E.-M., & Ba, A. T. (1992). Fatty acids and sterols from *Sesbania rostrata*. *Phytochemistry*, 31(3), 855–858. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)80028-D](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)80028-D)
- Muanda, F. (2011). Phytochemical composition and antioxidant capacity of three malian medicinal plant parts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. <https://doi.org/10.1093/ecam/nep109>
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Simons, A. (2009). Agroforestry database: A tree reference and selection guide. Version 4. *Agroforestry Database: A Tree Reference and Selection Guide. Version 4*.
- Prentice, A. (2004). Diet, nutrition and the prevention of osteoporosis. *Public Health Nutrition*, 7(1a), 227–243. <https://doi.org/10.1079/PHN2003590>
- Pugalenti, M., Vadivel, V., Gurumoorthi, P., & Janardhanan, K. (2004). Comparative nutritional evaluation of little known legumes, *Tamarindus indica*, *Erythrina indica* and *Sesbania bispinosa*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 4(3), 107–123.
- Rahmouni, N., Pinto, D. C., Beghidja, N., Benayache, S., & Silva, A. (2018). *Scabiosa stellata L.* phenolic content clarifies its antioxidant activity. *Molecules*, 23(6), 1285.
- Regazzoni, L., Arlandini, E., Garzon, D., Santagati, N. A., Beretta, G., & Facino, R. M. (2013). A rapid profiling of gallotannins and flavonoids of the aqueous extract of *Rhus coriaria L.* by flow injection analysis with high-resolution mass spectrometry assisted with database searching. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 72, 202–207.
- Rinaudo, G., Dreyfus, B., & Dommergues, Y. (1983). *Sesbania rostrata* green manure and the nitrogen content of rice crop and soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 15(1), 111–113. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(83\)90127-X](https://doi.org/10.1016/0038-0717(83)90127-X)
- Sahu, B., Panda, S., & Panda, N. (1988). Yield, chemical composition and nutritive value of Banicha (*Sesbania aculeata*) fodder for goats. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 5(1), 61–63.
- Saleri, F. D., Chen, G., Li, X., & Guo, M. (2017). Comparative analysis of saponins from different Phytolaccaceae species and their antiproliferative activities. *Molecules*, 22(7), 1077. <https://doi.org/10.3390/molecules22071077>
- Sarker, M., Sutradhar, S., Sarwar, A. G., Uddin, M. N., Chanda, S. C., & Jahan, M. S. (2017). Variation of chemical characteristics and pulpability of dhaincha (*Sesbania bispinosa*) on location. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 2(1), 24–29.
- Satnami, D., & Yadava, R. (2012). Natural antioxidant (flavone glycoside) from *Sesbania aculeata pers.* and its potential activity. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(8), 2819.
- Schaller, H. (2003). The role of sterols in plant growth and development. *Progress in Lipid Research*, 42(3), 163–175. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(02\)00047-4](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(02)00047-4)
- Simões, M. A. M., Pinto, D. C. G. A., Neves, B. M. R., & Silva, A. M. S. (2020). Flavonoid profile of the *Genista tridentata L.*, a species used traditionally to treat inflammatory processes. *Molecules*, 25(4), 812.
- Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., & Sameenoi, Y. (2018). Based DPPH assay for antioxidant activity analysis. *Analytical Sciences*, 34(7), 795–800.
- Strugała, P., Gładkowski, W., Kucharska, A. Z., Sokół-Łętowska, A., & Gabrielska, J. (2016). Antioxidant activity and anti-inflammatory effect of fruit extracts from blackcurrant, chokeberry, hawthorn, and

- rosehip, and their mixture with linseed oil on a model lipid membrane. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118, 461–474.
- Swami, C., Saini, S., & Gupta, V. (2012). A study on green dyeing of cotton with ethanolic extract of *Sesbania aculeata*. *Universal Journal of Environmental Research & Technology*, 2(2), 38–47.
- Underwood, E. J. (1999). *The mineral nutrition of livestock*. Cabi.
- Zhang, J., Li, L., Kim, S.-H., Hagerman, A. E., & Lü, J. (2009). Anti-cancer, anti-diabetic and other pharmacologic and biological activities of penta-galloyl-glucose. *Pharmaceutical Research*, 26(9), 2066–2080. <https://doi.org/10.1007/s11095-009-9932-0>

How to cite this article: Larkem I, Tarai N, Benchikha N, et al. Chemical profile and antioxidant activity of *Sesbania bispinosa* (Jacq.) W. Wight aerial parts and seeds extracts. *J Food Process Preserv*. 2021;00:e15468. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15468>

Résumés

Résumé

Résumé

Sesbania bispinosa (Jacq.) W. Wight est une plante médicinale utilisée par les guérisseurs traditionnels d'Inde, qui a été introduite dans le sud algérien où sa composition chimique reste néanmoins à découvrir. Ce travail vise à établir le profil chimique de cette importante plante médicinale et à déterminer les effets antioxydants des différents extraits (butanol, méthanol, acétate d'éthyle, chloroforme, eau) de la partie aérienne et des graines, moyennant les tests DPPH, ABTS, GOR, phénantroline, CUPRAC, béta-carotène et pouvoir réducteur, ou le meilleur résultat est enregistré sur les extraits butanolique, acétate d'éthyle et chloroformique de la partie aérienne. Le profil chromatographique (UHPLC– DAD– ESI- MS/MS et GC-MS) a prouvé la présence des composés phénoliques, des sucres, et des alcools responsables des activités étudiées. A partir de L'analyse (ICP-OES), nous avons pu quantifier et identifier 13 éléments minéraux. Une autre étude biologique a été effectuée afin de déterminer les activités antidiabétique, anticholinestérase et anti-inflammatoire, des résultats intéressants ont été obtenus. Les différents extraits de la plante, présentent un effet nématocide très important contre *Meloidogyne.spp.*

Mots clés : *Sesbania bispinosa*, effets antioxydants, activité antidiabétique, anticholinestérase, anti-inflammatoire, UHPLC– DAD– ESI- MS/MS, GC-MS, ICP-OES, éléments minéraux, effet nématocide, *Meloidogyne.spp.*

Abstract

Sesbania bispinosa (Jacq.) W. Wight is a medicinal plant used by traditional healers in India, and now introduced in southern Algeria, for which the chemical composition still needs to be uncovered. This work aims to establish the chemical profile of this important medicinal plant, and to determine the antioxidant effects of the different extracts (butanol, methanol, ethyl acetate, chloroform, water) of the aerial part and seeds by means of DPPH, ABTS tests, GOR, phenanthroline, CUPRAC, beta-carotene and reducing power. The best result is recorded on the butanolic, ethyl acetate and chloroform extracts of the aerial part. The chromatographic profile (LC-MS and GC-MS) proved the presence of phenolic compounds, sugars, and alcohols responsible for the studied activities. From the analysis (ICP-OES), we were able to quantify and identify 13 mineral elements. Another biological study was carried out to determine the antidiabetic, anticholinesterase and anti-inflammatory activity, and interesting results have been obtained. The different extracts of the plant, exhibit a very important nematocidal effect against *Meloidogyne.ssp.*

Résumé

Key words : *Sesbania bispinosa*, antioxidant effects, antidiabetic, anticholinesterase, anti-inflammatory, UHPLC– DAD– ESI- MS/MS, GC-MS, ICP-OES, mineral elements, nematicidal effect, *Meloidogyne.spp*.

ملخص

نبته سيسبان ثنائي الأشواك (الاسم العلمي: *Sesbania bispinosa* (Jacq.) W. Wight) هو نوع من النباتات الطبية يستخدمه المعالجون التقليديون في الهند، مؤخرا تم إدخاله إلى جنوب الجزائر ببسكرة. حديثا يتعين اكتشاف تركيبته الكيميائية ومحتواه للعناصر المعدنية وكذا دراسة فعاليته البيولوجية. هذا العمل يهدف إلى تحديد الملامح الكيميائية لهذا النبات الطبي المهم وتحديد التأثيرات المضادة للأوكسدة للمستخلصات الخامة المختلفة المتحصل عليها بواسطة: (البيوتانول، الميثانول، خلات الإيثيل و الكلوروفورم والماء) للجزء الهوائي والبذور على التوالي، بواسطة الطرق الاختبار التالية: اختبار DPPH و ABTS و GOR و phenanthroline و CUPRAC و Beta-carotene و RP، حيث تم تسجيل أفضل نتيجة على مستخلصات البيوتانول و خلات الإيثيل و الكلوروفورم من الجزء الجوي. يثبت التحليل الكروماتوغرافي (LC-MS and GC-MS) على وجود المركبات الفينولية والسكريات والكحول المسؤولة عن هذه الأنشطة. أيضا تمكنا من تحديد 13 عنصرا معدنياً بواسطة تقنية (ICP-OES)، كذلك تم إجراء دراسة بيولوجية أخرى لتحديد النشاط المضاد لمرض السكر، ومضادات الكولينستراز والمضادة للالتهابات، وقد اظهرت نتائج مثيرة للاهتمام. ومن النتائج التجريبية المتحصل عليها في هذه الدراسة على للمستخلصات الخامة مختلفة من النبات، بينت تأثيراً مبيداً للنيماتودا. *Meloidogyne.spp*

الكلمات المفتاحية: مضادات الأوكسدة، الكولينستراز، مضاد التهاب، تأثير مبيدالنيماتودا، العناصر المعدنية،

Meloidogyne.spp ، *Sesbania bispinosa* ,UHPLC– DAD– ESI-MS/MS, GC-MS, ICP-OES