



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية العلوم الطبيعية و الحياة

Département d'Écologie et la physiologie végétale

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : *Biologie et physiologie de la reproduction*

Intitulé :

Synthèse des travaux phytochimiques et activités biologiques de l'espèce *Pisum sativum L.*

Présenté et soutenu par :

Le : 15-10-2020

✓ HAMDY Mahdi

Jury d'évaluation :

Président du jury : Pr. LABBANI Zelikha

Professeur. UFM Constantine 1

Rapporteur : Dr. HAMMOUDA Dounia

MCA UFM Constantine 1

Examineur : Dr. KARA Karima

MCA UFM Constantine 1

Année universitaire

2019– 2020

Dédicace

Mes remerciements vont tout d'abord au bon dieu pour la volonté et la patience qu'il m'a donné durant ces longues années d'étude afin que je puisse arriver à ce stade

Du fond de mon cœur, je dédie ce présent travail :

*A celle qui est sacrifiée pour mon éducation, qui est ma source de tendresse de don et de confiance qui attendu ma réussite ma chère mère : **NASSIMA** qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance avec mes vœux de bonne santé et de longue vie*

*A ma chère femme : **SELMA***

*A mon cher père : **AHMED***

*A ma sœur : **HANANE***

*A mes frères : **YACINE . ADEL . KHALED***

*A mes collègues : **MAHROUK ABD EL KADAR, ABDOU***

*Je ne peux conclure ce mémoire sans montré ma sincère gratitude et mes grands remerciements à mon encadreur DR : **HAMOUDA DONIA** pour son dévouement exemplaire et ses conseils constructifs, pour leurs modestie, leur générosité et leur encouragement*

MEHDI

Remerciement

La réalisation d'un mémoire est la somme d'un travail collectif où l'apport de chacun, bien que d'importance inégale, est toujours indispensable et précieux.

*Bien évidemment, un grand merci au **Dr. HAMMOUDA Dounia**. Je la remercie pour sa gentillesse, sa disponibilité, sa patience pendant des intenses et rationnelles discussions qui m'ont permis de réaliser ce travail dans de bonnes conditions. Pour tout cela et aussi pour son aide, sa confiance et son soutien moral, je la remercie vivement.*

*Je tiens aussi à remercier **Pr. LABBANI Zelikha**. D'avoir accepté de Présider les membres du Jury.*

*Mes remerciements vont également à **Dr. KARA Karima** d'avoir accepté d'évaluer ce travail.*

A Mr Bensusi Cahaouki , Chefs de laboratoire de Biochimie du CRBT, A abd el kader et abdo les ingénieurs de laboratoire de biochimie du CRBT,

Mes remerciements aussi à aichia et hanane doctoran au laboratoire d'Obtention des Substances Thérapeutiques de l'université de Constantine pour son aide opulente, et la grâce qu'ils m'ont firent en mettant au service de mon étude son savoir et sa compétence.

Un remerciement et une gratitude très spéciale au membre de ma famille.

Je voudrais aussi remercier mes collègues de Master pour leur aide, et surtout pour tous les bons moments passés en leur compagnie.

Merci pour tous ceux qui ont participé à la réussite de ce mémoire. J'espère bien que ce modeste travail pourra servir aux générations qui viennent et rajouter quelque chose dans le domaine de la recherche.

MEHDI

Table des matières

❖ Introduction	01
❖ Chapitre I : Synthèse bibliographique sur <i>Pisum sativum</i> L.	
I. La plante hôte : petit pois	05
I .1.1. Morphologie du système racinaire	06
I .1.2. Morphologie de la partie aérienne	07
I .1.3. Diagramme floral	09
I .2. Origine et historique	09
I .3. Etymologie	10
I .4. Taxonomie	11
I .5. Les valeurs nutritionnelles de <i>Pisum Sativum</i> L.	12
I.6. La production de petit pois	13
I .6.1. Production internationale	13
I .6-2. Production en Algérie	15
I .7. Les variétés de petit pois	15
I.8. Les exigences agro écologiques de la plante	17
I .9. Les maladies et les ravageurs de petit pois	18
I .9-1. Les maladies de petit pois	19
I .9.2. Les ravageurs de petit pois	22

❖ Chapitre II : Les Métabolites Secondaires

II.1. Les Composés phénoliques	26
II.2. Les Flavonoïdes et les iso-flavonoïdes	26
II.2.1. Propriétés structurales et classification	27
II.2.2. Les Voies de biosynthèse des flavonoïdes	29
II.2.3. Intérêt biologique des flavonoïdes	31
II.3. Les Composés Terpéniques	31
II.3.1. Généralités	31
II.3.2. Propriétés biologiques des Tri-terpènes	33
II.3.2.1. La Cytotoxicité	33
II.3.2.2. Activité anti-inflammatoire	33
II.4. Les Saponines	33
II.4.1. Propriétés structurales et classification	34
II.4.2. Voie de biosynthèse des Saponines	34
II.4.2.1. Génines Triterpéniques	34
II.4.2.2. Génines Stéroïdiques	35
II.4.2. 3. Les Sucres	36
II.4.2. 4. Les Acides Organiques	36
II.4.3. Propriétés biologiques des saponines	37
II.4.3.1. Activité Hémolytique	37
II.4.3.2. Activités Cytotoxique et Antitumorale	38
II.4.3.3. Activité immunomodulatrice	38
II.5. Autres Activités	38

❖ Chapitre III : Antioxydants et Activités Biologiques

III.1. Généralités	40
III.2. Le stress oxydatif	40
III.2.1. Les espèces réactives de l'oxygène	41
III.2.2. Les cibles biologiques des EOA	42
III.2.2.1. Peroxydation lipidique	42
III.2.2.2. Oxydation des protéines	42
III.2.2.3. Oxydation de l'ADN	43
III.3. Les Antioxydants	43
III.3.1. Les antioxydants enzymatiques	44
III.3.2. Les antioxydants non enzymatiques	44
III.4. Mécanisme d'action des antioxydants	45
III.5. Quelques activités biologiques antioxydants	46
III.5.1. Test du 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH)	46
III.5.2. Teste de l'activité anti-radicalaire pour le radical ABTS ^{•+}	47
III.5.3. Teste de Blanchissement de la Béta-carotène	47
III.5.4. Test de la capacité antioxydant par réduction de cuivre (CUPRAC)	47
II.5.5. Méthode TRAP (<i>Total Radical Trapping Antioxidant Parameter</i>)	48
II. 5.6. Méthode de la RPE	48
II. 5.7. Méthode TRAP (<i>Total Radical Trapping Antioxidant Parameter</i>)	48
II. 5.8. Méthode ORAC (<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>)	49
II. 5.9. Méthode TOSC (<i>Total Oxyradical Scavenging Capacity</i>)	49
II. 5. 10. Méthode du métal chélatant	49

III.6. dosage des flavonoïdes	50
III. 6.1. Les différentes classes de flavonoïdes	50
III.6.2. Propriétés physico-chimiques	51
III. 6.2.1. Solubilité des flavonoïdes	51
III. 6.2.2. Absorptions des rayonnements UV	51
III. 6.2.3. Stabilités des flavonoïdes	53
III. 6.2.4. Effet des flavonoïdes	54
III. 6.3. Biosynthèse des flavonoïdes	55
III. 6.4. Méthodes utilisées pour l'extraction des Flavonoïdes	57

**❖ Chapitre IV : Etude des activités phénoliques et antioxydantes totales
dans le jardin génotypes de pois (*Pisum sativum* L.)**

IV.1. Variations des activités phénoliques et antioxydants totales	59
IV .1.1. Lieu d'étude	59
IV .1.2. Matériel végétal et conception expérimentale	60
IV .1.3. Analyse biochimique	60
IV .1.3.1. Préparation des échantillons	60
IV .1.3.2. Teneur totale en phénoliques (TPC) et teneur totale en flavonoïdes (TFC) estimation	61
IV .1.3.3. Détermination des activités antioxydants	61
IV .1.3.3.1. A. Ferric Réduction du pouvoir antioxydant (FRAP)	61
IV .1.3.3.2. Capacité antioxydante réductrice cuivrique (CUPRAC)	62
IV .1.3.3.3. C. Activité anti radicalaire contre le radical DPPH	62
IV .1.3.3.4. D. Capacité antioxydant équivalent du Trolox (TEAC)	63

IV .1.4. Traits horticoles	63
IV .2. Résultats	63
IV .2.1. Teneur totale en phénoliques et teneur totale en flavonoïdes	63
IV .2.2. Activités antioxydantes	64
IV .2.3. Performance pour les traits horticoles	65
IV .2.4. Études de corrélation	66
IV .2.5. Analyse en composantes principales (ACP) et analyse en grappes	67
❖ Discussion	70
❖ Conclusion	77

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les valeurs nutritionnelles pour 100g du petit pois.

Tableau 02 : principaux pays producteurs de pois frais en 2007.

Tableau 03 : Variétés de petit pois et de pois mange-tout.

Tableau 04 : les maladies de petit pois

Tableau 05 : les ravageurs de petit pois.

Tableau 06 : mécanisme d'action de quelques antioxydants

Tableau 07 : Absorption UV des flavonoïdes dans le méthanol

Tableau 08 : Description détaillée des géotypes de pois de jardin pour les caractères des plantes, des fleurs et des graines.

Tableau 09 : TPC, TFC et activités antioxydantes de vingt-deux cultivars de pois de jardin dans des extraits éthanoliques.

Tableau 10 : Performance de vingt-deux géotypes de pois de jardin pour divers caractères horticoles.

Tableau 11 : Matrice de corrélation phénotypique et génotypique pour TPC, TFC, divers dosages d'antioxydants et rendement par plante.

Liste des figures

Figure 01 : les différentes parties du petit pois (*Pisum sativum* L.)

Figure 02 : Morphologie du système racinaire (*Pisum sativum* L.)

Figure 03 : Structure d'une plante de petit pois

Figure 04 : La formule florale de *Pisum sativum* L.

Figure 05 : Répartition de la production mondiale du pois frais

Figure 06 : Production mondiale du pois 1961-2007

Figure 07 : Symptôme d'Ascochyta blight sur gousses de pois

Figure 08 : Squelette de base des flavonoïdes.

Figure 09 : Différentes classes de flavonoïdes.

Figure 10 : Voies de biosynthèse des flavonoïdes.

Figure 11 : Différentes classes de triterpénoïdes.

Figure 12 : Structure du 2,3-époxydosqualène.

Figure 13 : Exemples de génines triterpéniques.

Figure 14 : Principaux squelettes stéroïdiques.

Figure 15 : Les différents acides organiques rencontrés dans les saponosides.

Figure 16 : Aperçu des espèces oxygénées activées (EOA) dérivant de l'oxygène et systèmes de protection permettant de limiter l'effet toxique de ces espèces. GSH : glutathion, Cl⁻ : anion chlorure; MPO : myéloperoxydase, SOD : superoxyde dismutase, Se-GPX : glutathion peroxydase sélénio-dépendante.

Figure 17 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés.

Figure 18 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire.

Figure 19 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.

Figure 20 : Spectromètre ESP300E Bruker.

Figure 21 : Les différentes classes de flavonoïdes.

Figure 22 : Partie benzoyle et partie cinnamoyle d'absorption en UV (bande I et bande II).

Figure 23 : Éléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes (S1).

Figure 24 : Éléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes (S2).

Figure 25 : Performances comparatives de différents dosages d'antioxydants.

Figure 26 : Dendrogramme de 22 génotypes de pois verts basés sur la similitude génétique NJ pour les activités TPC et TFC et antioxydantes.

Figure 27 : Facteurs primaires et secondaires associés à la voie de biosynthèse des flavonoïdes chez le pois vert et son association avec les capacités antioxydantes.

Liste des abréviations

ABTS : 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

APG: Angiosperm Phylogeny Group.

BHA: Hydroxyanisole butylé.

BHI: Brain Heart Infusion Agar.

BHT butyl-hydroxy-toluène.

CC : Chromatographie sur colonne ouverte.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

***CHCl₃** : Chloroforme.

CL₅₀ : Concentration létale 50.

CLHP : Chromatographie liquide haute performance.

CUPRAC: Cupric Réducing Antioxidant Capacity.

DL₅₀: Dose létale 50.

DMSO: Diméthylsulfoxyde.

DPPH: 2, 2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl.

EOA : Espèces oxygénées activées.

ERO : espèces réactives oxygénées.

GC : Chromatographie en phase gaz.

IC₅₀ : Concentration d'inhibition 50.

IM : Indice de mousse.

INT : Para-iodonitrotétrazolium.

J (Hz) : Constante de couplage exprimée en Hertz.

LDL : lipoprotéine de basse densité

m : multiplet.

M.A.T.E : Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement.

MeOH : Méthanol.

MTT : Méthylthiazolyl-tétrazolium.

ppm : parties par million.

R_f : Rapport frontal.

SOD : Superoxyde dismutase.

δC : Déplacement chimique du carbone en ppm.

δH : Déplacement chimique du proton en ppm.

Introduction

Introduction :

Les légumineuses jouent un rôle crucial dans la civilisation humaine en fournissant de la nourriture, fourrage et contribue également à équilibrer l'écosystème.

La 68^{ème} assemblée générale de l'ONU a déclaré l'année 2016 (Année internationale des Légumineuses IYP) dans le but d'assurer la sécurité alimentaire et nutritionnelle à travers le monde, en utilisant les légumineuses comme composante majeure. La consommation de Légumineuse est associée à des propriétés hypocholestérolémie, antiathérogène, anti-cancérogènes et hypoglycémiantes, associées avec la présence de divers composés phytochimiques ayant des capacités antioxydantes (**Hajaji et al., 2011 ; Marathe et al., 2011 ; Singh et al., 2017**).

Le pois vert (*Pisum sativum* L.) est l'un des légumes les plus consommés des légumineuses, et il est cultivé dans le monde sur une superficie d'environ 2,59 m ha, avec un rendement d'environ 19,8 mt avec un rendement moyen de près de 7,7 t ha⁻¹ (**FAOSTAT, 2016**). D'une superficie de plus de 0,5 m ha avec une productivité de 9,7 t ha⁻¹, l'Inde n'est que deuxième derrière la Chine avec une production de 4,81 mt qui représente près de 24 % de la production mondiale. Plus de 87 % de la culture de pois verts est cultivé uniquement dans les pays asiatiques à productivité élevée, par rapport aux pays européens dont la productivité moyenne est inférieure à la moyenne mondiale. Le pois est équilibré avec un profil macro et micro nutritionnel et est faible en gras, mais riche en fibres, protéines, acide ascorbique, β - carotène, thiamine, riboflavine et fer (**National Food Administration, 2002**). Ces propriétés nutritionnelles en font un précieux des aliments capables de répondre aux besoins alimentaires mondiaux de plus de 900 millions de personnes sous-alimentées (**Dahl et al., 2012 ; Devi et al., 2018**).

Les antioxydants, en raison de leur mécanisme de défense contre les radicaux libres ont toujours attiré l'attention de la communauté scientifique ainsi que des consommateurs (**Bhoyar et al., 2018**). Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ont des effets délétères sur de nombreuses biomolécules, notamment les protéines, les lipides, l'ARN et l'ADN (**He et al., 2017 ; Lu et al., 2010**) qui pourraient conduire à diverses affections, notamment le cancer, les maladies respiratoires, cardiovasculaires et digestives (**Liu et**

al., 2018). Les antioxydants présents dans les aliments, non seulement protège la cellule des dommages oxydatifs, mais régule également l'Enzyme liée aux ROS (**Djordjevic et al.**, 2011). Bien que le butyle l'hydroxy toluène (BHT) et l'hydroxy anisole butyle (BHA) sont les antioxydants synthétiques les plus largement utilisés dans l'industrie alimentaire, mais en raison de son instabilité et de son rôle présumé de promoteur de la carcinogenèse, leur utilisation a maintenant disparu. Ainsi, il y a un intérêt croissant dans l'utilisation d'antioxydants naturels et non toxiques (**Bhoyar et al.**, 2011, 2018). Dans le passé, plusieurs groupes scientifiques avaient analysé les constituants polyphénoliques de diverses graines de légumineuses, mettant en évidence les propriétés médicinales potentielles, y compris les potentialités antioxydantes (**Al-Saeedi et Hossain**, 2015 ; **Zhao et al.**, 2014 ; **Zilani et al.**, 2017). Bien que, des informations sur la composition nutritionnelle du pois est disponible, mais il existe encore une large lacune concernant l'évaluation variétale des composés antioxydants. En outre, une littérature limitée est disponible qui traite principalement des méthodes d'extraction d'antioxydants (**Oomah et al.**, 2011 ; **Xu et Chang**, 2008), effet des activités de cuisson et de transformation sur les capacités antioxydantes (**Ee et al.**, 2018 ; **Nilsson et al.**, 2004 ; **Nithiananthan et al.**, 2012) et les capacités antioxydantes dans les graines de pois vert ou tégument (**Amarowicz et al.**, 2004 ; **Petchiammal et Hopper**, 2014 ; **Troszynska et Ciska**, 2002). L'hypothèse de cette recherche bibliographique était de démontrer la relation entre le contenu phénolique et les activités antioxydantes des pois verts avec le tégument coloré, la couleur des fleurs et la production de gousses. Dans ce contexte, le but de l'étude est d'évaluer les activités antioxydantes et le contenu phénolique total dans une sélection de 22 génotypes de pois verts variant selon la couleur de la coque, forme de la graine, couleur de la fleur, durée de maturité et caractéristiques associées à la culture.

CHAPITRE I

Synthèse Bibliographique

I. La plante (petit pois) :

I.1. Description botanique :

Le petit pois (*Pisum sativum* L.) est une plante annuelle de la famille des *Fabaceae*. Il est originaire de l'Asie centrale (Afghanistan et Inde) et sa culture est très ancienne. C'est une plante essentiellement autogame (Free, 1993 ; Pouvreau, 2004), mais des taux d'allogamie peuvent être observés chez certains cultivars (Haskell, 1943). Il représente un légume dont les qualités nutritives, gustatives et culinaires sont très élevées ce qui a conduit à une extension rapide de sa culture dans les différentes régions du monde. Le petit pois (*Pisum sativum* L.) est une plante herbacée (Nyabyenda, 2005), haute de 20 à 150 cm ou plus .Le système racinaire est représenté par une variable de développement du pivot en fonction du type de sol, de la variété et les conditions climatiques.

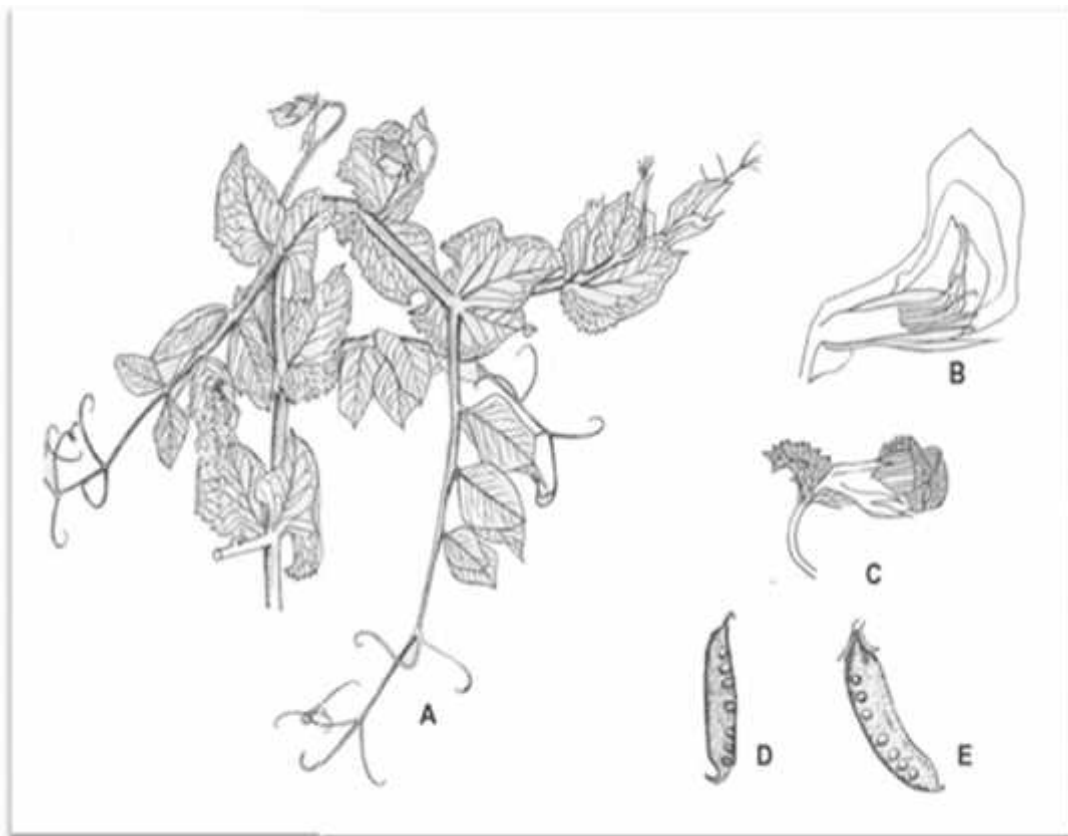


Figure 01 : les différent partie du petit pois (*Pisum sativum* L.)

- (A) branche d'une plante portant une fleur et des vrilles portant une fleur et des vrilles
- (B) fleur
- (C) fleur en coupe longitudinale
- (D) jeune gousse ou cosse
- (E) jeune gousse ouverte montrant les graines (Zohary *et* Hopf, 1988).

I.1.1. Morphologie du système racinaire

L'appareil souterrain du petit pois est formé d'un système racinaire à pivot relativement peu développé avec des racines secondaires voir tertiaires. L'enracinement du pois est assez développé puisque les racines peuvent atteindre 60 cm de profondeur jusqu'à 80 cm en fine floraison. On peut noter la présence de nodosités qui vont permettre à la plante de fixer l'azote atmosphérique.



Figure 02 : Morphologie du système racinaire de *Pisum sativum* L. (Champion, 1997)

I.1.2. Morphologie de la partie aérienne :

- **Tiges :** Elles sont herbacées, grêles et creuses, arrondies ou légèrement anguleuses, d'une hauteur variable (0,25 à 2 m). L'appareil aérien est constitué d'une tige principale et de ramifications issues des bourgeons latéraux.
- **Feuilles :** Les feuilles composées de 4 à 6 folioles à disposition alterne ont différentes teintes du vert jaune au vert bleu foncé. Les folioles sont entières ou plus ou moins dentées, de forme ovale ou elliptique, leur extrémité est arrondie et crénelée, pointue ou tronquée selon les variétés. La feuille se prolonge par des vrilles de plusieurs centimètres de long.
- **Fleurs :** Elles sont blanches ou avec l'étendard d'un blanc bleuâtre et les ailes d'un violet noir. Les fleurs ont une taille de 3 à 4 cm de long, elles naissent à l'aisselle des feuilles, les pédoncules de longueur variable supportent une à trois fleurs (**Elzebroek et Wind, 2008**). Les feuilles sont alternes, composées-pennées, et se composent de deux grandes stipules foliacées, un à plusieurs paires de folioles ovales, et des vrilles.
- **Fruit :** Il est de type gousse longue de 4 à 11 cm, la gousse contient 5 à 10 grains. Les grains sont globuleux, lisses et non marbrés, ils possèdent des réserves en amidon et en protéines

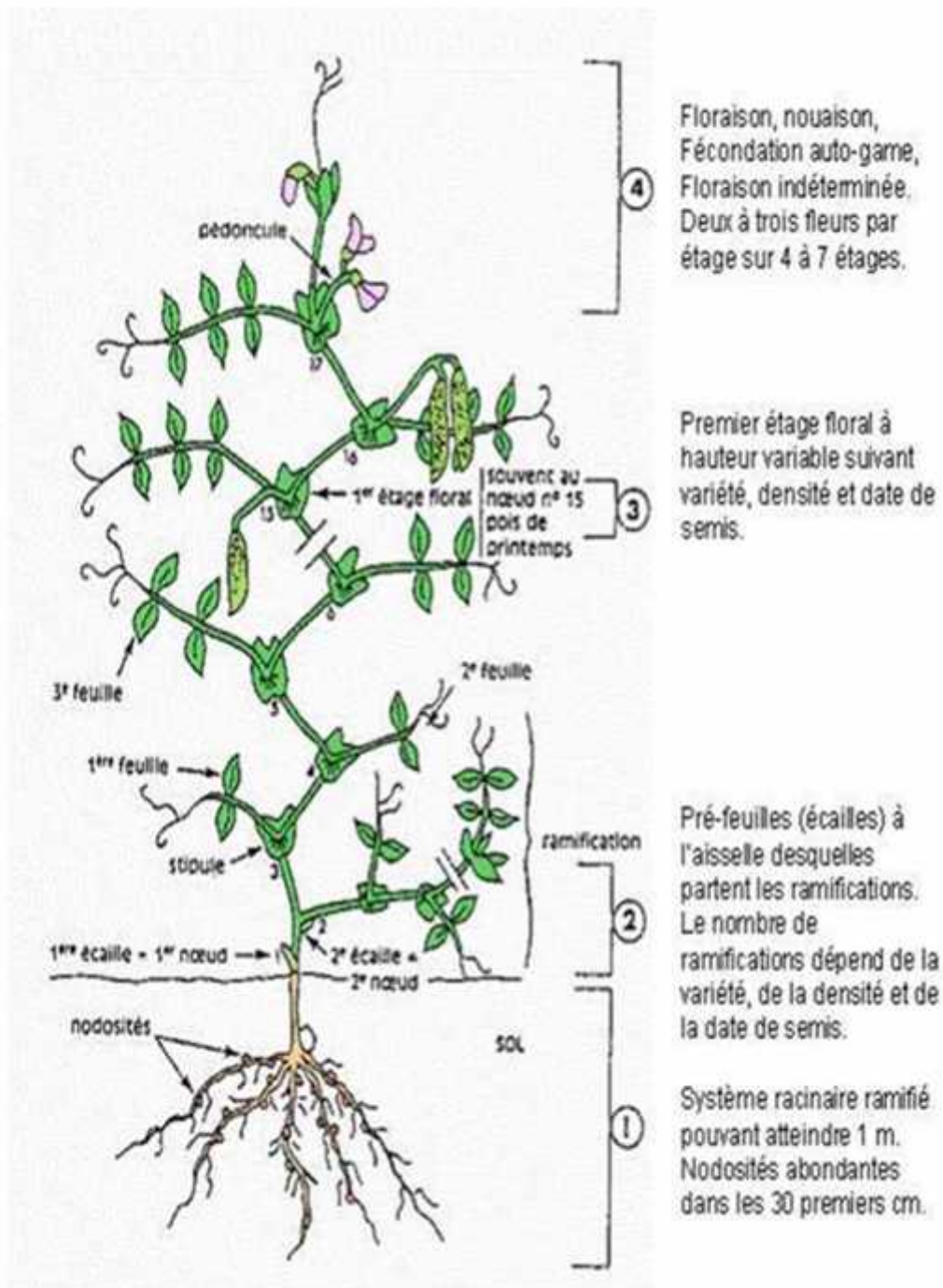


Figure 03 : Structure d'une plante de petit pois (Boyeldieu, 1991).

I.1.3. Diagramme floral :

La formule du diagramme floral est la suivante : $5 S + 5 P + (9+1) E + 1 C$ (supère)

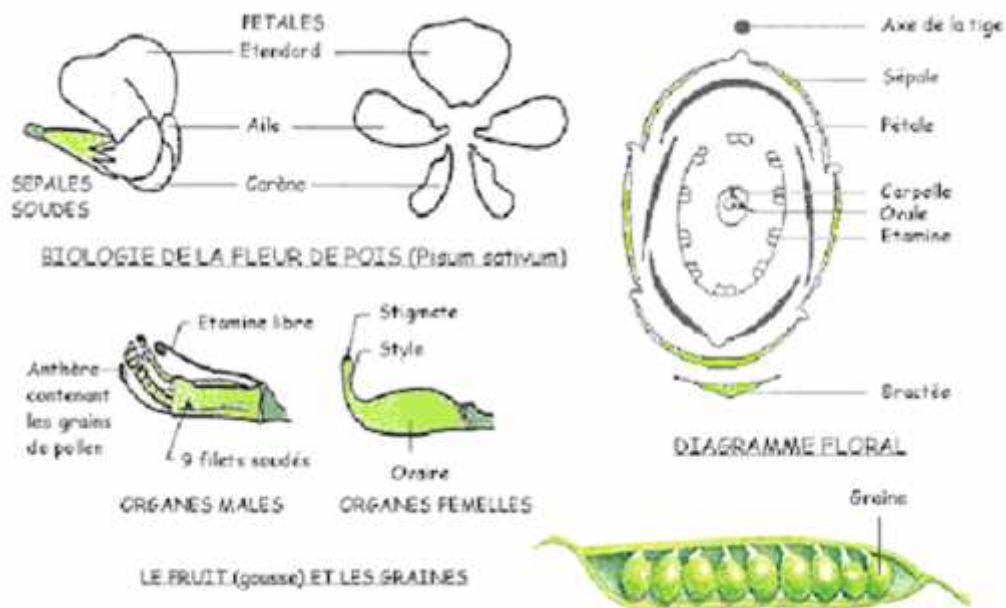


Figure 04 : La formule florale de petit pois (*Pisum Sativum* L.)

I.2. Origine et historique :

L'origine et les ancêtres de *Pisum sativum* L. sont mal connus. La région méditerranéenne, l'Asie centrale et occidentale et l'Éthiopie ont été envisagées comme centres d'origine. La FAO a désigné l'Éthiopie et l'Asie occidentale comme centres de diversité, avec des centres secondaires dans le sud de l'Asie et la région méditerranéenne (**Cousin et Bannerot, 1992 ; Brink et Belay, 2006**). Le petit pois est une plante très anciennement cultivée dans l'Ancien Monde puisque sa culture a vraisemblablement commencé il y a environ 8 000 ans dans la région du Croissant fertile, dans le même processus que certaines céréales (blé, orge) et d'autres légumineuses (vesce, lentille). Ils ont découvert dans des sites archéologiques du néolithique de la Grèce à l'Irak entre 7 500 et 5 000 ans avant Jésus-Christ, des restes provenant soit de plantes de cueillette, soit de plantes domestiquées. Par la suite, sa culture s'est diffusée vers l'ouest (Europe) et vers l'est (Inde). On en trouve trace notamment dans le site archéologique de Troie, en Europe centrale (vers -4 000 ans), en Europe occidentale et en Inde (vers 2 000 ans) (**Cousin et Bannerot, 1992**). Des restes de pois ont été retrouvés notamment dans des habitats lacustres du début de l'âge du bronze en Suisse et en France (lac du Bourget) (**Pitrat et Foury, 2003**).

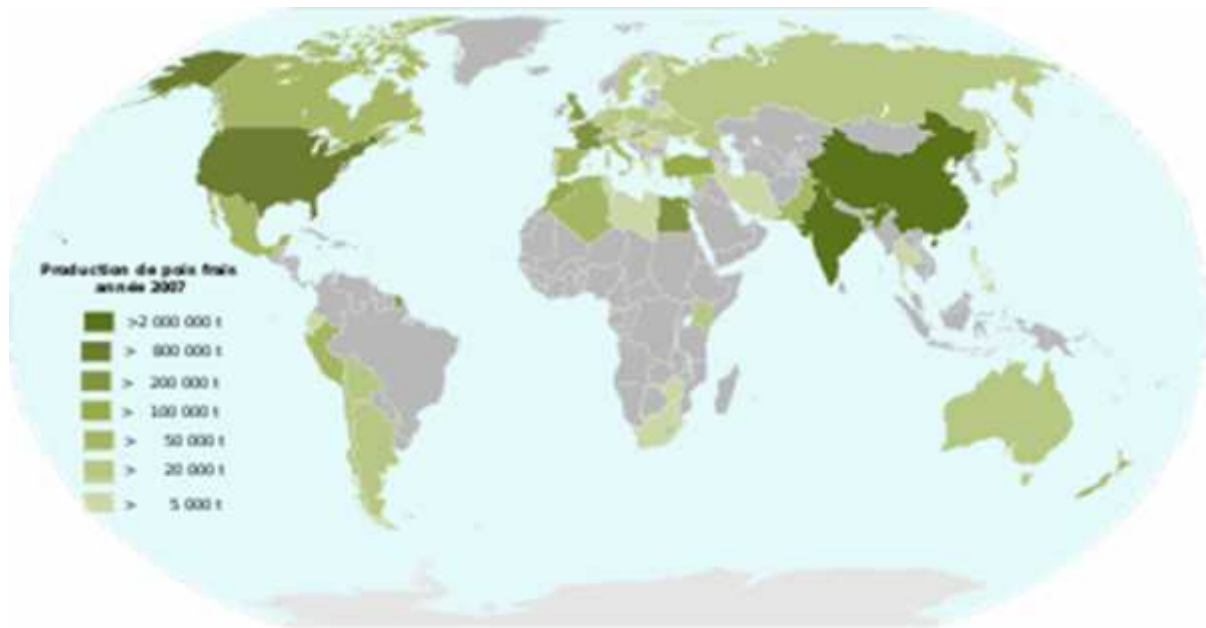


Figure 05 : Répartition de la production mondiale du pois frais (FAO, 2009)

I.3. Étymologie :

« Pois » dérive du latin *Pisum*, lui-même emprunté au grec. Selon certains auteurs, ce terme serait emprunté à une langue plus ancienne Aryenne selon Alphonse de Candolle (1984), selon d'autres il dériverait d'un verbe *Pisere* signifiant « casser » en latin. Le terme est apparu en français vers la fin du XIIe siècle, d'abord sous la forme *pie*. *Pois*, ou *pie*, désignant une chose de peu d'importance, ont servi vers le XIIe siècle d'auxiliaire de négation, à l'instar de *points* et *pas* selon le Centre national de ressources textuelles et lexicales (CNTRL).

I.4. Taxonomie :

Régne : Plantae (Plantes).

Sous-régne : Tracheobionta (plantes vasculaires).

Embranchement : Spermatophyta (plantes à graines).

Sous Embranchement : (Magnoliophyta).

Classe : Magnoliopsida (Dicotylédones).

Sous-classe : Rosidae.

Ordre : Fabales.

Famille : *Fabaceae* : fabacées, papilionacées ou légumineuses

Genre : *Pisum*

Espèce : *Pisum sativum* L. (USDA, 2008)



I.5. Les valeurs nutritionnelles de *Pisum sativum* L. :

Tableau 1 : Les valeurs nutritionnelles pour 100g du petit pois (USADA* ; 1999)

Nutriment	Unités	Petit pois crus	Petit pois cuits
Eau	g	78.86	77.8
Énergies	Kcal	81	84
Protéines	g	5.42	5.36
Lipides totaux	g	0.4	0.22
Glucides	g	14.46	15.64
Fibres totales	g	5.1	5.5
Minéraux			
Calcium	mg	25	27
Fer	mg	1.47	1.54
Magnésium	mg	33	39
Phosphore	mg	108	117
Potassium	mg	244	271
Sodium	mg	5	3
Zinc	mg	1.24	0.173
Cuivre	mg	0.176	0.173
Manganèse	mg	0.410	0.525
Sélénium	mg	1.8	1.9
Vitamines			
Vitamines C	mg	40	14.2
B1 (thiamine)	mg	0.266	0.259
B2 (riboflavine)	mg	0.132	0.149
B3 (niacine)	mg	2.09	2.16
B5 (pyridoxine)	mg	0.104	0.153
B6 (acide pantothénique)	mg	0.169	0.216
Acide folique	mg	65	63.3
B 12	mg	0	0
Vitamine A	I.U	640	579
Vitamine E	mg ATE	0.39	0.39
Lipides			
Acides gras saturés	g	0.071	0.039
Acides gras mono-insaturés	g	0.035	0.019
Acides gras poly insaturée	g	0.187	0.102
Acides linoléiques (18.2)	g	0.035	0.019
Acides alpha linoléiques (18.3)	g	0.035	0.019
cholestérol	mg	0	0

I.6 . La production de petit pois :

I.6.1. Production internationale :

Selon les statistiques de l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), en 2007, la production mondiale de pois frais s'est élevée à 8 264 769 tonnes pour une surface ensemencée de 1 087 674 hectares, soit un rendement moyen de 7,6 quintaux par hectare (FAO STAT). Les deux principaux producteurs de pois frais, Chine et Inde, représentent près de 70 % du total mondial.

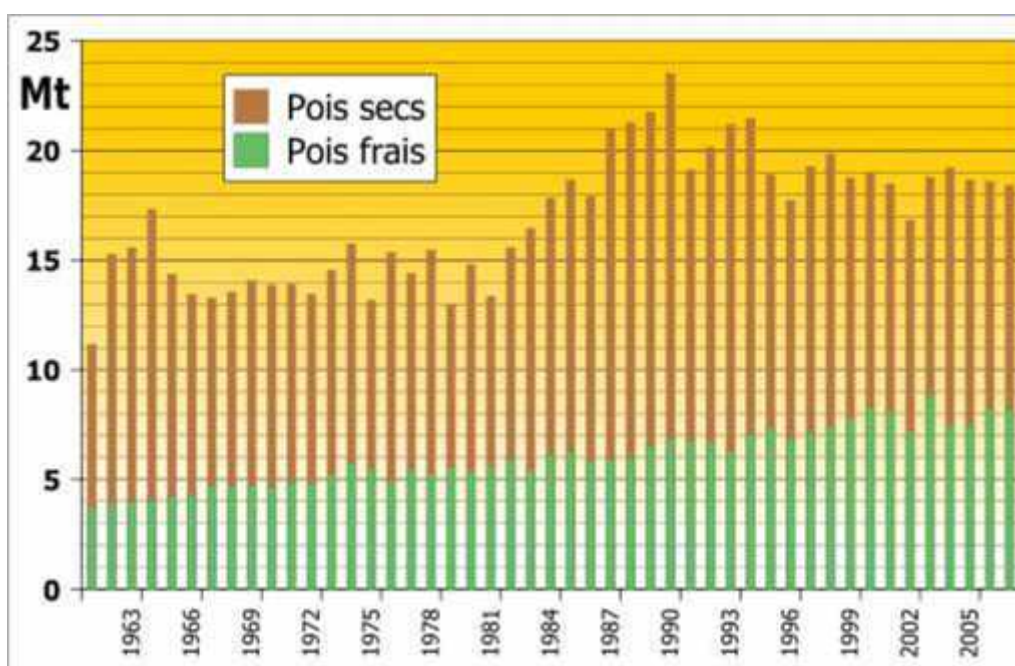


Figure 06 : Production mondiale du pois 1961-2007 (FAO, 2009)

Tableau 02 : principaux pays producteurs de pois frais en 2007

Pays	Surface cultivée (milliers d'hectares)	Rendement (quintaux par hectare)	Production (milliers de tonnes)
<u>Chine</u>	251,0	10,0	2508,5
<u>Inde</u>	282,0	8,1	292,7
<u>États-Unis</u>	87,0	10,1	875,0
<u>France</u>	30,5	11,6	355,0
<u>Royaume-Uni</u>	33,3	9,9	330,0
<u>Égypte</u>	27,0	10,4	280,0
<u>Maroc</u>	18,0	6,1	110,0
<u>Turquie</u>	14,5	7,0	101,4
<u>Hongrie</u>	16,5	5,6	92,0
<u>Italie</u>	13,0	6,9	90,0
<u>Algérie</u>	25,0	3,5	87,5
<u>Pérou</u>	25,5	3,4	86,5
<u>Pakistan</u>	11,0	7,6	83,0
<u>Canada</u>	15,9	4,4	69,3

I.6.2. Production en Algérie :

En Algérie, le pois a été cultivé avant 1830 dans les jardins et les champs en Kabylie (**Laumont et chevassus, 1960**). La culture est répandue sur tout le territoire national. Il est surtout cultivé sur les plaines côtières et les zones sublittora. Il occupe la 3^{ème} place parmi les légumes secs (**Lounis, 1982 ; Maatougui, 1996**). La culture a pris un développement important en 1945, elle a connu par la suite un essor Remarquable de 1947 à 1952. En 1980, onze mille ha ont été consacrés à cette culture. Durant cette dernière décade c'est en 1993 qu'on a enregistré la superficie la plus importante Avec vingt un mille ha alors que le rendement le plus important a été enregistré en 2001 sur une superficie de vingt mille ha. (**FAO ; 2003**), l'année 2007 a connu une production Atteignant 25 milliers de tonnes en pois frais (**FAO ; 2009**)

I.7. Les variétés de petit pois :

On distingue deux variétés de petit pois :

Petit pois à **grains lisse** ; ils sont plus résistants au froid, mais donnant des petits pois moins sucrés et plus farineux. Petit pois à **grains ridé** ; des grains plus sucrés que les premiers (**Messiaen, 2010**) et le **pois Mange-tout** : des pois que l'on récolte plus jeune et que l'on mange avec la cosse. Ces 3 variétés de petits pois peuvent **aussi être des variétés « naines » ou « à rames »** :

Pois nain : les plants ne dépassent pas 50 cm de hauteur.

Pois à rames : les plants peuvent atteindre 2 m 50 et nécessitent plus d'espace.

Tableau 03 : Variétés de petit pois et de pois mange-tout (Messiaen, 2010) :

Varieties	Hauteur (cm)	Couleur du grain	Durée de végétation (jour)	Caractères variétaux
Express à longue cosse	90	Vert rond	74	Gousses longues 8 à 10 grains
Roi des conserves	140	Vert rond	78	Gousses arquées
Serpette Guilloteaux	150	Blanc rond	81	Gousses arquées
Cadoz	Nain	Blanc rond	80	Grains très petits
Douce Provenance	Nain	Vert rond	69	Gousses longues, 7 à 9 grains
Petit provençal	Nain	Vert rond	69	Gousses arquées
Proval	Nain	Vert rond	65	Le plus précoce
Arkel	Nain	Vert ridé	70	Gousses longues, pointues
Merveille de Kelvedon	Nain	Vert ridé	68	Gousses fines, très longues
Onward	Nain	Vert ridé	79	Grosses gousse, résistant Oïdium
Bayard	Nain	Vert ridé	70	Type affila
Surgévil	Nain	Vert ridé	85	Grains très sucrés
Caroubay de Maussane	95	Gris, fleurs mauves	95	Mange-tout à rames
Corne de bélier	150	Blanc	90	Mange-tout à rames

I.8. Les exigences agro écologiques de la plante :

I.8.1. Climat :

Les pois exigent un climat frais et relativement humide et sont développés à des altitudes élevées dans les tropiques avec des températures de 7⁰ à 30⁰ C (**Duc, 1981**). La production est concentrée entre les tropiques du cancer (**Davies et al. 1985**). Le pois tolère le gel à -2⁰ C, bien que la croissance supérieure puisse être affectée aux Pois robustes d'hiver de - 6⁰ C et avec la protection de couverture de neige (**Slinkard et al., 1994**). Les niveaux de température optimale pour les périodes végétatives et reproductrices des pois sont réciproquement de 21⁰ et 16⁰C et 16⁰ à 10⁰C jour et nuit.

I.8.2. Lumière :

Le pois est une plante qui a besoin de la pleine lumière pour accomplir son cycle végétatif.

I.8.3. L'eau :

Il faut irriguer ou faire la culture sur des terrains où la nappe phréatique est proche. Néanmoins, on a constaté qu'il ne faut pas trop irriguer durant la phase de floraison, car cela provoquerait la chute des fleurs .il vaut mieux laisser la plante soif à cette période (**Sikerdji, 2002**).

I.8.4. Sol :

Il apprécie une terre fraîche à bonne exposition mais craint le calcaire, l'excès d'humidité et la sécheresse (**Sikerdji, 2002**).

I.8.5. Azote :

Le pois, comme toutes les légumineuses, peut réaliser une fixation symbiotique de l'azote qui commence 30 jours après le semis et se poursuit pendant environ 60 jours. Visuellement, en coupant une nodosité, plus la section apparaît rougeâtre, plus elle est chargée en pigment actif de couleur rouge, indicateur de la fixation symbiotique de l'azote .La quantité d'azote fixée varie largement avec les cultivars, et les conditions de croissance de la culture (**Larue et Patterson, 1981**).

I.9. Les maladies et les ravageurs de petit pois :

Elles sont des maladies parasitaires provoquées par divers organismes vivants (bactéries, virus, champignons) qui affectent le pois cultivé (*Pisum Sativum*). Relativement nombreuses, ces maladies peuvent être spécifiques de l'espèce *Pisum Sativum*, ou touche d'autres espèces proches (en particulier la fève) et plus largement les légumineuses (*Fabaceae*), voir une multitude d'espèces végétales, cultivées ou non. La plante peut aussi présenter divers symptômes dus soit à Des attaques de ravageurs (insectes, nématodes), soit à des phénomènes abiotiques (carences du sol, phénomènes météorologiques, qui peuvent évoquer au premier abord ceux des maladies.

Ces maladies se transmettent par diverses voies : par les organismes vivants dans le sol, par les insectes ravageurs qui créent des blessures favorisant l'arrivée de spores de champignons, ou qui inoculent des germes (virus), par les semences lorsqu'elles sont infectées, par les restes des précédentes cultures. Les plantes poussant dans le voisinage peuvent constituer des sources de contamination, qu'il s'agisse de cultures ou de plantes sauvages.



Figure 07 : Symptôme d'*Ascochyta* pisé sur gousses de pois (Personnelle, 2010)

I.9.1. Les maladies de petit pois :

Tableau 04 : les maladies de petit pois (Messaien *et al* 1991 ; Chaux *et* Foury 1994 *et* Brink *et* Belay, 2006)

Les maladies de petit pois	Les symptômes	Les moyens de lutte
<p>1) Graisse bactérienne du pois</p>	<p>-Des taches huileuses sur les organes aériens, qui s'agrandissent en éventail et prennent une couleur brun clair sur les feuilles, et forment des taches brunes sur les gousses.</p>	<p>-Semences saines (élimination des lots infectés par le test ÉLISA). -Pas de moyen de lutte chimique, hormis les traitements cupriques appliqués en préventif (si gel ou grêle) ou dès l'apparition des premiers symptômes</p>
<p>2) Mosaïque commune du pois (PCMV)</p>	<p>-Symptômes variables selon la race de virus et la variété de pois. -Typiquement : mosaïque avec plages vertes et jaunes. -Éclaircissement des nervures des feuilles et stipules. -Réduction de la taille des plantes touchées</p>	<p>-Contrôle efficace et rapide des populations de pucerons, vecteurs de la maladie. -Test ÉLISA permettant d'identifier le Pea Seed-borne Mosaic Virus sur les semences.</p>
<p>3) Mosaïque Enation</p>	<p>-Éclaircissement des nervures et taches translucides. -Déformation des tiges, feuilles et gousses. -Rabougrissement des extrémités de tiges. -Excroissances irrégulières (appelées énaions).</p>	<p>-La résistance génétique existe pour la mosaïque commune et la mosaïque énation, mais elle est peu développée.</p>

<p>4) Pea Seed-borne Mosaic Virus</p>	<p>-Peu visible sur les plantes : légère chlorose, bord des feuilles enroulé, faible mosaïque parfois. -Retard de maturité</p>	<p>-Contrôle efficace et rapide des populations de pucerons, vecteurs de la maladie. -Test ÉLISA permettant d'identifier le Pea Seed-borne Mosaic Virus sur les semences.</p>
<p>5) Clover Yellow Vein Virus (CYVV)</p>	<p>-Nécrose des tiges, feuilles, stipules et gousses qui peuvent se généraliser à toute la plante. - Aplatissement des gousses et avortements</p>	<p>-La résistance génétique existe pour la mosaïque commune et la mosaïque énation, mais elle est peu développée.</p>
<p>6) Anthracnoses</p>	<p>Lésions beiges à bordures foncées, avec au centre, de nombreuses ponctuations noires (picidés).</p>	<p>-Semences saines. - Rotation de 5 ans entre deux légumineuses. -Traitement de semences : il assure une protection efficace durant six semaines environ.</p>
<p>7) Mycosphaerella pinodes (Ascochyta pinodes)</p>	<p>Petites ponctuations noires pouvant s'agrandir et se rejoindre pour former de larges taches foncées. Attaques fréquentes à la base des tiges (nécroses oirâtres).</p>	<p>-À partir du stade floraison : un à deux traitements fongicides.</p>

<p>8) Phoma medicaginis (Ascochyta pinodella)</p>	<p>- Une nécrose du collet et la présence d'un manchon brun violacé au niveau des entrenœuds inférieurs de la tige des jeunes plantes. En cours de végétation, apparaissent sur feuilles et tiges, des taches de couleur brun clair, sur gousses et grains, les taches sont délimitées, de couleur marron rougeâtre, en dépression sur l'épiderme de la gousse. Les grains contaminés présentent des taches sombres.</p>	<p>-Semences saines. - Rotation de 5 ans entre deux Légumineuses. -Traitement de semences : il assure une protection efficace durant six semaines environ. -À partir du stade floraison : un à deux traitements fongicides.</p>
<p>9) Botrytis ou Pourriture grise (Botrytis cinerea)</p>	<p>- Une pourriture grise apparaît sous forme de taches sur les feuilles, les tiges et les gousses.</p>	<p>Éviter les excès de végétation en limitant la fourniture d'azote par le sol (fumure organique). -Préférer les variétés à port léger et dressé. -Éviter des peuplements trop denses (semis de précision). -Soigner le désherbage. -Protection fongicide préventive dès la floraison en alternant les matières actives pour éviter l'apparition de souches résistantes.</p>

<p>10) Mildiou</p>	<p>Les feuilles présentent alors des jaunissements sur la face supérieure et un duvet gris violacé sur la face inférieure. Sur gousses, les symptômes extérieurs sont peu perceptibles (taches vert clair sans sporulation). Par contre, à l'intérieur, un mycélium blanc est bien visible. À ce stade, les grains sont tachés ou absents.</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Rotation la plus longue possible entre deux cultures de pois (protéagineux et conserve). -Traitement de semences : en protégeant les pois jusqu'au stade 5 feuilles environ, il limite les infections primaires. -Utilisation de variétés peu sensibles. -Protection fongicide préventive en végétation, au stade 7-8 nœuds du pois (= 5-6 feuilles).
---------------------------	--	---

I.9.2. Les ravageurs de petit pois :

Tableau 05 : les ravageurs de petit pois. (Chaux .C et Foury .C1994 ; Coutin. R 2004)

Les ravageurs de petits pois	Les symptômes	Les moyens de luttés
<p>1) La cécidomyie</p>	<p><i>Contarinia pisi</i> est un diptère se développent dans les fleurs et injectent une substance toxique qui entraîne la formation de «galles». Les boutons floraux gonflent, se dessèchent et avortent.</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Éviter de semer des pois à proximité de parcelles fortement infestées au cours des 2 années précédentes. -Se référer aux avertissements locaux, et les compléter par l'observation dans les parcelles au stade boutons floraux. On parvient à voir les femelles en pinçant les boutons verts encore enserrés dans les stipules puis en l'ouvrant doucement. L'idéal est d'inspecter 5 fois 5 plantes à suivre en bordure de parcelle. -La lutte insecticide vise les adultes avant qu'ils ne pondent : dès le début du vol, en fin de journée, avec un volume de bouillie important. Renouveler éventuellement la protection si le vol se prolonge.

<p>2) Les limaces Grises</p>	<p>les attaques très précoces, sur les graines en germination ou Les plantules peuvent conduire à d'importantes pertes de peuplement. Par la suite, les feuilles basses des plantes attaquées présentent des limbes lacérés, avec des traces de mucus.</p>	<p>-Des façons superficielles répétées à l'interculturel permettent de réduire le stock d'œufs de la parcelle. -Les applications de granulés anti- limaces. -Le piégeage permet de connaître le niveau d'infestation et l'évolution des populations d'une parcelle. Le risque est fort au-delà la de 12 limaces/m².</p>
<p>3) Le puceron vert du pois</p>	<p>Leurs piqures des feuilles et stipules provoquent un affaiblissement des tiges piquées, coulures de fleurs et avortements de gousses, déformations de gousses</p>	<p>Les nombreux ennemis naturels des pucerons (syrphes, coccinelles, champignons pathogènes, parasites...) permettent de limiter les faibles colonisations (quelques individus par plante). Les traitements avec des picidés stricts se justifient en cas de pullulations (30 pucerons/tige ou plus) ou si la transmission de virus est suspectée.</p>
<p>4) Le sitone</p>	<p><i>Sitona lineatus</i> est un petit coléoptère qui dévore le limbe des feuilles en faisant des encoches semi-circulaires sur le bord et dont la larve ronge les racines et les nodosités, affaiblissant ainsi les plantes.</p>	<p>La meilleure protection passe par le traitement des semences lorsqu'il existe. Les traitements insecticides en végétation sont moins efficaces et ne contrôlent pas les larves responsables des principaux dégâts (seuil d'intervention = 5 encoches/plante).</p>

<p>5) Le thrips du pois</p>	<p>Ce sont de minuscules insectes piqueurs (taille de 1 mm) qui attaquent les fleurs et les gousses et dont les larves se développent dans les gousses. Elles provoquent dessèchement et rabougrissement des plantes.</p>	<p>-La lutte la plus efficace passe par le traitement de semences.</p>
<p>6) La tordeuse</p>	<p>se manifeste par sa chenille jaunâtre à tête noire d'environ 15 mm et qui vit dans les grains rendant les pois véreux et peut en dévorer plusieurs successivement.</p>	<p>-Se référer aux avertissements locaux, réalisés grâce à des réseaux de piégeage. -Traitement avec une Pyréthriinoïde à la dose d'usage tordeuse, à réaliser tard le soir ou tôt le matin avec un fort volume de bouillie. Viser la chenille baladeuse.</p>

CHAPITRE II

Les Métabolites Secondaires

II. Les Métabolites Secondaires :

II.1. Les Composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont principalement synthétisés à partir des hydrates de carbone via la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate, celles de l'acide shikimique conduisant, après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs dérivés et celles de l'acétate conduisant aux polycétosters ou poly acétates (malonate). La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire jusqu'aux tanins complexes de très haut poids moléculaire, et ils peuvent être classés par le nombre et l'arrangement des atomes de carbone qui les composent, en fonction de la nature de leur squelette carbone et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique (Cheynier *et al.*, 1997). Les composés phénoliques sont capables de se conjuguer à des oses ou à des acides organiques. Cependant les composés phénoliques peuvent être répartis en deux grands groupes : les flavonoïdes et les non-flavonoïdes (Chira *et al.*, 2008).

II.2. Les Flavonoïdes et les iso-flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des substances chimiques naturelles qui constituent une grande partie des métabolites secondaires d'un grand nombre de variétés végétales supérieures, ces composés appartiennent à l'origine à la famille des polyphénols et constituent donc le groupe de métabolites le plus courant. Ils possèdent une diversité structurale très importante. En effet, plus de 9000 structures ont été identifiées (Bruneton, 1993, Bohm, 1999). Ces diverses structures se rencontrent aussi bien sous la forme libre (aglycone) que sous forme de glycosides. Ils jouent un rôle important dans la protection des plantes (Bruneton, 1993).

Le terme Flavonoïdes (de flavus, «jaune » en latin) est le terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 carbones, qui à son niveau le plus simple, consiste en deux cycles phényles, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C6-C3-C6) (Agrawal et Markham, 1989). (Figure 08).

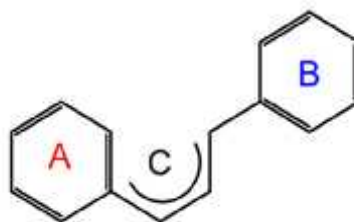


Figure 08 : Squelette de base des flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont de façon très générale localisés dans les feuilles, dans les fleurs ou encore dans les fruits (tégument externe) (**Bruneton, 1999**).

Les iso-flavonoïdes forment une sous-classe très large et très distinguée des flavonoïdes, toutes les molécules de ce groupe sont caractérisées par un squelette de 15 atomes de carbone comme les flavonoïdes, mais réarrangé selon un motif 1, 2diphénylpropanique (**Dewick, 1993**). La distribution des iso-flavonoïdes dans le règne végétal est très restreinte, elle est presque spécifique à la famille des Fabaceae (légumineuses), sous-famille des Papilionaceae (**Dewick, 1993 ; Mann, 1987**).

II.2.1. Propriétés structurales et classification :

Les flavonoïdes possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement phenyl-2 chromone. Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation de noyau pyranique central (**Narayane et al., 2001**). Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones, les anthocyanes et les tanins (**Luthar, 1992, Middleton et Chithan, 1994**) (Figure 09).

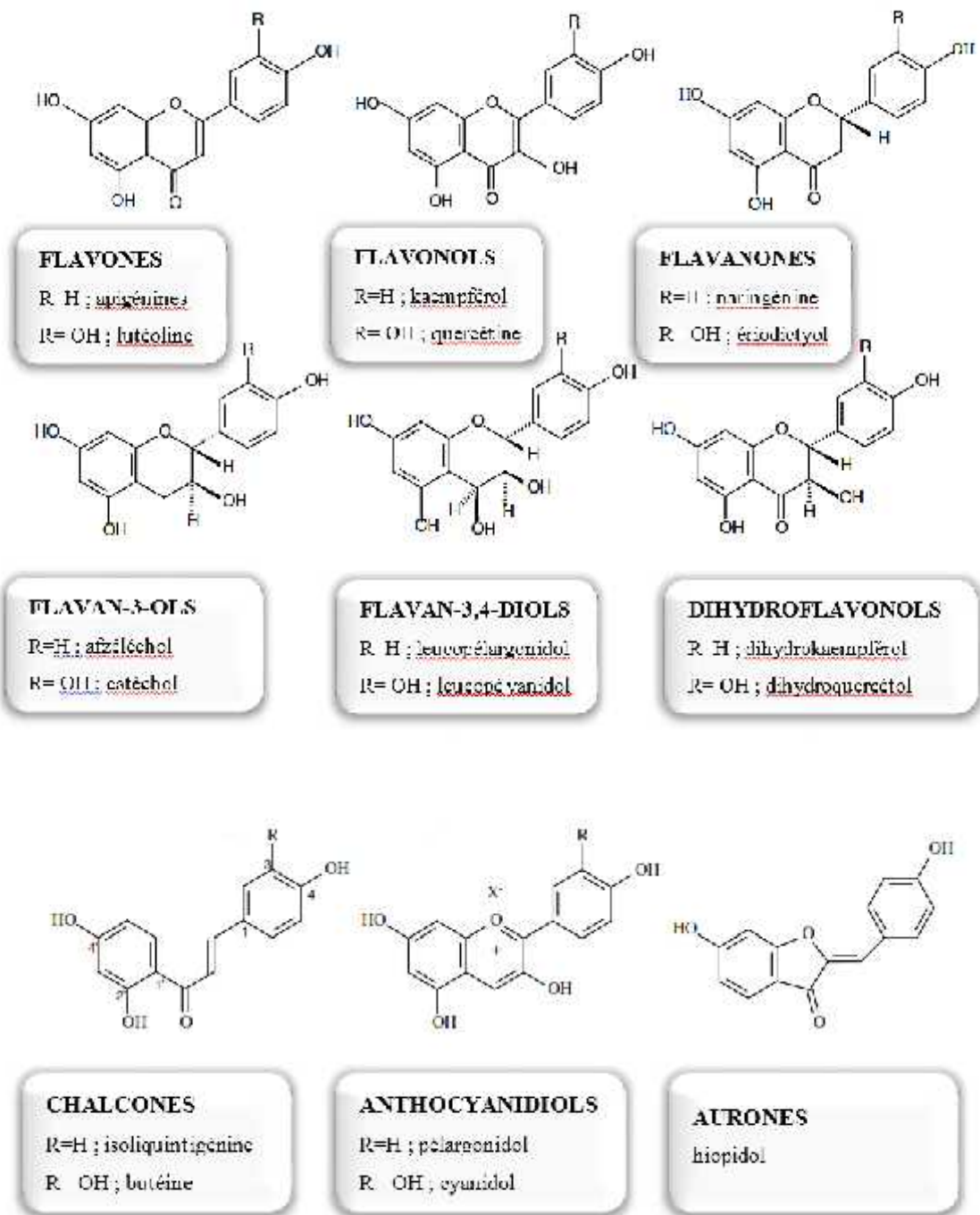


Figure 09 : Différentes classes de flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont souvent hydroxylés en position 3, 5, 7, 3', 4' et/ou 5'. Un ou plusieurs de ces groupes hydroxyles sont fréquemment méthylés, acétylés, prénylés ou sulfatés. Dans les plantes, les flavonoïdes sont souvent présents sous forme C - ou O-glycosylés ; les formes libres, sans sucres attachés, sont appelées génines. Les O-glycosides, de loin les plus fréquents, portent leurs substituants sur les groupements hydroxyles de la génine, alors que pour les C-glycosides, la liaison se fait directement avec un carbone de la génine, les C-6 et/ou C-8. En effet, la formation de la (ou des) liaison(s) hétérosidique(s) est sous la dépendance de transférases très spécifiques quant au substrat et à la position d'osylation (**Bruneton, 1999**).

II.2.2. Les Voies de biosynthèse des flavonoïdes :

La structure en C6-C3-C6 des flavonoïdes est le produit des deux voies de synthèse des composés phénoliques, le noyau B et le pont carboné constituant une unité phénylpropanoïde synthétisée à partir de la phénylalanine provenant de la voie de l'acide shikimique, alors que le noyau A vient de la condensation de 3 motifs acétates via la voie de l'acide malonique. La fusion de ces deux parties implique la condensation d'un phénylpropanoïde, le 4-coumaryl, avec 3 malonyl CoA donnant chacun 2 atomes de carbone. La réaction est catalysée par la chalcone synthase, donnant ainsi le tétrahydroxy chalcone, qui va à son tour donner tous les flavonoïdes (**Crozier, 2003**). La structure de base des flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en position 4, 5, 7. La plupart des flavonoïdes existent sous forme de glycosides, la nature du sucre variant grandement selon les espèces. Les substitutions modifient la solubilité des flavonoïdes, les hydroxylations et les glycosylations rendent les composés généralement plus hydrophiles, alors que d'autres. Substitutions, telles que la méthylation, les rendant plus lipophiles (**Rahman, 2005**). (Figure 10).

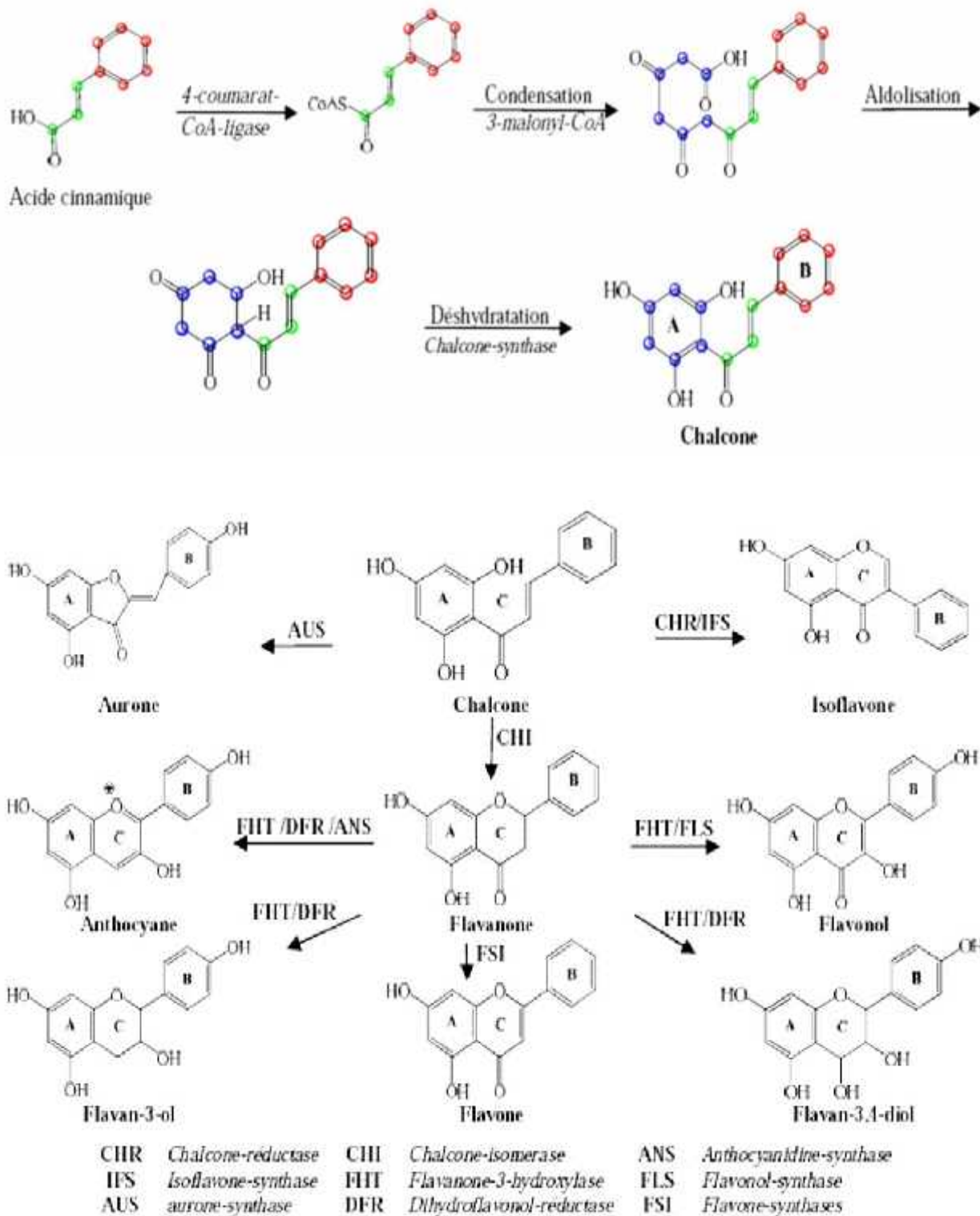


Figure 10 : Voies de biosynthèse des flavonoïdes (Rahman, 2005).

II.2.3. Intérêt biologique des flavonoïdes :

Les flavonoïdes ont suscité l'intérêt scientifique depuis plusieurs décennies. D'abord à cause de leur importance dans la physiologie des plantes et de leurs rôles dans la pigmentation, mais aussi parce qu'ils sont impliqués dans la croissance et la reproduction des plantes (**Manach *et al.*, 2004**). Ils ont également pour fonction de protéger ces dernières contre les pathogènes d'origine virale ou bactérienne, les prédateurs comme les insectes (**Bravo, 1998**). Plus particulièrement, les flavonoïdes sont impliqués, chez les plantes, dans le transport d'électrons lors de la photosynthèse et ils jouent un rôle de protection contre les effets néfastes des rayons ultraviolets en agissant comme antioxydant (**Havsteen, 2002**). Les flavonoïdes parviennent à capturer les espèces réactives de l'oxygène associées au stress oxydatif, les empêchant ainsi de créer des dommages cellulaires. En effet, ils sont capables d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif. Ils inhibent aussi l'oxydation des LDL (low density lipoprotein) et, de ce fait, peuvent prévenir l'athérosclérose et diminuer les risques de maladies cardiovasculaires (**Tu *et al.*, 2007**). Les flavonoïdes sont capables d'exercer en plus des propriétés antioxydantes, des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et antiulcérogènes (**Di Carlo *et al.*, 1999**). Certains flavonoïdes ont également démontré un potentiel d'agent vasodilatateur (**Woodman *et Chan*, 2004**). Ils ont été surnommés les «modificateurs naturels des réponses biologiques» (**Middleton *et al.*, 2000**). Une panoplie d'études *in vitro* ont ensuite montré que les flavonoïdes peuvent moduler l'activité d'une grande variété d'enzymes impliquées dans des voies importantes qui régulent la division et la prolifération cellulaire, l'agrégation des plaquettes, la détoxification, l'inflammation et la réponse immunitaire (**Middleton *et al.*, 2000**), ils sont donc capables de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires. Récemment, plusieurs études épidémiologiques ainsi que des études réalisées dans différentes lignées cellulaires ont démontré le potentiel antitumoral et anticancéreux des flavonoïdes (**Birt DF *et al.*, 2001**; **Yang *et al.*, 2001** ; **Ramos, 2007**).

II.3. Les Composés Tri-terpéniques :

II.3.1. Généralités :

Les Tri-terpénoides sont une classe de métabolites secondaires dont la structure de base est en C₃₀, ce groupe est très répandu dans le règne végétal et animal. Ces composés sont issus de la cyclisation de l'epoxysqualène et quelquefois du squalène. (**Manitto, P., 1981, Dey et Harborne., 1991, Bruneton 1999**).

Ces molécules sont presque toujours hydroxylées en position 3 étant donné l'ouverture de l'époxyde lors de la cyclisation. On dénombre plus de 4000 triterpènes, dérivés de plus de 40 types de squelettes, isolés des sources végétales. Ils peuvent être classés en trois groupes (Bruneton 1999). (Figure 11) :

- Acyclique comme le squalène, surtout rencontré dans le règne animal et qui se trouve également dans l'insaponifiable des huiles végétales (Olive, Lin, Arachide);
- Composés tétracycliques tels que les stéroïdes, les phytostérols et les cycloartanes;
- Composés pentacycliques très fréquents chez les plantes comme les α et β amyrynes.

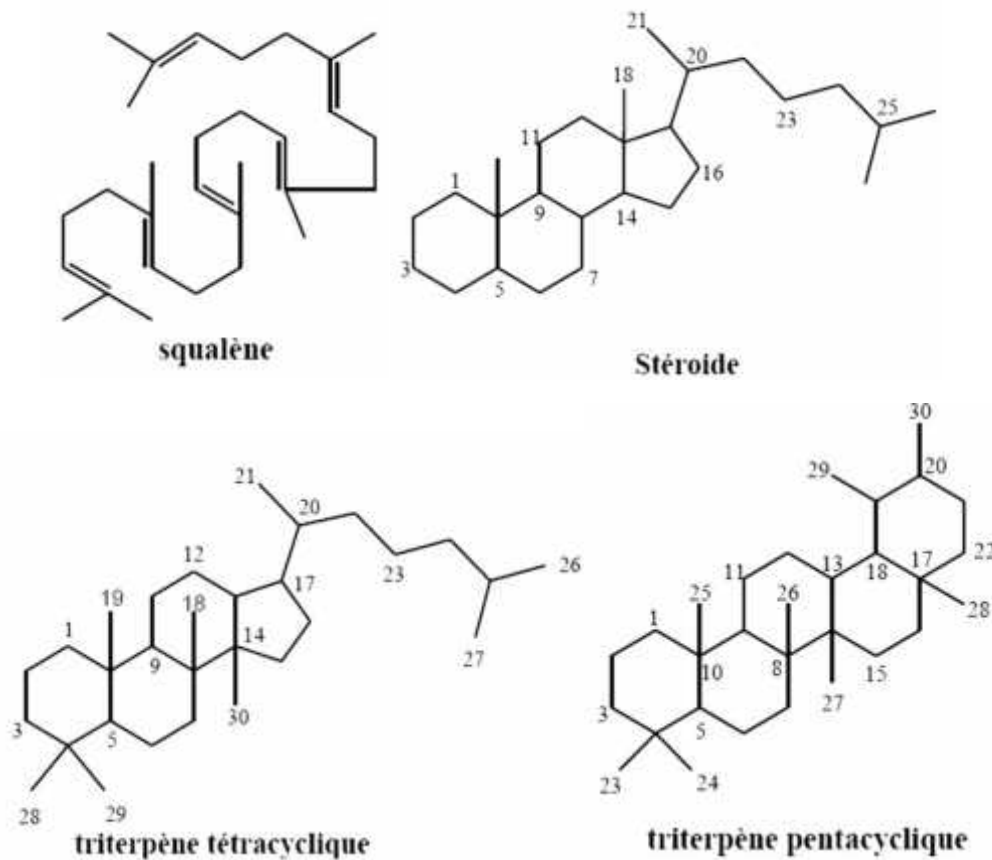


Figure 11 : Différentes classes de Tri-terpénoïdes

II.3.2. Propriétés biologiques des Tri-terpènes :

Les Tri-terpènes, au sens large, présentent un véritable panel d'activités biologiques in vitro. Ces activités sont aussi variées que le sont les structures Tri-terpéniques. Peu d'expérimentations réalisées in vivo ont toutefois permis de valoriser ces activités (**Peirs, 2005**).

II.3.2.1. La Cytotoxicité :

Divers types de squelettes triterpéniques sont potentiellement actifs tels que l'ursanes, oléananes et le lupanes pour lesquels une forte cytotoxicité a été mise en évidence sur des lignées cellulaires tumorales. A contrario, certains stérols ne sont actifs qu'à forte concentration. C'est le cas par exemple du β -sitostérol. Cela a été mis en évidence in vitro où il a été constaté qu'au-delà d'un certain seuil, le β -sitostérol provoque la contraction des cellules endothéliales du cordon ombilical (**Moghadasian, 2000**).

II.3.2.2. Activité anti-inflammatoire :

Des travaux, basés sur le lien éventuel entre la structure Tri-terpénique et l'activité anti-inflammatoire (voie orale et application locale), ont permis de montrer que la présence sur un squelette de base d'un groupement carboxylique en C-28, ou un en C-30 doublé par un groupement hydroxyle en C-28, entraînait une augmentation d'activité (**Recio et al., 1995**). L'activité serait également liée à la conformation adoptée par le Tri-terpène. Diverses structures témoignent de l'activité anti-inflammatoire agissant à divers niveaux (**Akihisa et al., 1994**). Plus récemment, Huguet et son équipe (**Huguet et al., 2000**) ont montré que l'activité des terpènes, de types oléanane et lupane, cible plus particulièrement l'activateur d'un des mécanismes menant à l'inflammation, la protéine kinase C. On associe aussi souvent l'activité anti-inflammatoire aux propriétés analgésiques de certains Tri-terpènes.

II.4. Les Saponines :

Les saponines sont généralement connues comme des composés non volatils, tensio-actifs qui sont principalement distribués dans le règne végétal (**Vincken et al., 2007**). Le nom « saponine » est dérivé du mot latin *sapo*, qui signifie « savon ». En effet, les molécules de saponines dans l'eau forment une solution moussante. C'est d'ailleurs sur leur tensio-activité qu'est fondée l'utilisation multiséculaire de certaines plantes qui renferment : la saponaire (*Saponaria officinalis* L.) (**Bruneton, 2009**).

Les saponines font partie des métabolites secondaires. Ce sont des composés qui servent de défense à la plante. De nombreuses revues rapportent que les saponines existent dans les plantes sous forme biologiquement active et sont impliquées dans la phytoprotection antimicrobienne (**Hostettmann et Marston, 1995**).

II.4.1. Propriétés structurales et classification :

Les saponines peuvent être classées en deux groupes en se basant sur la nature de leur squelette aglycone. Le premier groupe est constitué par des saponines stéroïdiennes, qui se rencontrent presque exclusivement dans les monocotylédones angiospermes. Le deuxième groupe est les saponines triterpénoides, qui sont le plus commun et on le rencontre chez les dicotylédones angiospermes. Quelques auteurs distinguent un troisième groupe appelé amines stéroïdiennes, classé par certains auteurs comme des alcaloïdes stéroïdien (**Sparg et al., 2004**). Les saponosides sont des composés, pour la plupart, très polaires et sont souvent retrouvés sous forme de mélanges complexes dans la plante. Ils possèdent en outre un large spectre de propriétés biologiques et pharmacologiques notamment des propriétés immunomodulatrice, immunoadjuvante, cytotoxique, antitumorale et hypocholestérolémiant (**Lacaille-Dubois, 2000**).

II.4.2. Voie de biosynthèse des Saponines :

Il apparaît qu'un nombre important de plantes synthétisent les saponines triterpéniques, comme une partie de leur programme normal de croissance et de développement ou comme réponse aux attaques pathogènes et au stress (**Osborn et Haralampidis, 2002**).

II.4.2.1. Génines Triterpéniques :

Les sapogénines triterpéniques, comme la majorité des triterpénoïdes, sont issues de la cyclisation du (3S)-2,3 -époxy -2,3 -dihydro squalène (**Bruneton, 2009**). (Figure 12).

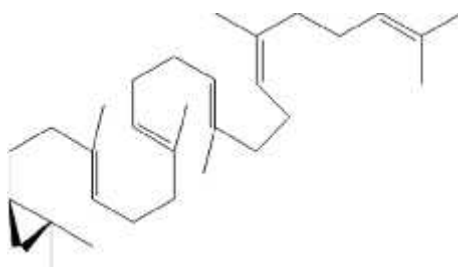


Figure 12 : Structure du 2,3-époxydosqualène (Bruneton, 2009)

Cette cyclisation conduit en premier lieu aux dammaranes, molécules tétracycliques qui existent à l'état d'hétérosides dans des plantes comme le ginseng, ou, lorsqu'elle implique une conformation différente du précurseur, aux cucurbitanes. Ceux-ci, également tétracycliques, ont une distribution restreinte (Cucurbitaceae principalement). Beaucoup plus fréquemment, le composé tétracyclique de type dammarane n'est qu'un intermédiaire qui évolue vers des squelettes pentacycliques : oléananes, ursanes et lupanes qui peuvent eux-mêmes subir quelques réarrangements. De fait, les sapogénines triterpéniques de loin les plus nombreuses sont des molécules pentacycliques : oléanane (on dit aussi dérivés de la β -amyrine), ursane (on dit aussi dérivés de la α -amyrine) et lupane sont les trois squelettes les plus communs. Plus de 50% des saponines connues se rattachent à l'oléanane, en particulier à l'acide oléanolique et à L'hédéragénine (Gaoussou, 2012).

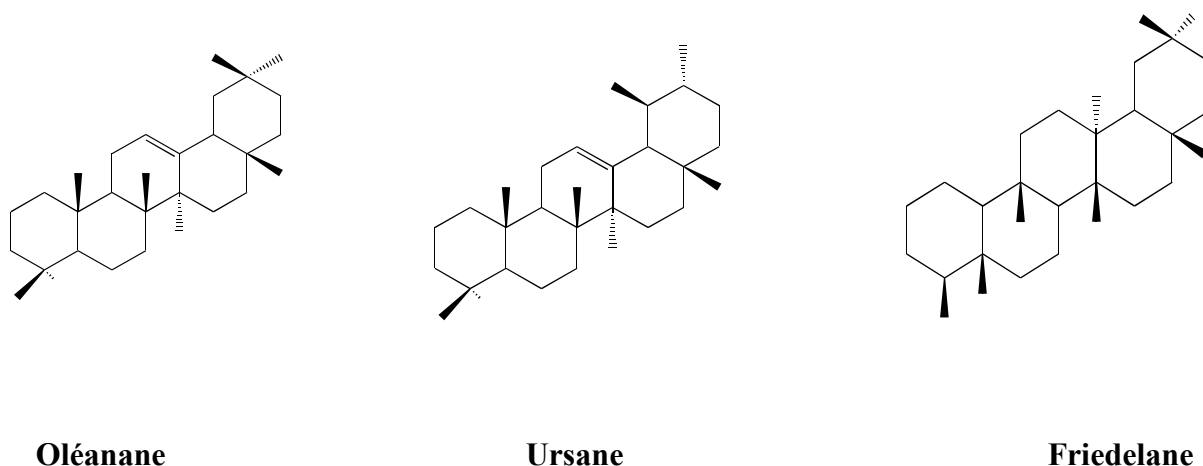
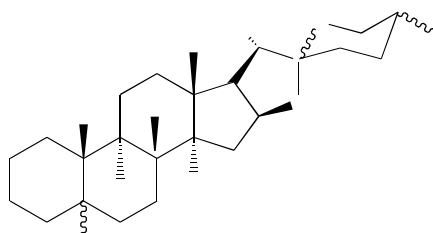


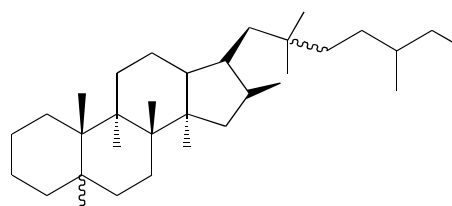
Figure 13: Exemples de génines triterpéniques (Gaoussou, 2012).

II.4.2.2. Génines Stéroïdiques :

Les génines stéroïdiques (c'est-à-dire les sapogénines) possèdent toutes un squelette à 27 atomes de carbone qui comporte habituellement six cycles : les deux cycles E (furanique) et F (pyranique) sont, la conséquence d'une cétylation (mise en contact d'une fonction carbonyle avec deux fonctions alcool) intramoléculeuse qui intervient après l'oxydation en C-16, C-22 et C-26 d'un précurseur cholestanique (Bruneton, 2009)



Spirostane



Furostane

Figure 14 : Principaux squelettes stéroïdiques.

II.4.2.3. Les Sucres :

Les sucres constituent la partie hydrophile des saponines. Ils peuvent être constitués d'une ou plusieurs chaînes osidiques (linéaires ou ramifiées) à des positions différentes sur l'aglycone (**Bruneton, 2009**). Le D-glucose, le D-galactose, le D-xylose, le D-fucose, le D-apiose, le L-arabinose, le L-rhamnose et l'acide D-glucuronique sont les oses les plus fréquemment rencontrés dans la structure des saponosides, cependant la partie osidique de certains saponosides ainsi que les fonctions hydroxyles libres des génies peuvent être substituées par des acides aromatiques ou aliphatiques (**Boutaghane, 2013**).

II.4.2.4. Les Acides Organiques :

Divers acides peuvent est érifier les saponines au niveau de l'aglycone ou au niveau des sucres (**Hostettmann et Marston, 1995**). La figure 15 résume ceux qui sont les plus fréquemment rencontrés

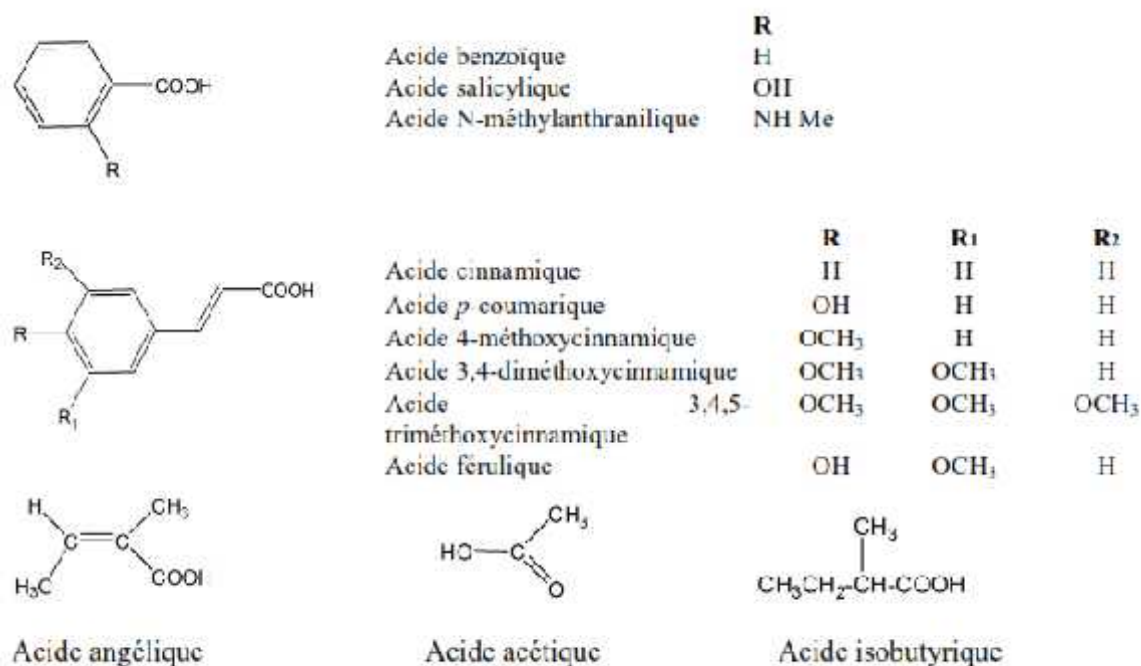


Figure 15 : Les différents acides organiques rencontrés dans les saponosides (**Hostettmann et Marston, 1995**).

II.4.3. Propriétés biologiques des Saponines :

Des travaux des scientifiques sur les saponines ressort que cette classe de molécules possède des propriétés biologiques et pharmacologiques diverses. On peut citer entre autres l'activité anti oxydante, anti-inflammatoire, antifongique, antimicrobienne, antiparasitaire, Cytotoxique, antitumorale, immunostimulante et immunomodulatrice (**Hostettmann et Marston, 1995 ; Lacaille-Dubois et Wagner, 1996 ; Lacaille-Dubois et Wagner, 2000 ; Perez Gutierrez et Vargas, 2002 ; Lacaille-Dubois, 2005**).

II.4.3.1. Activité Hémolytique :

Depuis longtemps, les saponines sont reconnues pour leur capacité à induire la formation de pores au travers des membranes cellulaires et ainsi entraîner l'hémolyse des globules rouges (érythrocytes) (**Gaidi et al., 2002**). Cette propriété a amené la mise en place de tests hémolytiques permettant la détection des saponines dans les extraits de plantes (**Sparg et al., 2004**). Toutefois, la forte activité hémolytique de la plupart des saponines a freiné considérablement leur développement clinique en raison de leur toxicité potentielle lors de traitements donnés sous la forme d'injections intraveineuses (**Wachter et al., 2001**).

II.4.3.2. Activités Cytotoxique et Antitumorale :

De nombreuses saponines possèdent une activité cytotoxique in vitro envers une grande variété de lignées cellulaires cancéreuses. Les valeurs d'IC50 (Concentration d'inhibition 50) mentionnées dans la littérature varient entre environ 4 ng/ml à 20 µg/ml en fonction de la nature de la saponine et de la lignée cellulaire (**Lacaille-Dubois, 2000**).

II.4.3.3. Activité immunomodulatrice :

Actuellement, de nombreux nouveaux vaccins sont en cours de développement parallèlement à l'amélioration des vaccins déjà existants en vue de diminuer le nombre d'injections ainsi que les doses injectées. Il est donc nécessaire d'effectuer des recherches en vue de découvrir de nouvelles molécules qui auront un pouvoir immunostimulant plus important que leurs prédécesseurs. Parmi ces nouvelles molécules, les saponosides semblent être promis à un bel avenir (**Lacaille-Dubois, 1999**).

II.5. Autres Activités

D'autres activités des saponines ont été mises en évidence telle que l'activité hypoglycémiant de *Chenopodiaceae* ou de *Gymnema* d'*Apocynaceae* (**Perez Gutierrez et Vargas, 2002**), ainsi que l'activité hypocholestérolémiant des lanostanes de *Kadsura heteroclita* (**Li et al., 1997**).

CHAPITRE III

Antioxydants et Activités

Biologiques

III.1. Généralités :

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA). Ces notions ne sont toutefois pas nouvelles puisque, vers le milieu des années 50, Gerschman et Hartman avaient déjà évoqué la toxicité de l'oxygène et la « free radical theory » pour expliquer le processus de vieillissement. En 1969, les Américains McCord et Fridovich isolent à partir de globules rouges humains, un système enzymatique antioxydant, le superoxyde dismutase (SOD), capable d'éliminer l'anion superoxyde, démontrant ainsi pour la première fois, que notre organisme produit des EOA. Cette découverte a été le point de départ, dans le monde entier, de nombreuses recherches sur le stress oxydant et les antioxydants **(Haleng, 2007)**.

III.2. Le stress oxydatif :

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants en faveur des premiers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles. La réduction univalente de l'oxygène résulte dans la formation d'espèces oxygénées activées (EOA) dont font partie les radicaux libres (anion superoxyde, radical hydroxyle), le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singlet. Toutes ces espèces sont potentiellement toxiques pour l'organisme, car elles peuvent inactiver des protéines, induire des cassures au sein de l'acide désoxyribonucléique (ADN) avec, comme conséquence, une altération du message génétique, dégrader les sucres, oxyder les lipoprotéines et initier des processus de peroxydation lipidique au sein de la membrane cellulaire en s'attaquant aux acides gras polyinsaturés. En situation normale, les EOA sont produites en permanence par notre organisme (rôle physiologique), mais un système efficace de défenses antioxydantes (vitamines, enzymes, oligoéléments) permet de réguler cette production afin de prévenir tout dégât cellulaire excessif. Dans certaines conditions, une surproduction d'EOA due à l'activation de divers mécanismes biochimiques peut submerger rapidement les défenses antioxydantes : c'est le stress oxydatif. Celui-ci est de plus en plus impliqué pour expliquer les dégâts cellulaires observés dans les états inflammatoires aigus, le vieillissement, le cancer, le diabète et les maladies cardiovasculaires **(Pincemail, 1999)**.

III.2.1. Les espèces réactives de l'oxygène :

L'oxygène est un radical libre peu réactif, présent le plus souvent sous forme de dioxygène. Physiologiquement et dans certaines circonstances, il est à l'origine de la formation de dérivés plus réactifs appelés espèces réactives oxygénées (ERO). Ces molécules sont très nombreuses, de forme radicalaire (contenant un électron non apparié) ou non. Il existe de très nombreuses ERO, mais les plus importantes sont l'ion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle, l'hypochlorite et le peroxydant (Figure 16). L'ion superoxyde est formé spontanément ou par certaines enzymes comme les oxydases ou les complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale. Peroxyde d'hydrogène par l'enzyme superoxyde dismutase. Cette molécule est plus stable que l'ion superoxyde. Elle est dégradée en eau et oxygène par la catalase et la glutathion peroxydase. En présence de métaux de transition sous forme libre (fer et cuivre), elle peut donner naissance au radical hydroxyle qui est la plus réactive et donc la plus toxique des ERO (Ichai *et al*, 2011).

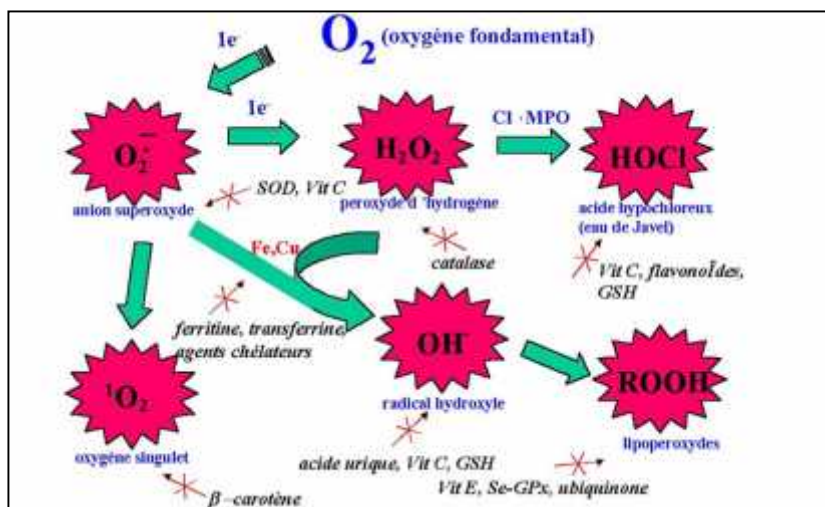


Figure 16 : Aperçu des espèces oxygénées activées (EOA) dérivant de l'oxygène et systèmes de protection permettant de limiter l'effet toxique de ces espèces. GSH : glutathion, Cl- : anion chlorure ; MPO : myéloperoxydase, SOD : superoxyde dismutase, Se-GPX : glutathion peroxydase séléno-dépendante (Pincemail, 1999).

III.2.2. Les cibles biologiques des EOA

III.2.2.1. Peroxydation lipidique :

Les acides gras polyinsaturés (RH) comme l'acide linoléique ou arachidonique sont les cibles privilégiées des EOA et plus particulièrement des radicaux libres (**Pincemail, 1999**). Les Conséquences seront différentes : l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL (lipoprotéines de densité légère) oxydées (Figure 16) qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (**Favier, 2003**).

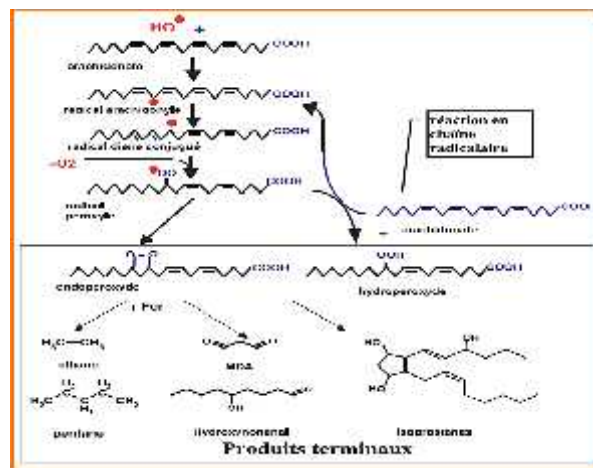


Figure 17 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (**Favier, 2003**).

III.2.2.2. Oxydation des protéines :

Les modifications des structures primaire, secondaire et tertiaire des protéines par les EOA sont à la base de la formation de dérivés protéiques carbonylés via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés (**Pincemail, 1999**). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées (**Favier, 2003**) (Figure 17).

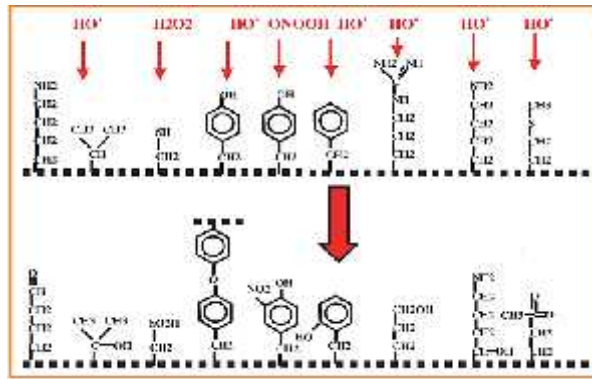


Figure 18 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

III.2.2.3. Oxydation de l'ADN :

Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation. L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées tel que les 8 oxo guanines, la formamidopyrimidine (Favier, 2003), et le 8-hydroxy-2' déoxyguanosine (8-OH2DG) (Figure 18) qui est capable d'induire des mutations spécifiques pouvant conduire au développement du cancer (Pincemail, 1999).

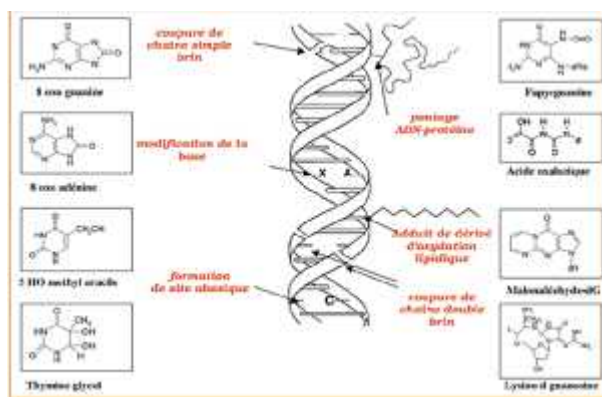


Figure 19 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003).

III.3. Les Antioxydants :

Les antioxydants sont des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaine de peroxydation, en réagissant rapidement avec un

radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (Yaacoub, 2009 ; Hellal, 2011). On peut distinguer plusieurs types d'antioxydants.

III.3.1. Les antioxydants enzymatiques :

Trois enzymes ont un rôle essentiel dans la détoxification des espèces réactives de l'oxygène. La superoxyde dismutase (SOD) catalyse la conversion de deux ions super-oxydes et deux protons en peroxyde d'hydrogène et oxygène (Fridovich, 1995). On la retrouve dans un grand nombre d'organismes vivants soulignant ainsi son importance (Richier *et al*, 2003). La catalase transforme le peroxyde d'hydrogène en oxygène et eau, diminuant ainsi sa demi-vie et atténuant de ce fait la génération de radicaux hydroxyles. C'est un complexe tétramérique contenant un hème, localisé essentiellement dans les peroxysomes. La catalase est liée au NADPH qui la protège et améliore son activité (Ichai *et al*, 2011).

La glutathion peroxydase catalyse l'oxydation du glutathion aux dépens du peroxyde d'hydrogène (Levrault *et al*, 2003). Elle peut aussi réagir avec d'autres substrats comme les lipides expliquant son rôle protecteur vis-à-vis de la peroxydation lipidique. Son site actif contient du sélénium et elle a besoin de glutathion réduit pour fonctionner. C'est une enzyme ubiquitaire. Dans la cellule, on la trouve essentiellement dans le cytosol et les mitochondries. C'est une des défenses antioxydantes les plus importantes de l'organisme (Ichai *et al*, 2011).

III.3.2. Les antioxydants non enzymatiques :

Le glutathion est un tri peptide composé de cystéine, glutamine et glycine. C'est la plus importante des défenses antioxydantes en quantité et probablement en qualité. Il possède une activité antioxydante propre, mais surtout en tant que cofacteur de la glutathion peroxydase. Une fois oxydé en glutathion disulfure, il est réduit par la glutathion réductase en présence de NADPH. Le couple glutathion disulfure/glutathion est le principal responsable thiol de la balance redox intracellulaire (Ichai *et al*, 2011).

Les vitamines A, C et E ont aussi des propriétés antioxydantes. Les vitamines C et E permettent leur régénération mutuelle après oxydation (Article) (Ichai *et al*, 2011). En ce qui concerne les plantes médicinales bien connues et économiquement importantes, nous pouvons citer l'ail (*Allium sativum* L ; Liliaceae) et le ginkgo (*Ginkgo biloba* L ; Ginkgoaceae) qui sont utilisés

Dans le traitement des maladies cardio-vasculaires et circulatoires (**Igor, 2002**) pour leurs métabolites secondaires qui jouent le rôle d'antioxydant on peut citer comme exemple :

Les flavonoïdes : Les relations structure activités antioxydantes des flavonoïdes et des composés phénoliques ont montré que l'activité antioxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation (**Igor, 2002**).

Les tanins : ce sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (**Cavin, 1999**).

Les coumarines : les coumarines sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes.

Les conditions structurales requises pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes (**Igor, 2002**).

Les phénols : Parmi les dérivés phénoliques, le resvératrol est le composé qui est le plus étudié. En effet, ce stilbène, isolé du raisin possède de fortes propriétés antioxydantes (**Igor, 2002**).

Les xanthones : La manguiférine est une xanthone qui possède la propriété d'inhibition envers la peroxydation des lipides, ainsi que des propriétés de capteurs de radicaux libres contre les anions super oxydes (**Diallo, 2005**).

III.4. Mécanisme d'action des antioxydants :

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la complexation d'ions et de métaux de transition (**Favier, 2006**). Les antioxydants naturels semblent contribuer de manière significative à la prévention des maladies telles que le cancer ou encore des maladies cardio-vasculaires (**Diallo, 2005**).

Tableau 06 : mécanisme d'action de quelques antioxydants

	Nature	Mode d'action
Antioxydants non	Vitamine E	Neutralise les radicaux libres
	Vitamine C	Participe à la réaction d'oxydoréduction
	Bêta-carotène	Fixation des métaux de transition
Antioxydants Enzymatique	Superoxyde dismutase	Catalyse la dismutation de l'anion superoxyde
	catalase	Métabolise H ₂ O ₂
	Glutathion peroxydase	Action réductrice sur H ₂ O ₂ et les hydro-péroxydes

III.5. Quelques activités biologiques antioxydantes :

III.5.1. Test du 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH) :

Le test de DPPH est le plus ancien des tests indirects pour détermination de l'activité antioxydante. Le DPPH a été suggéré la première fois en 1950 comme un produit naturel donneur de proton plus tard, le test a été quantifié pour déterminer le potentiel antioxydant des composés phénoliques individuels et de la nourriture ainsi que des échantillons d'intérêt biologique (**Roginsky et Lissi, 2005**) le radical DPPH porte une couleur pourpre foncée est c'est l'un des rares radicaux d'azote organique stable.

Le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α , α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (**Blois, 1958; Brand-Williams et al, 1995**). La stabilité de ce radical résulte de la délocalisation importante de l'électron célibataire sur la totalité de la molécule empêchant ainsi la dimérisation de se produire comme c'est souvent le cas pour les autres radicaux. D'autre part, cette délocalisation est à l'origine de la coloration violette en solution éthanolique ou méthanolique caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 517 nm.

III.5.2. Test de l'activité anti radicalaire pour le radical ABTS^{•+} :

L'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) est un radical libre et stable très utilisé pour l'évaluation du pouvoir antioxydant des fluides biologiques, des mélanges complexes ou bien des composés purs. Ce radical est capable de réagir avec des antioxydants classiques de type phénols et thiols, mais aussi avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron (Rice-Evans et Miller, 1994 ; Rice-Evans *et al* 1995).

III.5.3. Test de Blanchissement de la Bêta-carotène :

Le potentiel antioxydant d'un extrait végétal peut être évalué par la détermination de la capacité d'inhibition de l'oxydation du β -carotène. Dans ce teste, l'oxydation de l'acide linoléique produit des radicaux peroxydes qui attaque les onze doubles liaisons du β -carotène, ce qui entraîne une décoloration de cette dernière mesurée spectre-photo-métriquement à 470 nm. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchiment du β -carotène (Kubola et Siriamornpun, 2008).

III.5.4. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC) :

C'est une méthode développée par Apak et al en 2004. Le Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre CUPRAC (cuivrique Réduire Antioxydant Capacité) est une méthode de mesure du potentiel antioxydant utilisée pour une grande variété de polyphénols, y compris les acides phénoliques, les acides hydroxy cinnamiques, flavonoïdes, les caroténoïdes, les anthocyanines, ainsi que pour des thiols et les antioxydants synthétiques, les vitamines C et E (Özyürek *et al.*, 2011).

II.5.5. Méthode TRAP (Total Radical Trapping Antioxidant Parameter) :

La méthode TRAP a été développée par Wayner (Wayner, *et al.* 1985) en 1985 et est basée sur la mesure d'oxygène consommé lors d'une réaction de peroxydation lipidique. Cette réaction d'oxydation est induite par la décomposition thermique de l'AAPH (dichlorhydrate de 2,2'-azobis-2-méthyl-propanimidamide) qui permet de générer un radical peroxy. Les résultats sont exprimés en μ moles de radicaux peroxy les captés par litre de milieu étudié.

II. 5.6. Méthode de la RPE :

Parmi les techniques mises au point pour mesurer l'activité antioxydante de composés, l'utilisation de la Résonance Paramagnétique Electronique (R.P.E.) est satisfaisante, spécialement lorsque des mécanismes radicalaires sont mis en jeu. En effet, l'analyse du spectre obtenu en R.P.E. est spécifique du radical étudié (figure 15).



Figure 20. Spectromètre ESP300E Bruker.

La RPE, outre le fait qu'elle permette l'identification du radical étudié, a la capacité de détecter les radicaux libres dès les plus faibles concentrations (seuil de sensibilité $\sim 10^{-8}$ M). Sa précision en fait un des outils de choix pour l'étude de l'activité antioxydante de composés biologiques ou de molécules (Rimbach *et al.*, 1999). Les mesures effectuées en R.P.E. se basent sur deux techniques différentes, le « spin-labelling » et le « spin-trapping ».

II. 5.7. Méthode TRAP (Total Radical Trapping Antioxidant Parameter) :

La méthode TRAP a été développée par Wayner (Wayner, *et al.* 1985) en 1985 et est basée sur la mesure d'oxygène consommé lors d'une réaction de peroxydation lipidique. Cette réaction d'oxydation est induite par la décomposition thermique de l'AAPH (dichlorhydrate de 2,2'-azobis-2-méthyl-propanimidamide) qui permet de générer un radical peroxy. Les résultats sont exprimés en μ moles de radicaux peroxy captés par litre de milieu étudié.

II. 5.8. Méthode ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) :

La méthode ORAC permet de mesurer la capacité d'un composé étudié à préserver une sonde de fluorescence de l'oxydation par un radical peroxyde. Comme pour la méthode TRAP, le radical peroxyde est formé à partir de l'AAPH. La réaction de ce radical avec la sonde de fluorescence s'accompagne d'une perte de la fluorescence. L'effet protecteur d'un antioxydant contre les radicaux peroxydes est ainsi déterminé par comparaison de la variation de fluorescence en présence ou non d'un composé potentiellement antioxydant. Durant les premiers travaux, la B-phycoérythrine (B-PE) était utilisée comme sonde de fluorescence (Cao *et al.*, 1993 ; Cao *et* Prior, 1999). Cette méthode a été remplacée avec succès par la fluorescéine (Ou *et al.*, 2001) et la dichlorofluorescéine (Valkonen *et* Kuusi, 1997).

II. 5.9. Méthode TOSC (Total Oxyradical Scavenging Capacity):

Cette méthode, développée par Winston (Winston *et al.* 1998), utilise la réaction d'oxydation de l'acide 2-céto-4-méthiobutyrique (KMBA) en éthylène par un radical peroxyde. Ce radical est formé à partir de l'AAPH et la formation d'éthylène est mesurée par chromatographie gazeuse. Le pouvoir antioxydant d'un composé est évalué par sa capacité à inhiber la formation d'éthylène.

II. 5. 10. Méthode du métal chélatant :

Cette méthode se base sur la complexation par le ferreux-Fe²⁺, l'EDTA (l'acide éthylènediaminetétraacétique) est utilisé comme standard (Decker *et al.*, 1990).

III.6. les dosages des flavonoïdes :

III. 6.1. Les différentes classes de flavonoïdes :

Plusieurs classes de flavonoïdes ont été proposées selon le chemin biosynthétique (Figure 20) (Bruneton, 1999)

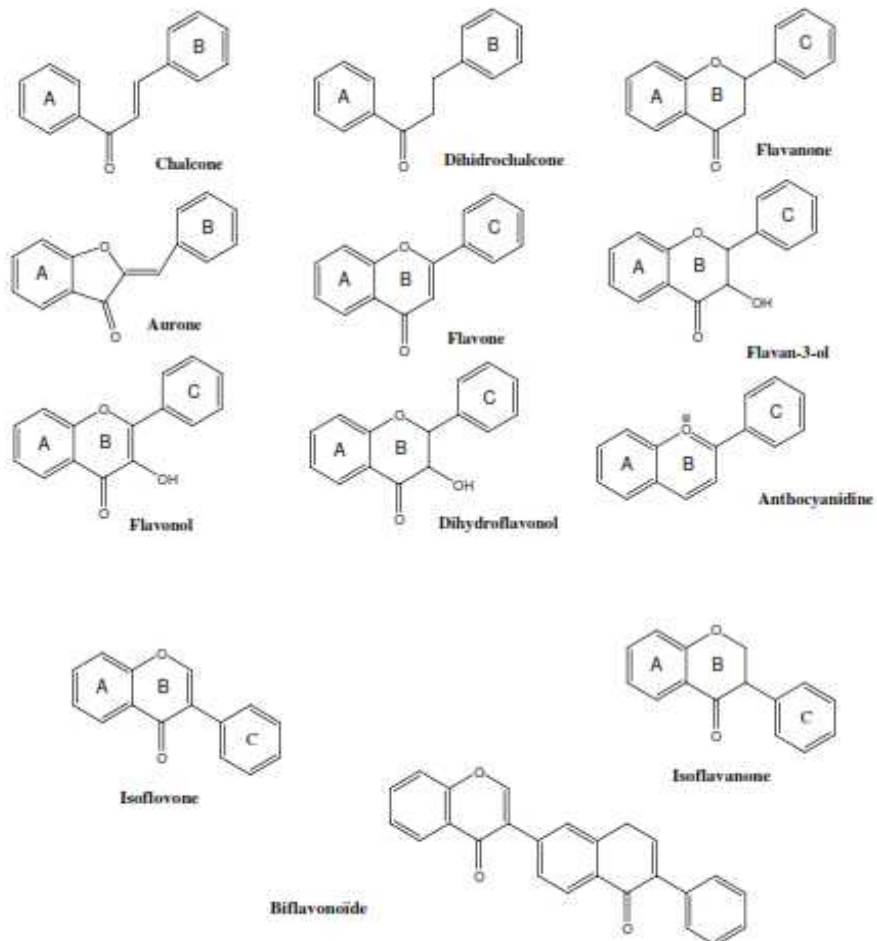


Figure 21 : Les différentes classes de flavonoïdes.

III.6.2. Propriétés physico-chimiques pour les flavonoïdes :

III.6.2. 1. Solubilité des flavonoïdes :

En présence d'un solvant, la structure du flavonoïde pourrait être différente selon les diverses interactions (type hydrophobe, liaisons hydrogène, type électrostatique...). (**Mompon *et al.*, 1996 ; Saidman *et al.*, 2002**).

Les différences structurales au sein d'une même famille sont tellement importantes qu'il est difficile d'estimer la solubilité d'un composé dans un solvant. Toutefois, les flavonoïdes sont faiblement solubles dans l'eau (**Abou El Hassan *et al.*, 2000 ; Benavente- García *et al.*, 2001 ; Calias *et al.*, 1996 ; Pulley, 1936 ; Walle, 2004**).

III.6. 2. 2. Absorptions des rayonnements UV :

Les spectres UV des flavonoïdes permettent d'observer deux bandes d'absorption principales dans la région 240-400 nm. La bande I (300-395 nm) due à l'absorption de la partie cinnamoyle (noyau B) du flavonoïde et de la bande II (240-280 nm) qui est associée à l'absorption de la partie benzoyle (figure 22) (**Harborne *et Williams*, 2000**).

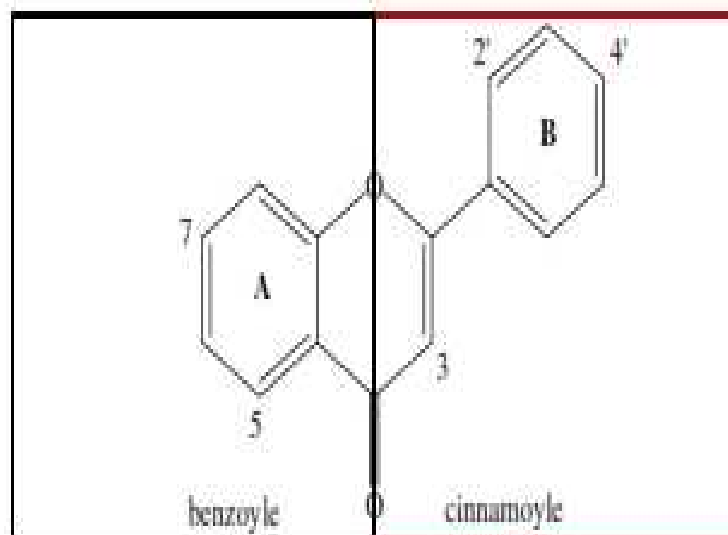


Figure 22 : Partie benzoyle et partie cinnamoyle d'absorption en UV (bande I et bande II).

Un grand nombre de flavonoïdes ont été étudiés en UV-visible, en présence d'une série de réactifs conduisant à des observations et conclusions dressées dans le tableau 7 (Harborne, 1989; Markham, 1982; Voirini, 1983).

Tableau 7 : Absorption UV des flavonoïdes dans le méthanol (Harborne, 1989; Markham, 1982; Merghem; 2009; Voirin, 1983) :

Classe des flavonoïdes	λ max (nm)	
	Bande II	Bande I
Flavonols	250-280	330-385
Quercétine	255, 269 s	301 s, 370
Quercétine 3-O-glucoside	257, 269 s	299 s, 362
Hespéretine	288	300 s
Taxifoline	290	327 s
Flavones	250-280	310-350
Chryisine	247s, 268	313
Apigénine	267, 296 s	336
Favanone et dihydroflavanol	275-295	300-330
Flavanol	270-280	-
Chalcone	230-270	340-390
4'-Hydroxychalcone	-	328
2', 4, 4'-Trihydroxychalcone	-	367
Aurone	230-270	380-430
4-Hydroxyaurone	-	389
6, 3', 4'-Trihydroxyaurone-6-glucoside	-	405
Anthocyane	270-280	465-560

Cyanidin-3-glucoside	274	523
Pelargonidine 3,7-diglucoside	279	498
Isoflavones	245-275	310-330
Daidzeine	238 s, 249	260 s, 303 s

En absence d'hydroxyle en position 3 (cas des flavones), la longueur d'onde de la bande I est plus courte de 20 à 30 nm. La méthylation comme la glycosylation, en particulier sur les hydroxyles en position 3, 5, 7, 4', provoquent un déplacement hypsochrome vers les longueurs d'ondes plus courtes. Toutefois, la nature du sucre n'a généralement pas d'effet (Markham, 1982). Pour l'acylation, peu de données existent sur l'effet de cette réaction sur les propriétés spectrales des flavonoïdes.

III.6. 2. 3. Stabilités des flavonoïdes :

La lumière, le pH, la température, la nature du solvant, la présence d'enzyme, d'ion métallique ou non, d'oxydant exercent une influence sur la stabilité des flavonoïdes (Fargeix, 2000).

Des travaux sur la cinétique d'oxygénation des flavonoïdes ont été décrits (Balogh-Hergovich et Speier, 2001 ; Barhacs *et al.*, 2000 ; Fargeix, 2000 ; Mochizuki *et al.*, 2002 ; Ramos-Tejada *et al.*, 2002) (figure 23).

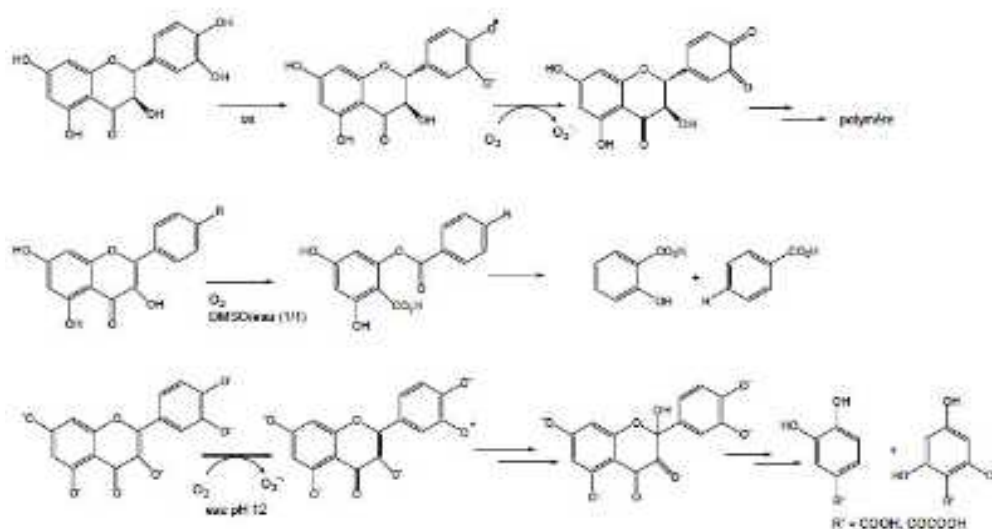


Figure 23 : Exemples d'autoxydation de flavonoïdes

(Fargeix, 2000 ; Balogh-Hergovich et Speier, 2001 ; Mochizuki *et al.*, 2002).

Les substituants (alkyle, alcoxy, glycosyle) interviennent également dans la stabilité des flavonoïdes (Friedman et Jurgens, 2000 ; Makris et Rossiter, 2002 ; Smith *et al.*, 2000 ; Ungar *et al.*, 2003).

Par exemple, la quercétine 3-O-galactoside et la rutine ont une photostabilité et une thermorésistance plus élevées que la quercétine (Makris et Rossiter, 2002 ; Smith *et al.*, 2000).

III. 6.2.4. Effet des flavonoïdes :

Les flavonoïdes ont trouvé plusieurs applications comme :

- Complexant réversible et irréversible : (Charlton *et al.*, 2002 ; Cornard et Merlin, 2002a ; Cornard et Merlin, 2002 b ; Ficarra *et al.*, 2002 ; Le Nest *et al.*, 2004 ; Tommasini *et al.*, 2004 ; Walle *et al.*, 2003 ; Zhu *et al.*, 2002 ; Zsila *et al.*, 2003).
- Inhibiteurs d'enzymes (Arockia Babu *et al.*, 2002 ; Chi *et al.*, 2001 ; Havsteen, 2002 ; Sadik *et al.*, 2003).
- Photo-protecteurs (Bonina *et al.*, 1996 ; Saija *et al.*, 2003 ; Saliou et al., 1999 ; Zhai et Maibach, 2002 ; Zhang *et al.*, 1997).
- Anti- HIV, antiviral (Formica et Regelson, 1995 ; Mantas *et al.*, 2000).
- Anti-inflammatoires et anti-tumoraux (Di Carlo *et al.*, 1999 ; Formica et Regelson, 1995).
- Protecteurs des cartilages, inhibiteurs de la dégradation du protéoglycane et traitement de l'arthropathie (Watanabe *et al.*, 1993 ; Watanabe *et al.*, 1994 a ; Watanabe *et al.*, 1994 b).
- Antibactériens (Alcaraz *et al.*, 2000 ; Syuchi *et al.*, 2006).
- -Traitement d'anomalies thrombotiques et artérioscléreuses (Cavazza, 2003).
- Anti-angiogéniques (Matsubara *et al.*, 2004).
- Dans la prévention du cancer et des maladies cardio-vasculaires (Manach *et al.*, 1996).
- Dans le traitement et la prévention des maladies liées à l'hyperlipidémie (Bok *et al.*, 2001).
- veinotoniques, analgésiques, antiallergiques, antispasmodiques, oestrogéniques et/ou anti-oestrogéniques, (Basile *et al.*, 1999 ; Galvez *et al.*, 1993a ; Galvez *et al.*, 1993b ; Goodarzi *et al.*, 2006 ; Martini *et al.*, 2004 ; Ouali *et al.*, 2007).

- Antioxydants et anti-radicalaires (**Burda et Oleszek, 2001 ; Rice-Evans et al., 1996 ; Van Acker et al., 1996**).

L'activité antioxydante a été la plus étudiée. Une relation structure-activité qui a été établie montre la nécessité de la présence d'un squelette 3',4',5-trihydroxyflavonol nécessitant également la présence d'un substituant OR en position 3 (**Aliaga et Lissi, 2004 ; Heim et al., 2002 ; Van Acker et al., 1996**) :

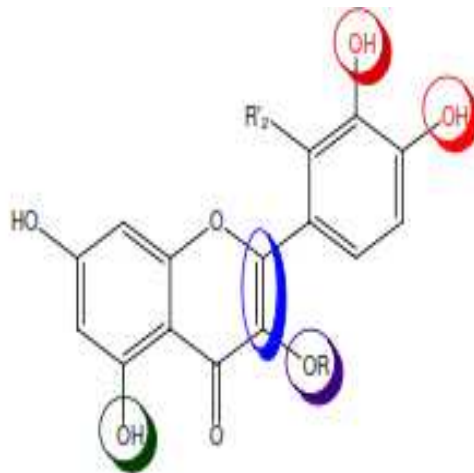


Figure 24 : Éléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes.

III. 6.3. Biosynthèse des flavonoïdes :

La biosynthèse des flavonoïdes se fait par deux voies principales qui sont :

- La voie de shikimate, c'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde (**Kening et al, 1995**), dans cette voie, l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénol pyruvate sont produits par les hydrates de carbones lors de leur dégradation par la voie des pentoses et la glycolyse respectivement, ces dernières sont à l'origine des composés phénoliques C6 – C1 formant les tannins hydrolysables et de la chalcone qui est la molécule de base de tous les flavonoïdes et tannins condensés (**Haslam, 1994 ; Dewick, 1995**). Aussi, il est intéressant de préciser que la tyrosine et la phénylalanine dérivent

de cette voie métabolique. En effet, ces deux acides aminés sont des intermédiaires métaboliques entre l'acide shikimique et l'acide cinnamique.

- La voie malonate : cette voie se produit aussi par les carbohydrates, La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl CoA donnant le malonate, C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités "Acétate" qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA, Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase, 3 molécules d'acétyl CoA pour le cycle A qui dérive de la voie acétate malonate (**Fleeger et Flipse 1964, Richter 1993**).

C'est alors à partir de la chalcone ainsi formée par cette condensation chimique que vont être mis en place les flavonoïdes appartenant aux diverses classes, en particulier des pigments comme les anthocyanes, les flavonols, ou certains monomères de type flavonols dont la polymérisation conduira aux tannins condensés. Cette biosynthèse des flavonoïdes se fait par un intermédiaire commun, la 4,2',4',6'- tétrahydroxychalcone.

Cette chalcone de couleur jaune est métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérase, en flavanone : naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavone synthase ou la (2S)-flavanone-3-hydroxylase pour donner la formation de la flavone : apigénine ou le dihydroflavonol : (2R, 3R)-dihydrokaempférol, respectivement. Les deux enzymes fonctionnent différemment, la première introduit la double liaison entre les carbones C-2 et C-3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du carbone C-3. Le dihydroflavonol, en présence de la flavonolsynthase ou la dihydroflavonol-4-réductase, se métabolise en flavonol : kaempférol ou en flavan-3,4-diol : leucoanthocyanidol, respectivement. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3-ols et anthocyanidols. Cependant, les étapes ultimes de leur formation ne sont pas encore élucidées. Le pélagonidol, sous l'action de la 3-O-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside : pélagonidol-3-glucoside

III. 6.4. Méthodes utilisées pour l'extraction des Flavonoïdes :

Les flavonoïdes peuvent être extraits selon le protocole général de tous les métabolites secondaires, basé sur la macération dans un système hydro-alcoolique suivie de l'extraction liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante (éther de pétrole, dichlorométhane ou chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol). Les flavonoïdes aglycones polyméthoxylés sont plus fréquents dans les extraits apolaires alors que les flavonoïdes moglycosylés et aglycones polaires se trouvent plus généralement dans l'extrait acétate d'éthyle. Les flavonoïdes polyglycosylés sont plus fréquents dans l'extrait n-butanol. Cependant, le protocole spécifique visant l'extraction des flavonoïdes au détriment d'autres métabolites secondaires, s'articule sur l'utilisation de l'eau bouillante suivie de l'extraction liquide-liquide en utilisant l'acétate d'éthyle et le n-butanol.

Chapitre IV

**Etude des activités
phénoliques et
antioxydantes totales dans
le jardin géotypes de pois
(*Pisum sativum* L.)**

IV.1. Variations des activités phénoliques et antioxydants totales :

Ce chapitre est une comparaison des métabolites chimiques et du phénotype externe d'un groupe de 22 espèces de pois. Ce travail a été réalisé par un groupe de chercheurs (**Jyoti Devia, , Satish K. Sanwala,b, Tanmay Kumar Koleya,c, Gyan P. Mishraa,d, P. Karmakara, P.M. Singha, B. Singha , 2019**), Cet travail a été publié dans *Scientia Horticulturae* en 2019

IV .1.1. Lieu d'étude :

Agro climatiquement, l'emplacement expérimental était au centre de la Région de plaine gangétique de l'Inde. Le sol de la parcelle expérimentale était neutre avec un pH de 7,4 et la texture du sol était un limon-limon contenant du carbone organique 0,45 %, azote disponible 178 kg ha⁻¹, phosphore disponible (P₂O₅) 52,0 kg ha⁻¹ et potasse disponible (K₂O) 340 de kg ha⁻¹. La moyenne des données météorologiques hebdomadaires telles que le minimum, le maximum et la température moyenne (°C) ; humidité élevée et faible (%), vitesse du vent (km/h), précipitations (mm) et longueur du jour (h) pour la saison culturale des mois de novembre à avril de l'année 2015-2016 ont été obtenus auprès d'observatoire météorologique situé à l'Institut de Recherche sur les légumes, ICAR-Indian Varanasi, Inde

IV .1.2. Matériel végétal et conception expérimentale :

Le matériel végétal consistait en 22 génotypes divers de pois verts, appartenant à différents groupes de maturité (sur la base des jours passés à 50 % de floraison), hauteur de la plante (courte, moyenne et haute), couleur de la fleur (blanche et violet), la forme de la graine (ridée/alvéolée/ronde) et la couleur de la graine mature (par rapport aux nuanciers de la Royal Horticultural Society, 1804).

Parmi ces génotypes, deux génotypes à savoir, VRPD -2 et Le VRPD - 3 étaient du type à gousses comestibles (Tableau 8). L'évaluation sur le terrain des génotypes pour le rendement et les caractères contribuant au rendement a été réalisée en conception de blocs randomisés (RBD) avec trois réplifications. La taille de la parcelle pour l'évaluation sur le terrain a été maintenue à 3,0 m² pour chaque génotype et à l'intérieur de la parcelle, l'espacement ligne à ligne et plante à plante ont été conservées à 30 × 10 cm. Les plantes ont été irriguées par un système d'irrigation par aspersion, tandis que d'autres pratiques agronomiques standard ont été simultanément suivies pour élever une culture saine. Les

graines et Gousses de pois verts frais au stade comestible (VRPD-2 et VRPD-3) ont été utilisées pour les composés phénoliques totaux, les flavonoïdes totaux et les antioxydants sont estimés en triple

Tableau 8 : Description détaillée des génotypes de pois de jardin pour les caractères des plantes, des fleurs et des graines. (Jyoti Devia, Satish K. Sanwal , 2019)

S. No.	Genotypes	Maturity group	Plant height	Flower colour	Seed Shape	Mature Seed Color
1	VRPE100	Early	Medium	White	Wrinkled	GGG194B
2	VRPE101	Early	Short	White	Wrinkled	GGG194B
3	Kashi Ageti	Early	Short	White	Wrinkled	GGG195B
4	Kashi Namdini	Early	Medium	White	Dimpled	GGG194B
5	Kashi Udai	Early	Short	White	Dimpled	GGG194B
6	Arndi Des-3	Early	Medium	White	Wrinkled	GGG194B
7	Arki	Early	Short	White	Wrinkled	GGG194B
8	PC-531	Mid	Medium	White	Wrinkled	GGG195A
9	VRPD-2	Mid	Tall	White	Dimpled	GGG195B
10	VRPD-3	Mid	Tall	White	Dimpled	GGG195A
11	VRPB 1	Mid	Tall	White	Wrinkled	EYG161B
12	Kashi Shakti	Mid	Tall	White	Wrinkled	GGG195A
13	VRP-343	Mid	Tall	White	Round	EYG162C
14	VRP-333	Mid	Tall	Purple	Dimpled	GGG165A
15	NO-17	Mid	Tall	White	Round	EYG161C
16	EC-9485	Mid	Tall	Purple	Dimpled	GGG165B
17	VRPB-5	Mid	Tall	White	Wrinkled	EYG161C
18	Arka Aji	Mid	Tall	White	Dimpled	GGG195C
19	Kashi Samridhi	Mid	Tall	White	Round	DWG155A
20	VRPMS 10	Late	Tall	White	Wrinkled	YWG155A
21	VRP-347	Late	Medium	White	Round	EYG161C
22	VRP-393	Late	Tall	White	Wrinkled	GGG195B

IV .1.3. Analyse biochimique :

IV .1.3.1. Préparation des échantillons

Pour l'évaluation des activités phénoliques totales, flavonoïdes totaux et antioxydants, 2,0 g d'échantillon de chaque génotype ont été extraits dans 5 ml d'éthanol (80 %) par agitation (30 min) et centrifugation pendant 15 min à 19 838 tures à 4 °C et le surnageant a été recueillie dans un tube à essai. Ensuite, le résidu a été réextrait deux fois avec 5 ml d'éthanol à 80 % et centrifugé. Tous les surnageant ont été collectés et conservés à -20 °C pour une analyse ultérieure.

IV .1.3.2. Teneur totale en phénoliques (TPC) et teneur totale en flavonoïdes (TFC) estimation :

L'estimation du TPC a été réalisée par spectrophotométrie en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). Dans une aliquote d'échantillon de 100 µL, ajouté de l'eau déionisée (2,9 ml), du réactif folin-ciocalteu (0,5 ml) et une solution de Na₂CO₃ à 20 % (2,0 ml) et le mélange ont été conservés pendant 90 min dans une Température de pièce. Ensuite, l'absorption de la solution a été mesurée par spectrophotométrie à 760 nm, et le résultat a été exprimé par équivalent d'acide gallique (mg GAE/100 g de poids corporel). La teneur totale en flavonoïdes a été évaluée à l'aide de la méthode chlorure

d'aluminium (**Zhishen et al., 1999**). Une aliquote de 1 ml de chaque échantillon était prise dans une fiole jaugée de 10 mL contenant 4,0 mL d'eau distillée, 0,3 ml de NaNO₂ (5 %) et 0,3 ml d'AlCl₃, 6 h 2 O (10 %). Conservé pendant 6 min à température ambiante, après 2,0 ml de Na-OH (1 N) sont ajoutés, et la solution a été diluée à 10 ml en utilisant de l'eau distillée. L'absorbance de la solution par rapport au blanc a été immédiatement mesurée à 510 nm, et les résultats sont présentés en équivalent catéchine (mg CE/100 g FW).

IV .1.3.3. Détermination des activités antioxydants :

IV .1.3.3.1. A. Ferric Réduction du pouvoir antioxydant (FRAP) :

FRAP était estimé comme décrit par (**Benzie et Strain .1996**). En bref, le mélange réactionnel comprend un tampon acétate (300 mM; pH 3,6), TPTZ (10 mM) dans HCl (40 mM) et FeCl₃ (40 mM) dans un rapport 10 : 1 : 1 (v/v/v). L'extrait d'échantillon (100 µL) a été mélangé avec du réactif FRAP (3,0 ml), vortexé et incubé à 37 °C dans un bain-marie pendant 30 min. Puis, en raison de la réduction de la tripyridyltriazine ferrique en complexe ferreux, il y a une formation d'un complexe de couleur bleu intense, qui a été mesurée par spectrophotométrie à 593 nm et les résultats sont exprimés en µmol Équivalent Trolox (TE)/g FW.

IV .1.3.3.2. Capacité antioxydante réductrice cuivrique (CUPRAC) :

UPRAC l'analyse a été réalisée comme décrit par (**Apak et al. 2005**). Brièvement, une aliquote d'échantillon de 100 µL a été mélangée avec 1,0 mL de cuivre (II) solution de chlorure (10⁻² M), solution de néocuproïne (7,5 × 10⁻³ M) et solution tampon d'acétate d'ammonium (pH = 7). L'absorbance était enregistrée à 450 nm après 1 h contre un blanc et les résultats ont été exprimés en µmol TE/g FW.

IV .1.3.3.3. C. Activité anti radicalaire contre le radical DPPH :

Ce protocole est basé sur la capture du radical DPPH de couleur violette (2,2 -diphényl-1 -picrylhydrazyl) comme expliqué par Brand-Williams et al. (1995). Une aliquote de 100 µL a été ajoutée à 3,9 mL de DPPH dans du méthanol (95 %) la solution est agitée et le changement d'absorbance a été mesuré à 515 nm pendant 30 min, jusqu'à ce que l'absorbance atteigne un état stable. Le pourcentage d'inhibition de la DPPH a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{Inhibition} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times (100)$$

Où, A_0 et A sont l'absorbance initiale et finale de l'échantillon extrait, respectivement mesuré à 515 nm et le méthanol (95 %) a été utilisé comme blanc. La courbe d'étalonnage entre le % d'inhibition et la concentration de Trolox (100-2000 µM) a ensuite été formée et les résultats sont exprimés en µmol TE/g FW.

IV .1.3.3.4. D. Capacité antioxydant équivalent du Trolox (TEAC) :

Une procédure modifiée utilisant ABTS (2,2-azino-di-3-éthylbenzothialozinesulfonique acide) a été utilisée pour l'estimation du TEAC (**Re et al., 1999**). L'ABTS $^{+\cdot}$ une solution mère (7 mmol.L⁻¹) a été préparée par réaction d'ABTS (7,0 mmol.L⁻¹) et persulfate de potassium (2,45 mmol.L⁻¹) sous forme d'agent d'oxydation. ABTS $^{+\cdot}$ la solution de travail a été préparée en diluant la solution mère dans l'éthanol de sorte qu'elle donne une absorption de $0,70 \pm 0,02$ à $\lambda = 734$ nm. Ensuite, 10 µL d'extrait ont été ajoutés au ABTS $^{+\cdot}$ solution (90 µL) et l'absorbance a été mesurée 10 min après mélange initial à 30 °C à 734 nm. Le pourcentage d'inhibition d'ABTS $^{+\cdot}$ a été calculé comme cela a été fait pour la méthode DPPH et l'activité de captage des radicaux de l'échantillon a été exprimée en µmol TE/g FW.

IV .1.4. Traits horticoles :

Les génotypes de pois verts ont également été caractérisés pour le rendement et les traits contributifs aux rendements tels que jours à 50 % de floraison (DTF), hauteur de la plante (PH), longueur de gousse (PL), largeur de gousse (PW), graines par gousse (SPP), poids de 100 graines (100-GSW), gousses par plante (PPP), poids moyen des gousses (APW) et rendement par plante (YPP). Les données ont été enregistrées sur 10 plantes sélectionnées au hasard dans chaque réplica.

IV .2. Résultats :

IV .2.1. Teneur totale en phénoliques et teneur totale en flavonoïdes :

L'analyse de la variance a montré des différences significatives pour le TPC et le TFC indiquant la présence d'une large gamme de variabilité pour ces caractères dans les divers génotypes de pois de jardin étudiés (Tableau 1). Le TPC variait de 12,6 à 128,6 mg de GAE/100 g tandis que le TFC variait de 4,6 à 45,8 mg CE/100 g (Tableau 2), indiquant une variation de près de dix fois de teneurs en phénoliques et en flavonoïdes dans les génotypes étudiés. En outre, il était intéressant de noter que la couleur de la graine, la couleur de la fleur, la forme de la graine et les types de maturité de pois verts présentaient une corrélation significative avec le TPC et le TFC. Les génotypes sont triés en groupes distincts basés sur la couleur du tégument et la concentration de TPC et TFC enregistré dans ces génotypes (Tableau 2). Il a été observé que les génotypes EC-9485 et VRP-233 ayant un tégument de couleur orange verdâtre (GOG165B et GOG165 A) présentaient le plus de Contenu TPC et TFC, suivi du génotype (No-17) ayant Tégument jaune verdâtre (GYG161C). La plupart des génotypes de pois verts à couleur gris-vert (GGG194 A, GGG194B, GGG195 A et la couleur du tégument de la graine GGG195B) a enregistré le TPC et le TFC les plus bas sauf les génotypes Kashi Udai (GGG194B), PC-531 (GGG195B) et VRP- 393 (GGG195B). Comme la couleur du tégument des graines, le TPC et le TFC ont également été trouvés de manière significative corrélés à la forme de la graine. Alvéolées (ou semi-froissées) et rondes les génotypes ensemencés ont montré un TPC significativement plus élevé ($\geq 24,0$ mg GAE/100 g FW) que le type à graines froissées sauf pour Kashi Nandini et VRP — 343. Dans le même ordre d'idées, la teneur en TFC a été jugée élevée (≥ 9 mg CE/100 g FW) dans les génotypes de pois à alvéoles et à graines rondes sauf à Kashi Nandini et Kashi Udai. Le génotype VRP-343 à graines rondes cependant avait un TPC comparativement faible, le TFC a été trouvé élevé dans ce génotype. Le génotype EC-9485 a enregistré les

plus hauts TPC et TFC (128 mg GAE/100 g FW et 45,8 mg CE/100 g FW, respectivement), suivi de VRP-233 (104 mg GAE/100 g FW et 36,8 mg CE/100 g FW, respectivement).

Le plus intéressant, ces deux génotypes sont également de type fleur pourpre, un trait connu pour être lié à la couleur du tégument de la graine. Cela signifie que la voie de biosynthèse de l'anthocyanine qui est fortement exprimée dans les génotypes de pois de couleur fleur pourpre semble associée aux potentialités antioxydantes élevées de ces génotypes par rapport aux autres génotypes de pois à fleurs blanches utilisés dans cette étude. En outre, il a également été observé que la plupart des génotypes à savoir, VRPE-100, VRPE-101, Kashi Ageti, Kashi Nandini, Azad Pea-3 et Arkel ont exprimé un TPC faible sauf Kashi Udai. De même, Le TFC a également été enregistré à un niveau significativement bas dans ces génotypes de pois à maturation précoce. Cependant, pour les génotypes de pois à maturation moyenne et tardive, aucun schéma distinct n'a été enregistré pour le TPC et le TFC. Un résultat similaire a également été rapporté par Hegedusova et al. (2015) dans lesquels ils ont observé la plus faible teneur phénolique dans le cas de la variété précoce Premium que les variétés moyennes et tardives, à savoir

Flavora, Utrio, Jumbo et Ambassador. La contribution en pourcentage des flavonoïdes aux composés phénoliques totaux était également examinée (Tableau 2). Les génotypes EC-9485 et VRP-233 cependant présentaient les plus hauts TPC et TFC par rapport aux 20 autres génotypes, mais la contribution en pourcentage des flavonoïdes aux composés phénoliques totaux a été trouvée relativement faible dans ces génotypes. En outre, quatre génotypes à savoir, Kashi Udai, PC-531, VRPR-1 et Kashi Shakti ont montré des composés phénoliques totaux similaires de concentrations (~28 mg GAE/100 g), mais la contribution en pourcentage des flavonoïdes aux composés phénoliques totaux variait dans une large mesure (24,9 % à 60,9 %).

IV .2.2. Activités antioxydantes

Aucune méthode unique ne permettant d'évaluer les « activités antioxydantes totales » pour chaque aliment de manière précise et quantitative (Koley *et al.* 2016), par conséquent, deux tests basés sur le transfert d'électrons (ET) in vitro (FRAP et CUPRAC) et deux dosages basés sur le transfert d'atomes d'hydrogène (HAT) et (ETTEAC et DPPH) ont été utilisés dans cette étude. Dans le test DPPH, l'activité antioxydante des génotypes étudiés variait de 0,44 (VRPE-101) à 14,0 (EC-9485) $\mu\text{mol TE/g FW}$, alors que les valeurs du test TEAC variaient entre 1,24 (VRPE-100) à 14,9 (EC-9485) $\mu\text{mol TE/g FW}$. Parmi les génotypes

étudiés, une variation de près de 31 et 12 fois a été enregistrée pour DPPH et ABTS, respectivement (Fig. 1 ; Tableau 2). En accord avec les résultats de TPC et TFC, les génotypes de pois ayant un tégument coloré ont également montré des activités antioxydantes significativement plus élevées que les génotypes à tégument blanc. Le pouvoir de réduction des génotypes de pois a également été mesuré à l'aide de FRAP et les dosages CUPRAC. Dans le test FRAP, l'activité antioxydante variait entre 0,41 (Arka Ajit) et 11,7 (VRP-233) $\mu\text{mol TE/g FW}$ qui reflétait une variation d'environ 28 fois parmi les génotypes étudiés. Il est à noter que la quantité d'activité antioxydante du VRP-233 est 10 fois supérieure à celle de la variété Arkel largement cultivée. Dans le test CUPRAC, le génotype EC-9485 a présenté une activité antioxydante la plus élevée (27,8 $\mu\text{mol TE/g FW}$), tandis que VRPE-100 a enregistré la plus faible activité (3,20 $\mu\text{mol TE/g fw}$) (Fig.1 ; Tableau 2).

IV .2.3. Performance pour les traits horticoles :

L'analyse de la variance a montré des différences significatives pour tous les caractères horticoles étudiés indiquant une variation génétique suffisante entre les génotypes de ces caractères (tableau S1). Les Variétés de pois à maturation précoce sont généralement préférées par les agriculteurs ainsi que par les consommateurs en raison de leur importance économique et leurs attributs de qualité. Les génotypes à savoir. VRPE-101, Kashi Nandini et Arkel étaient les plus précoces (32 jours) depuis des jours portés à la floraison alors que la floraison a été observée tardivement (70–71 jours) pour les génotypes VRPMR-10, VRP-147 et VRP-393 (Tableau 3). VRPE-101, Kashi Nandini et Kashi Udai ont mis un minimum de jours pour atteindre la maturité des graines (<100 jours) tandis que VRPMR-10 a été trouvé la plus tardive (137 jours) (Tableau S2). Le faible poids de 100 graines vertes dans le génotype PC-531 a indiqué sa plus petite taille de graines, alors que le poids élevé des 100graines vertes chez Kashi Ageti a révélé sa taille de graine plus volumineuse. En outre, EC-9485 présentait la teneur la plus élevée en phénoliques et flavonoïdes et son rendement moyen (22,7 g/plante) a été enregistré comme le plus bas parmi tous les génotypes en raison de ses gousses plus petites et le faible poids de 100graines vertes. Les génotypes VRPMR-10, Arka Ajit, Kashi Samridhi et PC-531 ont enregistré un rendement élevé en gousses, attribué principalement en raison d'un plus grand nombre de gousses et d'une longueur de gousse plus longue.

Tableau 09 : TPC, TFC et activités antioxydantes de vingt-deux cultivars de pois de jardin dans des extraits éthanoïques (Jyoti Devia, Satish K. Sanwal , 2019)

S. No.	Genotypes	TPC (mg GAE/100 g fw)	TFC (mg CE/100 g fw)	CUPRAC (μ mol TE/g fw)	FRAP (μ mol TE/g fw)	DPPH (μ mol TE/g fw)	ABTS (μ mol TE/g fw)	TFC/TPC (%)
1.	VRPE-100	12.90 ^a	7.60 ^{abc}	3.20 ^a	1.22 ^{abcd}	0.49 ^a	1.24 ^a	58.69
2.	VRPE-101	16.13 ^{cd}	7.17 ^{abc}	4.86 ^a	1.53 ^{abcd}	0.44 ^a	1.17 ^{bc}	44.45
3.	Kashi Ageti	15.58 ^{cd}	4.51 ^b	3.63 ^{abc}	1.55 ^{abcd}	0.70 ^a	1.69 ^{abc}	29.74
4.	Kashi Namitai	10.23 ^{abcd}	6.87 ^{abc}	4.77 ^{abcd}	1.56 ^{abcd}	1.53 ^{abcde}	1.80 ^{abcd}	35.45
5.	Kashi Udal	28.77 ^{defg}	7.16 ^{abc}	4.90 ^{abcd}	2.17 ^{defg}	1.01 ^{bc}	2.34 ^{abcde}	24.89
6.	Azad Peta 3	20.33 ^{bcde}	3.99 ^{ab}	5.13 ^{abc}	1.72 ^{def}	0.71 ^a	1.72 ^{abc}	29.16
7.	Ariet	12.63 ^a	4.77 ^{bc}	3.30 ^a	1.19 ^{abcd}	0.55 ^a	1.41 ^{abc}	37.37
8.	PC-521	28.11 ^{defg}	12.03 ^{bcde}	5.13 ^{abcd}	2.84 ^g	1.46 ^{abcde}	3.00 ^{de}	42.81
9.	VRPD-2	31.06 ^{fg}	16.37 ^{cd}	3.79 ^{abc}	2.25 ^{defg}	1.41 ^{abcde}	1.49 ^{abc}	52.60
10.	VRPD-3	32.83 ^{fg}	18.76 ^{cd}	5.54 ^{abcde}	2.59 ^{efg}	1.40 ^{abcde}	1.70 ^{abc}	57.14
11.	VRPD-1	28.77 ^{defg}	10.47 ^{bcde}	7.78 ^{def}	3.48 ^{efg}	2.30 ^{abcde}	2.23 ^{abcde}	38.13
12.	Kashi Shakti	20.13 ^{bcde}	17.12 ^{cd}	5.41 ^{abcde}	2.54 ^{efg}	1.21 ^{abc}	2.49 ^{abcde}	60.86
13.	VRP-343	18.36 ^{cd}	12.56 ^{abcd}	7.11 ^{abcd}	2.15 ^{defg}	1.20 ^{abc}	2.18 ^{abcde}	68.63
14.	VRP-253	104.00 ^h	36.84 ^g	22.96 ^g	11.70 ^h	11.66 ^{abcde}	12.58 ^g	35.42
15.	NO-17	37.86 ^{fg}	15.61 ^{cd}	8.50 ^{def}	1.99 ^{defg}	1.72 ^{abcde}	3.23 ^g	41.30
16.	EC-9485	120.63 ⁱ	45.04 ^h	27.79 ^h	2.14 ^{defg}	1.40 ^{abc}	14.09 ^h	35.63
17.	VRPE-8	26.60 ^{defg}	12.01 ^{bcde}	6.36 ^{abcde}	2.54 ^{efg}	2.85 ^g	2.12 ^{abcde}	45.10
18.	Aria Ajit	24.36 ^{defg}	10.72 ^{bcde}	7.17 ^{abcd}	0.41 ^a	2.31 ^{abcde}	2.42 ^{abcde}	44.00
19.	Kashi Samridhi	20.80 ^{bcde}	9.65 ^{abcd}	5.61 ^{abcde}	2.65 ^{efg}	3.01 ^g	2.89 ^{de}	41.47
20.	VRPMB-10	20.13 ^{bcde}	8.81 ^{abc}	5.60 ^{abcde}	1.99 ^{defg}	3.63 ^g	2.24 ^{abcde}	43.76
21.	VRP-147	29.00 ^{defg}	12.36 ^{bcde}	7.18 ^{abcd}	2.74 ^{efg}	2.59 ^{efg}	2.74 ^{abcde}	42.58
22.	VRP-303	27.56 ^{defg}	11.81 ^{bcde}	8.67 ^{def}	0.46 ^{ab}	2.18 ^{abcde}	2.60 + 0.38 ^{bcde}	42.85
LSD (5%)		1.83	1.21	0.60	0.21	0.20	0.23	-

Les moyennes suivies des mêmes exposants ne sont pas significativement différentes ($p < 0,05$); TPC — teneur totale en composés phénoliques; TFC— Teneur totale en flavonoïdes; CUPRAC– cuivrique capacité de réduction des antioxydants ioniques; FRAP-ferrique réducteur de pouvoir antioxydant; DPPH-2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle; ABTS; Acide 2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique; des lettres différentes dans la même colonne représentent des résultats statistiquement différents ($p < 0,05$).

IV .2.4. Études de corrélation :

Les résultats analytiques ont révélé de fortes corrélations positives entre flavonoïdes totaux et phénoliques totaux dans les deux aspects phénotypiques ($r_P = 0,947^{***}$) et génotypiques ($r_G = 0,973^{***}$). De plus, le TPC et le TFC ont été positivement corrélés aux dosages d'antioxydants. Le TPC a montré une forte corrélation avec TEAC ($r_P = 0,979^{***}$ et $r_G = 0,987^{***}$), CUPRAC ($r_P = 0,965^{***}$ et $r_G = 0,979^{***}$), DPPH ($r_P = 0,970^{***}$ et $r_G = 0,976^{***}$) et FRAP ($r_P = 0,583^{***}$ et $r_G = 0,589^{***}$). De même, le TFC a également montré une forte corrélation avec TEAC, CUPRAC, Dosages DPPH et FRAP. Des corrélations significatives ont également été enregistrées entre les différentes méthodes utilisées pour déterminer le potentiel antioxydant, notamment entre CUPRAC et TEAC ($r_P = 0,974^{***}$ et $r_G = 0,989^{***}$), CUPRAC et DPPH ($r_P = 0,971^{***}$ et $r_G = 0,985^{***}$) et DPPH et TEAC ($r_P = 0,979$ et $r_G = 0,988$). Les corrélations les plus faibles ont été enregistrées entre les dosages FRAP & CUPRAC et FRAP & DPPH. Les détails des corrélations phénotypiques et génotypiques de divers paramètres sont résumés dans le tableau 4. La corrélation positive

entre les phénoliques totaux, les flavonoïdes ayant des capacités antioxydants indiquent que les phénoliques et les flavonoïdes sont les principaux composants de la capacité antioxydante dans les génotypes de pois.

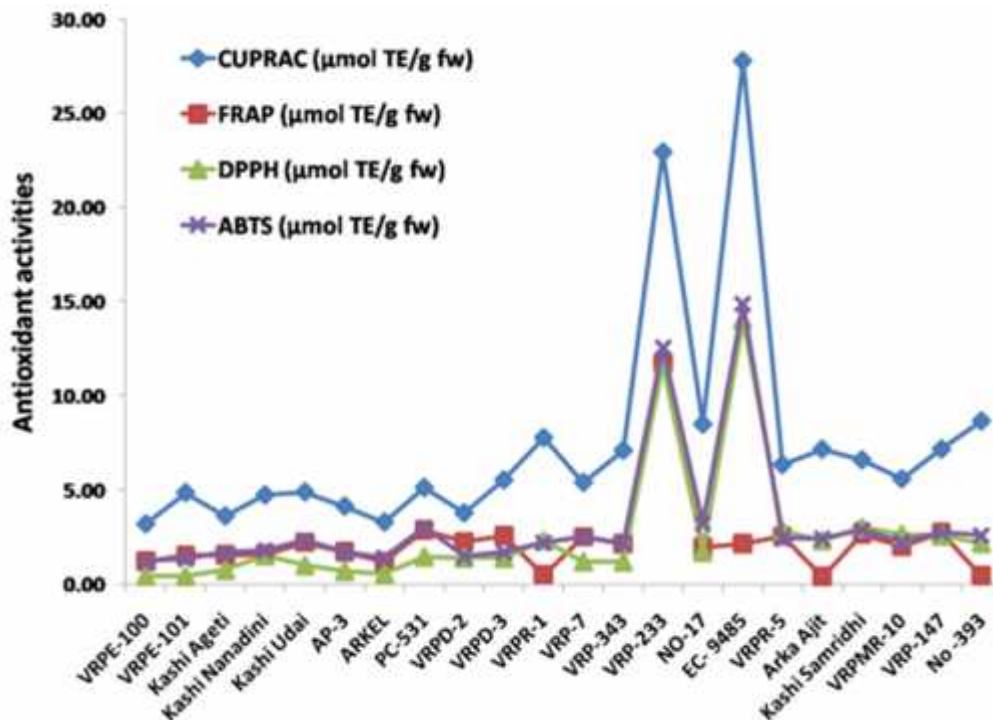


Figure. 25 : Performances comparatives de différents dosages d'antioxydants.

IV .2.5. Analyse en composantes principales (ACP) et analyse en grappes :

L'analyse PCA pour les activités TPC, TFC et antioxydants a abouti à cinq composants avec deux composants principaux (PC1 et PC2) ayant une valeur propre de 1,63 et 0,39 qui expliquaient respectivement une variation de 74,77 % et 18,03 %. Les composants restants, c'est-à-dire PC 3 à PC 5, ont produit des valeurs propres progressivement plus petites et n'ont pas expliqué la variabilité significative de l'ensemble de données (6,85 %). Selon la dispersion sur le diagramme PCA pour les TPC, TFC et la capacité antioxydants, trois grands groupes de génotypes ont été identifiés. En outre, le regroupement UPGMA suivant l'approche NJ (voisinage) a accédé à deux grands groupes qui peuvent être divisés en cinq sous-groupes (Fig. 3, groupes Ia, Ib, Ic, IIa et IIb). Il est intéressant de voir que la fleur violette portant des génotypes, VRP-233, et EC-9485 placés séparément du reste des génotypes, montrant leur constitution génétique unique pour des activités élevées en TPC, TFC et antioxydants (figures 2 et 3, groupe Ib). Incidemment, la plupart des maturités

précoces les génotypes à savoir, Kashi Udai, VRPE-100, Kashi Ageti, Arkel, Kashi Nandini, VRPE-101 et Azad Pea-3 ont été regroupés dans le Cluster IIa, il a exprimé une faible activité antioxydant. En outre, en utilisant les données de neuf caractères liés au rendement, des regroupements PCA et NJ ont également été effectués (Fig5). En PCA, les deux premiers grands PC, c'est-à-dire PC1 et PC2, expliquaient 83,55 % de la variation totale et tous les génotypes ont été regroupés en trois clusters principaux. De même, le dendrogramme basé sur le NJ a également regroupé les génotypes en trois principaux (groupes I, II et III) et six sous-groupes.

Tableau 10 : Performance de vingt-deux génotypes de pois de jardin pour divers caractères horticoles.

Traits Genotypes	DTF	PH	PL	PW	SPP	100-GSW	PPP	APW	YPP
VRPE-100	38.00 ^{ab}	63.10 ^{abc}	8.10 ^{abcd}	1.250 ^{def}	5.83 ^{gh}	65.25 ^h	8.50 ^h	6.80 ^h	58.33 ^h
VRPE-101	32.67 ^a	56.30 ^{ab}	7.70 ^{bcd}	1.277 ^{ef}	7.53 ^{gh}	72.7 ^h	7.00 ^h	7.87 ^h	54.00 ^h
Kashi Ageti	35.33 ^{ab}	58.53 ^{abc}	9.20 ^{abcd}	1.273 ^{ef}	8.30 ^{gh}	75.0 ^h	9.20 ^h	6.76 ^h	59.54 ^h
Kashi Nandini	35.67 ^{ab}	63.47 ^{abc}	7.40 ^{bc}	1.270 ^{ef}	5.80 ^{gh}	62.5 ^{gh}	6.50 ^h	6.10 ^h	41.67 ^h
Kashi Udai	37.00 ^{ab}	46.40 ^a	9.30 ^{abcd}	1.109 ^{def}	7.97 ^{gh}	62.5 ^{gh}	8.40 ^h	7.04 ^h	58.60 ^h
Azad Pea-3	39.33 ^{ab}	74.45 ^{abcd}	9.40 ^{abcd}	1.377 ^{ef}	7.23 ^{gh}	76.2 ^h	9.00 ^h	6.84 ^h	69.00 ^h
Arkel	32.33 ^a	59.60 ^{abc}	8.00 ^{abcd}	1.300 ^{ef}	5.57 ^{gh}	66.5 ^h	7.27 ^h	6.47 ^h	46.00 ^h
PC591	58.67 ^{def}	61.37 ^{abc}	9.97 ^h	1.070 ^{def}	9.10 ^h	42.2 ^{abc}	12.67 ^h	6.40 ^h	74.50 ^h
VRPD-2	67.33 ^{gh}	89.30 ^{defgh}	8.62 ^{abcd}	1.569 ^h	7.13 ^{gh}	65.7 ^h	9.27 ^h	5.40 ^h	46.50 ^h
VRPD-3	58.67 ^{def}	93.80 ^{defgh}	9.70 ^h	1.663 ^h	5.92 ^{gh}	63.3 ^{gh}	12.53 ^h	4.53 ^h	53.33 ^h
VRPB-1	65.67 ^{def}	96.67 ^{defh}	8.20 ^{abcd}	1.259 ^{def}	7.11 ^{gh}	45.2 ^{abc}	11.23 ^h	4.50 ^h	50.00 ^h
Kashi Shalini	56.67 ^{def}	84.83 ^{defgh}	8.82 ^{abcd}	1.227 ^{def}	8.47 ^h	50.3 ^{abcd}	11.67 ^h	4.31 ^h	47.50 ^h
VRP-343	59.00 ^{def}	90.70 ^{defh}	7.99 ^{abcd}	1.167 ^{def}	7.39 ^{gh}	47.2 ^{abcd}	11.33 ^h	4.92 ^h	53.33 ^h
VRP-233	58.67 ^{def}	93.93 ^{defh}	6.33 ^{ab}	1.030 ^{def}	7.59 ^{gh}	34.7 ^a	21.07 ^h	3.44 ^h	69.17 ^h
NO-17	52.67 ^{def}	170.23 ^h	6.31 ^{ab}	1.000 ^{de}	5.50 ^{gh}	39.5 ^{ab}	14.07 ^h	3.40 ^h	50.00 ^h
GC-9485	43.67 ^{bc}	132.70 ^g	6.32 ^{ab}	0.977 ^d	7.69 ^{gh}	39.7 ^{ab}	11.33 ^h	2.49 ^h	22.67 ^a
YRPR-3	49.67 ^{bc}	90.27 ^{def}	9.47 ^h	1.083 ^{def}	7.10 ^{gh}	56.7 ^{gh}	7.17 ^h	4.79 ^h	31.67 ^a
Asha Aji	65.67 ^{def}	83.33 ^{defgh}	8.67 ^{abcd}	1.133 ^{def}	5.73 ^{gh}	67.7 ^h	15.67 ^h	5.50 ^h	81.33 ^h
Kashi Samridhi	65.67 ^{def}	81.37 ^{defgh}	8.93 ^{abcd}	1.237 ^{def}	7.79 ^{gh}	48.3 ^{abcd}	14.33 ^h	5.81 ^h	78.33 ^h
VRP/R.10	71.67 ^{gh}	91.27 ^{defh}	8.33 ^{abcd}	1.267 ^{def}	7.40 ^{gh}	65.7 ^{gh}	15.20 ^h	6.00 ^h	86.00 ^h
VRP-147	76.67 ^h	66.27 ^{abc}	8.10 ^{abcd}	1.180 ^{def}	7.73 ^{gh}	49.2 ^{abcd}	12.53 ^h	4.32 ^h	51.67 ^a
YRP-393	70.00 ^{gh}	101.67 ^{def}	5.97 ^a	0.967 ^d	5.17 ^a	65.3 ^h	12.67 ^h	5.50 ^h	65.00 ^h
LSD 5%	1.86	5.16	0.31	0.035	0.45	2.65	1.12	0.69	5.79

Les moyennes suivies des mêmes exposants ne sont pas significativement différentes ($p < 0,05$) DTF : jours de floraison ; PH : hauteur de la plante (cm), PL : longueur de la gousse (cm) ; PW : largeur du poids (cm) ; SPP : graines par gousse ; 100-SGW : poids de 100 graines vertes ; PPP : gousses par plante (non) ; APW : poids moyen des gousses (g) et YPP : rendement par plante (g).

Tableau 11 : Matrice de corrélation phénotypique et génotypique pour TPC, TFC, divers dosages d'antioxydants et rendement par plante.

Traits		TFC	CUPRAC	FRAP	DPPH	ABTS	YPP
TPC	P	0.947***	0.565***	0.583***	0.970***	0.979***	-0.237
	G	0.973***	0.579***	0.589***	0.976***	0.987***	-0.305*
TFC	P	1.000	0.518***	0.562***	0.906***	0.920***	-0.300*
	G		0.541***	0.573***	0.931***	0.936***	-0.333**
CUPRAC	P		1.000	0.548***	0.921***	0.924***	-0.241
	G			0.553***	0.985***	0.989***	-0.252*
FRAP	P			1.000	0.589***	0.607***	0.104
	G				0.590***	0.610***	0.128
DPPH	P				1.000	0.979***	-0.183
	G					0.988***	-0.229
ABTS	P					1.000	-0.205
	G						-0.236

* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$; Où, TPC : teneur totale en composés phénoliques ; TFC : teneur totale en flavonoïdes ; CUPRAC : capacité de réduction antioxydante des ions cuivriques ; FRAP : Pouvoir antioxydant réducteur ferrique ; DPPH : 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle ; ABTS : acide 2- azinobis-3 - éthylbenzothiazoline-6-sulfonique et YPP : rendement par plante.

Discussion

Chez les plantes, les composés phénoliques dont les flavonoïdes ont reçu une attention particulière, car ils ont joué un rôle crucial dans la prévention de diverses maladies humaines. Les pois verts étant consommés frais, tous les paramètres biochimiques ont été calculés sur la base du poids frais. Cette approche a également été largement utilisée pour diverses cultures de fruits et légumes comme la carotte (**Koley et al., 2014**), le pommeau indien (**Nishad et al., 2018**) et de la prune (**Wang et al., 2018**).

Des différences génotypiques pour ces composés ont déjà été signalées dans différentes cultures, et ont ainsi indiqué un large champ pour la sélection de génotypes ayant des teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes significativement élevées (**Bhoyar et al., 2011, 2018 ; Klepacka et al., 2011**). Dans la présente enquête, les génotypes de pois verts étudiés ont également montré une large gamme de variations pour le TPC (12,6 à 128 mg GAE/100 g poids corporel) et le TFC (4,61 à 45,8 mg CE/100 g poids corporel) (tableau 2). Au contraire, (**Klepacka et al. 2011**) tout en étudiant les variétés de pois, et ont signalé une variation relativement faible pour la teneur en composés phénoliques allant de 28 à 42 mg/100 g. De plus, les variations des activités antioxydantes des génotypes ayant des téguments et des fleurs de couleur différentes ont également donné une preuve concluante de l'association du trait coloré (fleur ou tégument) avec des activités antioxydantes élevées (**Ojwang et al., 2012**).

Nos résultats étaient également en phase avec les rapports précédents de (**Stanisavljevic et al. 2016**), où les génotypes de pois de couleur foncée (**MBK-168 et MBK-173**) présentaient des teneurs phénoliques totales les plus élevées ainsi que les activités antioxydantes les plus fortes. En outre, tout en étudiant les variétés de téguments de graines colorées et blanches de pois, (**Troszynska et Ciska 2002**), ces derniers ont également signalé une concentration presque six fois plus élevée de composés phénoliques libres dans les variétés colorées que dans les variétés blanches.

De plus, Duenas et al. (2006) ; Agboola et coll. (2010) et Marathe et al. (2011) ont également confirmé des résultats similaires dans les cultures comme les pois et les haricots. Il est intéressant de noter que la forme des graines a également été trouvée corrélée de manière significative avec le TPC et TFC, et des génotypes à alvéoles et à graines rondes ont montré des teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes significativement plus élevées que le type froissé semé.

Cependant, les cultivars de pois à graines rondes ont montré relativement moins de protéines brutes, de lipides libres, de cendres, de glucose et de saccharose que les cultivars ridés (**Bastianelli et Grosjean, 1998**; **Eliasson et Gudmundsson, 2006**; **Welch et Gri ths, 1984**). Des informations comparatives sur le TPC et le TFC ne sont pas disponibles et cette corrélation a ouvert une nouvelle frontière pour la sélection de composés phénoliques et des flavonoïdes contenant les génotypes de pois basés sur la forme des semences.

Les anthocyanes sont les principaux pigments du pois donnant du rouge, du violet ou une couleur bleue à la fleur/tégument de la graine, générée par voie biosynthétique de flavonoïdes et actuellement, six principales loci A, B, Ar, Am, Cr ont été rapportés qu'ils sont associés à la formation de la couleur des fleurs violettes (**Moreau et al., 2012**). Des enquêtes antérieures ont montré que le locus « A » est fondamental pour la production d'anthocyanes et de flavones/flavonols dans les fleurs (**Hellens et al., 2010**; **Hrazdina et Weeden, 1986**) alors que le locus mutant « a » abolit la formation de pigment anthocyanique dans la plante (**Noel-Ellis et al., 2011**).

Ainsi, la couleur de la fleur et/ou la couleur du tégument du pois peuvent être prises comme critères lors de la sélection de cultivars à haute teneur en composés phénoliques et potentialités antioxydantes. Jusqu'à présent, nous n'avons trouvé aucun rapport montrant l'association de la couleur de la fleur et de la variation de la teneur en composés phénoliques, que ce soit dans le pois vert ou dans toute autre culture de légumineuses.

Dans la pomme de terre, Perla et al. (2012) ont rapporté une variété de pommes de terre à chair violette Purple Majesty, ayant 31 fois plus de composés phénoliques que la variété à chair blanche Russet Nugget. De même, Madiwale et coll. (2012) ont rapporté une teneur en composés phénoliques significativement élevée et l'activité antioxydante des pommes de terre à chair violette par rapport à leurs homologues à chair blanche et jaune. De plus, il est intéressant de noter que, dans la présente enquête, nous avons utilisé soit des graines vertes, soit des gousses comestibles du pois pour l'analyse et non les tissus de couleur violette (riches en anthocyanes) utilisés pour la pomme de terre (**Madiwale et al., 2012**). Il a été indiqué que la voie de l'anthocyanine (y compris certaines autres voies de biosynthèse des antioxydants associés) qui est exprimée en évidence dans les génotypes de pois de couleur fleur pourpre (n'est pas active dans les génotypes à fleurs

blanches) contribue aux composés antioxydants d'autres parties, y compris la culture de graines et de gousses de pois. Ainsi, cela semble la raison des potentialités d'antioxydants significativement élevées des génotypes à fleurs violettes par rapport aux génotypes à fleurs blanches. Cependant cela nécessite une enquête plus approfondie au niveau de l'anthocyanine et d'autres voies de biosynthèse des antioxydants dans différents génotypes de pois.

Les génotypes comestibles de pois cabossés à savoir VRPD-2 (GGG195B) et VRPD-3 (GGG195 A) ont montré un TPC et un TFC significativement élevés (tableau 2). Cela peut être dû au fait que la gousse entière a été prise pour la préparation de l'extrait au lieu des graines vertes comme cela a été fait pour les 20 autres génotypes. Un certain nombre de rapports sont disponibles pour diverses cultures et signalent des sous-produits végétaux contenant de grandes quantités de composés phénoliques (**George et al., 2004 ; Gorinstein et al., 2001**). Cependant, des informations sur la teneur en composés phénoliques des peapods (**Babbar et al., 2014**), des pelures de pois (**Hadrich et al. 2014**) et des pois (**Amarowicz et al., 2004 ; Troszynska et Ciska, 2002**) sont disponibles, mais ceci est le premier rapport de potentialités antioxydantes comparatives dans une large gamme de génotypes de pois pour les graines vertes et les gousses de pois comestibles. L'analyse de corrélation aide à déchiffrer l'association entre les variables qui peuvent être utilisées pour établir la relation entre les paramètres antioxydants appartenant à tout système biologique (**Kaur et al., 2014**). En outre, la base génétique et environnementale de la corrélation est combinée pour estimer la corrélation phénotypique. Pour tous les traits étudiés, les coefficients de corrélation génotypique ont enregistré plus de valeurs que leurs coefficients phénotypiques correspondants. Cela indique que le petit rôle de l'environnement dans l'expression des traits, suggérant en outre l'association inhérente entre ces traits au niveau génotypique (**Kaswan et al., 2018**). La corrélation génétique positive enregistrée entre les composés phénoliques totaux, les flavonoïdes et l'activité antioxydants aideront en améliorant ces traits simultanément en faisant des sélections faciles.

De plus, la corrélation positive de ces caractères avec les activités antioxydants indique également que les composés phénoliques et les flavonoïdes sont les principaux composants de l'activité antioxydante dans les génotypes de pois verts. Nos résultats sont en concordance avec les résultats précédents dans différentes cultures (**Bhoyar et al., 2011, 2018 ; Yu-Wei et Wang, 2015**). En outre, divers rapports présentant les

corrélations de l'activité TPC, TFC et antioxydante dans diverses les légumineuses n'ont jamais mis en évidence la corrélation de ces paramètres de qualité avec des caractéristiques de rendement économique. Dans la présente étude, le TPC, TFC et CUPRAC ont été trouvés associés négativement au rendement des gousses par plante. Fait intéressant, dans le clustering NJ utilisant les capacités TPC, TFC et antioxydants, il a été constaté que cinq génotypes de pois verts à savoir, VRP-147, VRPMR-10, No-17, Arka Ajit et Kashi Samridhi ayant une résistance à l'oïdium (**Sharma *et al.*, 2013 ; Singh *et al.*, 2015**), sont restés regroupés en un seul groupe, indiquant une association de composés phénoliques élevés et teneur en flavonoïdes dans ces génotypes avec résistance à l'oïdium (Fig. 26). Les résultats sont bien détaillés par les conclusions de Kalia et Sharma (1988) qui a révélé que les cultivars résistants de pois verts ont des niveaux plus élevés de composés phénoliques et d'enzymes oxydants les phénols que les enzymes sensibles tout en étudiant la génétique de la résistance à l'oïdium. Le rendement absolu et les caractéristiques associées contribuant au rendement sont les paramètres les plus importants qui régulent finalement les performances de tout génotype. L'analyse des clustering pour le rendement et les caractères connexes a montré que les génotypes à savoir Kashi Ageti, VRPE-101, Kashi Udai, Arkel, Kashi Nandini, VRPE-100 et Azad Pea-3 ont été regroupés dans un sous-groupe (Fig.27) avec le moins de variation dans les caractères, à 50 % de floraison, hauteur de la plante, graines par gousse, gousses par plante et poids moyen des gousses (tableau 10) et représentait simultanément le groupe de maturité précoce. De plus, deux génotypes, EC-9485 et No-17 étaient les plus diversifiés pour des caractères tels que la hauteur de la plante, la taille de la gousse, le poids de la gousse et la couleur de la graine sont groupés distinctement (Fig. 27). Les génotypes VRPMR-10, Arka Ajit et Kashi Samridhi, les cultivars les plus productifs ont été regroupés dans un sous-groupe (Fig.27), principalement attribuable au nombre plus élevé de gousses par plante (Tableau 10).

Les résultats du dendrogramme sont également pris en charge par les résultats PCA. De même, Esposito et al. (2007) a également utilisé une telle approche pour connaître la relation entre les différents caractères déterminant la productivité du pois et pour produire des cultivars stables et à haut rendement. À l'avenir, en combinant les capacités antioxydantes élevées de la CE Génotypes 9485 et VRP-233 avec des variétés dominantes à haut rendement comme Azad Pea-3, PC-531, Arka Ajit, VRPMR-10 et

Kashi Samridhi sera un objectif majeur pour le développement d'une variété supérieure avec un rendement riche en nutriments. Ainsi, le pois vert qui est une source majeure de protéines et de nutriments dans le régime végétalien gagne en importance en raison des divers avantages associés à la régulation de l'appétit et à la consommation. Distinctement, l'étude a révélé une variation génétique considérable des activités antioxydantes et de son association avec la couleur du tégument, la couleur de la fleur, la forme de la graine et la culture durée de maturité dans un ensemble diversifié de 22 génotypes de pois verts étudiés. La corrélation positive entre les activités phénoliques et antioxydantes l'indiquait comme un contributeur majeur de l'activité antioxydante du poids. Les résultats de l'analyse par clustering et de l'ACP peuvent être utilisés dans la sélection future des pois programmes visant à intégrer un meilleur potentiel antioxydant avec caractères à rendement plus élevé et sélection de divers génotypes à partir de toutes les populations en ségrégation. De plus, les informations sur les activités antioxydants et la teneur en composés phénoliques des génotypes de pois verts deviennent essentielles pour la santé des consommateurs prudents, tout en favorisant sa consommation en différentes formes.

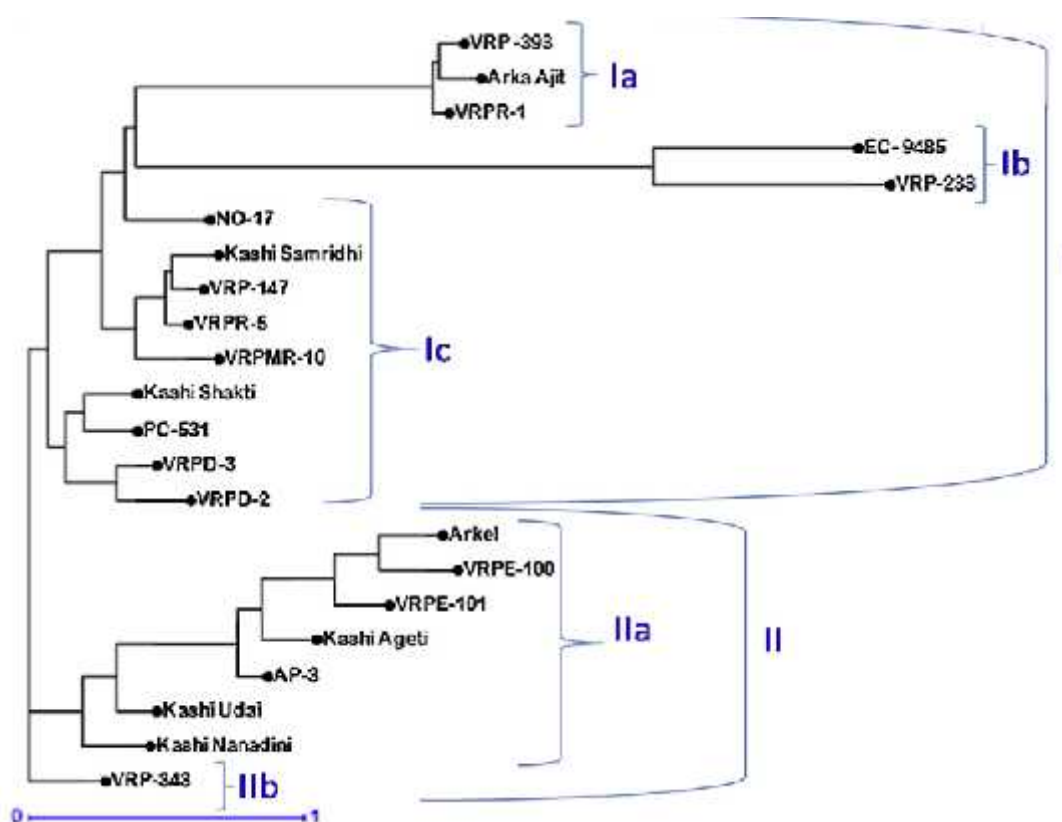


Figure 26: Dendrogramme de 22 génotypes de pois verts basés sur la similitude génétique NJ pour les activités TPC et TFC et antioxydants.

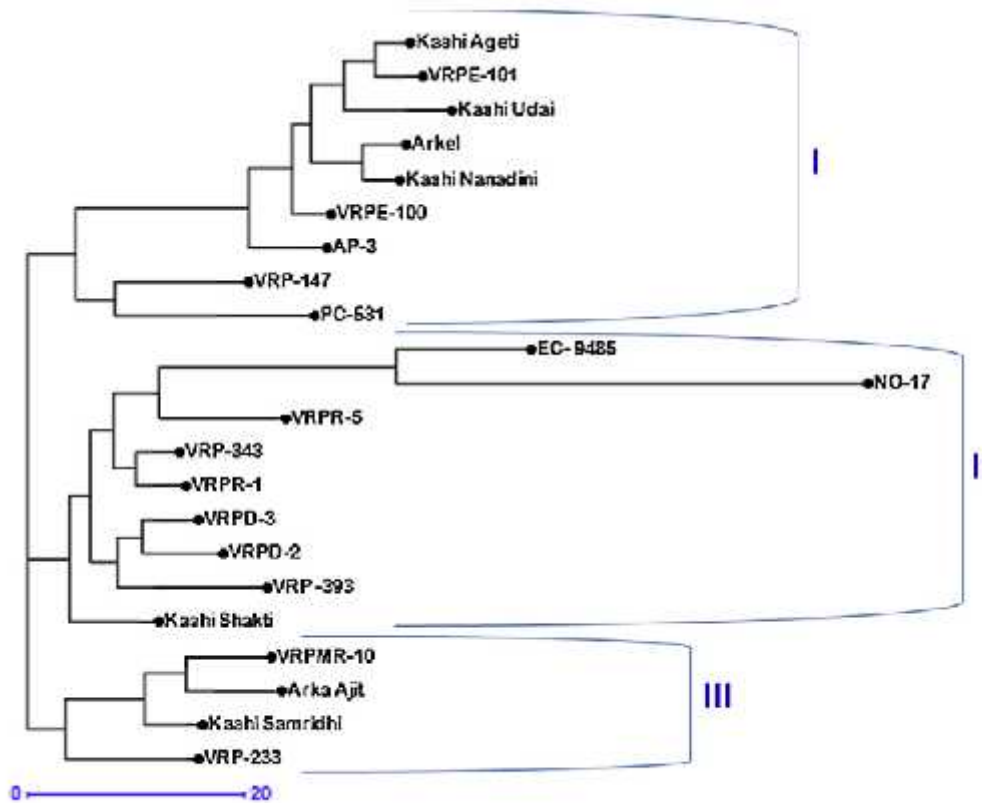


Fig. 5. Dendrogram of 22 green-pea genotypes based on NJ genetic similarity for yield and related traits.

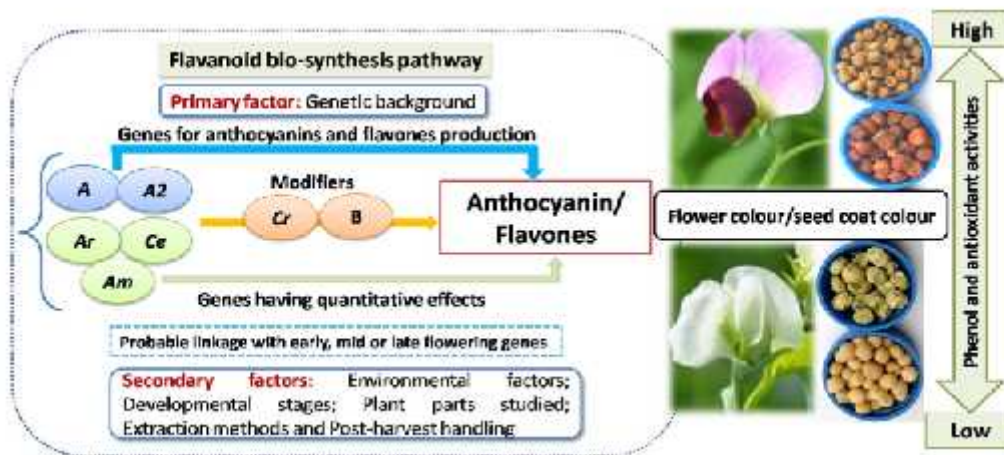


Figure 27 : Facteurs primaires et secondaires associés à la voie de biosynthèse des flavonoïdes chez le pois vert et son association avec les capacités antioxydantes relatives chez divers génotypes. Remarque : Six locus majeurs à savoir. A, B, Ar, Am, Cr et cet are ont signalé la formation d’anthocyanes dans la fleur de pois. Le gène A est fondamental pour la production des deux anthocyanes et flavones/flavonols dans les fleurs.

Conclusion

Dans cet travail , une comparaison des métabolites chimiques et du phénotype externe d'un groupe de 22 espèces de pois .Cet travail a été réalisé par un groupe de chercheurs (**Jyoti Devia, , Satish K. Sanwala,b, Tanmay Kumar Koleya,c, Gyan P. Mishraa,d, P. Karmakara, P.M. Singha, B. Singha , 2019**) , Le contenu de cet travail a été publié dans une revue Scientia Horticulturae en 2019. Les légumineuses alimentaires répondent aux besoins nutritionnels de base des humains en fournissant des protéines, des glucides, des minéraux, et des vitamines, ainsi que plusieurs métabolites secondaires ayant des activités antioxydantes. Divers génotypes de pois appartenant à différents groupes de maturité, couleur de la fleur, couleur du tégument et formes de graines ont été évalués pour leur teneur totale en composés phénoliques et en flavonoïdes totaux, y compris leurs activités antioxydantes. Ils ont également été évalués pour divers caractères horticoles. Un certain nombre de dosages d'antioxydants *in vitro* y compris CUPRAC, FRAP, DPPH et TEAC ont été comparés pour leur potentiel antioxydant relatif dans différents génotypes de pois. Les génotypes à fleurs violettes et à tégument sombre, Dans ces types de variétés EC-9485 et VRP-233 les teneurs totales les plus élevées en phénoliques (128 et 104 mg de GAE / 100 g de poids corporel) et en flavonoïdes totaux (45,8 et 36,8 mg CE / 100 g FW) respectivement, avec un fort potentiel antioxydant, par rapport à la fleur blanche et la lumière génotypes colorés du tégument des graines. Cependant, le rendement en gousses de ces deux génotypes a été enregistré faible (22,7 g / plante et 69,2 g / plante) attribués principalement en raison de leur plus faible poids de gousse (2,5 g / gousse et 3,4 g / gousse), respectivement. À niveau génotypique, la teneur totale en phénoliques a été trouvée fortement corrélée avec TEAC, CUPRAC et DPPH, bien que corrélés négativement avec le rendement par plante. Une corrélation positive entre les composés phénoliques totaux, les flavonoïdes totaux avec des activités antioxydantes est indiquée que les composés phénoliques dont les flavonoïdes sont le principal composant de l'activité antioxydante dans les génotypes de pois. L'analyse en composantes principales (PCA) et l'analyse en grappes UPGMA regroupaient les génotypes ayant un antioxydant puissant capacité et rendement élevé dans des grappes distinctes. Les résultats aideront les sélectionneurs à combiner les deux et des traits d'activité antioxydante élevée dans un seul génotype, contribuant ainsi à atteindre l'objectif à long terme d'assurer la sécurité nutritionnelle des consommateurs.

Résumé

Dans cette étude, une comparaison des métabolites chimiques et du phénotype externe d'un groupe de 22 espèces de pois Ce travail a été réalisé par un groupe de chercheurs (**Jyoti Devia, , Satish K. Sanwala,b, Tanmay Kumar Koleya,c, Gyan P. Mishraa,d, P. Karmakara, P.M. Singha, B. Singha , 2019**) Cet travail a été publié dans Scientia Horticulturae en 2019

la relation entre les différents génotypes de pois appartenant à différents groupes a été étudiée. les différents types de pois ont été pris en compte en termes de couleur du tégument et de forme des graines, ainsi que les phénols totaux et leur teneur totale en flavoïdes, y compris les activités antagonistes. Pour l'oxydation. En outre, un certain nombre de mesures antioxydantes, y compris CUPRAC, ont été comparées. FRAP. DPPH. TEAC Pour les antioxydants relatifs potentiels dans différents génotypes de pois. Les génotypes de couleur graine violette et foncée - qui ont respectivement les teneurs phénoliques totales et flavonoïdes totales les plus élevées, ainsi qu'un potentiel d'antioxydants puissants, ont été trouvés par rapport aux génotypes, et une faible productivité des gousses a été enregistrée dans ces deux génotypes. Principalement en raison du faible poids des cosses de pois

Au niveau génétique, il a été constaté que la teneur totale en phénolates était significativement liée au TEAC UPRAC DPPH.

L'association positive entre les phénols totaux et les antioxydants totaux avec des activités antioxydantes a indiqué que les phénols, y compris les composés flavonoïdes, sont le composant principal de toutes les activités antioxydantes en relation avec les systèmes génétiques du pois.

La puissante capacité antioxydante permet de combiner des caractères de haute activité avec un seul génotype, contribuant ainsi à atteindre l'objectif à long terme d'assurer la sécurité alimentaire des consommateurs.

Mots clés : *Pisum sativum* L. – métabolites secondaires – Anti-oxydons

الملخص

تلبي البقوليات الغذائية المتطلبات الغذائية الأساسية للإنسان من خلال توفير البروتين والكربوهيدرات والمعادن والفيتامينات، إلى جانب العديد من المواد الأيضية الثانوية التي لها أنشطة مضادة للأكسدة.

في هذا المجال، تم دراسة العلاقة الموجودة بين الانماط الوراثية المتنوعة من البازلاء والتي تنتمي إلى مجموعات مختلفة حيث اُخذت بعين الاعتبار في هذه الدراسة الانماط المختلفة لنبات البازلاء من لون غلاف البذور وأشكال البذور وكذلك إجمالي الفينولات ومحتوياتها الكلية من مركبات الفلافونويد بما في ذلك الأنشطة المضادة للأكسدة. بالإضافة إلى ذلك تمت مقارنة عدد من مقاسات مضادات الأكسدة بما في ذلك DPPH .FRAP .CUPRAC .TEAC لمضادات الأكسدة النسبية المحتملة في الأنماط الجينية المختلفة للباذلاء. تم العثور على الأنماط الجينية الملونة ذات اللون الأرجواني والبذور الداكنة، -التي تحتوي على أعلى إجمالي الفينولات ومجموع محتويات الأونويد على التوالي، جنباً إلى جنب مع إمكانات وجود مضادات أكسدة قوية، عند مقارنتها بالأنماط الجينية وتم تسجيل انخفاض إنتاجية القرون في هذين النوعين الجيني ويرجع ذلك أساساً إلى تدني وزن قرون البازلاء

على المستوى الوراثي، وجد أن محتوى الفينولات الكلي مرتبط بشكل كبير بمقاسات CUPRAC TEAC .DPPH

إن الارتباط الإيجابي بين الفينولات الكلية ومضادات الأكسدة الكلية مع الأنشطة المضادة للأكسدة دلت على أن الفينولات بما في ذلك مركبات الأونويد هي المكون الرئيسي لكل النشاطات المضاد للأكسدة بالنسبة للأنظمة الوراثية للباذلاء.

تساعد القدرة القوية للمضادة للأكسدة على الجمع بين سمات النشاط العالي ونمط وراثي واحد، مما يساعد في تحقيق الهدف طويل الأجل المتمثل في ضمان الأمن الغذائي للمستهلكين.

الكلمات المفتاحية: *Pisum sativum L.*، النشاط المضاد للأكسدة، مضادات الأكسدة النباتية.

Abstract

Food legumes cater the basic nutritional requirement of humans by providing the protein, carbohydrate, minerals, and vitamins, along with several secondary metabolites having antioxidant activities. In this investigation, diverse pea genotypes belonging to different maturity groups, flower color, seed-coat color, and seed shapes were assessed for their total phenolic and total flavonoids contents including antioxidant activities. In addition, these were also evaluated for various horticultural traits. A number of in vitro antioxidant assays including CUPRAC, FRAP, DPPH, and TEAC were compared for their relative antioxidants potential in different pea genotypes. The purple-flowered and dark seed-coat colored genotypes, EC-9485 and VRP-233 were found having highest total phenolic (128 and 104 mg GAE/100 g fw) and total flavonoids contents (45.8 and 36.8 mg CE/100 g fw) respectively, along with strong antioxidant potential, when compared to white-flowered and light seed-coat colored genotypes. However, pod-yield in these two genotypes was recorded low (22.7 g/plant and 69.2 g/plant) attributed mainly due to their lowest pod-weight (2.5 g/pod and 3.4 g/pod), respectively. At genotypic level, total phenolic content was found highly correlated with TEAC ($r_G = 0.987$), CUPRAC ($r_G = 0.979$) and DPPH ($r_G = 0.976$) assays, while negatively correlated with yield per plant ($r_G = -0.305$). Furthermore, positive correlation between total phenolic, total flavonoids with antioxidant activities indicated that the phenolics including flavonoids as the main component for antioxidant activity in pea genotypes. Principal component analysis (PCA) and UPGMA cluster analysis grouped the genotypes having a strong antioxidant capacity and high yield in distinct clusters. The results will help the breeders to combine both high-yield and high-antioxidant activity traits in a single genotype, thereby help in achieving the long-term goal of ensuring the nutritional security of the consumers.

KEYS WORD: *Pisum sativum* L. - metabolites having antioxidant - Activities antioxidants.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-A-

Agrawal P.K, Markham K.R. (1989). Introduction in Carbon-13 NMR of flavonoids. Agrawal P.K. Ed. Elsevier. Amsterdam. pp 1-31.

Akihisa T, Yasukawa K, Kimura Y, Yumiko T, Michio K, Wihelmus C.MC., Tamura, T. (1994). Five D.C-Friedo-oleanane triterpenes from the seeds of *Trichosanthes kirilowii* Maxim. And their anti-inflammatory effects. pp 5-1101.

Agboola, S., Mofolasayo, O., Wats, B., Aluko, R., 2010. Functional properties of yellow field pea seed flours and the in vitro bioactive properties of their polyphenols. 43, 582–588. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.013>.

Al-Saeedi, A.H., Hossain, M.A., 2015. Evaluation of total phenols, total flavonoids and antioxidant activity of the leaves crude extracts of locally grown pigeon pea traditionally used in Sultanate of Oman for the treatment of jaundice and diabetes. J. 3 (5), 317–321. <https://doi.org/10.12980/JCLM.3.201514J84>.

Amarowicz, R., Troszynska, A., Barylko-Pikielna, N., Shahidi, F., 2004. Polyphenolics extracts from legume seeds: correlations between total antioxidant activity, total phenolics content, tannins content and astringency. pp 278–286. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.2004.01143.x>.

Apak, R., Guclu, K., Zyurek, M.O., Karademir, S.E., Altun, M., 2005. Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)-neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method. 39, 949–961. <https://doi.org/10.1080/10715760500210145>.

Birt DF, Hendrich S, Wang W. (2001) Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids, 90(2-3):157-77.

Babbar, N., Oberoi, H.S., Sandhu, S.K., Bhargav, V.K., 2014. Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. Technol. 51, 2568–2575. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0754-4>.

Bastianelli, D., Grosjean, F., 1998. Feeding value of pea chemical composition of different categories of pea. 67, 609–619. <https://doi.org/10.1017/S1357729800033051>.

Benzie, I.F., Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. Anal. Biochem. 239, 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>.

Bhoyar, M.S., Mishra, G.P., Naik, P.K., Srivastava, R.B., 2011. Estimation of antioxidant activity and total phenolics among natural populations of Capparis spinosa leaves collected from cold arid desert of Trans-Himalayas. Aust. 5, 912–919.

Bhoyar, M.S., Mishra, G.P., Naik, P.K., Singh, S.B., 2018. Evaluation of antioxidant capacities and total polyphenols in various edible parts of Capparis spinosa L. Collected from Trans-Himalayas. Def. 3, 30–36. <https://doi.org/10.14429/dlsj.3>.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. 28, 25–30.

Cavin, A. (1999). Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydante et antiradicalaire : *Tinospora crispa* (Ménispermacées), *Merremia emarginata* (Convolvulacées) et *Oropea enneandra* (annonacées). Thèse de Doctorat, Lausanne, 241 P.

Cheynier V, Fulcrand H, Sarni P, Moutounet M. (1997). Application des techniques analytiques a l'étude des composés phénoliques et de leurs réactions au cours de leur vinification. In vino Analytica Scientia. Analisis 25: 14-44.

Chira.K, J.-H. Suh, C. Saucier, P.-L. Teissèdre. (2008). Les polyphénols du raisin. Phytothérapie. 6: 75–82.

Champion, R.1997. Identifier les champignons transmis par les semences, édition : Quae. 398 p

Cousin, R., Burghoffer, A., Marget, P., Vingere A. and Eteve, G. 1993. Morphological, physiological and genetic bases of resistance in pea to cold and drought, In: Breeding for

stress tolerance in cool-season food legumes, ICARDA. Eds K.B.Singh and M.C. Saxena, pp 311-320.

Crozier A. (2003). Classification and biosynthesis of secondary plant products: An overview. In: Goldberg G (ed) Plants: Diet and Health. British Nutrition Foundation, Chapman Hall, Londres, pp. 27-48.

-D-

Dewick, P. M. (1993). Isoflavonoïds. The Flavonoids Advances in research since 1986. Edited by J. B. Harborne, Chapman & Hall. London pp.117-238.

Di Carlo Giulia, Mascolo Nicola, Izzo Angelo A, Capasso Francesco. (1999). Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs, 65(4): 337–353.

Diallo Amadou. (2005). Etude de la phytochimie et des activites biologiques de *Syzygium guineense* willd. (myrtaceae). Diplôme d'état pour le grade de docteur en pharmacie. P.16.

Dahl, W.J., Foster, L.M., Tyler, R.T., 2012. Review of the health benefits of peas Br. S3–S10. <https://doi.org/10.1017/S0007114512000852>.

Devi, J., Mishra, G.P., Sanwal, S.K., Dubey, R.K., Singh, P.M., Singh, B., 2018. Development and characterization of penta-flowering and triple flowering genotypes in garden pea (*Pisum sativum* L. Var. hortense, e0201235. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201235>.

Djordjevic, T.M., Siler-Marinkovic, S.S., Dimitrijevic-Brankovic, I.S., 2011. Antioxidant activity and total phenolic content in some cereals and legumes. Int. 14,175–184. <https://doi.org/10.1080/10942910903160364>.

Duenas, M., Hernandez, T., Estrella, I., 2006. Assessment of in vitro antioxidant capacity of the seed coat and cotyledon of legumes in relation to their phenolic contents. 98, 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.052>.

-E-

Elzebroek, T., and Wind, K. 2008. Guide to cultivated plants. CAB International, Oxfordshire, UK. enzymology. (1):149-158.

USDA, 2008. Plants profile of *Pisum sativum* L. (garden pea). United States Department of Agriculture (USDA), Natural Resources Conservation Service (NRCS), Plants database. Eliasson, A.C., Gudmundsson, M., 2006. Starch: physicochemical and functional aspects. In: Eliasson, A.C. (Ed.), Carbohydrates in Food. Taylor and Francis Group, Boca Raton, pp. 391–470.

-F-

Favier A. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique. p108-111.

Fridovich I. (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Ann Rev Biochem* 64: 97-112.

Food Chem. Toxicol. 49, 2005–2012. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.04.039>. **Moreau, C.,**

-G-

Gaidi G, Correira M, Chauffert B, Beltramo J-L, Wagner M, Lacaille-Dubois, M-A. (2002). Saponins mediated potentiation of cisplatin accumulation and cytotoxic in human colon cells. *Planta Med.*, 68, 70-72.

Gaoussou Timite. (2012). Isolement et caractérisation des saponosides de plantes de la famille des Alliaceae, caryophyllaceae et Polygalaceae et évaluation de leurs activités cytotoxiques sur cellules tumorales. Université de Bourgogne. pp 13, 21.

Gorinstein, S., Martin-Belloso, O., Park, Y.S., Haruenkit, R., Lojek, A., Ciz, M., Caspi, A., Libman, I., Trakhtenberg, S., 2001. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. 74, 309–315. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00157-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00157-1).

-H-

Haleng J, Pincemail J, Defraigne J.O, Charlier C, Chapelle J.P (2007). Le stress oxydant, *Rev Med Liege*, 62, 10 : 628-638.

Harborne J. B. (1973). *Phytochemical Methods*, Chapman and Hall, Ltd., London, pp. 49-188.

Havsteen B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol, Therapeutics*, 96, 67-202.

Hostettmann K, Marston A. (1995). *Saponins, (Chemistry pharmacology of natural products)*. Cambridge : Cambridge University Press.

Huguet A.I, Del Carmen Recio M, Manez S, Giner R.M, Rios J.L. (2000). Effect of triterpenoids on the inflammation induced by protein kinase C activators, neuronally acting irritants and other agents. *Eur. J. Pharmacol.* 410, 1, pp 69-81.

Haskell, G. 1943. Spatial isolation of seed crops. *Nature (London)* 152: 591-592 .

Hadrich, F., Arbi, M.E., Boukhris, M., Sayadi, S., Cherif, S., 2014. Valorization of the peel of pea: *Pisum sativum* by evaluation of its antioxidant and antimicrobial activities. 63, 1177–1183. <https://doi.org/10.5650/jos.ess14107>.

Hajaji, H.E., Lachkar, N., Alaoui, K., Cherrah, Y., Farah, A., Ennabili, A., Bali, B.E., Lachkar, M., 2011. Antioxidant activity, phytochemical screening, and total phenolic content of

extracts from three genders of carob tree barks growing in Morocco. 4, 321–324. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.06.053>.

He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., Ma, Xi., 2017. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. *Cell.* 44, 532–553. <https://doi.org/10.1159/000485089>.

Hegedusova, A., Mezeyova, I., Timoracka, M., Slosar, M., Musilova, J., Jurikova, T., 2015. Total polyphenol content and antioxidant capacity changes in dependence on chosen garden pea varieties. *Potravinarstvo* 9, 1–8. <https://doi.org/10.5219/412>.

Hellens, R.P., Moreau, C., Lin-Wang, K., Schwinn, K.E., Thomson, S.J., Fiers, M.W.E.J., Frew, T.J., Murray, S.R., Hofer, J.M.I., Jacobs, J.M.E., Davies, K.M., Allan, A.C.,

Hrazdina, G., Weeden, N.F., 1986... Enzymatic control of anthocyanin expression in the flowers of pea (*Pisum sativum*) mutants. 24 Nos. 3/4.

-I-

Ichai Carole, Quintard Hervé, Orban Jean-Christophe. (2011). Désordres métaboliques et reanimation. pp. 427-439.

-K-

Kubola J, Siriamornpun S. (2008). Phenolic contents and antioxidant activities of bitter melon (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. 110(4): 881-8.

Kalia, P., Sharma, S.K., 1988. Biochemical genetics of powdery mildew resistance in pea *Theor.* 76, 795–799. <https://doi.org/10.1007/BF00303528>.

Kaswan, V., Kaushik, A., Devi, J., Joshi, A., Maloo, S.R., 2018. Genetic association studies for yield and yield contributing traits in *Plantago ovata* Forsk. *Electronic J.* 9, 51–59. <https://doi.org/10.5958/0975-928X.2018.00006.6>.

Kaur, C., Nagal, S., Nishad, J., Kumar, R., Sarika, 2014. Evaluating eggplant (*Solanum melongena* L.) genotypes for bioactive properties: a chemometric approach. *Int.* 60, 205–211. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.09.049>.

Klepacka, J., Gujska, E., Michalak, J., 2011. Phenolic compounds as cultivar- and variety-distinguishing factors in some plant products. *Nutr.* 66, 64–69. <https://doi.org/10.1007/s11130-010-0205-1>.

Koley, T.K., Singh, S., Khemariya, P., Sarkar, A., Kaur, C., Chaurasia, S.N.S., Naik, P.S., 2014. Evaluation of bioactive properties of Indian carrot (*Daucus carota* L.): a chemometric approach. *Int.* 60, 76–85. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.12.006>.

Koley, T.K., Kaur, C., Nagal, S., Walia, S., Jaggi, S., Sarika, 2016. Antioxidant activity and phenolic content in genotypes of Indian jujube (*Zizyphus mauritiana* Lamk.). 9, S1044–S1052. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.11.005>.

-L-

Lacaille-Dubois M.-A. (2005). Bioactive saponins with Cancer related and immunomodulatory activity: recent developments. In: Attar-ur-Rahman (Ed.). *Stud. Nat. Prod. Chem.* 32,209-246.

Levrant J, Iwase H, Shao ZH, Vanden Hoek TL, Schumacker PT. (2003). Cell death during ischemia: relationship to mitochondrial depolarization and ROS generation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284: 549-58.

Li H-B, Wong C-C, Cheng K-W, Chen F. (2008). Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT*, 41: 385–390.

Liu, Z., Ren, Z., Zhang, J., Chuang, C.C., Kandaswamy, E., Zhou, T., Zuo, L., 2018. Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases. 9, 477. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00477>.

Lu, J.M., Lin, P.H., Yao, Q., Chen, C., 2010. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *J. Cell. Mol. Med.* 14, 840–860. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00897.x>.

Luthar. Z. (1992). Polyphenol classification and tannin content of buckwheat seed (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Fagopyrum*, 12: 36-42.

-M-

Messiaen, C.M. 2010. *Le potager familial méditerranéen*. Edition Versailles, 191 p

Madiwale, G.P., Reddivari, L., Stone, M., Holm, D.G., Vanamala, J., 2012. Combined effects of storage and processing on the bioactive compounds and pro-apoptotic properties of color-fleshed potatoes in human colon cancer cells. *J. Agric.* 60, 11088–11096. <https://doi.org/10.1021/jf303528p>.

Marathe, S.A., Rajalakshmi, V., Jamdar, S.N., Sharma, A., 2011. Comparative study on antioxidant activity of different varieties of commonly consumed legumes in India.

Maire R. (1987). *La flore de l’Afrique du Nord. Les légumineuses*, Le chevalier Ed. Paris XVI.

Manach Claudine, Augustin Scalbert, Christine Morand, Christian Rémésy, Liliana Jiménez. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability, 79:727– 747.

Manitto P, (1981). *Biosynthesis of natural products*. John Willey et sons. New York.

Mann J. (1987). *Secondary metabolism*, édition. 2, Clarendon press, Oxford.

Marston A. (2011). *Journal of Chromatography A*, 1218, 2676-2683.

Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides TC. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer, pharmacological reviews, 52:673–751.

Middleton JR. E, Chithan K. (1994). The impact of plant flavonoids on mammalian biology : Implications for immunity, inflammation and cancer, The flavonoids—Advances in research since 1986, Chapter: The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer, Publisher: Chapman & Hall, London, U.K. 1994, 676 pp., Editors: J. B. HARBORNE, pp.619-652.

Moghadasian MH. (2000). Pharmacological properties of plant sterols. In vivo and in vitro observations. Life Sciences. 67, pp 605-615.

Molyneux P. (2004). The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 26 (2): 211-219.

Muhammad S. A, Faman A, Vqai U. A. (2001). Unusual chemical constituents of *Lotus garcinii* (Fabaceae), Turk. J. Chem. 25, pp. 107-112.

-N-

Narayane K. R, Reddy M. S, Chaluvadi M. R. (2001). Bioflavonoides classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian journal of pharmacology, 33 : pp. 2-16.

N'guessan K. (2008). Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles chez les peuples Abbe et Krobou du Département d'Agboville (Côte-d'Ivoire). Thèse de Doctorat en Sciences Naturelles. Université de Cocody-Abidjan, 235.

Nyabyenda, P. 2005. Les plantes cultivées en région tropicales d'altitude d'Afrique. Les presses agronomiques de Gembloux, 225 p.

National Food Administration, 2002. 02.2, Code 1155. National Food Administration, Uppsala, Sweden.

Nilsson, J., Stegmark, R., Akesson, B., 2004. Total antioxidant capacity in different pea (*Pisum sativum*) varieties after blanching and freezing. 86, 501–507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.09.002>.

Nishad, J., Singh, S.P., Singh, S., Saha, S., Dubey, A.K., Varghese, E., Kaur, C., 2018.

Bioactive compounds and antioxidant activity of selected Indian pummelo (*Citrus grandis* L. Osbeck) germplasm. 233, 446–454. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.01.024>.

Nithiyantham, S., Selvakumar, S., Siddhuraju, P., 2012. Total phenolic content and antioxidant activity of two different solvent extracts from raw and processed legumes, *Cicer arietinum* L. And *Pisum sativum* L. 27, 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.04.003>.

Noel-Ellis, T.H., Hofer, J.M.I., Timmerman-Vaughan, G.M., Coyne, C.J., Hellens, R.P., 2011. Mendel, 150 years on. 16, 1360–1385. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.06.006>.

-O-

Ojwang, L.O., Dykes, L., Awika, J.M., 2012. Ultra performance liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry profiling of anthocyanins and flavonols in cowpea (*Vigna unguiculata*) of varying genotypes. *J. Agric.* 3735–3744. <https://doi.org/10.1021/jf2052948>.

Oomah, B.D., Caspar, F., Malcolmson, L.J., Bellido, A.S., 2011. Phenolics and antioxidant activity of lentil and pea hulls 44, 436–441. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.027>.

Osborn A.E, Haralampidis K. (2002). Triterpenoid Saponin Biosynthesis In Plants. *Recent Advances in Phytochemistry.* 36 : 81–93.

Ozcelik B, Kartal M, Orhan I. (2011). Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids. *Pharm. Biol.* 49, 396–402.

Özyürek Mustafa, Kubilay Güçlü, Tütem Esmâ, Kevser Sözgen Baskan, Erol Erçag, S.Esin çelik, Baki Safa, Yildiz Leyla, Karaman Seyda, Apak Resat. (2011). A comprehensive review of CUPRAC methodology, *CRITICAL REVIEW*, 3, 2439.

-P-

Pitrat ,M ., et Foury, C.2003. *Histoires de légumes des origines à l'orée du XXIe siècle.*

INRA EDITIONS, 410 p.

Perla, V., Holm, D.G., Jayanty, S.S., 2012. Effects of cooking methods on polyphenols, pigments and antioxidant activity in potato tubers. 45, 161–71.

Petchiammal, C., Hopper, W., 2014. Antioxidant activity of proteins from fifteen varieties of legume seeds commonly consumed in India. *Int. J.* 6, 476–479. 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 Biol. Med. 26, 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).

Peirs Céline. (2005). contribution à l'étude phytochimique de galega officinalis l. (fabaceae), Ecole doctorale : Sciences des Procédés, Spécialité : Sciences des Agroressources; pp 75.

Perez Gutierrez R.M. et Vargas S. R. (2002). Triterpenes from *Agarista mexicana* as Potential Antidiabetic Agents. *Phytother. Res.* 16, pp 55-58.

Perez-Jimenez J, Saura-Calixto F. (2006). Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays; 39: 791-800.

Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraigne JO. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*, 4, (5).

Pistelli L, Giachi I, Potenzs D, Morselli I. (2000). A New Isoflavone from *Genista corcica*. *Journal of Natural Products*, 63, pp. 504-506.

Pistelli L, Bertoli A, Giachi I, Manumata A. (1998). Flavonoids from *Genista ephedroides*. *Journal of Nat. Prod.*, 61 (11), 1404-1406.

Pistelli L, Bertoli A, Giachi I, Morelli I, Rubiolo P, Bicchi C. (2001). Quinolizidine alkaloids from *Genista ephedroides*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29. 137-141.

Plantes botanique. Les fabaceae. (2012) [Consulté le 19/02/2016]. Disponible à partir de : http://www.plantes-botanique.org/famille_fabaceae

-R-

Royal Horticultural Society Color Charts, 1804. Royal Horticultural Society, England and Wales (No. 222879) and Scotland (No. SCO38262). Royal Horticultural Society Color Charts, London.

Rahman A. U. (2005). Studies in natural products chemistry: Bioactive natural products. Part K, Elsevier, USA.

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): 1231-1237.

Recio M.C, Giner R.M, Manez S, Rios J.L. (1995). Structural requirements for the anti-inflammatory activity of natural triterpenoids. *Planta Med.* 61, 2, pp 182-185.

Rice-Evans C, Miller N.J. (1994). Total Antioxidant Status in Plasma and Body Fluids. *Methods in Enzymology*. 234: 279-293.

Rice-Evans C, Miller N.J, Bowell P.G, Bramley P.M, Pridham J.B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*. 22: 375-383.

Richier S, Merle PL, Furla P, Pigozzi D, Sola F, Allemand. D. (2003). Characterization of superoxide dismutases in anoxia- and hyperoxia-tolerant symbiotic cnidarians. *Biochim Biophys Acta* 1621: 84-91.

Roginsky V, Lissi EA. (2005). Review of methods to determine chainbreaking antioxidant activity in food. *Food Chem* 92:235–254.

-S-

Sharma, A., Kapoor, P., Katoch, V., Singh, Y., Sharma, J.D., 2013. Development of powdery mildew resistant genotypes in garden pea (*Pisum sativum* L.) through generation mean analysis approach. *Genet*. 73, 371–377. <https://doi.org/10.5958/j.0975-6906.73.4.056>.

Singh, J., Dhall, R.K., Aujla, I.S., 2015. Characterization of resistance response of garden pea (*Pisum sativum* L.) against powdery mildew (*Erysiphe pisi* dc) in sub-tropical plains of India. *SABRAO J. Breed. Gen.* 47, 384–393.

Singh, B., Singh, J.P., Kaurb, A., Singh, N., 2017. Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds: a review. *Food Res. Int.* 101, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.026>.

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).

Stanisavljevic, N.S., Ilic, M.D., Matic, I.Z., Jovanovic, Z.S., Cupic, T., Dabic, D.C., Natic, M.M., Lj-Tesic, Z., 2016. Identification of phenolic compounds from seed coats of differently colored European varieties of pea (*Pisum sativum* L.) and characterization of their antioxidant and in vitro anticancer activities. *Nutr. Cancer* 68, 988–1000. <https://doi.org/10.1080/01635581.2016.1190019>.

Sanchez-Moreno C, Larrauri Jose A, Saura-Calixto F, (1998). A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 76(2): 270-276.

Shaiq ALI M, Farman A, Viqar Uddin A, (2001). Unusual Chemical Constituents of Lotus garcinii (Fabaceae). *Turk J Chem.* 25. 107-112.

Sparg S. G, Light M. E, Van Staden J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology* 94 :219-243.

Spichiger R. E., Savolainen V. V., Figeat M., Jeanmoned D. (2002). Botanique systématique des plantes à fleur. Presses polytechniques et Universitaires romandes, CH Lausanne.

-T-

Troszynska, A., Ciska, E., 2002. Phenolic compounds of seed coats of white and coloured varieties of pea (*Pisum sativum* L.) and their total antioxidant activity. 20, 15–22.

Tzitzikas, E.N., Vincken, J.P., De-Groot, J., Gruppen, H., Visser, R.G.F., 2006. Genetic variation in pea seed globulin composition. *J. Agric.* 54, 425–433 doi:0.1021/jf0519008.

Terpinc P, Bezjak M, Abramovic H. (2009). A kinetic model for evaluation of the antioxidant activity of several rosemary extracts. *Food Chemistry*, 115: 740-744.

Tosun F, Akyuz Kizilay C, Tosun A.U, (2009). Flavonoids and isoflavonoids from *Genista sessilifolia* growing in Turkey. *Compd.* 45, 83–84.

Tosun F, Tanker M, Ozden T, Tosun A. (1987). Alkaloids of *Genista involucrate* and *Genista albida*. *Planta Medica*, 58, 499-505.

Toubal Oumessaad., Abdelghani Djahoudi and Amel Bouzabata. (2011). Preliminary Studies and Antimicrobial Evaluation of the Aerial Parts of *Genista numidica ssp. Numidica*. *Journal of Life Sciences* 5, 954-959.

Toubal. O. (1998). *Prunetum aviae, Genistetum numidicae, Chamaeoropetum humili*, 03 associations qui caractérisent la végétation numidienne (Edough N-E Algérie. *Itinera Geobotanica* 10 : 213-226.

Tu Y.C, Lian T.W, Yen J.H, Chen Z.T, Wu M.J. (2007). Antiatherogenic effects of kaempferol and rhamnocitrin. *J. Agric. Food Chem.*, 55(24), 9969-9976.

-U-

US FDA (2000). 21 CFR Pt 101 Food labelling: Health Claims, plant sterol/stanol esters and coronary heart disease. *Food Reg*, 65, 54685-54731.

USDA, 2008. Plants profile of *Pisum sativum* L. (Garden pea). United States Department of Agriculture (USDA), Natural Resources Conservation Service (NRCS), Plants database. Eliasson, A.C., Gudmundsson, M., 2006. Starch: physicochemical and functional aspects. In: Eliasson, A.C. (Ed.), *Carbohydrates in Food*. Taylor and Francis Group, Boca Raton, pp. 391–470.

-V-

Vincken J.-P, Heng L, De Groot A, Gruppen H. (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom, *Phytochemistry*, 68:275–297.

-W-

Wang, R., Wang, L., Yuan, S., Li, Q., Pan, H., Cao, J., Jiang, W., 2018. Compositional modifications of bioactive compounds and changes in the edible quality and anti-oxidant activity of ‘Friar’ plum fruit during flash reddening at intermediate term-peratures. 254, 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.169>.

Welch, R.W., Griffiths, D.W., 1984. Variation in the oil content and fatty acid composition of field beans (*Vicia faba*) and peas (*Pisum spp.*). *J. Sci.* 35, 1282–1289. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740351203>.

Wachter G. A, Valcic S, Franzblau S. G, Suarez E, Timmermann B. N. (2001). Antitubercular activity of triterpenoids from *Lippia turbinata*. *Journal of Natural Products*, 64, 37.

-x-

Xu, B., Chang, S.K., 2008. Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes. 110, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.045>.

-Y-

Yaacoub R. (2009). Impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineux. l'intérêt de la fluorescence comme outil de contrôle des composés néoformés. Thèse de doctorat. N° 2009AGPT 0048. Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (agro paris tech).

Yu-Wei, L., Wang, Q., 2015. Effect of processing on phenolic content and antioxidant activity of four commonly consumed pulses in China. *J. Horticulture* 2, 130. <https://doi.org/10.4172/2376-0354.1000130>.

Zhao, Y., Shuang-kui, Du., Wang, H., Cai, M., 2014. In vitro antioxidant activity of extracts from common legumes. 152, 462–466. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.006>.

Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. 64,555–559.

Zilani, M.N.H., Sultana, T., Rahman, S.M.A., Anisuzzman, M., Islam, M.A., Jamil, A., Shilpi, Hossain, M.G., 2017. Chemical composition and pharmacological activities of *Pisum sativum*. BMC Complement. Altern. Med. 17, 171. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1699-y>.

Zohary, D., and Hopf, M. 1988. Domestication of plants in the old world, Oxford Univ. Press. Oxford, U.K.

Yang B, Kotani A, Arai K, Kusu F. (2001). Estimation of the antioxidant activities of flavonoids from their oxidation potentials. Anal Sci. 17(5):599-604.

Synthèse des travaux phytochimiques et activités biologiques de l'espèce *Pisum sativum* L.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie et physiologie de la reproduction végétale

Résumé

Ce travail est consacré à l'étude phytochimique de l'espèce *Pisum Sativum* L. de la famille *Fabaceae* ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante, et les génotypes de couleur graine violette et foncée qui ont respectivement les teneurs phénoliques totales et flavonoïdes totales les plus élevées, ainsi qu'un potentiel d'antioxydants puissants, ont été trouvés par rapport aux génotypes, et une faible productivité des gousses a été enregistrée dans ces deux génotypes. Principalement en raison du faible poids des cosses de pois

Au niveau génétique, il a été constaté que la teneur totale en phénolates était significativement liée au TEAC UPRAC DPPH.

L'association positive entre les phénols totaux et les antioxydants totaux avec des activités antioxydantes a indiqué que les phénols, y compris les composés flavonoïdes, sont le composant principal de toutes les activités antioxydantes en relation avec les systèmes génétiques du pois.

La puissante capacité antioxydante permet de combiner des caractères de haute activité avec un seul génotype, contribuant ainsi à atteindre l'objectif à long terme d'assurer la sécurité alimentaire des consommateurs.

Mots clés : *Pisum Sativum* L., métabolites secondaires. Anti-oxydons

Laboratoire de recherche : Laboratoire de CRBT.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Pr. LABBANI Zelikha

Pr. UFM Constantine1,

Rapporteur : Dr. HAMMOUDA Dounia

MCA UFM Constantine1,

Examineur : Dr. KARA Karima

MCA UFM Constantine1.

Date de soutenance : 15/10/2020