



International Journal of Natural Resources and Environment

Journal home page: <https://ijnre.univ-adrar.dz>
ISSN 2710-8724



I
J
N
R
E

Etude morphologique et cyto-histo-anatomique d'*Hyoscyamus muticus* L. subsp. *falezlez*, plante médicinale de la région d'Adrar

Sofia Ayari-Guentri^{1,2}, Nadjette Djemouai^{1,3,4*}, Rabéa Gaceb-Terrak¹, Fatma Rahmania¹

¹Laboratoire de Recherche sur les Zones Arides (LRZA), Faculté des Sciences Biologiques, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB), BP32 El-Alia, 16111 Bab Ezzouar, Alger, Algérie.

²Faculté des Sciences, Département des Sciences de la Nature et de la Vie, Université d'Alger1 02. Didouche Mourad, Alger, Algérie.

³Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM), Ecole Normale Supérieure de Kouba, B.P. 92, 16 050 Kouba, Alger, Algérie.

⁴Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre, Université de Ghardaïa, BP 455, Ghardaïa 47000, Algérie.

* Corresponding author: nadjetdjm@hotmail.fr (N. Djemouai)

Article details: Received: 28 February 2021, Revised: 25 April 2021, Accepted: 02 May 2021

Résumé:

Hyoscyamus muticus L. subsp. *falezlez* (Coss) Maire est une plante médicinale utilisée par la population du Sud algérien. L'espèce *H. muticus* L. est très étudiée en pharmacologie pour ses alcaloïdes tropaniques, elle est cependant inexplorée sur les plans histo-cytochimique et biochimique en relation avec le métabolisme secondaire des polyphénols et des terpènes. L'objectif de notre travail est de contribuer à la connaissance de la sous-espèce *H. muticus* L. subsp. *falezlez* récoltée de la wilaya d'Adrar (Sud d'Algérie) en décrivant les aspects morpho-histo-anatomiques de ses différents organes en utilisant la microscopie photonique et en identifiant partiellement ses principales biomolécules (composés phénoliques) par une chromatographie sur couche mince. Certaines caractéristiques histo-anatomiques ont été déterminées pour distinguer cette sous-espèce dans le genre *Hyoscyamus*. *H. muticus* L. subsp. *falezlez* se caractérise par présence des macles d'oxalate de calcium, des poils sécréteurs ramifiés, des papilles et d'une assise sous-épidermique dense. Elle contient aussi des composés bioactifs (polyphénols, alcaloïdes et terpènes). La plupart des composés phytochimiques détectés dans les différents organes de la plante étudiée sont connus pour leurs activités biologiques à savoir l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne.

Mots clés : *Hyoscyamus muticus* ; Plante médicinale ; Cytologie ; Histologie ; Screening phytochimique ; Adrar.

Abstract:

Hyoscyamus muticus L. subsp. *falezlez* (Coss) Maire is a medicinal plant used by the people of South of Algeria. The species *H. muticus* L. is widely studied in pharmacology for its tropanic alkaloids, it is however unexplored histo-cytochemically and biochemically in relation to the secondary metabolism of polyphenols and terpenes. The objective of our work is to contribute to the knowledge of the subspecies *H. muticus* L. subsp. *falezlez* collected from the Adrar Province (South of Algeria) by describing the morpho-histo-anatomical aspects of its different organs using light microscopy and partially identifying its main biomolecules (phenolic compounds) by thin layer chromatography. Some histo-anatomical characteristics have been determined to distinguish this subspecies in the genus *Hyoscyamus*. *H. muticus* L. subsp. *falezlez* is characterized by the presence of calcium oxalate, branching secretory hairs, papillae and a dense sub-epidermal layer. It also contains bioactive compounds (polyphenols, alkaloids and terpenes). Most of the phytochemicals detected in the different organs of the studied plant are known for their biological activities, namely antioxidant activity and antimicrobial activity.

Keywords: *Hyoscyamus muticus*; Medicinal plant; Cytology; Histology; Phytochemical screening; Adrar.

1. Introduction

La famille des *Solanaceae* est l'une des plus grandes familles de plantes. Elle renferme environ 100 genres comprenant plus de 2500 espèces (Shah et al., 2013). Il s'agit d'une famille cosmopolite, composé d'herbes, des buissons et d'arbustes ; elle comprend des plantes médicinales et ou toxiques. Le genre *Hyoscyamus* comporte des plantes herbacées annuelles ou bisannuelles, mesurant de 30 à 160 cm de hauteur. Ce genre comprend environ 20 espèces, ces dernières se distribuent dans la région méditerranéenne, Euro-sibérienne, Irano-turanienne et Saharo-arabienne (Feinbrun-Dothan, 1978). Les espèces de ce genre sont une source naturelle de l'hyoscyamine, l'atropine et la scopolamine, alcaloïdes très recherchés pour leurs vertus médicales (Bernards, 2002).

En Algérie, le genre *Hyoscyamus* L. est représenté par trois espèces *Hyoscyamus niger* L., *H. albus* L. et *H. muticus* L. (Quézel et Santa, 1963). *Hyoscyamus muticus* L. (1767), appelée Jusquiame d'Égypte présente deux sous-espèces *H. muticus* L. subsp. *muticus* et *H. muticus* L. subsp. *falezlez* (Coss.) Maire, dont le synonyme est *Hyoscyamus falezlez* Coss. (1864). Dans le monde, *H. muticus* L. est une espèce Saharo-Sindienne que l'on trouve en Egypte, en Arabie Saoudite et en Iran. Elle est originaire des régions subsahariennes de l'Afrique du Nord. La sous-espèce *falezlez* est endémique du Sahara Septentrional et Central (Quézel et Santa, 1963). *H. muticus* L. subsp. *falezlez* est une plante spontanée qui pousse dans les régions du Sud, elle est localisée dans les régions suivantes : Adrar (selon notre propre prospection), à Béni-abbès (Béchar), El-Goléa (Ghardaïa) et Ouargla (Maiza et al., 1993) et à Tamanrasset où elle se développe dans les lits d'oueds limoneux sablonneux, dans les zones d'épandage et des cultures (Sahki et Boutamine-Sahki, 2004). Les espèces du genre *Hyoscyamus* possèdent des propriétés pharmacologiques similaires et contiennent les principes actifs cités précédemment. En pharmacopée traditionnelle, les parties aériennes fraîches ou sèches de ces plantes sont très utilisées (Fern, 2014).

Le présent travail décrit d'une part l'aspect cyto-histo-anatomique de l'appareil végétatif d'*H. muticus* L. subsp. *falezlez* et d'autre part étudie par un criblage préliminaire les différentes familles de métabolites secondaires dont le but d'améliorer les connaissances et aider à mieux identifier cette sous-espèce.

2. Matériels and Méthodes

2.1. Matériel végétal

Notre travail a été réalisé sur les différents organes végétatifs frais (feuilles, tiges et racines) d'*H. muticus* L. subsp. *falezlez* prélevés au mois de mars 2017 dans la station expérimentale de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) d'Adrar (27° 54' Nord, 0° 17' 1" Ouest) à partir de nombreux pieds en floraison. La plante, prélevée a été identifiée par le professeur Hireche Aziz de la Faculté des Sciences Biologiques (FSB), de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB), Alger, en accord avec la description établie par Quézel et Santa (1963).

Un spécimen de la plante entière a été inventorié « MP-19-8-13 » et déposé au sein du laboratoire de l'équipe « Maladies du Palmier Dattier et Biochimie des Plantes Désertiques » faisant partie du laboratoire de recherche sur les zones arides (LRZA), FSB, USTHB (Alger, Algérie).

2.2. Cyto-histo-anatomie

A partir des échantillons frais collectés, des coupes transversales sont préparées à main levée en utilisant des lames de rasoirs. Les coupes obtenues sont placées entre lame et lamelle en présence de quelques gouttes d'eau. Le montage réalisé est observé au microscope photonique aux différents grossissements.

2.3. Screening phytochimique

L'histo-cytochimie permet la mise en évidence des métabolites secondaires (alcaloïdes, composés phénoliques et terpènes) contenus dans la plante. Le protocole expérimental consiste à confectionner des coupes transversales à partir de matériel végétal frais ou fixé au niveau des différents organes à étudier. Les coupes obtenues sont traitées par différents réactifs. Les observations ont été faites au microscope photonique, en présence de réactifs ou non.

2.3.1. Recherche des flavanes et tanins condensés

La mise en contact des coupes dans une solution de vanilline chlorhydrique pendant quelques minutes. La coloration jaune indique la présence du métabolite recherché (Gardner, 1975).

2.3.2. Recherche des lignines à groupements coniféryl

Les coupes sont mises en contact avec une solution de phloroglucinol (1%) dans l'éthanol 95° pendant 10 min puis montées dans de l'HCl concentré. La couleur rouge violacée signifie la présence des composés recherchés (Vance et Sherwood, 1976).

2.3.3. Recherche des lignines à groupements Syringyl

Les coupes immergées dans une solution de $KMnO_4$ à 1% sont mises dans l'eau pendant 10 min, rincées à l'eau distillée puis mises en contact avec HCl (2N) pendant 5 min. Elles sont ensuite lavées à l'eau distillée puis traitées au NH_4Cl (2N) en solution dans l'eau. La coloration rouge-brune est caractéristique des lignines à groupements Syringyl (Faulkner et Kimmins, 1975).

2.3.4. Recherche des subérines (groupement phénolique)

Les coupes sont éclaircies dans une solution aqueuse de KOH 15mol, ensuite placées dans une solution saturée de Soudan IV dans l'éthanol 70% pendant 4 h puis rincées à l'éthanol 50%. L'obtention d'une coloration rose à rouge signifie la présence des subérines (Southerton et Deverall, 1990).

2.3.5. Recherche des alcaloïdes

Les coupes sont placées dans une solution d'iodobismuthite de potassium (Dragendorff) pendant quelques minutes puis rincées à l'eau distillée. La coloration brune noirâtre à rouge est caractéristique des alcaloïdes (Bruneton, 1999).

2.3.6. Recherche des terpènes et terpénoïdes

Les coupes sont placées entre lame et lamelle en présence d'une goutte d'eau. La coloration jaune dans les structures sécrétrices signifie la présence des composés recherchés (Bruneton, 1999).

2.4. Analyse semi-qualitative des composés phénoliques

Le protocole d'extraction des flavonoïdes de la plante étudiée en utilisant l'éther diéthylique a permis d'obtenir une phase organique contenant les aglycones flavoniques et les acides phénols (Lebreton et al., 1967). Les composés phénoliques sont analysés par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) (Braithwaite et Smith, 1999).

2.4.1. CCM monodimensionnelle des aglycones flavoniques

Sur un support en aluminium (20 x 20 cm), recouvert d'un gel de silice (F 254), on dépose un volume de 100 µL de l'extrait méthanolique d'aglycones flavoniques des différentes parties de la plante étudiée. La plaque est ensuite introduite dans une cuve de migration préalablement saturée avec la phase mobile (90mL de chloroforme et 10 mL d'acide acétique). Une fois que l'éluant a atteint le front de la plaque, cette dernière est retirée et séchée. Les taches sont révélées après une lecture sous lampe UV à deux longueurs d'ondes différentes (255 et 365 nm). Chaque tache est ensuite caractérisée par un rapport frontal (Rf) qui est défini comme suit : $Rf = d / D$.

Avec, d : distance parcourue par la substance (cm). D : distance parcourue par le solvant (cm).

Les rapports frontaux sont calculés et comparés à ceux des témoins ou de la littérature permettant ainsi l'identification partielle des constituants de l'extrait dans les mêmes conditions de la chromatographie.

3. Résultats et Discussions

3.1. Description botanique du modèle biologique étudié

3.1.1. Appareil végétatif

H. muticus L. subsp. *falezlez* est une plante herbacée vivace atteignant 150 cm de haut, elle peut être glabre ou poilue et présente une tige épaisse et succulente. Les feuilles sont disposées en spirale, à limbe simple elliptique à ovale, à base cunéiforme, apex aigu et bord grossièrement denté. Les feuilles supérieures sont plus petites et souvent entières portant des poils simples. Le pétiole est de 1,5 à 5,5 cm de long sans stipules à sa base (Quézel et Santa, 1963). La sous-espèce *falezlez* diffère d'*Hyoscymus muticus* L. par son port moins robuste, son limbe beaucoup moins ample à nervation plus prononcée (Cosson, 1864) (Figure 1).

3.1.2. Appareil reproducteur

Cette espèce est caractérisée par une inflorescence dense à cyme terminale, s'allongeant jusqu'à 30 cm ou plus. La fleur est bisexuée, pentamère ; à calice régulier en entonnoir, penta-denté, les dents ont environ 5 mm de long. Une corolle zygomorphe, largement en entonnoir, penta-lobée, les lobes d'environ 2 cm de long, sont veinés de violet foncé. Les étamines, à anthère extrorse d'environ 4 mm de long ; l'ovaire est supère, biloculaire, le style très long et mince. Le fruit est une capsule ovoïde d'environ 6 mm de diamètre et 2 cm de long, déhiscente par une fente circulaire équatoriale, contenant de nombreuses graines réniformes d'environ 1 mm x 1,5 mm (Quézel et Santa, 1963). La sous-espèce *falezlez* diffère de *Hyoscymus muticus* L. par, ses inflorescences plus serrées, son calice à pédicelle très court (de moitié plus petit), sa corolle moins ample et son fruit plus petit et plus court (Cosson, 1864) (Figure 1).



Fig.1. Organisation morphologique de l'appareil végétatif et reproducteur d'*Hyoscyamus muticus* L. subsp. *falezlez*.
a: Morphologie générale de la plante, b : Tige et feuilles, et c : Fleur.

3.2. Organisation cyto-histo-anatomique

L'observation au microscope photonique de coupes fraîches et non vidées de leurs contenus cytoplasmiques des différents organes de la plante a permis de découvrir pour la première fois l'organisation histo-anatomique de la sous-espèce *H. muticus* L. subsp. *falezlez*, jamais décrite dans la littérature. Nous décrivons les tissus caractérisant chaque organe et leur organisation anatomique dans celui-ci :

3.2.1. Au niveau de la feuille

Les différents tissus constituant la feuille sont organisés en une structure anatomique primaire ou secondaire au niveau de la nervure principale chez les feuilles âgées (Figure 2) ; cette structure caractérise les feuilles à nervation pennée des Angiospermes Dicotylédones. Le limbe est occupé par un mésophile plus ou moins homogène (équifacial) formé par plusieurs (2 à 4) rangées de parenchyme chlorophyllien palissadique délimité par une assise épidermique très cutinisée (Figure 2 a, b et e). Nous notons par ailleurs, la présence de laticifères articulés au niveau du mésophile, de part et d'autre de la nervure principale (Figure 2 a). Le limbe présente un mésophile à cellules arrondies et à méats (Figure 2 c) vers la face inférieure de la nervure principale dont le bois hétéroxylé est bien développé (Figure 2 d). L'épiderme supérieur bien cutinisé, présente des poils sécréteurs souvent pluricellulaires, le pédoncule (2 à 3 cellules) se termine par une glande sécrétrice unicellulaire (Figure 2 a, b et f), comme c'est le cas dans la tige. Les cellules épidermiques situées à la base de ces poils sont de très grande taille et ont un contenu limpide, elles correspondraient à des cellules épidermiques sécrétrices ou à des papilles (Figure 2 e et f). L'épiderme inférieur présente une abondance en poils sécréteurs pluricellulaires ; deux assises de cellules sous-épidermiques sont apparentes sur cette face, elles sont formées de petites cellules arrondies à contenu dense (Figure 2 c). La feuille d'*H. muticus* L. subsp. *falezlez* ressemble par les caractéristiques histologiques de ses poils sécréteurs et son mésophile équifacial aux espèces *H. pusilus* et *H. aureus* décrites par Satil et al. (2015), elle présente par contre des macles d'oxalate de calcium dans son mésophile que ces deux espèces n'ont pas.

3.2.2. Au niveau de la tige

De même, les tissus de la tige (ici stade intermédiaire) s'organisent en structure anatomique secondaire (Figure 3 a) mais moins développée que celle de la racine. La stèle est formée d'un pachyte continu, dont le bois hétéroxylé est moins abondant que dans la racine, formant un anneau autour d'un parenchyme médullaire (moelle) à grandes cellules plus ou moins polyhédriques à parois pecto-cellulosiques minces (Figure 3 b). Le liber est lui aussi moins abondant, formé en même temps que le bois au niveau de la zone cambiale. Le cortex est caractérisé par la présence 4 à 6 rangées de parenchyme cortical profond (au contact du cylindre central) avec de grandes cellules arrondies à méats, et un autre périphérique (3 à 4 assises) dont les cellules aussi à méats sont de petite taille et présentent des parois celluloses épaisses et ponctuées (Figure 3 c). Une assise de cellules très particulière se situe sous l'épiderme. Ces cellules se distinguent par leurs petites tailles, l'épaisseur de leurs parois et la densité de leurs cytoplasmes (Figure 3 c, d et e). L'épiderme cutinisé présente des poils sécréteurs longs souvent pluricellulaires et parfois ramifiés terminés chacun par une glande sécrétrice (Figure 3 a, c et d) et des papilles à essence végétale (Figure 3 e).

En tenant compte des caractéristiques histo-anatomiques de la tige de quelques espèces du genre *Hyoscyamus* poussant en Turquie (Satil et al., 2015), celle d'*H. muticus* L. subsp. *falezlez* (Coss.) Maire se rapproche plus d'*H. pusilus* par rapport aux autres espèces décrites par ces auteurs. Nous notons cependant, que notre plante se distingue de ces espèces par la présence de poils sécréteurs ramifiés, de papilles et d'une assise sous-épidermique dense (Figure 3).

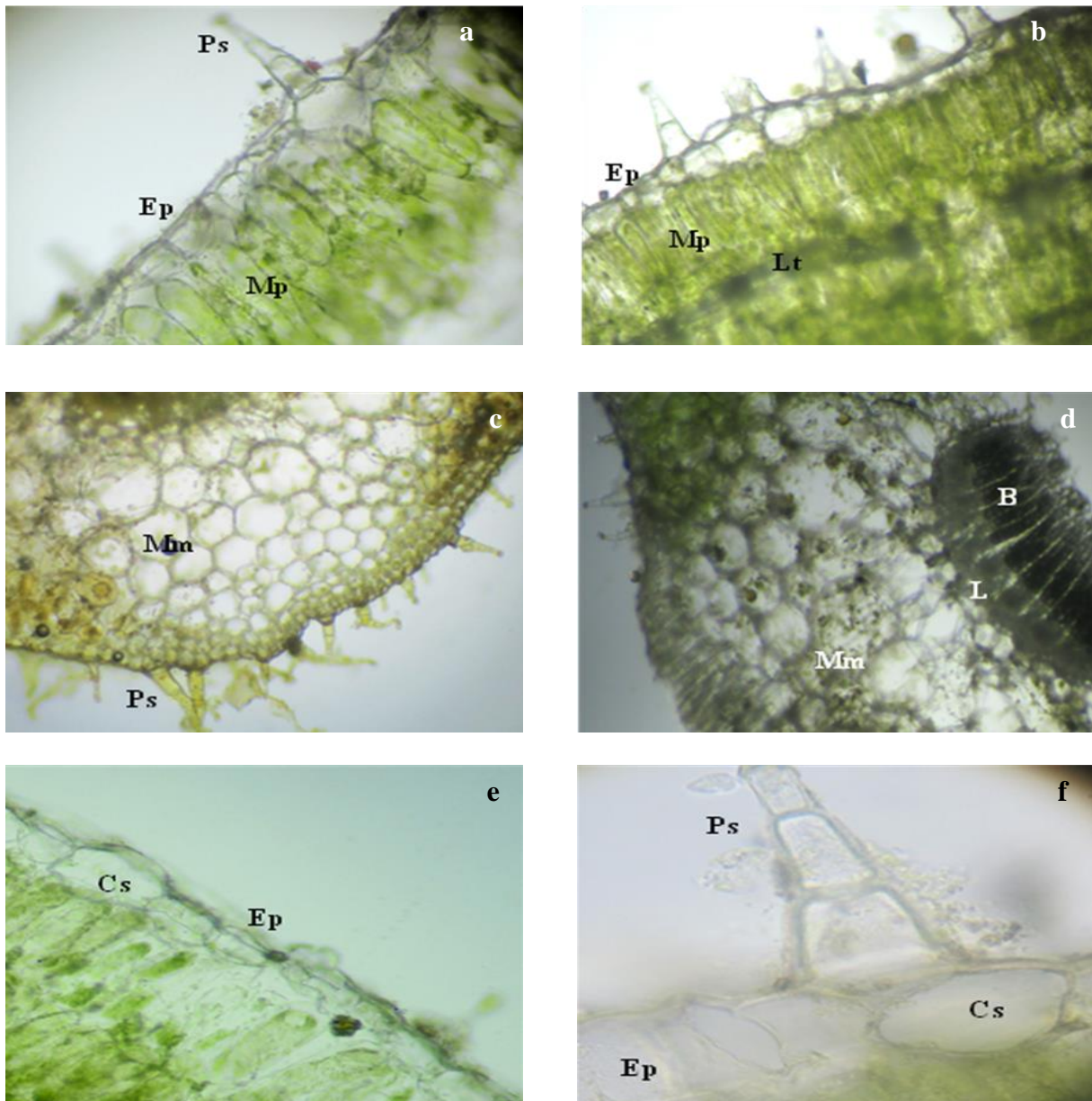


Fig.2. Organisation histo-anatomique au microscope photonique de coupes transversales dans une feuille d'*H. muticus* L. subsp. *falezlez*. a et b : Portions de coupes au niveau de la face supérieure du mésophile (x 100), c et d : Portions de coupes au niveau de la face inférieure de la nervure principale (x 40), et e et f : Détails au niveau des épidermes supérieur et inférieur (x 400). B : Bois hétéroxylé de la nervure principale, Cs : Cellules sécrétrices ou papille, Ep : Epiderme, L : Liber, Lt : Laticifères, Mm : Mésophile à méats, Mp : Mésophile palissadique et Ps : Poils sécrétrices.

3.2.3. Au niveau de la racine

Les tissus de la racine sont organisés en structure anatomique secondaire (Figure 4 a) typique des racines âgées d'Angiospermes Dicotylédones, formée d'un pachyte et d'un périoderme. Le pachyte continu situé dans le cylindre central de la racine est très développé, il comprend : - Un bois hétéroxylé formé de vaisseaux conducteurs de la sève brute à parois épaisses lignifiées et à calibre moyen au niveau du bois de printemps, alors que ceux du bois d'été sont à faible calibre dû à l'hyperaridité du milieu. Des rayons ligneux plurisériés entrecoupent transversalement les différents paquets de vaisseaux. La moelle disparaît totalement suite au développement important du bois (Figure 4 b).

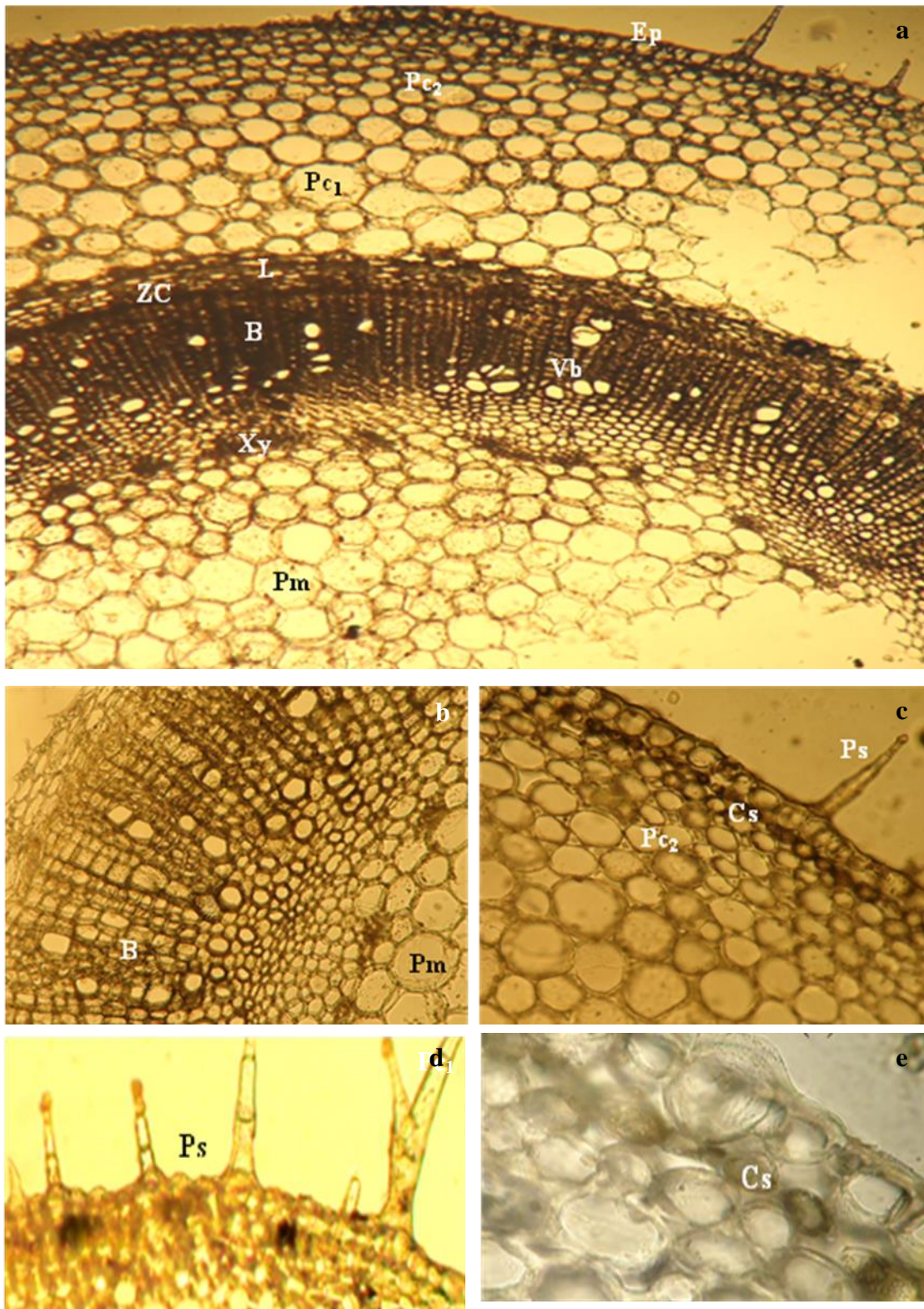


Fig.3. Organisation histo-anatomique au microscope photonique de coupes transversales dans une tige d'*H. muticus* L. subsp. *falezlez*. a : Portion de coupe transversale (x 40), b : Bois hétéroxylé (x 100), c : Cortex (x 100), d : Poil sécréteur (x 100) et e : Cellules sécrétrices et papilles (x 400). Cs : Cellules sécrétrices, Ep : Epiderme, Pa : Papilles, Pc1 : Parenchyme cortical profond, Pc2 : Parenchyme cortical périphérique, Pm : Moelle, Ps : Poil sécréteur et Xy : Xylème.

Un liber, tissu conducteur secondaire de la sève élaborée à parois celluliques plus ou moins épaisses, envahit le cortex. Les rayons libériens sont plurisériés très larges (en V), ils sont formés de cellules allongées transversalement dont le cytoplasme est riche en réserve (Figure 4 c et d).

Une zone cambiale très dense (Figure 4 a) formée ici d'un méristème secondaire (cambium) en activité de division qui produit simultanément les éléments conducteurs et non conducteurs du bois et du liber. Le périderme naissant du phellogène (méristème secondaire) se retrouve à la périphérie du cortex de la racine. Il est surtout formé de suber (liège) qui assure la protection de la racine grâce à l'imperméabilité de ses parois cellulaires subérifiées. Les assises cellulaires externes se desquament continuellement au contact du sol (Figure 4 a).

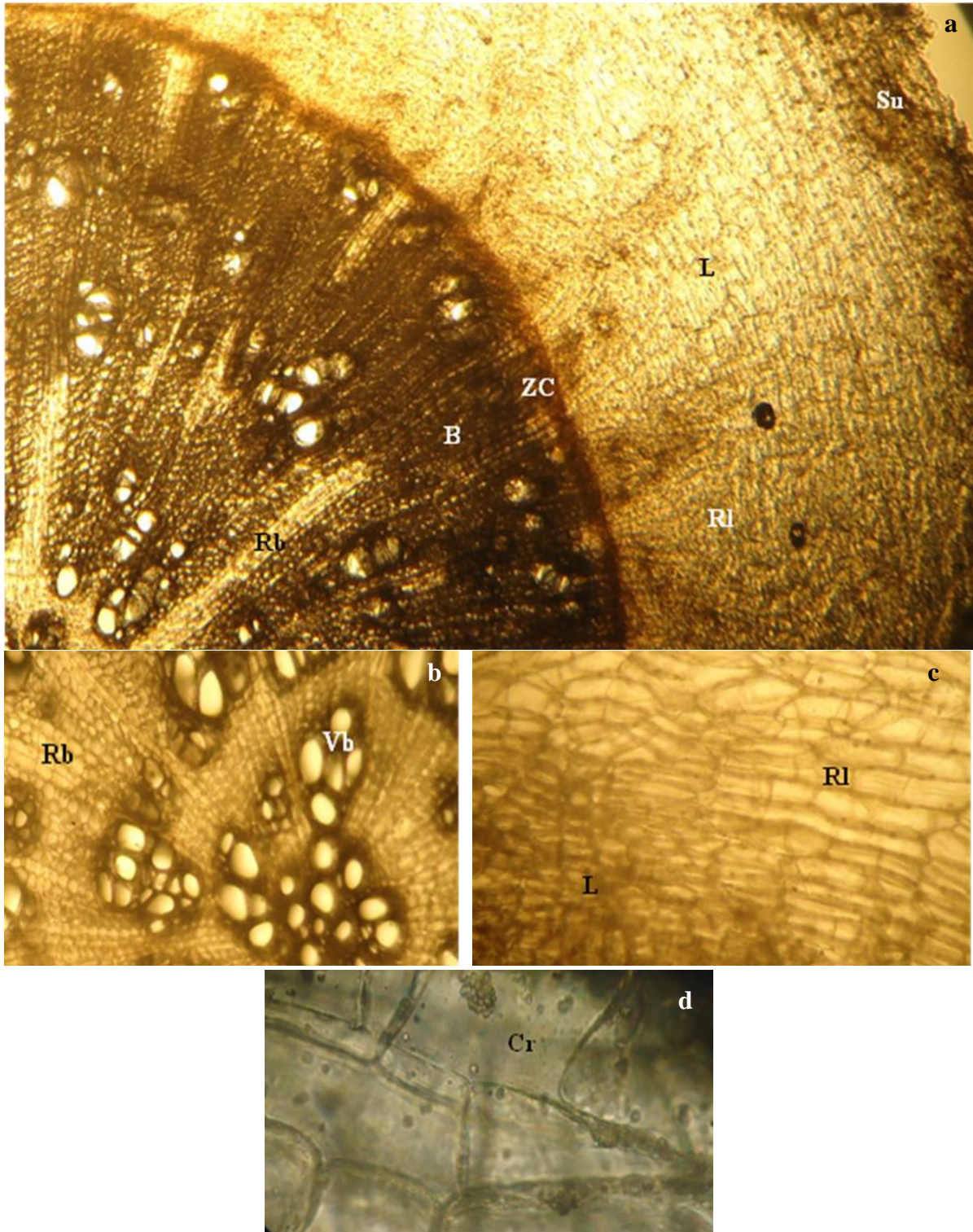


Fig.4. Organisation histo-anatomique au microscope photonique d'une coupe transversale d'une racine d'*H. muticus* L. subsp. *falezlez*. a : Un quart d'une coupe transversale (x 40), b : Bois hétéroxylé (x 100), c : Liber (x 100) et d : Cellules de réserves du rayon libérien (x 400). B : Bois hétéroxylé, Cr : Cellules des rayons libériens riches en réserves, L : Liber, Rb : Rayons ligneux plurisériés, Su : Suber (liège), Vb : Vaisseaux du bois, Zc : Zone cambiale.

3.3. Screening histo-cytochimique des métabolites secondaires

Le screening réalisé sur des coupes transversales de la feuille, la tige et la racine de la plante a permis de détecter la présence de certaines substances chimiques du métabolisme secondaire suite à une révélation et observation des coupes au microscope photonique. L'ensemble des résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau ci-après (Tableau 1). Les résultats des tests histo-cytochimiques réalisés dans les différents organes d'*H. muticus* L. subsp. *falezlez* ont mis en évidence la présence de composés chimiques connus dans la littérature pour leurs activités biologiques intéressantes. Les métabolites secondaires révélés appartiennent aux groupes des : alcaloïdes, terpènes et terpénoïdes et des composés appartenant à certaines classes ou sous-classes de polyphénols : tanins condensés et flavanes, lignines à groupements coniféryl ou siringyl, et domaines phénoliques des subérines.

Tableau 1. Résultats du screening histo-cytochimique dans les différents organes d'*Hyoscyamus muticus* L. subsp. *falezlez*.

Métabolites secondaires	Partie aérienne		Partie souterraine
	Feuille	Tige	Racine
Alcaloïdes	+++	+++	+++
Terpènes et terpénoïdes	+	+	-
Lignines totales	+	++	+++
Lignines à groupement coniféryl	+	++	+++
Lignines à groupement syringyl	-	-	-
Flavanes et tanins condensés	+	++	++
Subérines (domaine phénolique)	-	-	+

(-) : absence du composé recherché dans la coupe, (+) : composé recherché présent, (++) : présence abondante du composé recherché et (+++) : présence très abondante du composé recherché.

3.3.1. Alcaloïdes

Les résultats obtenus montrent la richesse de cette plante en alcaloïdes (de type tropanique selon la littérature), composés à fluorescence rouge foncé à brun noirâtre révélés par le Dragendorff et observés en microscopie photonique (Figure 5). On note leur présence en quantités importantes dans les différents organes (feuille, tige et racine) de la plante étudiée (Tableau 1). Quand ils sont présents dans la plante, les alcaloïdes, généralement combinés avec des acides ou des tanins, se trouvent en solution dans le suc vacuolaire des cellules végétales (Figure 5 b). Une localisation secondaire peut se produire dans la paroi cellulaire à la mort des cellules de certains tissus, tel que le bois par exemple (Figure 5 a), leur concentration est élevée aussi dans le parenchyme ligneux (Figure 5 a) entourant les vaisseaux conducteurs de la sève brute et dans les tissus périphériques des organes. On peut aussi les rencontrer dans des structures histologiques spécialisées comme les cellules à raphides (cristaux d'oxalate de calcium ou carbonates de calcium) du mésophile des feuilles (Figure 5 e), les cellules sous-épidermiques hypertrophiées (Figure 5 c), les laticifères (Figure 5 c et d) et les cellules sécrétrices (Figure 5 d). De telles

observations ont été déjà décrites dans les organes et les tissus de certaines plantes à alcaloïdes en particulier celles de la famille des Solanaceae (Bézanger-Beauquesne, 1958 ; Horner et Whitmoyer, 1972).

La racine semble jouer un rôle primordial dans l'élaboration des bases alcaloïdiques, on peut donc admettre, que s'élaborent dans la racine des précurseurs alcaloïdiques évoluant ultérieurement en bases définitives avec le concours des tiges feuillées. Les composés alcaloïdiques en solution, empruntent ensuite la voie des tissus conducteurs de la sève brute (xylème et bois), vers le feuillage qui en aspire le flux grâce à sa transpiration. On suppose que les feuilles les distribuent ensuite aux divers organes de la plante via la sève élaborée qui circule dans le phloème et le liber (Bézanger-Beauquesne, 1958).

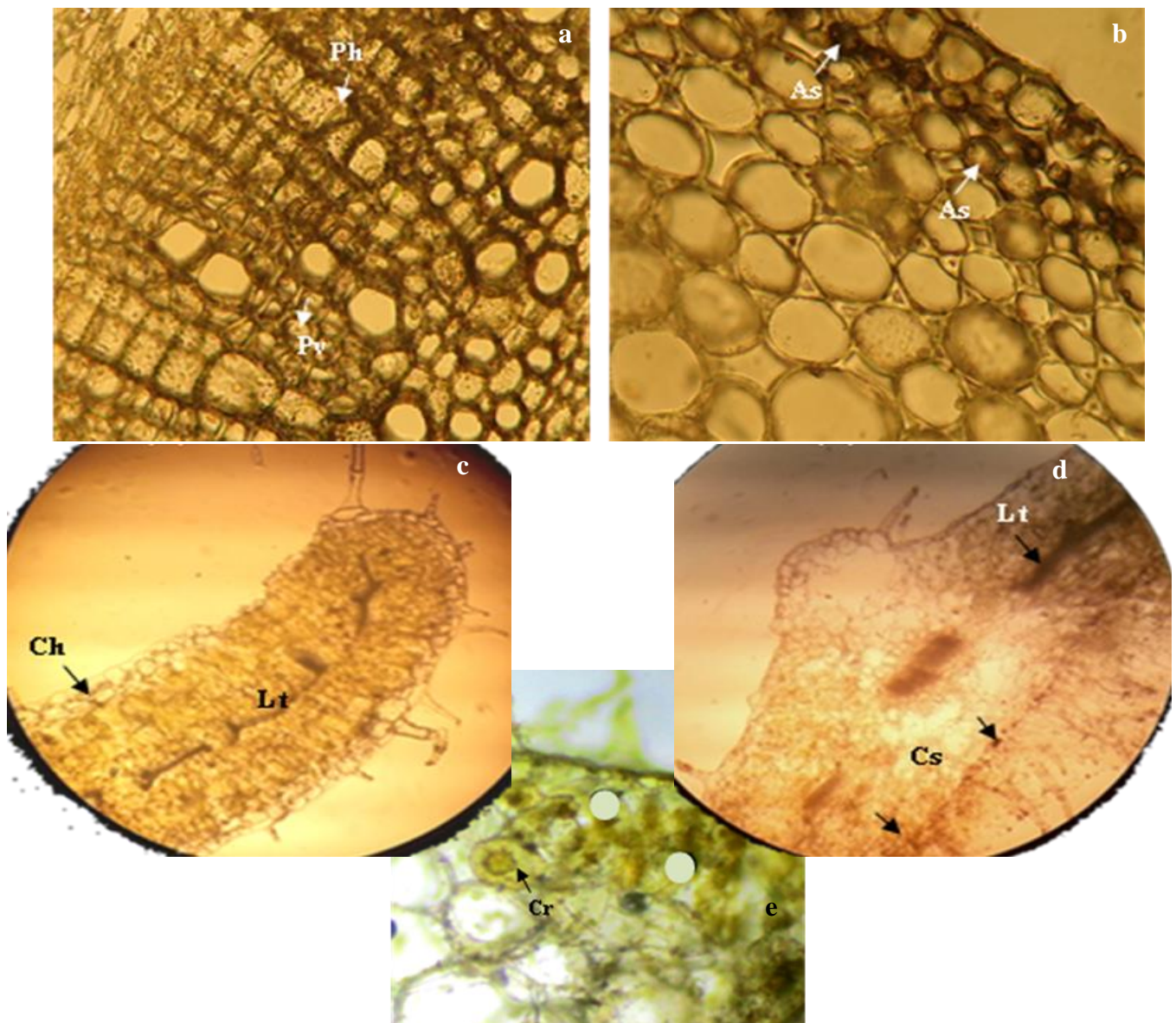


Fig.5. Révélation histo-cytochimique des alcaloïdes d'*H. muticus* L. subsp. *falezlez* à l'aide du réactif spécifique (Dragendorff), observation des coupes au microscope photonique. **a** : Portion du bois hétéroxylé montrant des parois denses au niveau du parenchyme ligneux (x 100), **b** : Portion de l'écorce d'une tige montrant une assise à contenu très dense (x 400), **c et d** : Détails au niveau du limbe montrant des laticifères brunâtres et des cellules hypertrophiées et **e** : Cellules à raphides situées dans le mésophyle (x 400). As: Assise de cellules sous-épidermiques à suc vacuolaire dense, Ch: Cellules sous-épidermiques hypertrophiées, Cr: Cellules à raphide (cristaux d'oxalate de calcium ou carbonate de calcium), C: Cellules sécrétrices, Lt: Laticifères articulés, Ph: Parenchyme ligneux horizontal (rayons médullaires) et Pv: Parenchyme ligneux vertical entourant les vaisseaux du bois hétéroxylé.

3.3.2. Terpènes et terpénoïdes

Les terpènes sont révélés en quantité moyenne dans les organes aériens (feuilles et tiges), on note cependant l'absence totale de ces composés dans la racine d'*H. muticus* L. subsp. *falezlez* (Tableau 1). Dans la tige d'*H. muticus* L. subsp. *falezlez*, les terpènes dits aussi hydrocarbures volatils, seraient accumulés au niveau de cellules non chlorophylliennes telles que les cellules épidermiques sécrétrices et poils épidermiques sécréteurs ainsi que dans certaines cellules épidermiques en forme de papilles. Ces structures sont plus importantes au niveau de la feuille : cellules épidermiques sécrétrices hypertrophiées et poils épidermiques sécréteurs. Les structures anatomiques spécialisées dans la sécrétion des composés terpéniques volatils sont très diverses (trichomes, cellules sécrétrices, canaux sécréteurs...), plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce, voire dans un même organe (Fahn, 1979 ; Fahn, 1988). La production des terpènes en leur sein est liée au développement souvent hypertrophique de deux compartiments cellulaires privilégiés : le plastidome et le réticulum endoplasmique (Carde, 1979 ; Sevinat-Pinto et Antunes, 1991).

3.3.3. Lignines

Le screening des lignines totales dans les différents organes de la plante a été réalisé selon deux procédés afin de déterminer les radicaux siringyl et coniféryl (Tableau 1).

Nous notons, qu'après révélation au permanganate de potassium et observation au microscope photonique, les lignines à groupement siringyl (S) sont absentes ou très peu présentes (Figure 6 c), dans tous les organes de la plante en les comparant aux lignines totales révélées par le vert de méthyle (Figure 6 a et d). Le radical siringyl (S) correspond à l'alcool sinapylique, monolignol obtenu à partir de l'acide sinapique. Nous rapportons que cet acide phénolique n'a pas été révélé dans les extraits organiques des différents organes de la plante analysés par chromatographie liquide à haute performance (Ayari-Guentri et al., 2017).

Les lignines révélées par le phloroglucinol sont des lignines à radicaux coniféryls ou Gaïacyl (G) correspondant à l'alcool coniférylique qui dérive directement de l'acide férulique. Ces lignines (Figure 6 b et e) augmentent graduellement de la feuille vers la racine (Tableau 1). Elles imprègnent les parois cellulaires de certains tissus en les rendant rigides et hydrophobes. Les tissus concernés sont : le xylème et le bois hétéroxylé dans la racine et dans la tige. En plus de ces tissus ligneux, la racine renferme un parenchyme médullaire (moelle) à parois fortement lignifiées. La feuille présente peu de xylème (et parfois peu de bois) au niveau des nervures. Ce résultat concorde bien avec ceux obtenus par Ayari-Guentri et al. (2017) ou l'acide férulique (acide phénolique) précurseur du monolignol (G) impliqué directement dans la synthèse des lignines à radicaux gaïacyls a été mis en évidence dans les trois types d'organes de la plante. Nous soulignons que la composition des lignines varie non seulement avec l'espèce végétale mais aussi avec les tissus (xylème, bois et fibre...), les strates pariétales (S1, S2 et S3), l'âge des cellules et l'environnement (lignines de stress) (Jouanin, 2010).

3.3.4. Flavanes et tanins condensés

La mise en évidence par la vanilline chlorhydrique des unités flavanes, précurseurs des anthocyanidines et des polymères de tanins condensés, montre que ces composés sont présents dans les différents organes d'*H. muticus* L. subsp. *falezlez* (Figure 6 f et g). Ces composés sont mieux représentés dans la tige et la racine par rapport aux feuilles. Ces résultats rejoignent ceux des Inter. J. Nat. Resour. Env. Vol. 3, No. 1; pp. 23-39 (2021)

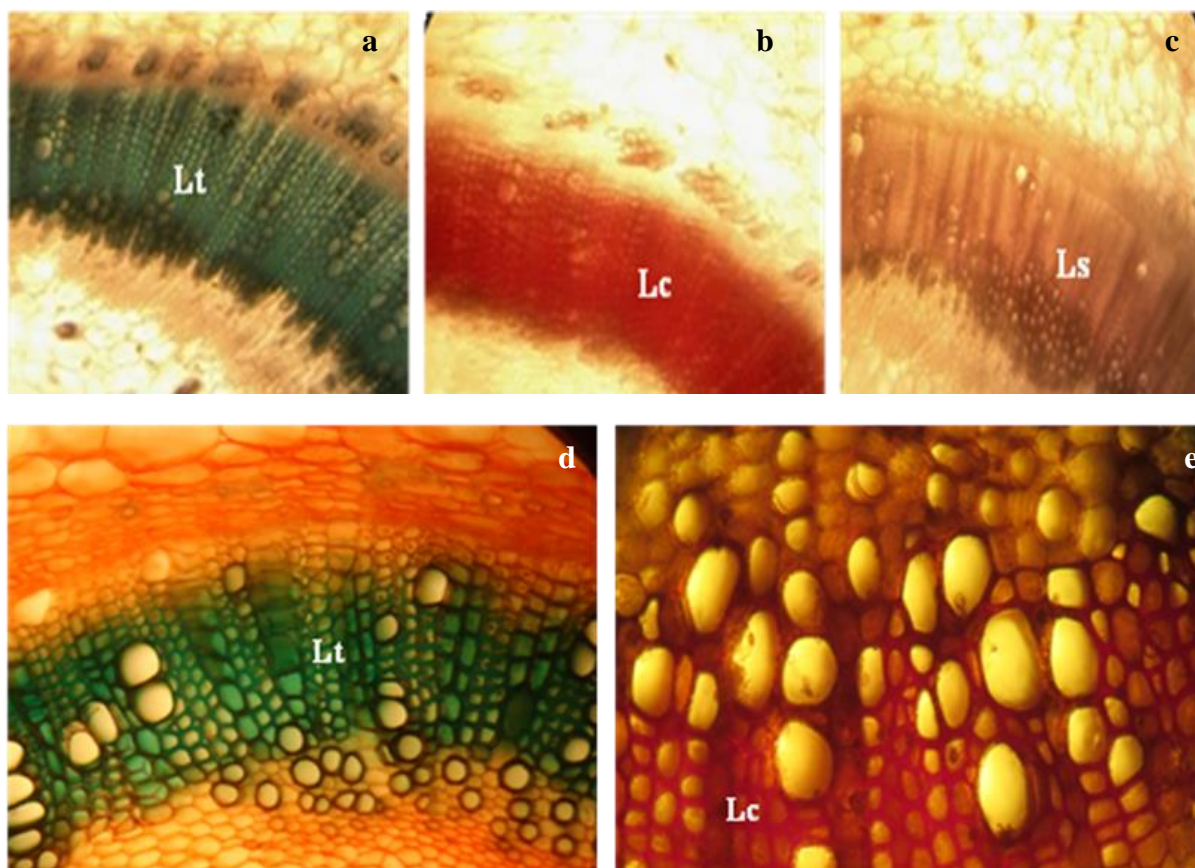
anthocyanidines obtenues suite à l'hydrolyse acide de leur forme polymérisée (proanthocyanidine) caractéristique des tanins condensés chez la même espèce (Ayari-Guentri et al., 2017).

3.3.5. Domaine phénolique des subérines

Le test au Soudan IV a révélé la présence de la subérine au niveau du liège (suber) situé à la périphérie du cortex de la racine, ce tissu est absent dans la tige d'*H. muticus* L. subsp. *falezlez* même âgée.

La subérine est un polyester à deux domaines, l'un aromatique ou phénolique et l'autre aliphatique ou lipidique (Bernards, 2002). La subérine se dépose en couches concentriques sur les faces internes de la paroi de certains tissus. La subérine agit en tant que barrière mécanique pour contrôler le mouvement de l'eau et des solutés (sève brute), et contribue à la solidité et l'imperméabilité de la paroi cellulaire (Molina et al., 2006).

Nos résultats obtenus pour le screening phytochimique rejoignent ceux réalisés sur d'autres espèces du genre *Hyoscyamus*. Selon Alghazeer et al. (2012), *H. albus* est très riche en alcaloïdes et elle contient des quantités importantes en flavonoïdes et en terpènes. La plupart des composés phytochimiques détectés dans les différents organes de la plante étudiée sont connus pour leurs activités biologiques à savoir l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne (Harborne et Williams, 2000).



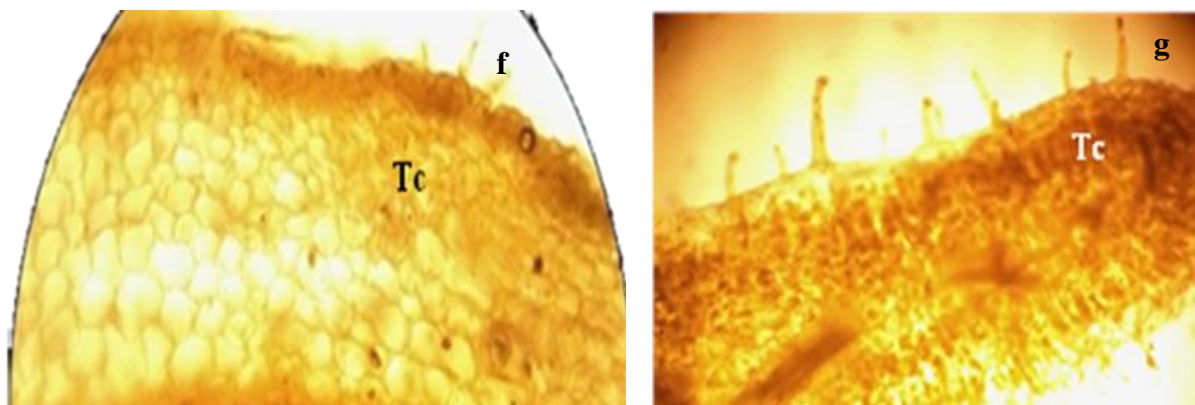


Fig.6. Révélations des lignines, des unités flavanes et des tanins condensés dans la tige et la feuille d'*H. muticus* L. subsp. *falezlez*, observation des coupes au microscope photonique. a et d : Portions de coupes transversales montrant le bois hétéroxylé de la tige (révélation des lignines au vert de méthyle) (x 100 et x 400), b et e : Portions de coupes transversales montrant le bois hétéroxylé de la tige (révélation des radicaux G au phloroglucinol) (x 100 et x 400), c : Portion d'une coupe transversale montrant le bois hétéroxylé de la tige (révélation des radicaux S au permanganate de potassium) (x100), f et g : Portions de coupes transversales de la tige et de la feuille (révélation des flavanes et/ou tanins condensés par la vanilline chlorhydrique) (x 400). Lc : Lignines à radicaux coniféryls (G), Ls : Lignines à radicaux siringyls (S), Lt : Lignines totales (G + S) et Tc : Flavanes et/ou tanins condensés.

3.4. Approche semi-qualitative par chromatographie sur couche mince des aglycones flavoniques et acides phénoliques

L'analyse par CCM monodimensionnelle a été menée sur les extraits méthanoliques d'aglycones flavoniques des différents organes de la plante. Le système de solvant composé d'acide acétique et de chloroforme a permis une bonne séparation des composés phénoliques de l'extrait. L'observation des plaques a permis de mettre en évidence 16 taches de fluorescence et RF différents. Une numérotation a été effectuée de bas en haut en tenant compte de toutes les substances détectées dans les organes étudiés (Figure 7). L'identification partielle des composés est faite par comparaison des RF calculés et des fluorescences sous UV à ceux de la bibliographie (Leberton et al., 1967). En nous basant sur les caractéristiques chromatographiques (la fluorescence émise et le RF calculé) de chaque substance révélée, nous avons noté que le nombre de composés phénoliques détectés et identifiés partiellement par CCM monodimensionnelle varie d'un organe à un autre. Ces résultats montrent que les organes aériens de la plante (feuille et tige) sont les plus diversifiés en composés phénoliques.

La racine est moyennement riche qualitativement en aglycones flavoniques et acides phénoliques. Dans la racine, le nombre de substances détectées et partiellement identifiées est de 7 (3 acides phénoliques et 4 flavonols).

Dans la feuille, 13 taches ont été révélées parmi lesquelles nous avons pu identifier partiellement : 4 acides phénoliques, 3 flavonols, une flavone, et les chlorophylles a et b. Une tache n'a pas été identifiée.

Dans la tige, 9 substances ont été détectées et partiellement identifiées (4 acides phénoliques, 3 flavonols et les chlorophylles a et b) (Figure 7).

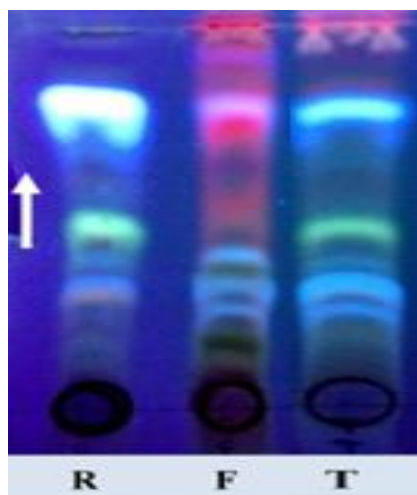


Fig.7. Chromatogramme monodimensionnel des extraits méthanoliques des différents organes végétatifs d'*H. muticus* L. subsp. *falezlez* observés en chambre UV à une longueur d'onde de 365 nm. R : Racine, F : Feuille et T : Tige.

Le nombre de composés détectés et identifiés partiellement diffère d'un organe à un autre, nous remarquons que la feuille est l'organe le plus riche en composés phénoliques car elle est le site principal de synthèse de ces composés, suivie par la tige où nous avons identifié des acides phénoliques et aglycones flavoniques. La racine apparaît l'organe le moins riche en composés phénoliques, ce résultat peut être expliqué plutôt par sa richesse en alcaloïdes tropaniques (Oksman-Caldentey et Arroo, 2000).

4. Conclusion

L'étude cyto-histo-anatomique nous a permis de distinguer entre notre modèle biologique étudié et les autres espèces du genre *Hyoscyamus*; *H. muticus* L. subsp. *falezlez* se caractérise par présence des macles d'oxalate de calcium dans le mésophile de la feuille et par la présence de poils sécréteurs ramifiés, de papilles et d'une assise sous-épidermique dense dans la feuille. Quant au screening phytochimique, nous avons noté la présence des substances phénoliques (flavonoïdes et tannins), des alcaloïdes et des terpènes dans les différents organes de l'appareil végétatif de la sous-espèce étudiée.

Références

- Alghazeer R, El-Saltani H, Saleh N, Al-Najjar A, Hebail F** (2012). Antioxidant and antimicrobial properties of five medicinal Libyan plants extracts. *Nat. Sci.*, Vol. 4(5) pp 324- 335, doi : 10.4236/ns.2012.45045.
- Ayari-Guentri S, Djemouai N, Gaceb-Terrak R, Rahmania F** (2017). Chemical composition and antioxidant activity of *Hyoscyamus muticus* L. subsp. *falezlez* (Coss.) Maire from Algeria. *JEOBP*, vol 20(5) pp1370-1379, doi: 10.1080/0972060x.2017.1396930.
- Bahmanzadegan A, Sefidkon F, Sonboli A** (2009). Determination of hyoscyamine and scopolamine in four *Hyoscyamus* species from Iran. *IJPR*, vol 8 pp 65-70. This article is available online at <http://www.ijpr-online.com>.

- Bernards MA** (2002). Demystifying suberin. *Can. J. Bot.*, vol 80(3) pp 227-240, doi: 10.1139/b02-017.
- Bézanger-Beauquesne L** (1958). Les alcaloïdes dans les plantes. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, vol 105(5-6) pp 266-291, doi : 10.1080/00378941.1958.10837879.
- Braithwaite A et Smith FJ** (1999). *Chromatographic Methods*. 5^{ème} édition, Kluwer Academic Publishers, London, pp 548p.
- Bruneton J** (1999). *Pharmacognosie, Plantes médicinales*. Édition Tec and Doc, Lavoisier, Paris, pp 575.
- Carde JP** (1979). Le fonctionnement des cellules sécrétrices des canaux chez le Pin maritime : données de la microscopie électronique. 104^{ème} Congrès national des sociétés savantes, Bordeaux, Sciences, Fasc. II pp 275-286.
- Cosson E** (1864). Description des Plantes nouvelles Découvertes par M. Henri Duveyrier dans Le Sahara. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 11(5), 164-169. doi : 10.1080/00378941.1864.10827334.
- Fahn A** (1979). *Secretory tissues in plants*. Edition Academic Press, London New York San Francisco, pp 302.
- Fahn A** (1988). Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist* vol 108(3) pp 229-257. FAHN, A. (1988). Secretory tissues in vascular plants. *New Phytol.*, 108(3), 229-257, doi: 10.1111/j.1469-8137.1988.tb04159.x
- Faulkner G and Kimmins WC** (1975). Staining reactions of the tissue bordering lesions induced by wounding tobacco mosaic virus and tobacco necrosis virus in bean. *Phytopathology*, vol 65(12) pp 1396-1400, doi: 10.1094/phyto-65-1396.
- Feinbrun-Dothan N** (1978). *Flora palaestina*. Jerusalem academic press vol 3 pp 162-163.
- Fern K** (2014). *Hyoscyamus muticus*. Useful Tropical Plants Database. Available at <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Hyoscyamus+muticus>
- Gardner RO** (1975). Vanillin-hydrochloric acid as a histochemical test for tannins. *Stain Technol.*, vol 50(5) pp 315-317, doi: 10.3109/10520297509117081.
- Harborne JB and Williams CA** (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Photochem.*, vol 55(6) pp 481-504, doi: 10.1016/s0031-9422(00)00235-1.
- Horner JR and Whitmoyer RE** (1972). Raphide crystal cell development in leaves of *Psychotria punctata* (Rubiaceae). *J. Cell Sci.*, vol 11(2) pp 339-355.
- Jouanin L** (2010). Biologie moléculaire de la lignification, l'art de faire des lignines à façon. Académie d'Agriculture de France. Available at <https://www.academie-agriculture.fr/actualites/academie/seance/academie/lignines>.
- Lebreton P, Jay M, Voirin B, Bouchez MP** (1967). L'analyse qualitative et quantitative des flavonoïdes. *Chim. Anal.*, vol 49(7) pp 375-383.
- Maiza K, Brac de la Perrière RA, Hammiche V** (1993). Récents apports à l'ethnopharmacologie du Sahara Algérien: Actes du 2^{ème} Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et 11^{ème} Conférence Internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg, pp 169-171.

- Molina I, Bonaventure G, Ohlrogge J, Pollard M** (2006). The lipid polyester composition of *Arabidopsis thaliana* and *Brassica napus* seeds. *Phytochem.*, vol 67(23) pp 2597-2610, doi: 10.1016/j.phytochem.2006.09.011.
- Oksman-Caldentey KM and Arroo R** (2000), *Regulation of tropane alkaloid metabolism in plants and plant cell cultures*. In: Verpoorte R, Alfermann AW, eds. *Metabolic engineering of plant secondary metabolism*, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, pp 253-281.
- Quézel P et Santa S** (1963), *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Tome II, édition Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, France, pp 1170.
- Sahki A et Boutamine-Sahki R** (2004). *Le Hoggar promenade botanique*. Édition Esopé, Lion- France, pp 311.
- Satil F, Islan M, Erdoan E, Polat R, Selvi S** (2015). Comparative anatomical studies on some species of *Hyoscyamus* L. (solanaceae) growing in turkey. *Bangladesh J. Bot.*, vol 44(1) pp 37-43, doi: 10.3329/bjb.v44i1.22721.
- Sevinate-Pinto I and Antunes T** (1991). Glandular Trichomes of *Teucrium scorodonia* L. Ultrastructure and Secretion. *Flora*, vol 185(3) pp 207-213, doi: 10.1016/s0367-2530(17)30471-1.
- Shah VV, Shah ND, Patrekar PV** (2013). Medicinal Plants from Solanaceae Family. *Res. J. Pharm. Technol.*, vol 6(2) pp 143-151.
- Southerton SG and Deverall BJ** (1990). Changes in phenylalanine ammonia-lyase and peroxidase activities in wheat cultivars expressing resistance to the leaf-rust fungus. *Plant Pathol.*, vol 39 pp 223-230.
- Vance CP and Sherwood RT** (1976). Regulation of lignin formation in reed canarygrass in relation to disease resistance. *Plant Physiol.*, 57(6), 915-919, doi: 10.1104/pp.57.6.915.