REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة 20 أوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOÛT 1955- SKIKDA

Faculté des Sciences

Département Sciences agronomiques

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences agronomiques

Option: Amélioration des plantes

Intitulé

Caractérisation antioxidant et antibacterienne de *Ceratonia siliqua* L. et sont rôle dans la germination hydroponique de quelques plantes.

Présenté Par : Belbacha Hani Dhiya Eddine

Membres de Jury :

Dr Larit Sabah	**Présidente**	**MCA. Univ. 20 août 1955- Skikda**
Dr Souilah Nabila	**Promotrice**	**MCA. Univ. 20 août 1955- Skikda**
Dr Aouzal Badis	**Co-Promoteur**	**MAB. ENS Setif**
Dr. Sayed Ibtissem	**Examinatrice**	**MCB. Univ. 20 août 1955- Skikda**

Année universitaire 2025/2026

Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Allah pour m'avoir accordé la patience, la santé et la persévérance nécessaires à la réalisation de ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à la présidente du jury, **Dr SAYED I**, ainsi qu'à l'examinateur, **Dr HAFSI Z**, pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Leur rigueur scientifique, leur disponibilité et la pertinence de leurs observations ont grandement contribué à l'amélioration de ce mémoire.

Je remercie également mon encadrante, **Dr AOUZAL B**, pour son accompagnement constant, ses conseils scientifiques avisés et sa disponibilité tout au long de ce travail. Son encadrement a été essentiel à l'orientation et à l'aboutissement de cette recherche. Je remercie aussi le encadrant, **SOULAH N** , pour son soutien, ses orientations méthodologiques et ses remarques constructives qui ont enrichi ce travail.

J'adresse également mes remerciements aux professeurs de la promotion ainsi qu'à l'ensemble du corps enseignant pour la qualité de la formation reçue, les connaissances transmises et leur engagement pédagogique tout au long du cursus universitaire. Je n'oublie pas les ingénieurs et les membres de la promotion pour leur esprit de collaboration, leur soutien et l'entraide qui ont marqué notre parcours académique. Enfin, j'exprime ma profonde reconnaissance à ma famille et à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail, fruit de plusieurs années d'efforts, de patience et de persévérance, à toutes les personnes qui ont occupé une place importante dans ma vie et qui m'ont accompagné, de près ou de loin, tout au long de mon parcours universitaire.

À ma chère famille Belbacha et à ma chère famille Aliouche,

je vous dédie ce mémoire avec tout mon amour, mon respect et ma reconnaissance. Vous avez toujours été pour moi une source de force, de courage et de motivation. Votre soutien, vos encouragements, vos conseils et votre présence m'ont aidé à surmonter les moments difficiles et à continuer jusqu'au bout. Aucun mot ne pourrait exprimer pleinement ma gratitude envers vous.

À mon cher frère Adelen,

Merci pour ta présence, ton soutien et ton affection. Tu as toujours eu une place spéciale dans mon cœur. Je te dédie ce travail en signe d'amour fraternel et de reconnaissance pour tous les moments partagés et pour tout ce que tu représentes pour moi.

À mes chères sœurs

Merci pour votre tendresse, votre encouragement et votre soutien moral. Votre présence dans ma vie est une bénédiction. Vous avez toujours su m'apporter de la joie, de la force et de la motivation lorsque j'en avais besoin. Je vous dédie ce travail avec beaucoup d'amour et de fierté.

À mes chers amis Moncef, Anis, Badis et Islam et Didine

Merci pour votre amitié sincère, votre présence, vos encouragements et tous les beaux moments que nous avons partagés. Vous avez été à mes côtés dans les bons comme dans les mauvais moments, et votre soutien a rendu ce parcours plus léger et plus agréable. Je vous remercie pour vos conseils, vos sourires, votre aide et votre fidélité.

À toutes les personnes qui m'ont soutenu, encouragé ou simplement souhaité la réussite, je vous adresse mes sincères remerciements. Ce travail est aussi le reflet de votre soutien et de votre confiance.

Avec tout mon amour, ma gratitude et mon respect, je dédie ce mémoire à vous tous.

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

INTRODUCTION GENERALE **1**

CHAPITRE I GENERALITES SUR *CERATONIA SILIQUA* L

I.1.1. Présentation générale de la plante **4**

I.1.2. Classification botanique **4**

I.1.3. Répartition géographique **5**

I.1.4. Description morphologique **6**

I.1.5. Importance nutritionnelle, médicinale et agronomique **7**

I.1.6. Parties utilisées : feuilles, graines, gousses et pulpe **9**

I.2. Composition phytochimique de *Ceratonia siliqua* L. **11**

I.3. Activité antioxydante de *Ceratonia siliqua* L. **13**

I.4. Limites des études précédentes **14**

I.5. Justification du choix de *Ceratonia siliqua* L. **15**

I.6. Justification du choix des plantes étudiées **16**

I.7. Objectif général de l'étude **16**

I.8. Objectifs spécifiques **16**

CHAPITRE II MATERIELS AND METHODES

II.1. Critères de choix de la plante **18**

II.2. Préparation des extraits hydroéthanolique **19**

II.3. Évaluation quantitative de la composition phytochimique : **20**

II.3.1. Dosage des polyphénols totaux **20**

II.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux **21**

II.3.3. Dosage des tanins condensés totaux **23**

II.4. Dosage antioxydant **24**

II.4.1 Méthode DPPH **24**

II.4.2 Méthode ABTS **25**

II.5. Test antibactérien **27**
II.6. Effet Biostimulation de Ceratonia siliqua sur l'élongation racinaire **30**
II.7. Traitement statistique des résultats **31**

CHAPITRE III RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Résultats **32**
III.1.1. Rendement des extraits **32**
III.1.2. Évaluation quantitative de la composition phytochimique **32**
III.1.2.1. Teneurs en polyphénols totaux **32**
III.1.2.2. Teneur en flavonoïdes **33**
III.1.2.3. Teneur en tanins **33**
III.1.3. Évaluation du Potentiel Antioxydant **34**
III.1.4. Activité antibactérienne **35**
III.1.5. Effet Biostimulation de Ceratonia siliqua sur l'élongation racinaire **36**
III.1.5.1. Effet sur *Cucurbita pepo* **36**
III.1.5.2. Effet sur *Phaseolus vulgaris* L **39**
III.1.5.3. Effet sur Daucus carota L **42**

Conclusion générale et perspectives **53**
Références bibliographique **57**
Annexes

Liste des abréviations

LISTE DES ABREVIATIONS

ABTS : 2,2’-azino-bis 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique

ABTS•+ : Radical cation ABTS

AlCl3 : Trichlorure d’aluminium

ANOVA : Analyse de la variance

C. siliqua : *Ceratonia siliqua*

CAT : Catalase

CE : Équivalent catéchine

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CMB : Concentration minimale bactéricide

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

DPPH• : Radical libre DPPH

DW : Dry weight, poids sec

E. coli : Escherichia coli

EAG : Équivalent acide gallique

EC : Équivalent catéchine ou conductivité électrique, selon le contexte

ERO : Espèces réactives de l’oxygène

FRAP : Ferric reducing antioxidant power, pouvoir réducteur ferrique

GAE : Gallic acid equivalent, équivalent acide gallique

g : Gramme

HCl : Acide chlorhydrique

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance

HSD : Honestly significant difference, différence honnêtement significative

IC_{50} : Concentration inhibitrice médiane, concentration nécessaire pour inhiber 50 % de l’activité radicalaire

J20 : Vingtième jour d’expérimentation

LISTE DES ABREVIATIONS

K2S2O8 : Persulfate de potassium

L : Litre

mL : Millilitre

mg : Milligramme

mg/mL : Milligramme par millilitre

mg/g : Milligramme par gramme

mm : Millimètre

MS : Matière sèche

Na2CO3 : Carbonate de sodium

nm : Nanomètre

ns : Non significatif

p : Probabilité statistique

POD : Peroxydase

QE : Quercetin equivalent, équivalent quercétine

RE : Rutin equivalent, équivalent rutine

ROS : Reactive oxygen species, espèces réactives de l'oxygène

S. aureus : Staphylococcus aureus

SOD : Superoxyde dismutase

TAC : Total antioxidant capacity, capacité antioxydante totale

TAE : Tannic acid equivalent, équivalent acide tannique

TFC : Total flavonoid content, teneur totale en flavonoïdes

TPC : Total phenolic content, teneur totale en polyphénols

T1, T2, T3, T4, T5 : Traitements correspondant aux différentes concentrations de l'extrait

Tukey HSD : Test post-hoc de Tukey

LISTE DES ABREVIATIONS

UV-Visible : Spectrophotométrie ultraviolet-visible

% : Pourcentage

± : Plus ou moins, utilisé pour exprimer l'écart-type

*** : Différence hautement significative

*: Différence significative

Liste des figures

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : *Ceratonia siliqua* L. Caroubier.

Figure 2 : Classification botanique de *Ceratonia siliqua* L.

Figure 3 : Répartition mondiale actuelle de *Ceratonia siliqua* L. D'après Batlle et Tous 1997.

Figure 4 : Morphologie de *Ceratonia siliqua* L. : fruit, inflorescence mâle, inflorescence hermaphrodite, inflorescence femelle, graines et feuille.

Figure 5 : Fruit de l'espèce végétale *Ceratonia siliqua* L. Photo originale, 2026.

Figure 6 : Laboratoire du Hall de Technologie de l'Université 20 Août 1955 de Skikda, où l'étape d'extraction a été réalisée.

Figure 7 : Préparation des extraits hydroéthanoliques par Rotavap.

Figure 8 : Dosage des polyphénols totaux.

Figure 9 : Dosage des flavonoïdes totaux.

Figure 10 : Dosage des tanins condensés totaux.

Figure 11 : Dosage du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle DPPH.

Figure 12 : Dosage ABTS.

Figure 13 : Milieux de culture microbiologiques Mueller-Hinton, Sabouraud, Chapman et Hektoen conditionnés en flacons.

Figure 14 : Illustration du protocole de biostimulation.

Figure 15 : Photo réelle du protocole de biostimulation.

Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Figure 18 : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique.

Figure 19 : Test d'antibiogramme de l'extrait éthanolique de *Ceratonia siliqua* L. contre des bactéries Gram positives et Gram négatives.

Figure 20 : Effet des extraits de *Ceratonia siliqua* L. sur l'élongation racinaire de Cucurbita pepo L.

Figure 21 : Effet des extraits de Ceratonia siliqua L. sur l'élongation racinaire de Cucurbita pepo L. à J20.

LISTE DES FIGURES

Figure 22 : Effet des extraits de Ceratonia siliqua L. sur l'élongation racinaire de Phaseolus vulgaris L.

Figure 23 : Effet des extraits de Ceratonia siliqua L. sur l'élongation racinaire de Phaseolus vulgaris L. à J20.

Figure 24 : Effet des extraits de Ceratonia siliqua L. sur l'élongation racinaire de Daucus carota L.

Figure 25 : Effet des extraits de Ceratonia siliqua L. sur l'élongation racinaire de Daucus carota L. à J20.

Liste des tableaux

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Rôles principaux des différentes parties de Ceratonia siliqua L.

Tableau 2 : Variabilité des polyphénols selon la partie de Ceratonia siliqua L. et la méthode d'extraction.

Tableau 3 : Rendement de l'extrait polyphénolique obtenu de Ceratonia siliqua L.

Tableau 4 : Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés totaux de l'extrait de Ceratonia siliqua L.

Tableau 5 : Activité antioxydante DPPH et ABTS de l'extrait de Ceratonia siliqua L.

Tableau 6 : Résultats du test d'antibiogramme de l'extrait éthanolique de Ceratonia siliqua L. contre des bactéries Gram positive et Gram négative.

Tableau 7 : Effet de l'extrait de Ceratonia siliqua L. sur l'élongation racinaire de Cucurbita pepo L. à J20.

Tableau 8 : Effet de l'extrait de Ceratonia siliqua L. sur l'élongation racinaire de Phaseolus vulgaris L. à J20.

Tableau 9 : Effet de l'extrait de Ceratonia siliqua L. sur l'élongation racinaire de Daucus carota L. à J20.

Résumé

Résumé

Ce travail porte sur l'évaluation du potentiel phytochimique, antioxydant, antibactérien et biostimulant de l'extrait éthanolique de *Ceratonia siliqua* L. L'objectif principal était de valoriser cette plante méditerranéenne comme source naturelle de composés bioactifs pouvant présenter un intérêt biologique et agronomique. L'extraction éthanolique a permis d'obtenir un rendement de 8,763 %, indiquant une capacité appréciable du solvant à extraire les métabolites solubles de la matrice végétale. L'analyse phytochimique a révélé une teneur en polyphénols totaux de 11,356 mg GAE/g d'extrait, en flavonoïdes de 9,917 mg QE/g d'extrait et en tanins de 8,763 mg TAE/g d'extrait, confirmant la richesse relative de l'extrait en composés phénoliques. L'activité antioxydante a été évaluée par les tests DPPH et ABTS. Les valeurs d'IC50 obtenues, respectivement 0,39 ± 0,002 mg/mL et 0,46 ± 0,05 mg/mL, montrent que l'extrait possède une capacité antiradicalaire notable à des concentrations inférieures à 0,5 mg/mL. L'activité antibactérienne a également été mise en évidence par la méthode de diffusion, avec des zones d'inhibition de 15,5 ± 1,1 mm contre *Escherichia coli* et de 20,81 ± 2 mm contre *Staphylococcus aureus*, indiquant une sensibilité plus marquée de la souche Gram positive. L'étude de l'effet biostimulant a montré une stimulation dose-dépendante de l'élongation racinaire chez les trois espèces testées. Chez *Cucurbita pepo*, la longueur racinaire est passée de 8,30 cm chez le témoin à 19,59 cm au traitement T5, soit une augmentation de 136,0 %. Chez *Phaseolus vulgaris*, la longueur racinaire est passée de 6,91 cm à 14,54 cm, correspondant à une augmentation de 110,40 %. Chez *Daucus carota*, l'effet était plus modéré, avec une augmentation maximale de 25,20 %, passant de 3,76 cm chez le témoin à 4,71 cm au traitement T5. l'extrait éthanolique de *Ceratonia siliqua* présente un potentiel biologique multifonctionnel, associant richesse phénolique, activité antioxydante, activité antibactérienne et effet biostimulant sur la croissance racinaire. Ces résultats suggèrent que les polyphénols, flavonoïdes et tanins pourraient contribuer à la régulation du stress oxydatif, à la protection antimicrobienne et à la stimulation du développement initial des plantules.

Mots clés : *Ceratonia siliqua*, polyphénols, activité antioxydante, activité antibactérienne, biostimulation, élongation racinaire.

Abstract

This study aimed to evaluate the phytochemical, antioxidant, antibacterial and biostimulant potential of the ethanolic extract of *Ceratonia siliqua* L. The main objective was to valorize this Mediterranean plant as a natural source of bioactive compounds with possible biological and agronomic applications. Ethanolic extraction produced a yield of 8.763%, indicating an appreciable ability of ethanol to extract soluble metabolites from the plant material. Phytochemical analysis showed total phenolic content of 11.356 mg GAE/g extract, total flavonoid content of 9.917 mg QE/g extract and tannin content of 8.763 mg TAE/g extract, confirming the presence of phenolic compounds that may contribute to the biological activities of the extract. The antioxidant activity was assessed using DPPH and ABTS assays. The obtained IC_{50} values were 0.39 ± 0.002 mg/mL for DPPH and 0.46 ± 0.05 mg/mL for ABTS, indicating an effective free-radical scavenging capacity at concentrations below 0.5 mg/mL. The antibacterial activity was also demonstrated by inhibition zones of 15.5 ± 1.1 mm against *Escherichia coli* and 20.81 ± 2 mm against *Staphylococcus aureus*, suggesting stronger activity against the Gram-positive strain. The biostimulant effect was evaluated through root elongation in three plant species. A clear dose-dependent response was observed. In Cucurbita pepo, root length increased from 8.30 cm in the control to 19.59 cm under T5 treatment, corresponding to a 136.0% increase. In *Phaseolus vulgaris*, root length increased from 6.91 cm to 14.54 cm, representing a 110.40% increase. In Daucus carota, the effect was more moderate, with root length increasing from 3.76 cm to 4.71 cm, corresponding to a maximum increase of 25.20%. In conclusion, the ethanolic extract of Ceratonia siliqua showed a multifunctional biological potential, combining phenolic richness, antioxidant activity, antibacterial effect and root-growth stimulation. These findings suggest that phenolic compounds, flavonoids and tannins may contribute to oxidative-stress regulation, antimicrobial protection and early seedling growth promotion.

Keywords : *Ceratonia siliqua*, phenolic compounds, antioxidant activity, antibacterial activity, biostimulation, root elongation.

مُلَخَّص

يركز هذا العمل على تقييم الإمكانات الكيميائية النباتية ومضادات الأكسدة والمضادة للبكتيريا والمحفزات الحيوية لمستخلص الإيثانول من Ceratonia siliqua L. كان الهدف الرئيسي هو تعزيز نبات البحر الأبيض المتوسط هذا كمصدر طبيعي للمركبات النشطة بيولوجيا التي قد تكون ذات أهمية بيولوجية وزراعية. جعل استخراج الإيثانول من الممكن الحصول على عائد بنسبة 8.763٪، مما يشير إلى قدرة كبيرة للمذيب على استخراج المستقلبات القابلة للذوبان من المصفوفة النباتية. كشف التحليل الكيميائي النباتي عن إجمالي محتوى البوليفينول البالغ 11.356 ملغ من GAE / g المستخلص، في الفلافونويدات من 9.917 ملغ من QE / g من المستخلص والعفص من 8.763 ملغ من TAE / g المستخلص، مما يؤكد الثراء النسبي للمستخلص في المركبات الفينولية. تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة عن طريق اختبارات DPPH وABTS. تظهر قيم CI50 0.46 ملغم / مل و0.39 ± 0.002 ملغم / مل، على التوالي التي تم الحصول عليها، مما يشير إلى حساسية أكثر وضوحا للسلالة إيجابية الجرام. أظهرت دراسة تأثير التحفيز الحيوي التحفيز المعتمد على الجرعة لإطالة الجذر في الأنواع الثلاثة التي تم اختبارها. في Cucurbita pepo، زاد طول الجذر من 8.30 سم في التحكم إلى 19.59 سم مع علاج T5، في Phaseolus vulgaris، زاد بزيادة قدرها 136.0٪. في Daucus carota، كان التأثير أكثر طول الجذر من 6.91 سم إلى 14.54 سم، وهو ما يعادل زيادة بنسبة 110.40٪. في T5. يحتوي مستخلص اعتدالا، مع زيادة قصوى بنسبة 25.20٪، من 3.76 سم في التحكم إلى 4.71 سم على علاج على إمكانات بيولوجية متعددة الوظائف، حيث يجمع بين ثراء الفينول والنشاط المضاد Ceratonia siliqua الإيثانول من للأكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا وتأثير التحفيز الحيوي على نمو الجذور. تشير هذه النتائج إلى أن البوليفينول والفلافونويدات والعفص يمكن أن تساهم في تنظيم الإجهاد التأكسدي والحماية المضادة للميكروبات وتحفيز التطور الأولي للشتلات.

الكلمات المفتاحية: سيراتونيا سيليكا، البوليفينول، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا، التحفيز الحيوي، استطالة الجذر.

Introduction générale

INTRODUCTION GENERALE

Les plantes médicinales et les extraits végétaux occupent une place croissante dans la recherche en biotechnologie, en nutrition et en pharmacologie, en raison de leur richesse en composés bioactifs capables de moduler le stress oxydatif, l'inflammation et les infections microbiennes. Dans ce contexte, la valorisation d'espèces adaptées aux milieux arides et semi-arides, combinant intérêt écologique, nutritionnel et thérapeutique, représente un enjeu majeur pour le développement de nouveaux antioxydants et antimicrobiens d'origine naturelle (Dammak et al., 2024; Pyrovolou et al., 2025; Benyaich et al., 2025).

Ceratonia siliqua L. (caroubier) est aujourd'hui reconnue comme l'un des arbres fruitiers et forestiers les plus prometteurs du bassin méditerranéen. Toutes les parties de la plante (feuilles, gousses, graines, pulpe, gommes) sont riches en polyphénols, flavonoïdes, tanins et acides phénoliques, auxquels sont attribuées des activités antioxydantes, antidiabétiques, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (Dammak et al., 2024; Djebari et al., 2023; Elbouzidi et al., 2023; Darwish et al., 2021; Pyrovolou et al., 2025; Dahmani et al., 2023; Benyaich et al., 2025). Des travaux récents ont montré que les feuilles, les gousses et les graines présentent des teneurs élevées en composés phénoliques (par exemple gallic acid, catechin, quercetin, myricitrin, dérivés galloylés du glucose) et une forte capacité de piégeage des radicaux libres, mesurée par des tests DPPH, ABTS, FRAP et de capacité antioxydante totale (Laaraj et al., 2025; Dammak et al., 2024; Elbouzidi et al., 2023; Darwish et al., 2021; Othmen et al., 2021; Cegledi et al., 2024; Dahmani et al., 2023; Benyaich et al., 2025; Baslam et al., 2025). Parallèlement, ces extraits exercent une activité antibactérienne notable vis-à-vis de bactéries Gram positives et Gram négatives, parfois avec des CMI très faibles, ce qui positionne *C. siliqua* comme une source naturelle potentielle d'agents antimicrobiens (Laaraj et al., 2025; Djebari et al., 2023; Elbouzidi et al., 2023; Darwish et al., 2021; Othmen et al., 2021; Cegledi et al., 2024; Ayache et al., 2020; Oliveira et al., 2022; Baslam et al., 2025). Des études de synthèse confirment ainsi l'importance agronomique, nutritionnelle et pharmacologique de cette espèce, notamment dans les variétés méditerranéennes et marocaines (Pyrovolou et al., 2025; Benyaich et al., 2025).

L'intérêt pour les activités antioxydante et antibactérienne de *C. siliqua* s'inscrit dans un contexte plus large où le stress oxydatif et les infections microbiennes jouent un rôle central dans de nombreuses pathologies humaines, animales et végétales. Les composés phénoliques du caroubier, fortement corrélés à l'activité antioxydante in vitro, sont capables de neutraliser des radicaux libres, de réduire des oxydants métalliques et de contribuer à la protection des

biomolécules contre les dommages oxydatifs (Laaraj et al., 2025; Dammak et al., 2024; Elbouzidi et al., 2023; Darwish et al., 2021; Othmen et al., 2021; Cegledi et al., 2024; Dahmani et al., 2023; Kavvoura et al., 2023; Baslam et al., 2025). Par ailleurs, la capacité des extraits de feuilles, de pulpe, de graines et de gommes à inhiber la croissance de bactéries pathogènes (par exemple *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*) met en évidence un double potentiel antioxydant et antimicrobien particulièrement intéressant pour des applications alimentaires, nutraceutiques et pharmaceutiques (Laaraj et al., 2025; Djebari et al., 2023; Elbouzidi et al., 2023; Darwish et al., 2021; Othmen et al., 2021; Cegledi et al., 2024; Ayache et al., 2020; Oliveira et al., 2022; Chaila & Soemphol, 2025; Baslam et al., 2025). La valorisation de ces propriétés dans des systèmes biologiques contrôlés ouvre de nouvelles perspectives de recherche.

La germination hydroponique constitue un modèle expérimental pertinent pour étudier l'effet des extraits végétaux sur les stades précoces du développement des plantes. Les systèmes hors-sol et les dispositifs de germination en milieu hydroponique permettent un contrôle fin des paramètres physico-chimiques (pH, conductivité électrique, composition de la solution nutritive), améliorant la reproductibilité et la sensibilité des essais (Oliveira et al., 2022; Chaila & Soemphol, 2025; Rupawalla et al., 2022). Des travaux menés sur des solutions nutritives contrôlées ou sur des extraits naturels appliqués en conditions hydroponiques montrent que de légères variations de la composition du milieu peuvent moduler significativement la germination, la croissance initiale, la biomasse et l'état physiologique des plantules (Oliveira et al., 2022; Chaila & Soemphol, 2025; Rupawalla et al., 2022). Ce type d'approche est particulièrement adapté pour tester l'impact de composés bioactifs d'origine végétale sur la dynamique de germination, la vigueur des plantules et la tolérance aux stress, en dissociant les effets des facteurs édaphiques.

Dans ce contexte, la problématique de ce mémoire s'articule autour de deux axes complémentaires : (i) la caractérisation antioxydante et antibactérienne d'extraits de différentes parties de *Ceratonia siliqua* L., en lien avec leur composition phytochimique, et (ii) l'étude de l'effet de ces extraits sur la germination hydroponique et le développement initial de quelques espèces végétales modèles. Malgré l'abondance de travaux sur les propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de *C. siliqua*, peu d'études ont exploré l'utilisation de ses extraits dans des systèmes de germination contrôlés pour moduler la croissance des plantules ou leur réponse au stress oxydatif et aux micro-organismes.

INTRODUCTION GENERALE

L'objectif général de ce travail est d'évaluer le potentiel de *C. siliqua* L. comme source d'antioxydants et d'agents antibactériens naturels, et d'analyser son impact sur la germination et la croissance initiale de plantes cultivées en système hydroponique. Plus spécifiquement, il s'agira de :(1) caractériser la composition phytochimique (polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins, acides phénoliques) des extraits de différentes parties de *C. siliqua* ;(2) déterminer leur activité antioxydante à l'aide de tests in vitro (DPPH, ABTS, FRAP, capacité antioxydante totale) et établir les relations avec les contenus en composés bioactifs (Laaraj et al., 2025; Dammak et al., 2024; Elbouzidi et al., 2023; Darwish et al., 2021; Othmen et al., 2021; Cegledi et al., 2024; Dahmani et al., 2023; Kavvoura et al., 2023; Baslam et al., 2025); (3) évaluer leur activité antibactérienne vis-à-vis de souches modèles Gram positives et Gram négatives (Laaraj et al., 2025; Djebari et al., 2023; Elbouzidi et al., 2023; Darwish et al., 2021; Othmen et al., 2021; Cegledi et al., 2024; Ayache et al., 2020; Oliveira et al., 2022; Baslam et al., 2025);(4) étudier l'effet de ces extraits sur la germination hydroponique et la croissance initiale de quelques espèces végétales, en conditions de solution nutritive contrôlée, afin d'identifier d'éventuels effets biostimulants ou inhibiteurs.

Afin de répondre à ces objectifs, le mémoire sera structuré en trois grandes parties. La première partie présentera une revue de littérature sur *Ceratonia siliqua* L. (botanique, répartition, usages), sa composition phytochimique, ses activités antioxydantes et antibactériennes, ainsi que les principes de la germination hydroponique et des bioessais avec des extraits végétaux. La deuxième partie décrira le matériel et les méthodes, incluant la collecte et la préparation des échantillons, les protocoles d'extraction, les méthodes d'analyse phytochimique, les tests antioxydants et antibactériens, ainsi que le dispositif de germination hydroponique. La troisième partie présentera et discutera les résultats expérimentaux, en mettant en relation la composition des extraits, leurs activités biologiques et leurs effets sur la germination et la croissance des plantules, avant de conclure sur les perspectives d'utilisation de *C. siliqua* comme ressource naturelle dans les domaines agronomique et biotechnologique.

CHAPITRE I

Généralités sur

Ceratonia siliqua L

I.1.1. Présentation générale de la plante

Ceratonia siliqua L.(**Figure 1**), communément appelé caroubier, est un arbre légumineux sempervirent de la famille des Fabaceae, largement reconnu pour sa valeur économique, écologique et médicinale dans les régions méditerranéennes et semi-arides (Thomas et al., 2024; Baumel et al., 2018; Rodríguez-Solana et al., 2021). Il est considéré comme l'un des arbres fruitiers et forestiers les plus utiles, grâce à sa grande polyvalence et à l'exploitation de toutes ses parties (feuilles, gousses, graines, bois, écorce et racines) dans l'alimentation, la phytothérapie et l'industrie (Dahmani et al., 2023; Baumel et al., 2018; Rodríguez-Solana et al., 2021). Le caroubier se distingue par une forte tolérance à la sécheresse, à la salinité et aux sols pauvres, ce qui en fait une espèce stratégique pour la lutte contre l'érosion, la désertification et le changement climatique, ainsi que pour la valorisation des terres marginales (Thomas et al., 2024; Baumel et al., 2018; Rodríguez-Solana et al., 2021).



Figure 1 : *Ceratonia siliqua* (Caroubier).

I.1.2. Classification botanique

Sur le plan systématique, *Ceratonia siliqua* L. appartient au règne Plantae, embranchement Tracheophyta, classe Magnoliopsida, ordre Fabales, famille Fabaceae (sous-famille

Caesalpinioideae), genre *Ceratonia* (Dahmani et al., 2023; Thomas et al., 2024; Hillcoat et al., 1980). Le genre *Ceratonia* a longtemps été considéré comme monotypique, *C. siliqua* en constituant l'unique espèce cultivée, jusqu'à la description d'une seconde espèce, *C. oreothauma*, en Arabie et en Somalie (Hillcoat et al., 1980). *C. siliqua* est une espèce dioïque, avec des individus mâles et femelles distincts, et plus rarement hermaphrodites ou monoïques, ce qui a des implications importantes pour sa biologie de la reproduction, la pollinisation et la sélection variétale (Thomas et al., 2024; Ramón-Laca & Mabberley, 2004; Hillcoat et al., 1980) (**Figure 2**).

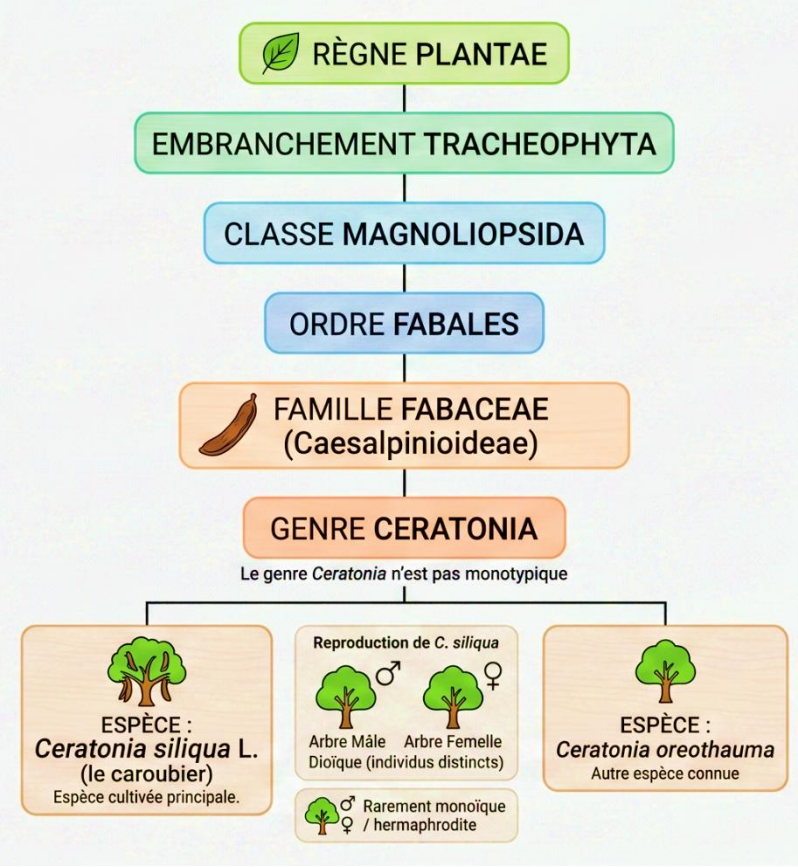


Figure 2 : Classification botanique de *Ceratonia siliqua* L.

I.1.3. Répartition géographique

Le caroubier est originaire de la région méditerranéenne et du Moyen-Orient (**Figure 3)**, avec une aire naturelle couvrant le pourtour méditerranéen (Europe du Sud, Afrique du Nord, Levant), la Macaronésie et certaines zones du Proche-Orient jusqu'en Iran (Hadi et al., 2017; Baumel et al., 2018; Ramón-Laca & Mabberley, 2004). Il est aujourd'hui largement cultivé dans les régions à climat méditerranéen, tempéré chaud ou subtropical, où plus de 100 cultivars

ont été décrits (Thomas et al., 2024; Baumel et al., 2018). Son écologie thermophile et sa large amplitude écologique expliquent son intégration dans de nombreux agroécosystèmes méditerranéens, où il coexiste avec une flore variée et présente des communautés végétales différenciées entre bassins occidental et oriental (Baumel et al., 2018). Des modèles de distribution prédisent cependant une sensibilité notable du caroubier au changement climatique, soulignant la nécessité d'efforts de conservation et de reboisement ciblés (Thomas et al., 2024; Baumel et al., 2018; Aksoy, 2022).

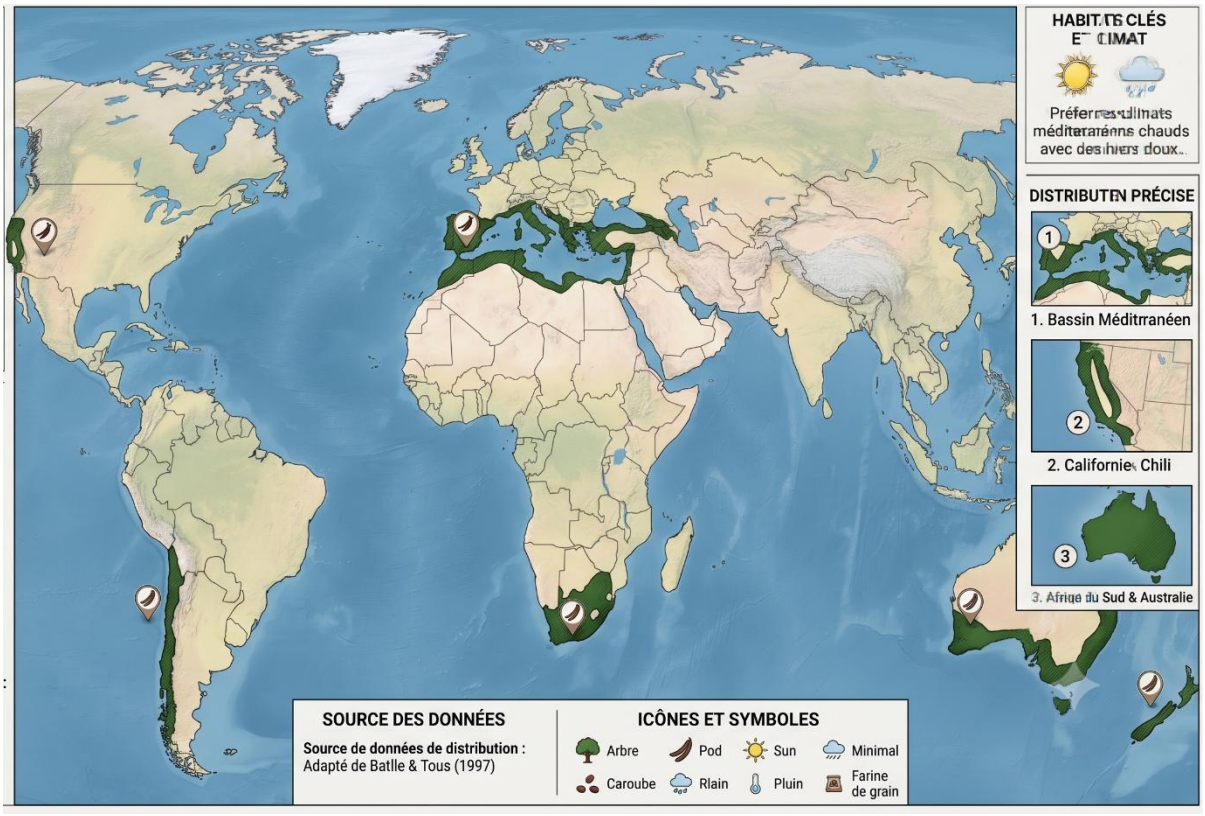


Figure 3 : Répartition mondiale actuelle de *Ceratonia siliqua*. D'après Batlle et Tous (1997).

I.1.4. Description morphologique

Ceratonia siliqua est un arbre ou arbuste sempervirent de basse altitude, à port étalé, pouvant former des houppiers denses et héberger une faune associée diversifiée (Thomas et al., 2024). Les feuilles sont composées, coriaces, généralement paripennées, adaptées à la sécheresse, avec des surfaces foliaires présentant des caractéristiques physico-chimiques particulières en lien avec la résistance au stress et la limitation des pertes d'eau (Thomas et al., 2024). L'espèce est dioïque, portant des inflorescences en grappes axillaires, sans pétales apparents, à floraison principalement automnale, la pollinisation étant assurée surtout par les insectes (Thomas et al.,

2024; Hadi et al., 2017). Le fruit est une gousse (caroube) indéhiscente, charnue, de couleur brun foncé à maturité, contenant une pulpe sucrée entourant de nombreuses graines dures, relativement grosses, à tégument très imperméable imposant une dormance physique (Thomas et al., 2024; Boublenza et al., 2019; Sidina et al., 2009; Kassout et al., 2022). Les graines présentent une forte variabilité morphométrique (taille, forme, poids) en fonction des conditions climatiques et géographiques, traduisant l'adaptation de l'espèce à divers environnements (Sidina et al., 2009; Kassout et al., 2022).

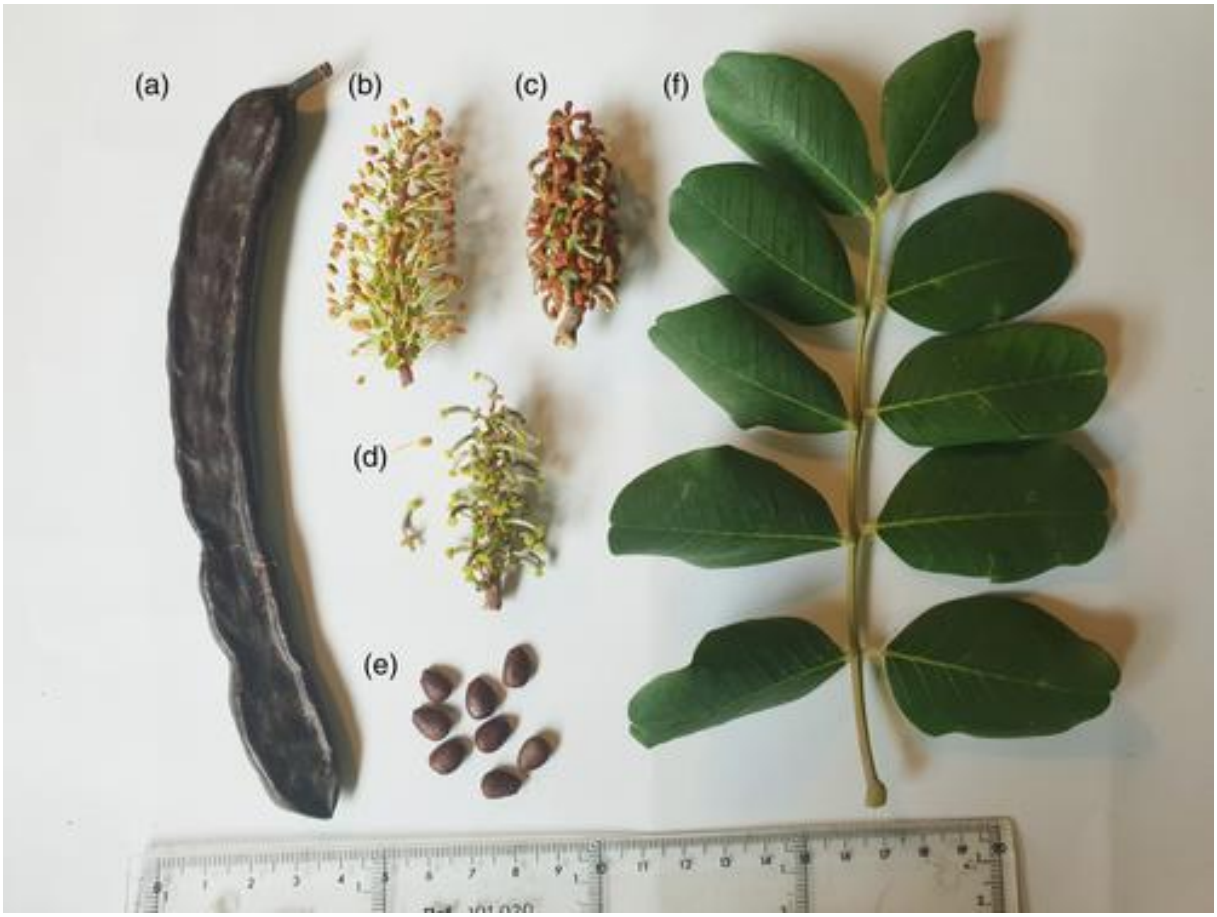


Figure 4 : *Ceratonia siliqua*, (a) fruit, (b) inflorescence mâle, (c) inflorescence hermaphrodite, (d) inflorescence femelle, (e) graines, (f) feuille.

I.1.5. Importance nutritionnelle, médicinale et agronomique

Rôles nutritionnels et fonctionnels

La gousse de caroube, constituée de pulpe et de graines, possède une composition nutritionnelle remarquable, caractérisée par une teneur élevée en sucres, fibres alimentaires, minéraux et

composés phénoliques, avec une faible teneur en lipides (Basharat et al., 2023; Baumel et al., 2018; Boublenza et al., 2019; Laaraj et al., 2024; Rodríguez-Solana et al., 2021; Dammak et al., 2024; Amar et al., 2024). La pulpe est riche en sucres (saccharose, fructose, glucose), fibres et tannins condensés, ainsi qu'en polyphénols et flavonoïdes, conférant à la caroube des propriétés antioxydantes, épaississantes et stabilisantes utilisées dans l'industrie agro-alimentaire (gomme de caroube, substitut de cacao, ingrédient fonctionnel) (Basharat et al., 2023; Baumel et al., 2018; Laaraj et al., 2024; Rodríguez-Solana et al., 2021; Dammak et al., 2024; Amar et al., 2024). Les graines, en particulier l'endosperme, sont la source de la gomme de caroube (E-410), très employée comme additif alimentaire, tandis que la fraction lipidique contient des acides gras insaturés, des stérols (β-sitostérol) et des tocophérols à intérêt nutritionnel (Rodríguez-Solana et al., 2021; Amar et al., 2024).

Importance médicinale et pharmacologique

Toutes les parties du caroubier renferment des métabolites secondaires (acides phénoliques, flavonoïdes, tannins hydrolysables et condensés, D-pinitol, composés volatils) associés à de nombreuses activités biologiques (Dahmani et al., 2023; Baumel et al., 2018; Moumou et al., 2023; Laaraj et al., 2024; Dammak et al., 2024; Yahiaoui et al., 2021). Des extraits de pulpe, graines et feuilles présentent des activités antioxydantes marquées (corrélées à la teneur en polyphénols), ainsi que des effets antidiabétiques via l'inhibition de l'α-amylase et de l'α-glucosidase et la réduction de la glycémie postprandiale in vivo (Dahmani et al., 2023; Baumel et al., 2018; Laaraj et al., 2024; Dammak et al., 2024; Serio et al., 2024). D'autres études rapportent des propriétés gastroprotectrices, anti-diarrhéiques, hypolipidémiantes, hypoglycémiantes, cardioprotectrices, anti-inflammatoires, cytotoxiques et antiprolifératives, avec un profil de toxicité généralement faible pour la pulpe et les graines (Dahmani et al., 2023; Baumel et al., 2018; Moumou et al., 2023; Laaraj et al., 2024; Dammak et al., 2024).

Intérêt agronomique et écologique

Sur le plan agronomique, *C. siliqua* est une espèce stratégique pour la reforestation et la restauration des terres dégradées, grâce à sa tolérance élevée à la sécheresse, à la salinité, aux sols calcaires pauvres et au feu, ainsi qu'à sa capacité de reprise post-incendie (Thomas et al., 2024; Baumel et al., 2018; Rodríguez-Solana et al., 2021; Laaraj et al., 2024). Son système racinaire profond et son feuillage persistant contribuent à la stabilisation des sols et à la séquestration du carbone, tandis que sa faible exigence en intrants en fait une culture adaptée

aux systèmes extensifs et aux zones marginales (Thomas et al., 2024; Baumel et al., 2018; Rodríguez-Solana et al., 2021; Laaraj et al., 2024). La diversité phénotypique importante observée sur les fruits et graines, liée aux gradients géographiques et climatiques, offre un potentiel pour la sélection de génotypes adaptés à des usages spécifiques (rendement en pulpe, teneur en sucres, gomme, composés bioactifs) et pour l'extension de la culture dans un contexte de changement climatique (Boublenza et al., 2019; Amar et al., 2024; Sidina et al., 2009; Kassout et al., 2022).

I.1.6. Parties utilisées : feuilles, graines, gousses et pulpe

Gousses et pulpe

Les gousses représentent la principale ressource exploitée et se composent d'une pulpe **Tableau 1** riche en sucres, fibres, minéraux et composés phénoliques, et de graines incluses dans la matrice charnue (Basharat et al., 2023; Baumel et al., 2018; Boublenza et al., 2019; Laaraj et al., 2024; Rodríguez-Solana et al., 2021; Dammak et al., 2024; Amar et al., 2024). La pulpe est largement utilisée en alimentation humaine (farines, sirops, substitut de cacao, boissons, produits de boulangerie) et animale, ainsi que comme ingrédient fonctionnel et nutraceutique grâce à ses propriétés antioxydantes, anti-diarrhéiques et antidiabétiques (Hadi et al., 2017; Basharat et al., 2023; Baumel et al., 2018; Moumou et al., 2023; Laaraj et al., 2024; Rodríguez-Solana et al., 2021; Dammak et al., 2024). Des études récentes sur la pulpe immature et mature ont montré une richesse en polyphénols, flavonoïdes et tannins, avec une activité antioxydante et antibactérienne significative, en particulier dans des extraits hydro-alcooliques ou hydro-méthanoliques (Laaraj et al., 2024; Dammak et al., 2024).

Graines

Les graines, de structure très dure, sont principalement valorisées pour l'endosperme, source de gomme de caroube (locust bean gum), utilisée comme épaississant, stabilisant et émulsifiant dans une large gamme de produits alimentaires et pharmaceutiques (Hadi et al., 2017; Baumel et al., 2018; Rodríguez-Solana et al., 2021; Amar et al., 2024). La fraction lipidique des graines contient des acides gras (palmitique, oléique, linoléique), des stérols (β-sitostérol, Δ5-avenastérol, stigmastérol), des tocophérols (principalement γ-tocophérol) et du squalène, contribuant au profil fonctionnel de la graine (Amar et al., 2024). Les extraits de graines

montrent également une activité antioxydante et antibactérienne, en lien avec leur contenu en polyphénols et tannins (Laaraj et al., 2024; Dammak et al., 2024; Yahiaoui et al., 2021).

Feuilles

Les feuilles de caroubier **Tableau 1**, longtemps considérées comme un sous-produit, se sont révélées riches en composés phénoliques, notamment des dérivés galloylés du glucose, des flavonol-glycosides (comme la myricitrine), des tannins et des métabolites spécifiques tels que la siliquapyranone (Dahmani et al., 2023; Dammak et al., 2024; Serio et al., 2024). Les extraits de feuilles présentent une forte activité antioxydante et une capacité inhibitrice marquée vis-à-vis de l'α-glucosidase, de l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase, suggérant un intérêt potentiel dans la prise en charge de l'hyperglycémie et de troubles neurodégénératifs (Dahmani et al., 2023; Serio et al., 2024). Des travaux ont aussi mis en évidence des activités antibactériennes importantes contre des bactéries pathogènes telles que *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ou *Staphylococcus aureus*, confirmant la valeur des feuilles comme source naturelle d'agents antimicrobiens (Basharat et al., 2023; Yahiaoui et al., 2021).

Tableau 1 : Rôles principaux des différentes parties de *Ceratonia siliqua* L.

Partie de la plante	Rôle principal / usages	Propriétés/atouts majeurs	Citations
Pulpe de gousse	Aliments, nutraceutiques, substitut de cacao	Riche en sucres, fibres, polyphénols; antioxydant, antidiabétique, anti-diarrhéique	(Hadi et al., 2017; Basharat et al., 2023; Baumel et al., 2018; Laaraj et al., 2024; Rodríguez-Solana et al., 2021; Dammak et al., 2024)
Graines (endosperme)	Gomme (E-410) pour industrie alimentaire/pharma	Épaississant, stabilisant, émulsifiant; lipides fonctionnels (stérols, tocophérols)	(Hadi et al., 2017; Baumel et al., 2018; Rodríguez-Solana et al., 2021; Amar et al., 2024)
Feuilles	Phytothérapie, source d'extraits bioactifs	Polyphénols élevés; antioxydant, antibactérien, inhibiteur d'enzymes métaboliques	(Dahmani et al., 2023; Basharat et al., 2023; Dammak et al., 2024; Serio et al., 2024; Yahiaoui et al., 2021)

I.2. Composition phytochimique de *Ceratonia siliqua* L.

I.2.1. Métabolites primaires

Les gousses et graines sont caractérisées par une forte teneur en sucres, protéines et polysaccharides. Les graines contiennent jusqu'à ~26,7 g/100 g MS de sucres totaux, avec des protéines et fibres non négligeables (Dammak et al., 2024). Un polysaccharide purifié du pulpe (UPS-3) est composé de mannose, acide glucuronique, glucose, xylose, arabinose et galactose et présente aussi une activité biologique marquée (Arachchi et al., 2025).

I.2.2. Métabolites secondaires

Des analyses UPLC-/HPLC-MS ont identifié des dizaines de métabolites secondaires (jusqu'à 53–76 composés) appartenant principalement aux **flavonoïdes**, **acides phénoliques** et **tanins condensés**, ainsi que d'autres composés phénoliques et terpèniques (Dammak et al., 2024; Djebari et al., 2023; Elhawary et al., 2025; Amrani et al., 2022). Les feuilles et les tiges renferment également des flavonoïdes, phénolic acids, withanolides, terpénoïdes et phénylpropanoïdes (Elhawary et al., 2025; Stefi et al., 2025).

I.2.3. Polyphénols

Les extraits de caroubier sont globalement riches en polyphénols : les feuilles sauvages atteignent ~163,5 mg équivalent acide gallique (GAE)/g MS (Laaraj et al., 2025), les graines autour de 14–30 mg GAE/g d'extrait (Baslam et al., 2025; Benmansour, 2020; Amrani et al., 2022), et la pulpe immature peut dépasser 3 800 mg GAE/100 g frais selon le stade et le site (Laaraj et al., 2024). La teneur varie avec la partie de la plante, le stade de maturité, l'origine géographique et la méthode d'extraction (Dammak et al., 2024; Richane et al., 2022; Mansouri et al., 2022; Laaraj et al., 2024; Amrani et al., 2022; Cegledi et al., 2024).

I.2.4. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des constituants majeurs : quercétine, myricétine, catéchine, isoquercétine, dérivés de myricétine et quercétine-3-rhamnoside sont fréquemment rapportés (Baslam et al., 2025; Laaraj et al., 2025; Dammak et al., 2024; Djebari et al., 2023; Hsouna et al., 2015; Amrani et al., 2022; Cegledi et al., 2024). Les contenus en flavonoïdes atteignent par exemple 22,23

mg équivalent quercétine/g MS pour les feuilles (Laaraj et al., 2025)et >1 000 mg équivalent quercétine/100 g frais pour la pulpe immature à un stade optimal (Laaraj et al., 2024).

I.2.5. Tanins

Les tanins condensés (proanthocyanidines) sont bien représentés dans les feuilles, graines et pulpe, avec des valeurs typiques de 1,5–6,5 mg équivalent catéchine/g MS ou plus selon la matrice et la technique d'extraction (Baslam et al., 2025; Laaraj et al., 2025; Dammak et al., 2024; Richane et al., 2022; Mansouri et al., 2022). Des dérivés polygalloylés du glucose (1,6-di-, 1,2,6-tri-, 1,2,3,6-tétragalloyl-glucose) ont été identifiés dans les feuilles (Hsouna et al., 2015), reflétant un pool tannique complexe.

I.2.6. Acides phénoliques

Les acides phénoliques **Tableau 2** dominants incluent acide gallique**,** ellagique**,** syringique**,** caféique**,** férulique**,** sinapique et des dérivés de l'acide quinique (galloyl-, caféoyl-, p-coumaroyl-quinique) (Baslam et al., 2025; Laaraj et al., 2025; Dammak et al., 2024; Djebari et al., 2023; Richane et al., 2022; Hsouna et al., 2015; Laaraj et al., 2024). Dans la pulpe, l'acide gallique est souvent le composé principal (jusqu'à >1 600 mg/kg) (Richane et al., 2022).

I.2.7. Relation entre composés bioactifs et activités biologiques

Plusieurs travaux montrent une corrélation significative **Tableau 2** entre le contenu en polyphénols (totaux, ortho-diphenols, flavonoïdes, flavonols) et l'activité antioxydante (tests DPPH, ABTS, FRAP, TAC) (Dammak et al., 2024; Richane et al., 2022; Mansouri et al., 2022; Ayache et al., 2020; Laaraj et al., 2024; Amrani et al., 2022; Cegledi et al., 2024). Certains composés individuels (gallic acid, syringic acid, kaempférol, apigénine, quercetin, rutin) sont particulièrement associés à la capacité piégeuse de radicaux et à d'autres effets biologiques (anticancéreux, antidiabétique, antimicrobien) (Baslam et al., 2025; Laaraj et al., 2025; Djebari et al., 2023; Richane et al., 2022; Ayache et al., 2020; Arachchi et al., 2025; Laaraj et al., 2024).

Tableau 2 : Variabilité des polyphénols selon la partie de *C. siliqua* et l'extraction.

Partie / extrait	Polyphénols (ordre de grandeur)	Principaux groupes	Sources
Feuilles (éthanol/EA)	≈160 mg GAE/g MS ; TFC ≈22 mg QE/g	Flavonoïdes, tanins, acides phénoliques	(Laaraj et al., 2025; Hsouna et al., 2015; Cegledi et al., 2024)
Graines (eau/éthanol)	14–30 mg GAE/g extrait ; tanins 1–3 mg CE/g	Gallic acid, catéchine, quercétine	(Baslam et al., 2025; Al-Azzawi & Al-Azzawi, 2023; Benmansour, 2020; Amrani et al., 2022)
Pulpe mûre/immature	10–34 mg GAE/g MS à >3 800 mg GAE/100 g frais	Acides phénoliques, flavonoïdes, tanins	(Dammak et al., 2024; Richane et al., 2022; Mansouri et al., 2022; Laaraj et al., 2024)

I.3. Activité antioxydante de *Ceratonia siliqua* L.

I.3.1. Définition du stress oxydatif

Les études sur C. siliqua ne définissent pas explicitement le stress oxydatif, mais l'emploient comme contexte pour l'importance des antioxydants. Le stress oxydatif y est implicite comme un déséquilibre entre production d'espèces réactives et capacités antioxydantes, menant à des dommages cellulaires, ce qui justifie la recherche d'antioxydants naturels (Baslam et al., 2025; Laaraj et al., 2025; Dammak et al., 2024; Djebari et al., 2023; Richane et al., 2022; Mansouri et al., 2022; Ayache et al., 2020; Arachchi et al., 2025; Amrani et al., 2022; Cegledi et al., 2024).

I.3.2. Radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène

Les essais utilisés ciblent des radicaux artificiels (DPPH•, ABTS•+) ou des systèmes générant des espèces réactives. La capacité des extraits à piéger ces radicaux ou à réduire des oxydants (Fe^{3+}, etc.) sert de modèle pour l'interaction avec les espèces réactives de l'oxygène in vivo (Baslam et al., 2025; Laaraj et al., 2025; Dammak et al., 2024; Djebari et al., 2023; Richane et

al., 2022; Mansouri et al., 2022; Ayache et al., 2020; Arachchi et al., 2025; Amrani et al., 2022; Cegledi et al., 2024).

I.3.3. Mécanismes d'action des antioxydants naturels

Les composés phénoliques de *C. siliqua* exercent leur activité par :

Don de protons/électrons pour réduire des radicaux (DPPH, ABTS) ou des ions métalliques (FRAP) (Baslam et al., 2025; Laaraj et al., 2025; Dammak et al., 2024; Djebari et al., 2023; Ayache et al., 2020; Amrani et al., 2022; Cegledi et al., 2024).

Stabilisation des radicaux par résonance, favorisée par la structure polyhydroxylée (gallic acid, quercetin, rutin, myricetin, proanthocyanidines) (Baslam et al., 2025; Laaraj et al., 2025; Djebari et al., 2023; Richane et al., 2022; Hsouna et al., 2015; Laaraj et al., 2024; Cegledi et al., 2024).

Des corrélations élevées entre polyphénols, ortho-diphenols et activité antioxydante suggèrent que ces groupes phénoliques sont les principaux contributeurs (Dammak et al., 2024; Richane et al., 2022; Mansouri et al., 2022; Ayache et al., 2020; Laaraj et al., 2024; Amrani et al., 2022).

I.4. Limites des études précédentes

Malgré les nombreuses études consacrées à *Ceratonia siliqua* L., plusieurs limites restent visibles. D'abord, la plupart des travaux se concentrent sur la composition phytochimique, les activités antioxydantes, les activités antimicrobiennes ou les usages nutritionnels et médicinaux de la plante. En revanche, le lien direct entre les extraits de *Ceratonia siliqua* L. et la germination hydroponique des plantes reste peu étudié.

Ensuite, les résultats disponibles varient fortement selon la partie végétale utilisée. Les feuilles, les gousses, les graines et la pulpe ne possèdent pas nécessairement la même composition chimique ni la même activité biologique. Par exemple, l'étude récente sur les feuilles de caroubier montre une richesse importante en polyphénols, flavonoïdes et tanins, mais ces résultats ne peuvent pas être automatiquement généralisés à toutes les parties de la plante.

Une autre limite concerne les conditions d'extraction. Le type de solvant, la durée d'extraction, la température, la concentration de l'extrait et l'origine géographique de la plante peuvent modifier fortement la teneur en composés bioactifs. Les travaux sur les composés phénoliques

des plantes montrent que les conditions environnementales et les paramètres d'extraction influencent la quantité et la qualité des composés obtenus.

Enfin, peu d'études analysent l'effet dose-réponse des extraits végétaux dans un système hydroponique. Pourtant, les extraits végétaux peuvent avoir un effet stimulant à faible concentration et un effet inhibiteur à forte concentration. Cette relation dose-effet est importante, car une concentration élevée d'extrait peut ralentir la germination ou perturber le développement des plantules.

I.5. Justification du choix de *Ceratonia siliqua* L.

Le choix de *Ceratonia siliqua* L. est justifié par plusieurs arguments scientifiques. Premièrement, il s'agit d'une plante méditerranéenne bien adaptée aux conditions semi-arides et largement présente dans les régions méditerranéennes, ce qui lui donne un intérêt écologique et agronomique important. Sa large distribution et son adaptation aux milieux subtropicaux sont confirmées par les données botaniques de Kew.

Deuxièmement, *Ceratonia siliqua* L. possède une richesse phytochimique intéressante. Ses extraits contiennent des composés bioactifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et certains acides phénoliques. Ces composés sont souvent associés à des activités antioxydantes et antimicrobiennes.

Troisièmement, les extraits végétaux riches en composés phénoliques peuvent présenter un potentiel biostimulant ou bioprotecteur dans le domaine agricole. Certains travaux montrent que les extraits de plantes et les composés phénoliques peuvent améliorer la germination, l'enracinement et la croissance des plantes, mais aussi exercer des effets inhibiteurs selon la dose utilisée.

Ainsi, l'étude de *Ceratonia siliqua* L. dans le contexte de la germination hydroponique permet de relier trois axes scientifiques importants : la valorisation d'une plante locale, l'évaluation de ses activités biologiques et l'exploration de son effet potentiel sur le développement précoce des plantes.

I.6. Justification du choix des plantes étudiées

Le choix des plantes étudiées doit être justifié selon leur importance agronomique, leur capacité à germer rapidement et leur sensibilité aux conditions expérimentales. Dans une étude de germination, il est préférable d'utiliser des espèces qui présentent une germination claire, rapide et facilement mesurable. Cela permet d'évaluer avec précision l'effet des extraits de *Ceratonia siliqua* L. sur le taux de germination, la longueur des racines, la longueur des tiges et la vigueur des plantules. Les plantes choisies peuvent également être justifiées par leur intérêt alimentaire, fourrager, médicinal ou agronomique. Si les espèces étudiées appartiennent à des cultures courantes, leur sélection permet de donner une valeur appliquée à l'étude. De plus, l'utilisation d'un système hydroponique permet de mieux contrôler les conditions de croissance et de limiter l'influence du sol, ce qui rend les résultats plus comparables entre les traitements. Cependant, il est important de préciser clairement les espèces végétales utilisées dans la partie méthodologique. Sans cette précision, la justification reste générale. La formulation peut donc être adaptée ainsi : Le choix des plantes étudiées repose sur leur importance agronomique, leur disponibilité locale, leur capacité de germination rapide et leur aptitude à être suivies en conditions hydroponiques. Ces espèces permettent d'évaluer l'effet des extraits de Ceratonia siliqua L. sur les premières étapes du développement végétal, notamment la germination, l'élongation racinaire et la croissance des plantules.

I.7. Objectif général de l'étude

L'objectif général de cette étude est d'évaluer les propriétés antioxydantes et antibactériennes de *Ceratonia siliqua* L. et d'étudier son effet potentiel sur la germination hydroponique de quelques plantes. Cet objectif permet de relier l'analyse biochimique et microbiologique de l'extrait végétal à son application possible dans le domaine agronomique. Il s'agit donc de déterminer si les extraits de *Ceratonia siliqua* L. peuvent présenter un intérêt comme source naturelle de composés bioactifs capables d'influencer la germination et le développement initial des plantules.

I.8. Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques de cette étude consistent d'abord à préparer des extraits de *Ceratonia siliqua* L. à partir de la partie végétale sélectionnée, puis à déterminer leur composition phytochimique générale. Cette analyse permettra d'évaluer la richesse des extraits

en composés bioactifs, notamment les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins, qui sont généralement associés aux activités biologiques des plantes. L'étude vise également à examiner l'activité antioxydante des extraits obtenus à l'aide de méthodes appropriées, telles que les tests DPPH, ABTS ou la capacité antioxydante totale, ainsi qu'à évaluer leur activité antibactérienne contre des souches bactériennes sélectionnées.

Par ailleurs, cette recherche a pour objectif d'étudier l'effet de différentes concentrations d'extrait de *Ceratonia siliqua* L. sur la germination hydroponique de quelques plantes. Pour cela, plusieurs paramètres de germination seront mesurés, notamment le taux de germination, la longueur de la radicule, la longueur de la tigelle et l'indice de vigueur. La comparaison entre les différentes concentrations permettra d'identifier un éventuel effet stimulant ou inhibiteur de l'extrait sur le développement initial des plantules. Enfin, cette étude cherchera à établir une relation entre la composition bioactive de l'extrait, ses activités antioxydante et antibactérienne, et son effet sur la germination hydroponique.

CHAPITRE II

Matériels and méthodes

CHAPITRE II MATERIELS AND METHODES

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire du Département d'agronomie de l'Université 20 Août 1955 de Skikda. Il s'inscrit dans le cadre d'une étude expérimentale visant à valoriser les extraits éthanoliques d'origine végétale (*Ceratonia siliqua*) à travers l'évaluation de leurs différentes propriétés biologiques. L'objectif principal de cette recherche est d'étudier le profil phytochimique de l'extrait *Ceratonia siliqua*, d'apprécier leur activité antibactérienne vis-à-vis de certaines souches microbiennes, ainsi que d'évaluer leur potentiel biostimulant. Cette approche permet de mieux comprendre l'intérêt de ces extraits en tant que sources naturelles de composés bioactifs susceptibles d'être exploités dans les domaines agronomique, biologique et éventuellement phytosanitaire.

II.1. Critères de choix de la plante

Le choix du fruit l'espèce végétale *Ceratonia siliqua,* illustrée dans la **Figure** 5 , repose sur une enquête ethnopharmacologique réalisée auprès de la population locale, en particulier auprès des personnes ayant une connaissance préalable de son usage en médecine traditionnelle. Les informations recueillies ont permis de confirmer l'importance accordée à cette plante dans les pratiques thérapeutiques traditionnelles. Cette importance peut être liée à sa composition chimique, caractérisée par la présence probable de molécules bioactives appartenant à différents groupes de métabolites secondaires. De ce fait, *Ceratonia siliqua* présente un intérêt scientifique considérable, notamment pour l'étude de ses propriétés phytochimiques et de ses activités biologiques potentielles.



Figure 5 : Fruit l'espèce végétale *Ceratonia siliqua* **(Photo Originale 2026).**

II.2. Préparation des extraits hydroéthanolique

L'extraction des composés bioactifs a été effectuée au sein du laboratoire du Hall de Technologie de l'Université 20 Août 1955 de Skikda, comme présenté dans la **Figure 6** Cette opération représente une étape fondamentale dans la préparation des échantillons, puisqu'elle permet de récupérer les substances d'intérêt présentes dans le matériel végétal. La réalisation de cette extraction en milieu contrôlé a permis d'assurer de bonnes conditions expérimentales et de préserver la qualité des extraits obtenus. Ces extraits ont ensuite été utilisés pour la réalisation des différentes investigations biologiques et phytochimiques prévues dans le cadre de cette étude.



Figure 6 : Laboratoire du Hall de Technologie de l'Université 20 Août 1955 de Skikda, où l'étape d'extraction a été réalisée.

L'extrait de *Ceratonia siliqua* a été préparé en faisant macérer 50 g de poudre du fruit dans une solution hydroéthanolique à 70 % (500 ml) à température ambiante pendant 24 h, avec une agitation occasionnelle. Après avoir été filtré à travers un papier filtre Whatman No.3, le filtrat obtenu a ensuite été soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un appareil RE-100 Pro à une température de 45 °C. Ce processus a finalement abouti à la formation d'un résidu solide (**Figure 7)**.



Figure 7 : Préparation des extraits hydroéthanoliques par Rotavap.

II.3. Évaluation quantitative de la composition phytochimique :

II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. Cette méthode est largement utilisée pour estimer la teneur globale en composés phénoliques présents dans les extraits végétaux.

Principe de la réaction

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué principalement d'un mélange d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_{40}$. En milieu alcalin, les composés phénoliques présents dans l'extrait réduisent ce réactif, entraînant la formation d'un complexe de coloration bleue constitué d'oxydes de tungstène et de molybdène. L'intensité de cette coloration est proportionnelle à la concentration des composés phénoliques présents dans l'échantillon. L'absorbance est généralement mesurée dans la zone de 750 à 765 nm.

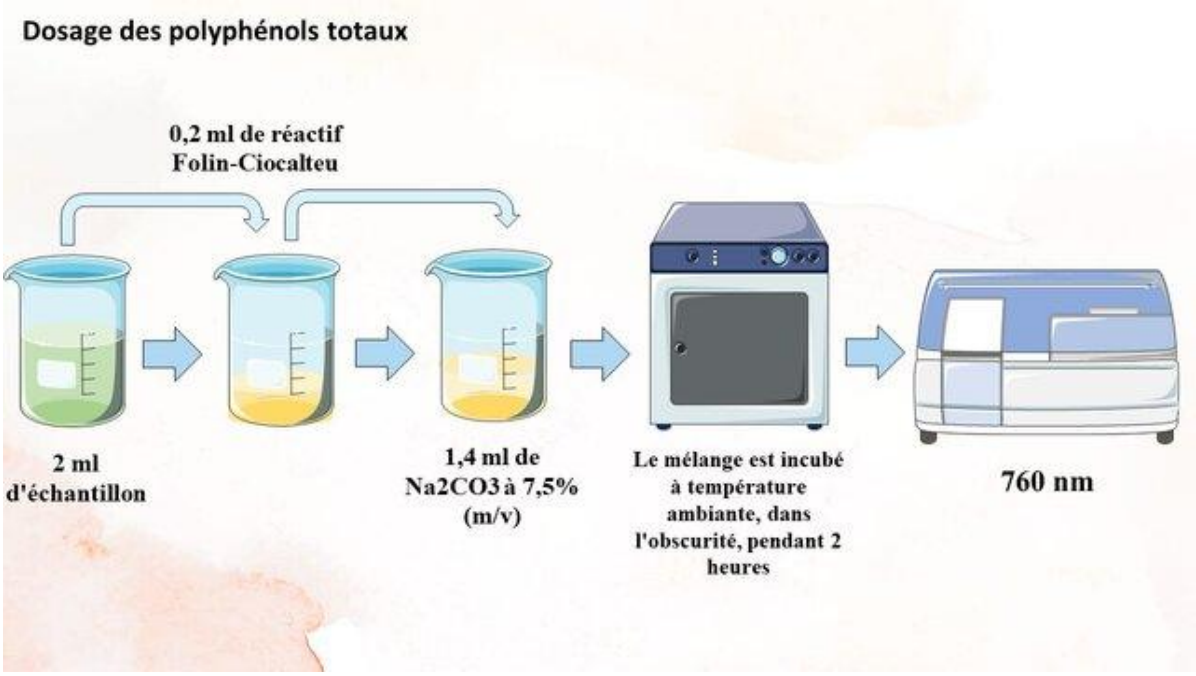


Figure 8 : Dosage des polyphénols totaux **(Aouzal., 2025).**

Mode opératoire

Pour la réalisation du dosage, 200 µL de l'échantillon, préparé à une concentration de 0,5 mg/mL dans le méthanol, ont été mélangés avec 1 mL du réactif de Folin-Ciocalteu dilué dix fois dans l'eau distillée. Le mélange réactionnel a été homogénéisé, puis incubé pendant 4 minutes à température ambiante. Après cette première incubation, 800 µL d'une solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 75 g/L ont été ajoutés afin de créer un milieu alcalin favorable au développement de la coloration. Le mélange a ensuite été incubé pendant 2 heures à l'obscurité et à température ambiante. Après incubation, l'absorbance a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Un blanc réactionnel, préparé dans les mêmes conditions mais sans ajout d'échantillon, a été utilisé comme témoin négatif. La teneur en polyphénols totaux a été déterminée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique. Les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec, soit mg EAG/g d'extrait **(Figure 8)**.

II.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium $AlCl_3$. Cette méthode permet d'évaluer la quantité globale de flavonoïdes présents dans les extraits étudiés.

Principe de la réaction

Le principe de cette méthode repose sur la formation d'un complexe stable entre les ions aluminium et certains groupements fonctionnels des flavonoïdes. La formation de ce complexe entraîne l'apparition d'une coloration mesurable par spectrophotométrie. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration des flavonoïdes présents dans l'échantillon.

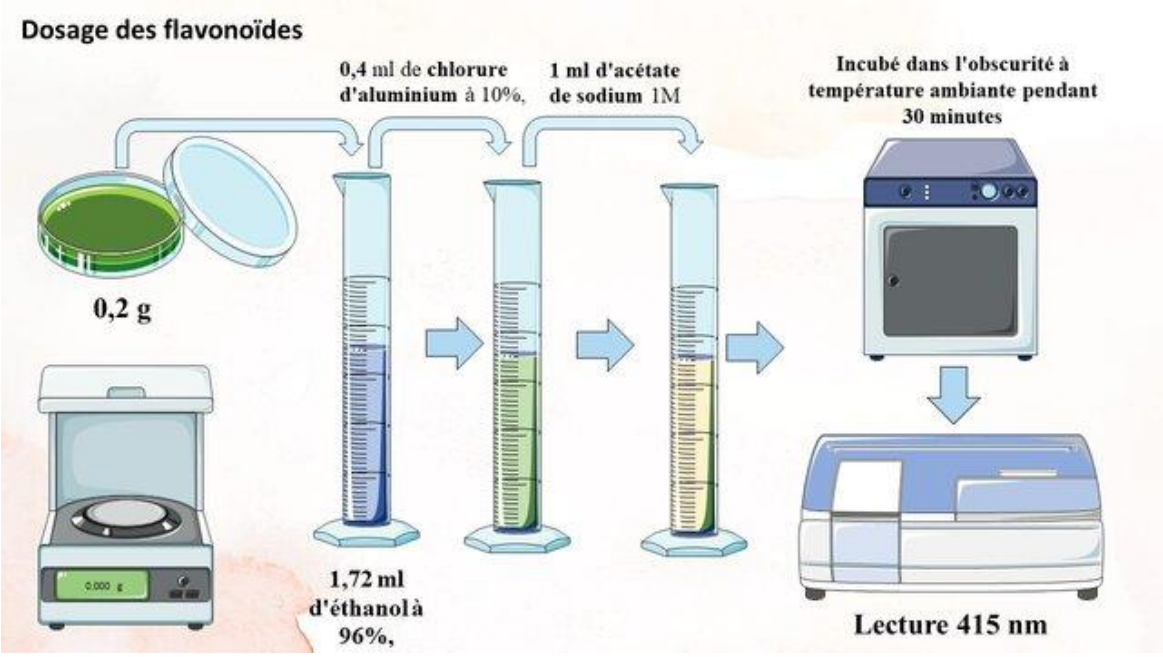


Figure 9 : Dosage des flavonoïdes totaux **(Aouzal., 2025).**

Mode opératoire

Un volume de 1 mL de chaque échantillon, préparé à une concentration de 0,5 mg/mL dans le méthanol, a été mélangé avec 1 mL d'une solution de trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ à 2 % préparée dans le méthanol. Le mélange a été vigoureusement agité afin d'assurer une bonne homogénéisation des réactifs. Après une incubation de 10 minutes à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Un blanc réactionnel, contenant tous les réactifs sauf l'échantillon, a été préparé et utilisé comme témoin négatif. La teneur en flavonoïdes totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage établie avec la Quercétine. Les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalent de Quercétine par gramme d'extrait sec, soit mg EQ/g d'extrait **(Figure 9)**.

II.3.3. Dosage des tanins condensés totaux

La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode à la vanilline en milieu acide. Cette méthode est basée sur la réaction de la vanilline avec les flavan-3-ols libres et les unités terminales des proanthocyanidines, conduisant à la formation d'un composé coloré rouge.

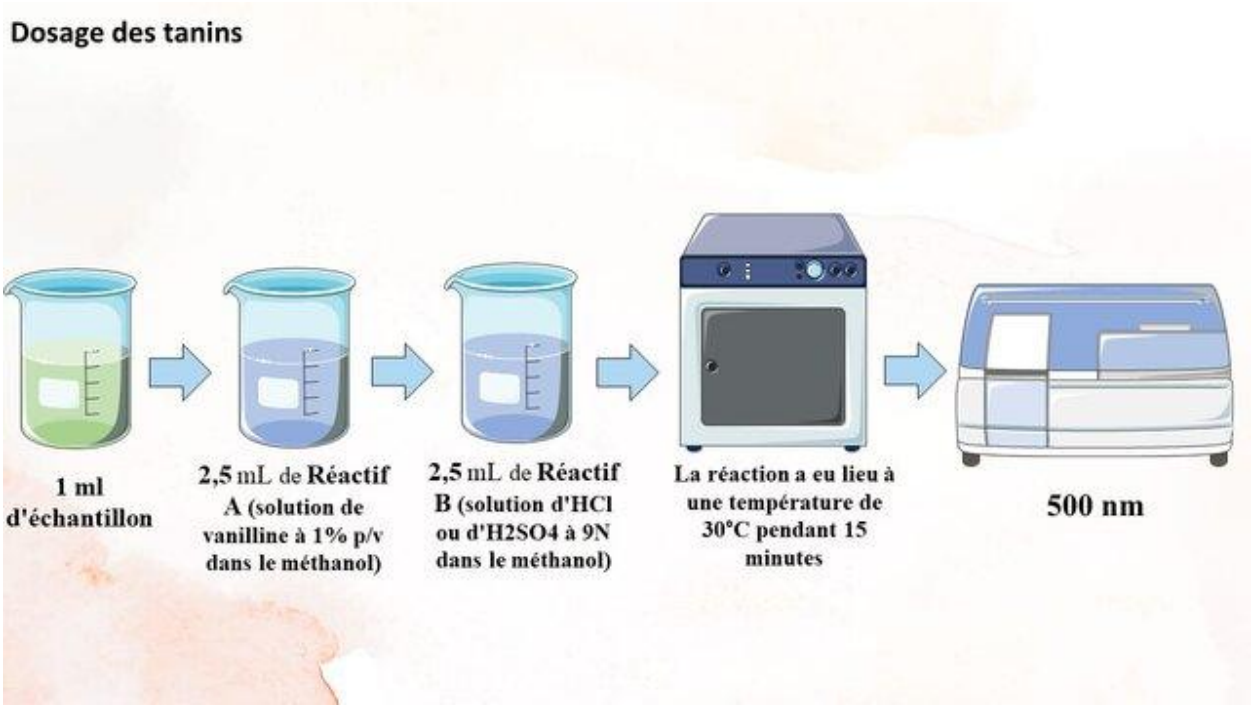


Figure 10 : Dosage des tanins condensés totaux **(Aouzal., 2025).**

Principe de la réaction

En présence d'acide chlorhydrique, la vanilline réagit avec certains constituants des tanins condensés, notamment les flavanols et les proanthocyanidines. Cette réaction donne naissance à une coloration rouge dont l'intensité est proportionnelle à la teneur en tanins condensés présents dans l'échantillon. L'absorbance du complexe formé est mesurée à une longueur d'onde de 500 nm.

Mode opératoire

Dans un erlenmeyer, 1 mL de l'échantillon préparé dans le méthanol a été introduit, puis 5 mL du réactif d'analyse ont été ajoutés. Ce réactif est constitué de 2,5 mL d'une solution de vanilline à 1 % mélangée avec 2,5 mL d'une solution d'acide chlorhydrique HCl à 8 %, préparée dans le méthanol. Le mélange a été vigoureusement agité afin d'assurer une bonne interaction

entre l'échantillon et les réactifs. Après 1 minute, 5 mL d'une solution d'HCl à 4 % ont été ajoutés au mélange réactionnel. L'erlenmeyer a ensuite été placé dans un bain-marie réglé à 30 °C pendant 20 minutes. Après incubation, l'absorbance a été mesurée à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, en respectant un intervalle de lecture régulier. La quantification des tanins condensés a été réalisée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec la catéchine. Les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalent catéchine par gramme d'extrait sec, soit mg EC/g d'extrait **(Figure 10)**.

II.4. Dosage antioxydant :

II.4.1 Méthode DPPH

Le test de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un outil couramment utilisé pour évaluer l'activité antioxydante en milieu organique, **(Blois ,1958 ; Aouzal,. 2025)**. Il repose sur la réduction d'une solution alcoolique du radical DPPH en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), ce qui entraîne la formation d'une forme non radicalaire, DPPH-H. Les radicaux DPPH présents dans la solution confèrent à celle-ci une couleur pourpre foncé et engendrent une forte absorption à 517 nm. Toutefois, l'introduction d'un agent antioxydant entraîne une décoloration progressive de la solution au cours de la réaction, ce qui modifie la colorimétrie de la solution **(Xie et Schaich, 2014)**.

Le test de l'activité antioxydante par DPPH comporte plusieurs étapes. Tout d'abord, il faut préparer une solution de DPPH en dissolvant 3,94 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol pour obtenir une concentration de 0,01 mm. Ensuite, des échantillons à tester sont préparés en les dissolvant dans de l'éthanol. Les échantillons sont ensuite ajoutés à la solution de DPPH dans une série de tubes à essai contenant des concentrations croissantes d'échantillon à tester (de 0 à 1 mg/ml). Les tubes sont incubés pendant 30 minutes à température ambiante à l'abri de la lumière. Après l'incubation, l'absorbance de chaque tube est mesurée à une longueur d'onde de 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible. Le pourcentage d'inhibition de DPPH est ensuite calculé en utilisant la formule suivante :

% inhibition = [(absorbance du contrôle − absorbance de l'échantillon) / Absorbance du contrôle x 100

Une courbe dose-réponse est générée afin d'illustrer graphiquement la relation entre le pourcentage d'inhibition de DPPH et la concentration de l'échantillon. Cette courbe permet de déterminer l'IC_{50}, qui correspond à la concentration d'échantillon requise pour réduire de moitié

la quantité initiale de DPPH. Le calcul de l'IC_{50} est réalisé en interpolant les données obtenues à partir de la courbe dose-réponse (**Figure 11)**.

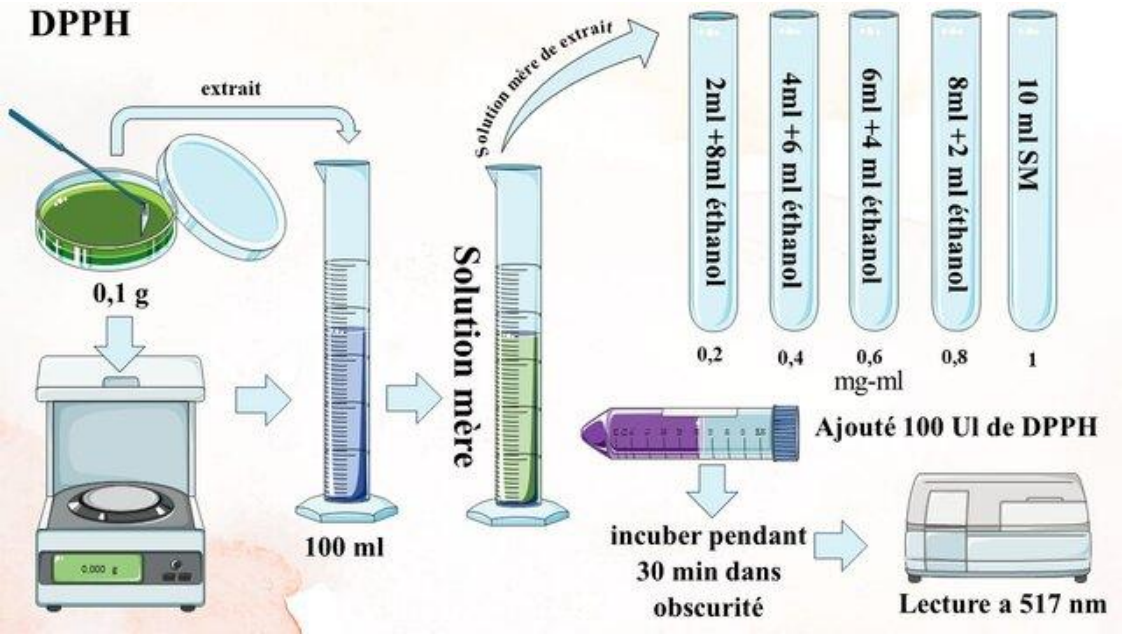


Figure 11 : Dosage du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle DPPH **(Aouzal., 2025).**

II.4.2 Méthode ABTS

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par la méthode ABTS, basée sur la capacité des composés antioxydants à piéger le radical-cation ABTS•+. Ce radical, de coloration bleu-verdâtre, est obtenu à partir de l'oxydation de l'ABTS, initialement incolore, en présence de persulfate de potassium K2S2O8. La diminution de l'intensité de la coloration traduit la capacité des molécules antioxydantes présentes dans l'échantillon à neutraliser le radical ABTS•+.

Principe de la réaction

La réaction se déroule principalement en deux étapes. Dans un premier temps, le radical-cation ABTS•+ est généré par oxydation de l'ABTS en présence de persulfate de potassium. Cette oxydation entraîne la formation d'une solution colorée bleu-verdâtre présentant une absorbance maximale à 734 nm. Dans un second temps, en présence d'un composé antioxydant capable de céder un électron ou un proton, le radical ABTS•+ est réduit, ce qui provoque une décoloration progressive de la solution. L'intensité de cette décoloration est proportionnelle à l'activité antioxydante de l'extrait testé.

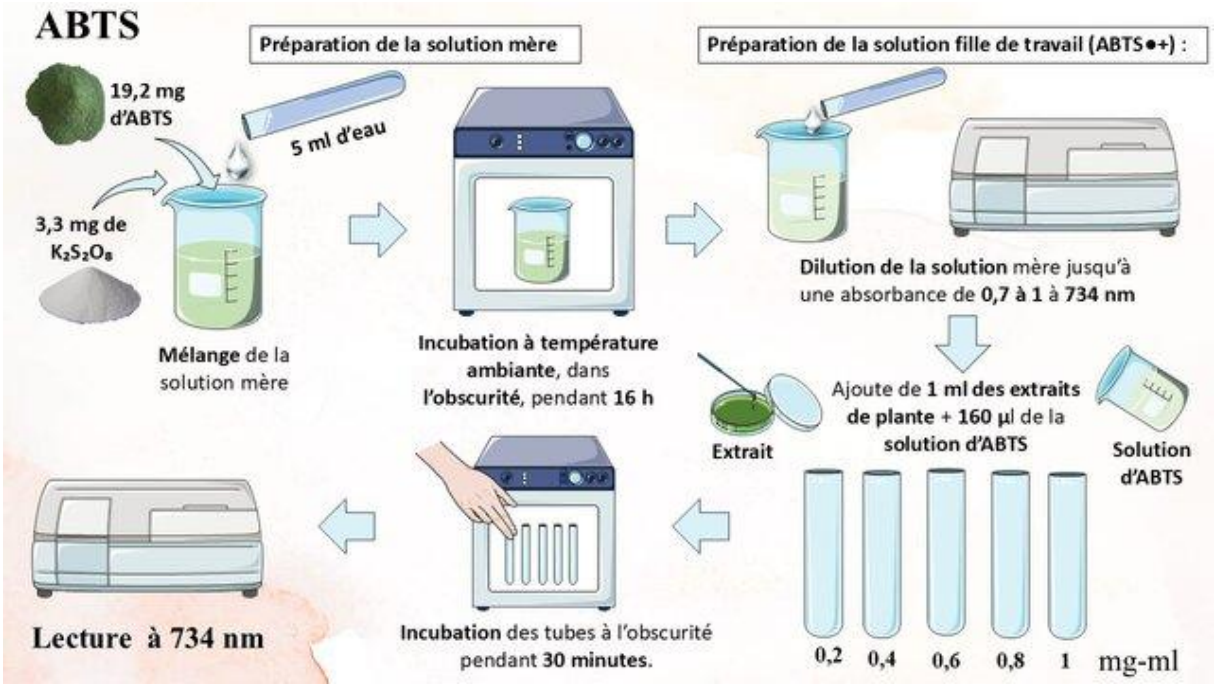


Figure 12 : Dosage ABTS **(Aouzal., 2025).**

Mode opératoire

La solution mère d'ABTS a été préparée en mélangeant 19,2 mg d'ABTS avec 3,3 mg de persulfate de potassium K2S2O8 dans 5 mL d'eau distillée. Le mélange réactionnel a ensuite été incubé à l'obscurité pendant 16 heures à température ambiante afin de permettre la formation du radical-cation ABTS•+. Après incubation, une solution de travail a été préparée par dilution de la solution mère d'ABTS•+ avec de l'eau distillée jusqu'à l'obtention d'une absorbance comprise entre 0,70 et 1,00 à 734 nm. Pour chaque essai, 1 mL de différentes concentrations d'extraits végétaux, comprises entre 0 et 1 mg/mL, a été introduit dans un tube à essai, puis 160 µL de la solution de travail d'ABTS•+ ont été ajoutés. Les mélanges ont été homogénéisés, puis incubés à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. Après incubation, l'absorbance a été mesurée à 734 nm à l'aide d'un spectrophotomètre **(Figure 12)**. L'activité antioxydante a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical ABTS•+ selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle}] \times 100$$

Où :

A contrôle représente l'absorbance de la solution d'ABTS•+ en absence d'extrait.

A échantillon représente l'absorbance de la solution d'ABTS•+ en présence de l'extrait testé.

Les pourcentages d'inhibition obtenus ont ensuite été tracés en fonction des concentrations des extraits. Cette représentation graphique a permis de déterminer la valeur de l'IC_{50}, qui correspond à la concentration d'extrait nécessaire pour inhiber 50 % du radical ABTS•+. Plus la valeur de l'IC_{50} est faible, plus l'activité antioxydante de l'extrait est élevée.

II.5. Test antibactérien

II.5.1. Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *Ceratonia siliqua*

L'activité antibactérienne des extraits de *Ceratonia siliqua* a été évaluée à une concentration vis-à-vis de plusieurs souches microbiennes. Cette analyse a pour objectif d'apprécier le potentiel inhibiteur des extraits étudiés et de déterminer leur efficacité contre des microorganismes impliqués dans diverses pathologies humaines.

II.5.2. Matériel bactérien

Les souches microbiennes utilisées dans cette étude proviennent de laboratoires publics et privés de la wilaya de Skikda. Ces souches ont été sélectionnées en raison de leur implication fréquente dans différentes infections humaines et de leur importance en microbiologie appliquée. Certaines d'entre elles sont connues pour présenter une résistance variable aux antibiotiques, ce qui justifie l'intérêt porté à la recherche de substances naturelles à potentiel antimicrobien. Dans le cadre de ce travail, l'activité antibactérienne a été testée sur cinq souches bactériennes, comprenant deux bactéries à Gram négatif, à savoir *Escherichia coli*, et une autre souche à préciser, ainsi qu'une bactérie à Gram positif, *Staphylococcus aureus*. Les souches bactériennes ont été conservées dans des conditions appropriées, dans des tubes stériles contenant de la gélose nutritive inclinée, jusqu'à leur utilisation pour les essais microbiologiques.

II.5.3. Milieux de culture utilisés

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits étudiés, plusieurs milieux de culture ont été utilisés selon les exigences des microorganismes testés. Les principaux milieux employés sont **(Figure 13)** :

Gélose Mueller-Hinton

Gélose Sabouraud

Gélose Chapman

Gélose Hektoen



Figure 13 : Milieux de culture microbiologiques (Mueller-Hinton, Sabouraud, Chapman et Hektoen) conditionnés en flacons.

La gélose Mueller-Hinton a été utilisée principalement pour la réalisation du test de diffusion sur milieu solide, car elle est couramment recommandée pour l'évaluation de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens.

II.5.4. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits de *Ceratonia siliqua* a été étudiée par la méthode de diffusion sur gélose. Cette méthode permet d'évaluer qualitativement la capacité des extraits à inhiber la croissance bactérienne autour des disques imprégnés. L'apparition d'une zone claire autour du disque indique une inhibition de la croissance bactérienne, dont le diamètre peut être mesuré afin d'estimer l'activité antibactérienne de l'extrait testé.

II.5.5. Préparation de l'inoculum

À partir de cultures jeunes et pures, quelques colonies bien isolées et morphologiquement similaires ont été prélevées à l'aide d'un écouvillon ou d'une pipette Pasteur stérile. Les colonies ont ensuite été transférées dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile. La suspension obtenue a été homogénéisée afin d'obtenir une répartition uniforme des cellules bactériennes.

II.5.6. Standardisation de la suspension bactérienne

La suspension bactérienne a été standardisée avant son utilisation dans le test antibactérien. Cette étape est essentielle afin d'assurer une concentration bactérienne homogène pour toutes les souches testées et de permettre une comparaison fiable des résultats.

La densité optique de la suspension a été ajustée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 625 nm. La valeur de la densité optique a été ajustée entre 0,08 et 0,10, correspondant approximativement à une suspension bactérienne standardisée de type 0,5 McFarland. Cette standardisation permet d'obtenir un inoculum adapté à la réalisation du test de diffusion sur gélose.

II.5.7. Détermination de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion sur milieu solide Mueller-Hinton. Cette méthode repose sur la diffusion des substances actives à partir de disques de papier imprégnés d'extrait dans la gélose préalablement ensemencée avec la souche bactérienne testée.

II.5.8. Préparation de l'antibiogramme

Des disques stériles de papier Whatman de 5 mm de diamètre ont été imprégnés avec différentes concentrations des extraits de *Ceratonia siliqua*. Après ensemencement de la surface des boîtes de Pétri contenant la gélose Mueller-Hinton avec la suspension bactérienne standardisée, les disques imprégnés ont été déposés délicatement sur la surface de la gélose. Les boîtes ont ensuite été laissées à température ambiante pendant une courte période afin de permettre la diffusion initiale des extraits dans le milieu. Elles ont par la suite été incubées à 37 °C pendant

24 heures. Après incubation, l'activité antibactérienne a été évaluée par la mesure du diamètre des zones d'inhibition formées autour des disques. Les résultats ont été exprimés en millimètres et comparés en fonction des concentrations testées. Un témoin négatif, constitué du solvant utilisé pour la préparation des extraits, doit être réalisé afin de vérifier que l'effet observé est dû à l'extrait et non au solvant. Un témoin positif, constitué d'un antibiotique de référence, peut également être utilisé afin de comparer l'activité antibactérienne des extraits à celle d'un agent antimicrobien connu.

II.6. Effet Biostimulation de *Ceratonia siliqua* sur l'élongation racinaire

Dans le cadre de cette étude, une évaluation préliminaire de l'effet biostimulant des extraits de *Ceratonia siliqua* a été réalisée au laboratoire. L'objectif de ce test était d'examiner la capacité des extraits obtenus à stimuler la germination des graines et le développement initial des plantules. Pour cela, une méthode simple de germination a été adoptée afin d'observer la réponse biologique de différentes espèces végétales traitées par les extraits **Figure 14** . Trois types de graines ont été sélectionnés pour cette expérimentation : la courgette (*Cucurbita pepo*), le haricot (*Phaseolus vulgaris* L) et la carotte (*Daucus carota*) **Figure 15** . Ces espèces ont été choisies afin de comparer la réponse de graines appartenant à des plantes différentes et d'évaluer l'effet potentiel de extrait sur leur pouvoir germinatif par messure de la longeur des racines nous avons utilisé 5 (T1,T2,T3,T4,T5) dose avec un temoin pour une comprasion.

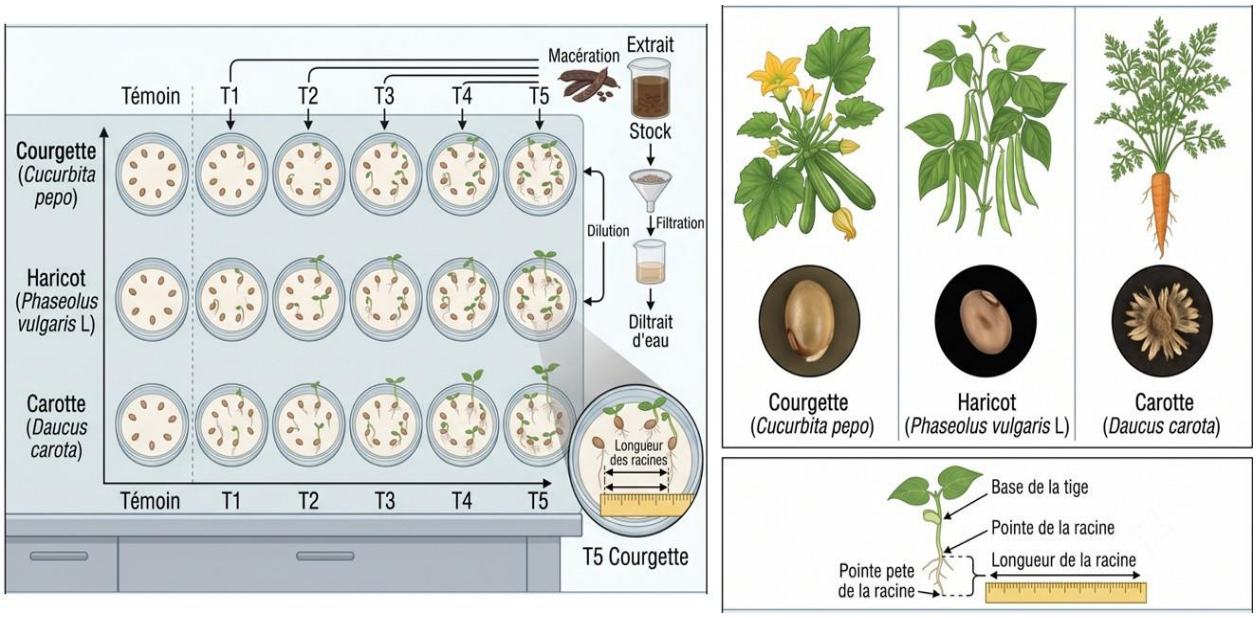


Figure 14 : Illustration du protocole de de biostimulation

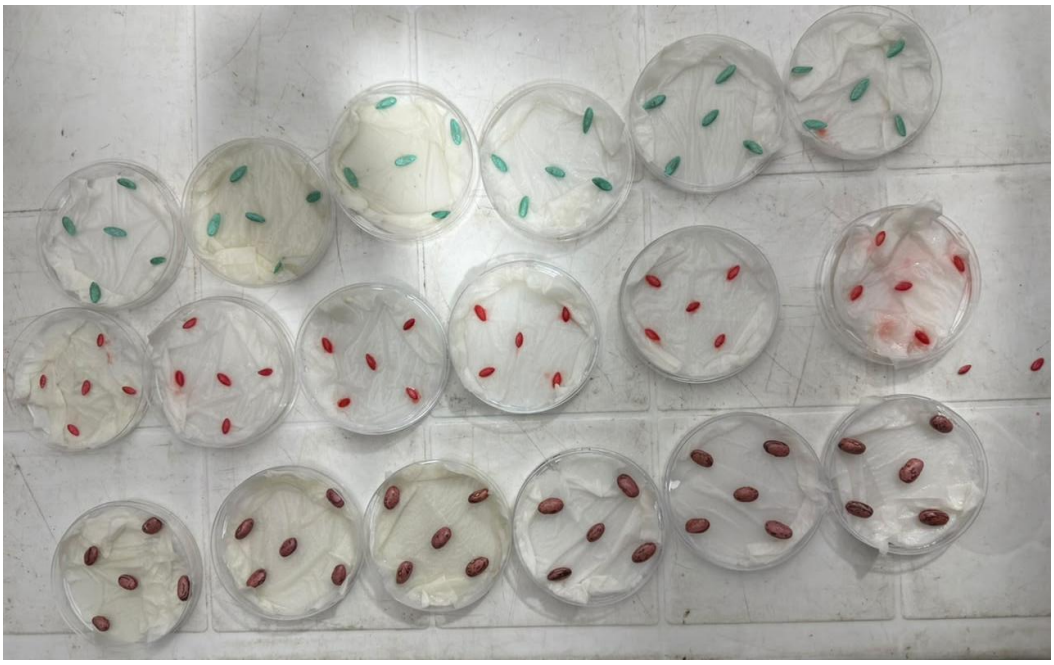


Figure 15 : Photo réelle du Protocole de de biostimulation.

II.37. Traitement statistique des résultats

Pour l'analyse statistique des résultats, on a utilisé la version 9.2.0 de GraphPad Prism (GraphPad Software, LLC, CA, USA) and Gemini IA. Les valeurs sont présentées sous forme de moyenne ± SEM. Les données des différents groupes ont été comparées à l'aide d'une analyse unidirectionnelle de la variance (one-way ANOVA), suivie d'un test post-hoc de Tukey ainsi qu'un test de student (pour l'étude biologique *in vivo*). Tous les résultats ont été considérés comme significatifs si la valeur de $P<0.05$.

CHAPITRE III

Résultats et discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Rendement des extraits

Le rendement de l'extrait polyphénolique brut obtenu par Rotavap de la partie aérienne de la plante médicinale *Ceratonia siliqua est caractérisé par une colleur marron foncé et une forme de Gel visqueux presque gélatineuse* **(Tableau 3)** Le rendement des deux extraits est représenté dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Rendement de l'extrait polyphénolique obtenu de la plante *Ceratonia siliqua*

Échantillon	Extrait éthanolique
Rendement (%)	8,763

Les résultats obtenus montrent que l'extraction éthanolique des composés polyphénoliques de *Ceratonia siliqua* a donné un rendement de 8,763 %. Cette valeur traduit la capacité de l'éthanol à solubiliser et à extraire une proportion notable de composés bioactifs présents dans la matrice végétale.

III.1.2. Évaluation quantitative de la composition phytochimique

III.1.2.1. Teneurs en polyphénols totaux

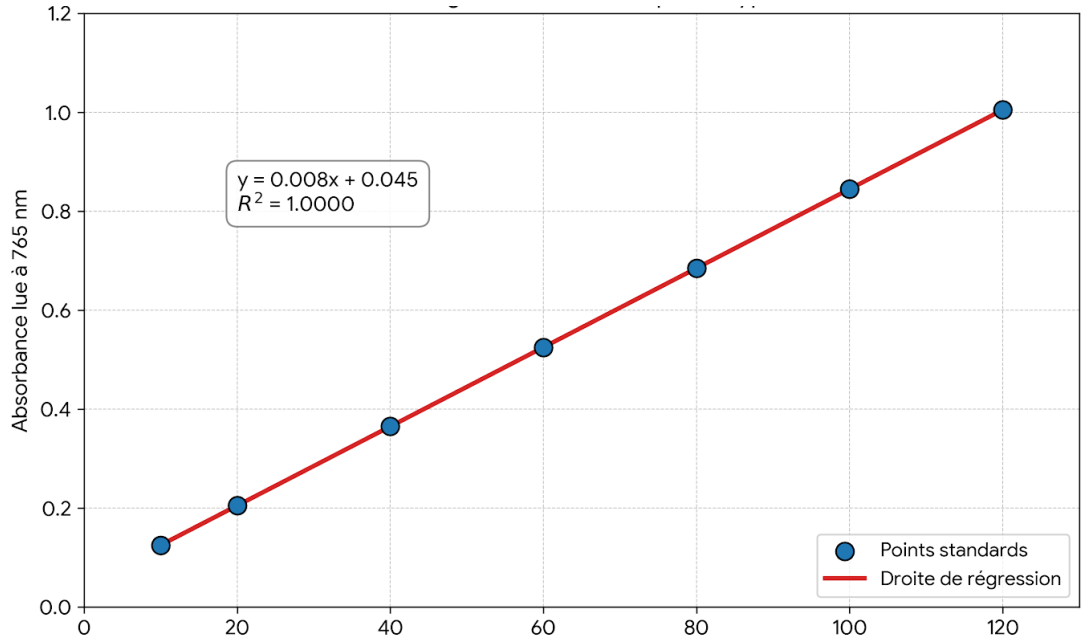


Figure 16 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Les quantités de polyphénols correspondantes à chaque échantillon ont été calculées à

partir de la courbe d'étalonnage **(Figure 16). y = 0.008x + 0.045.**

III.1.2.2. Teneur en flavonoïdes

Les quantités de flavonoïdes correspondantes à chaque échantillon ont été calculées a partir de la courbe d'étalonnage **(Figure 17)**. **y = 0.012x + 0.030**.

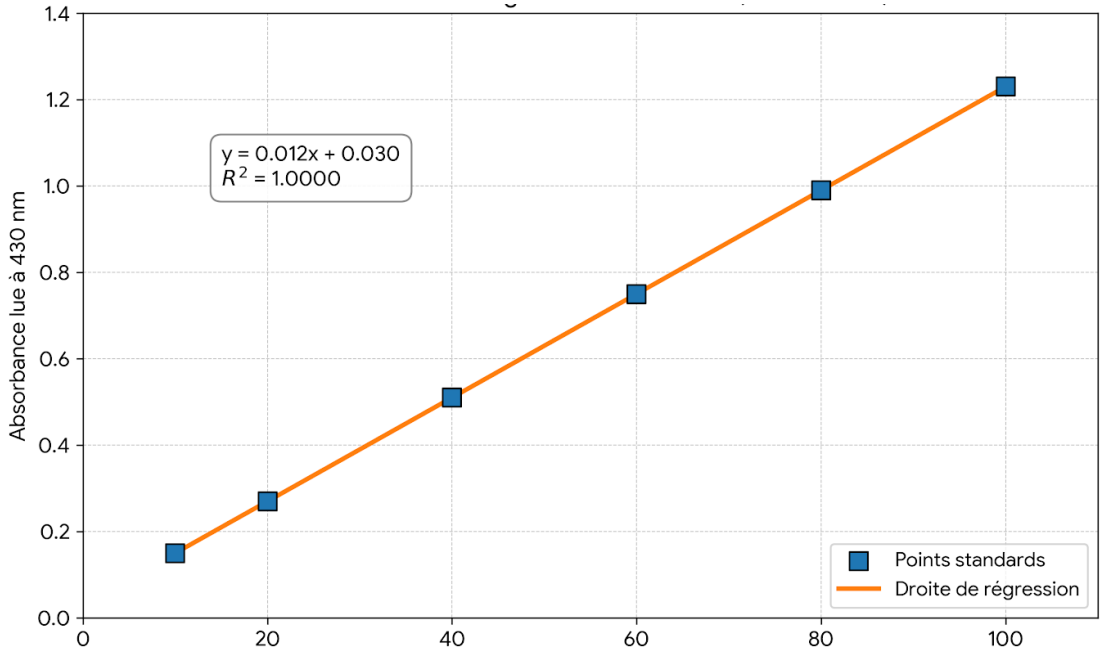


Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la Quercitaine.

III.1.2.3. Teneur en tanins

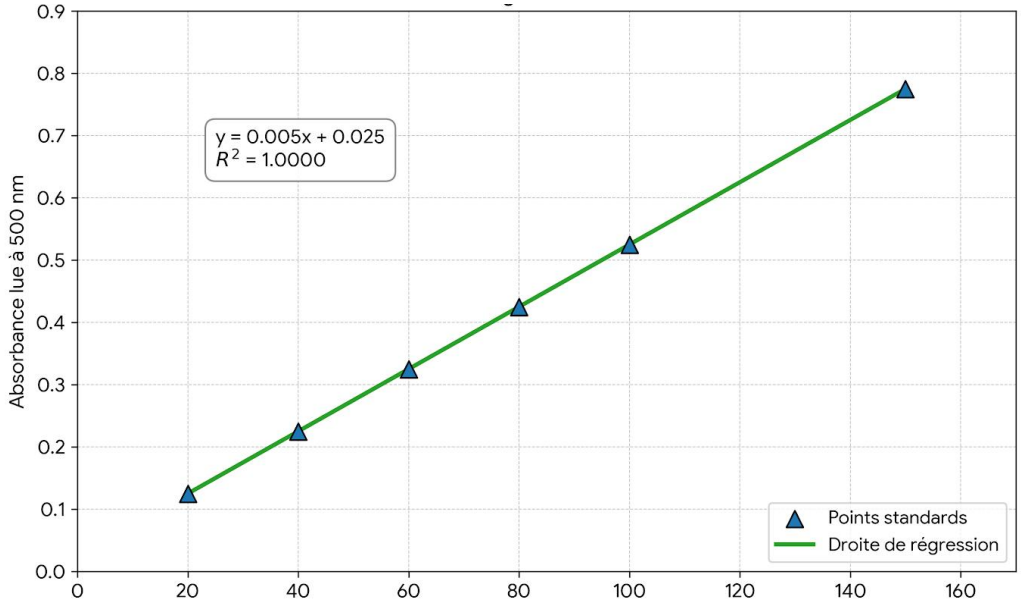


Figure 18 : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique.

La courbe d'étalonnage des tanins, établie en fonction des variations d'absorbance de l'acide Tannique à différentes concentrations (**Figure 18**), revêt une importance capitale dans cette

étude. **y = 0.005x + 0.025**.

Tableau 4 : Teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes et en tanins de la plante *Ceratonia siliqua*.

Paramètre dosé	Standard utilisé	Unité d'expression	Valeur obtenue
Polyphénols totaux	Acide gallique	mg GAE/g d'extrait	11,356
Flavonoïdes totaux	Quercétine	mg QE/g d'extrait	9,917
Tanins condensés totaux	Acide tannique	mg TAE/g d'extrait	8,763

Les résultats du dosage phytochimique (**Tableau 4)** montrent que l'extrait éthanolique de *Ceratonia siliqua* est riche en composés phénoliques. La teneur en polyphénols totaux atteint 11,356 mg GAE/g d'extrait, ce qui indique une forte présence de composés réducteurs à caractère phénolique. La teneur en flavonoïdes totaux est de 9,917 mg QE/g d'extrait, suggérant que cette classe de métabolites secondaires représente une fraction importante de l'extrait. Les tanins condensés totaux présentent également une teneur élevée, estimée à 8,763 mg TAE/g d'extrait.

III.1.3. Évaluation du Potentiel Antioxydant

Les résultats de l'étude portant sur l'activité antioxydante basée sur la capacité de piégeage des radicaux DPPH de l'extrait éthanolique de *Ceratonia siliqua* ces dernnier sont présentés par les valeurs de l'IC_{50}, qui représentent la concentration nécessaire pour inhiber 50 % de l'activité antioxydante et sont rapportés dans le **Tableau 5**.

Tableau 5 : Activité antioxydant DPPH et ABTS de extrait *Ceratonia siliqua***.**

Échantillon/IC_{50}	DPPH	ABTS
Extrait (mg/ml)	0,39±0,002	0,46±0,05

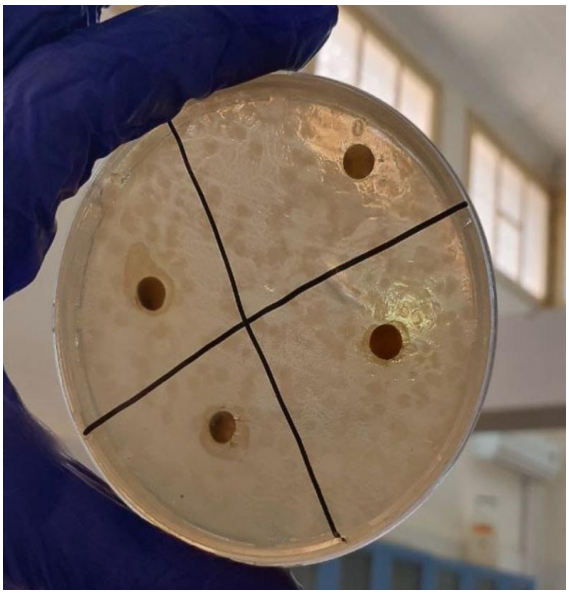
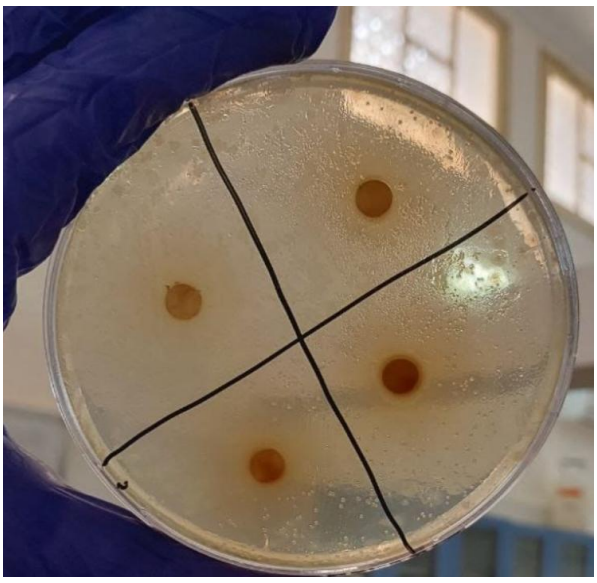
Les résultats de l'activité antioxydante de l'extrait de *Ceratonia siliqua* montrent des valeurs d'IC_{50} de 0,39 ± 0,002 mg/ml pour le test DPPH et de 0,46 ± 0,05 mg/ml pour le test ABTS. Ces valeurs indiquent que l'extrait possède une capacité antiradicalaire effective, puisqu'il est capable de neutraliser 50 % des radicaux libres à des concentrations inférieures à 0,5 mg/ml.

L'activité observée est légèrement plus marquée dans le test DPPH, comme l'indique la valeur d'IC_{50} plus faible par rapport au test ABTS.

III.1.4. Activité antibactérienne

S'appuyant sur les seuils de résistance antibactérienne qui définissent un spectre de résistance à partir d'un diamètre d'inhibition de 6 millimètres, la réponse des souches bactériennes aux extraits de *Ceratonia siliqua* a été systématiquement catégorisée. Les souches manifestant un diamètre de zone d'inhibition de 9 millimètres ou moins étaient considérées comme résistantes, celles avec des diamètres allant de 10 à 15 millimètres étaient marquées comme insensibles, celles présentant des diamètres entre 16 et 22 millimètres étaient reconnues comme sensibles, et celles avec des diamètres dépassant 22 millimètres étaient classifiées comme très sensible (**Figure 19)**.

Figure 19 : Teste antibiogramme des extraits éthanolique de *Ceratonia siliqua L* contre des bactéries a gramme positive et négative.

Escherichia coli	*Staphylococcus aureus*
	

Les résultats de l'antibiogramme montrent que l'extrait éthanolique de *Ceratonia siliqua* L. présente une activité antibactérienne contre les deux souches testées, avec une zone d'inhibition de 15,5 ± 1,1 mm contre Escherichia coli et de 20,81 ± 2 mm contre Staphylococcus aureus (**Tableau 6)**.

Tableau 6 : Résultats Teste antibiogramme des extraits éthanolique *Ceratonia siliqua L* contre des bactéries a gramme positive et négative.

Souche bactérienne	Type de bactérie	Zone d'inhibition	Réponse corrigée
Escherichia coli	Gram négative	15,5 ± 1,1 mm	Sensibilité intermédiaire / proche du seuil de sensibilité
Staphylococcus aureus	Gram positive	20,81 ± 2 mm	Sensible

La réponse observée indique une sensibilité intermédiaire d'Escherichia coli, bactérie Gram négative, tandis que Staphylococcus aureus, bactérie Gram positive, apparaît sensible à l'extrait, traduisant une activité antibactérienne plus marquée contre cette dernière souche.

III.1.5. Effet Biostimulation de *Ceratonia siliqua* sur l'élongation racinaire

III.1.5.1. Effet sur *Cucurbita pepo*

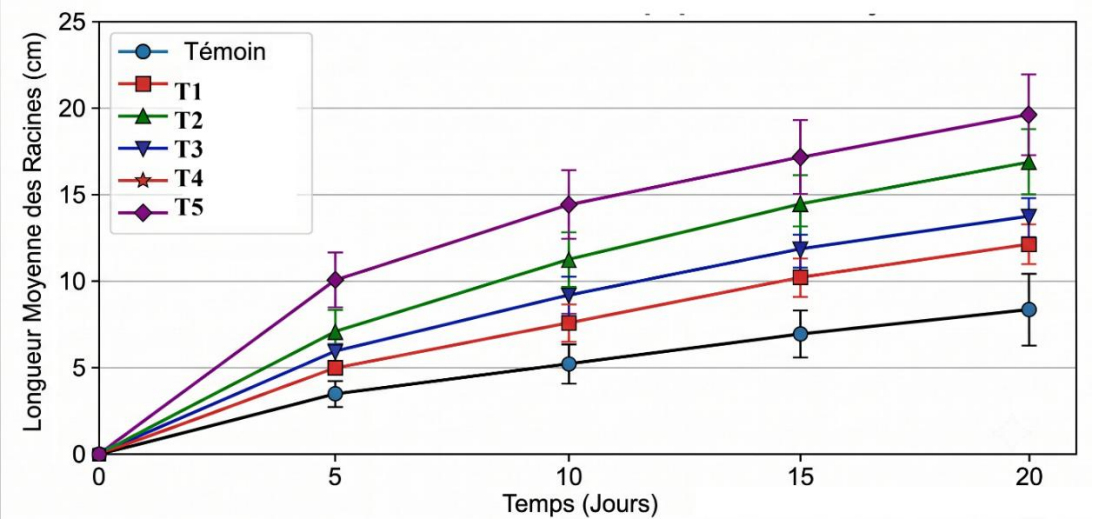
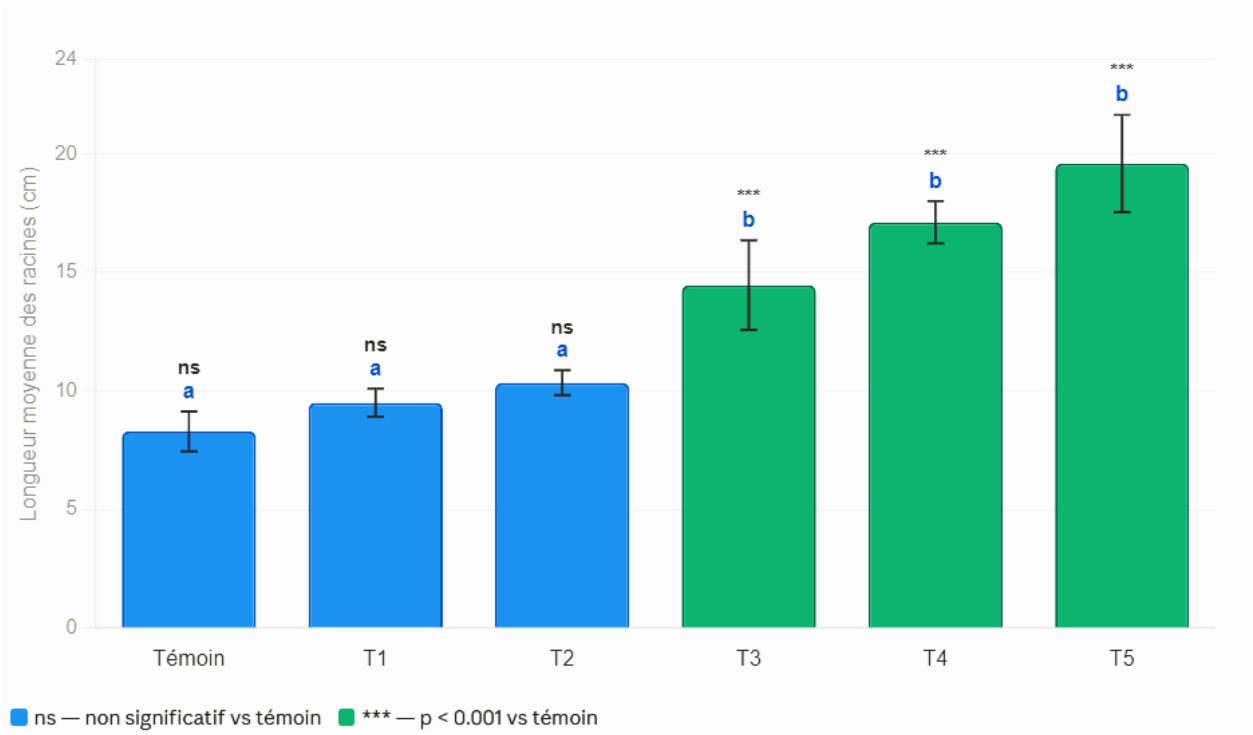


Figure 20 : Effet des extraits de *Ceratonia siliqua* sur l'élongation racinaire du *Cucurbita pepo*

L'analyse du graphique (**Figure 20**) met en évidence la cinétique d'élongation racinaire des plantules de *Cucurbita pepo* L. sur une période d'incubation de 20 jours, sous l'influence de différentes concentrations d'extraits de *Ceratonia siliqua*. De manière générale, on observe une croissance continue pour l'ensemble des lots étudiés. Toutefois, une divergence nette des trajectoires de croissance s'opère dès le cinquième jour, révélant une différenciation des

réponses physiologiques en fonction du traitement appliqué. Le lot témoin affiche l'évolution la plus faible, aboutissant à une longueur racinaire moyenne d'environ 8 cm au terme de l'expérimentation. Les résultats démontrent un effet biostimulant prononcé des extraits testés. L'application de la concentration la plus élevée (T) induit l'effet promoteur le plus puissant, se traduisant par une courbe de croissance qui domine largement les autres traitements tout au long de la cinétique. Au vingtième jour, les racines soumises à cette dose atteignent une longueur moyenne approchant les 20 cm, ce qui représente une augmentation substantielle (plus du double) par rapport au développement observé chez le lot témoin non traité. Les concentrations intermédiaires se déploient entre ces deux extrêmes, confirmant la capacité de l'extrait à stimuler le développement racinaire initial. Bien que la présence des barres d'erreur (écart-type, n=30) traduise la variabilité biologique inhérente aux réplicats, la ségrégation croissante des courbes au fil du temps atteste de l'efficacité de l'extrait de *Ceratonia siliqua* pour soutenir et accélérer l'élongation des racines de la courgette lors des premiers stades de développement.



Les lettres (a, b) indiquent les groupes homogènes du test de Tukey (HSD). Les barres d'erreur représentent ± 1 écart-type.

Figure 21 : Effet des extraits de *Ceratonia siliqua* sur l'élongation racinaire du *Cucurbita pepo*. n=30 pour chaque groupe de traitement. Les différences sont indiquées par des lettres distinctes et des niveaux de signification (*p<0,05, **p<0,01, *** p < 0,001) par rapport au groupe témoin.

Les résultats présentés dans la **Figure 21** montrent l'effet des extraits de Ceratonia siliqua sur l'élongation racinaire des plantules de *Cucurbita pepo* après 20 jours de traitement. Le lot témoin présente une longueur racinaire moyenne d'environ 8,30 cm. Les traitements T1 et T2 entraînent une légère augmentation de la longueur des racines, avec des valeurs moyennes respectives de 9,51 cm et 10,35 cm. Toutefois, ces deux augmentations restent statistiquement non significatives par rapport au témoin, comme l'indiquent les mentions ns et leur appartenance au même groupe homogène a.

Tableau 7 : Effet des extraits de *Ceratonia siliqua* sur l'élongation racinaire du *Cucurbita pepo* (J20) incluant la Moyenne Générale et l'ANOVA. n=30 pour chaque groupe de traitement. Les différences sont indiquées par des lettres distinctes et des niveaux de signification (*p<0,05, **p<0,01, *** p < 0,001) par rapport au groupe témoin.

Traitement	Longueur moyenne des racines en cm	Écart-type en cm	Significativité Tukey
Témoin	8.30	0.84	ns
T1	9.51	0.59	ns
T2	10.35	0.52	ns
T3	14.46	1.88	***
T4	17.11	0.89	***
T5	19.59	2.05	***

À partir du traitement T3, une augmentation nette et statistiquement significative de l'élongation racinaire est observée. La longueur moyenne des racines atteint 14,46 cm sous T3, ce qui traduit une progression importante par rapport au témoin. Les traitements T4 et T5 montrent les valeurs les plus élevées, avec des longueurs moyennes respectives de 17,11 cm et 19,59 cm. Ces trois traitements présentent une différence hautement significative par rapport au témoin, avec un niveau de signification p < 0,001. Le test de Tukey met en évidence deux groupes homogènes distincts. Le témoin, T1 et T2 appartiennent au groupe a, tandis que T3, T4 et T5 appartiennent au groupe b **(Tableau 7)**.

Cette séparation statistique confirme que les concentrations les plus élevées de l'extrait induisent une augmentation significative de l'élongation racinaire de *Cucurbita pepo*. Les barres d'erreur montrent une variabilité modérée entre les répétitions, mais cette variabilité ne remet pas en cause la différence nette observée entre les faibles concentrations et les concentrations élevées.

III.1.5.2. Effet sur *Phaseolus vulgaris L*

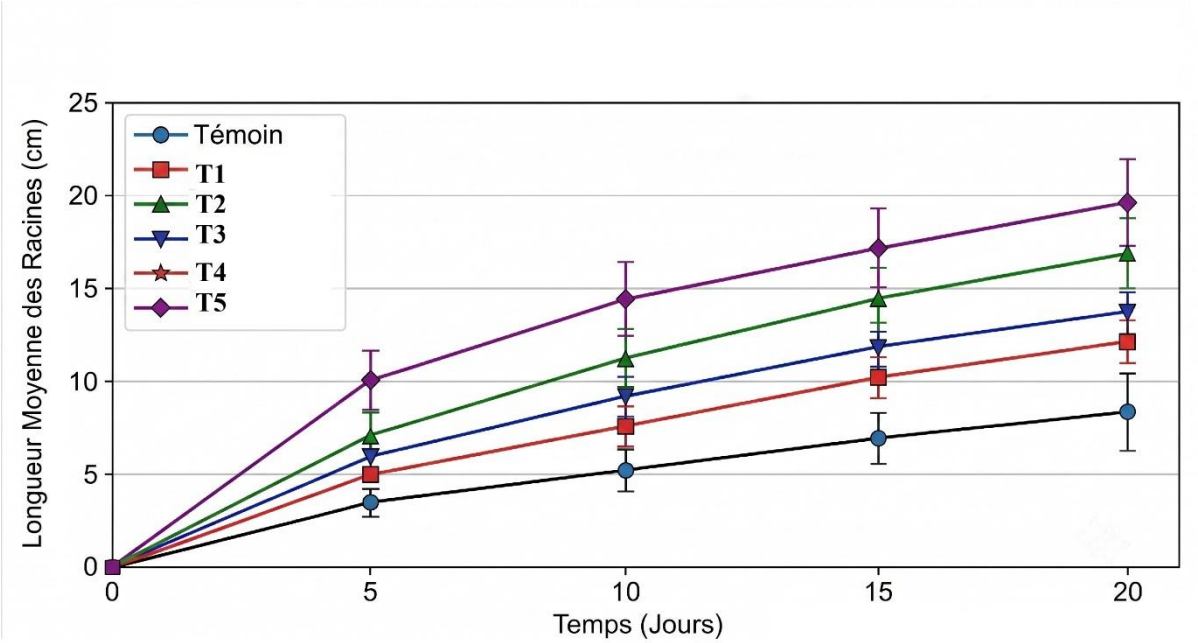


Figure 22 : Effet des extraits de *Ceratonia siliqua* sur l'élongation racinaire du *Phaseolus vulgaris* L.

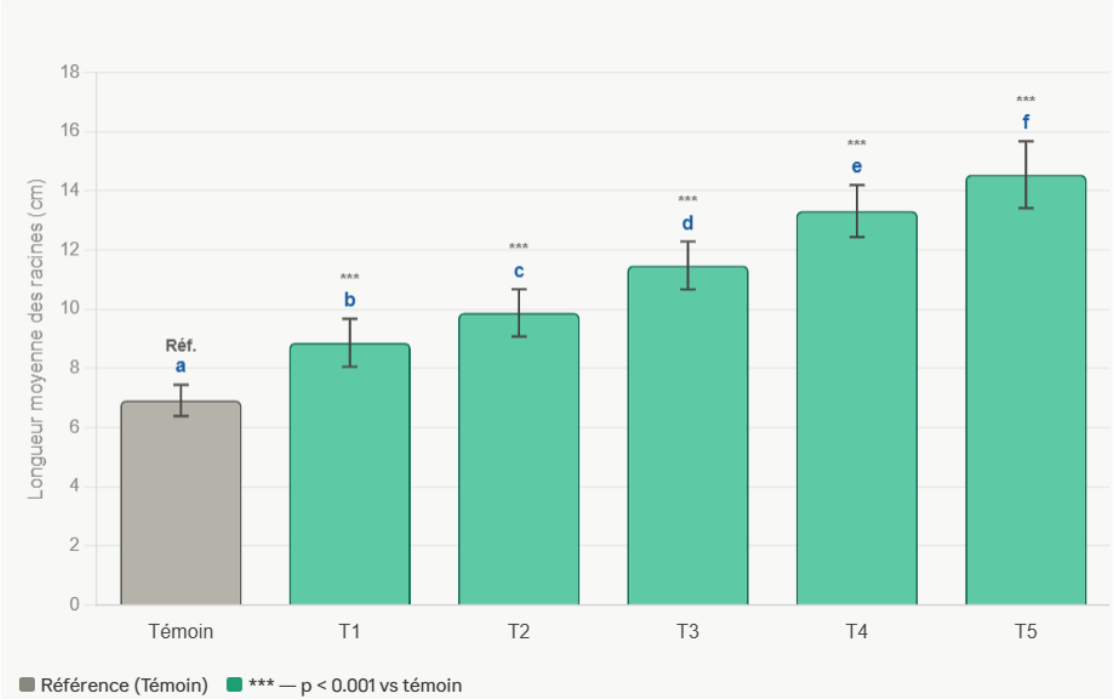
Les résultats présentés dans cette **Figure 22** montrent l'évolution de l'élongation racinaire de *Phaseolus vulgaris* L. au cours d'une période expérimentale de 20 jours sous l'effet de différentes concentrations d'extrait de *Ceratonia siliqua*. Une augmentation progressive de la longueur moyenne des racines est observée dans l'ensemble des lots, y compris le témoin, indiquant une croissance racinaire continue au cours du temps. Dès le cinquième jour, les traitements à base d'extrait se distinguent du témoin par des longueurs racinaires plus élevées. Le lot témoin présente la croissance la plus faible tout au long de l'expérimentation, atteignant environ 8 à 9 cm au vingtième jour. Les traitements T1, T2, T3, T4 et T5 montrent des réponses supérieures au témoin, avec une séparation progressive des courbes au fil du temps. Le traitement T5 présente l'effet le plus marqué sur l'élongation racinaire. La longueur moyenne des racines atteint environ 19 à 20 cm au vingtième jour, ce qui représente la valeur la plus élevée parmi tous les traitements. Les traitements intermédiaires montrent également une stimulation notable, avec des longueurs finales situées entre environ 12 et 17 cm selon le traitement. Cette évolution indique que l'extrait de *Ceratonia siliqua* exerce un effet positif sur la croissance racinaire de *Phaseolus vulgaris* L. L'analyse globale de la cinétique met en évidence une réponse dépendante du traitement appliqué. Les courbes des lots traités restent supérieures à celle du témoin pendant toute la période d'observation, avec une différence plus marquée aux jours 10, 15 et 20. Les barres d'erreur traduisent une certaine variabilité entre les

répétitions, mais la tendance générale reste clairement orientée vers une amélioration de l'élongation racinaire sous l'effet des traitements, en particulier aux concentrations les plus élevées.

Tableau 8 : Effet des extraits de *Ceratonia siliqua* sur l'élongation racinaire du *Phaseolus vulgaris* (J20) incluant la Moyenne Générale et l'ANOVA. n=30 pour chaque groupe de traitement. Les différences sont indiquées par des lettres distinctes et des niveaux de signification (*p<0,05, **p<0,01, *** p < 0,001) par rapport au groupe témoin.

Traitement	Longueur moyenne des racines en cm	Écart-type en cm	Significativité Tukey
Témoin	6,91	0,53	Référence
T1	8,86	0,81	***
T2	9,87	0,8	***
T3	11,47	0,81	***
T4	13,31	0,88	***
T5	14,54	1,13	***

L'analyse de la cinétique d'élongation racinaire chez *Phaseolus vulgaris* L. sur une période de 20 jours révèle une sensibilité immédiate et hautement significative de cette espèce aux extraits de *Ceratonia siliqua*. L'analyse de la variance (ANOVA à un facteur) globale au vingtième jour confirme un effet traitement majeur $F(5, 174) = 314,83$; $p < 0,001$), validant l'hypothèse d'une action biostimulante non fortuite. Dès le cinquième jour de culture, une divergence nette et ordonnée des courbes de croissance se manifeste entre le lot témoin et les lots traités, initiant une dynamique dose-dépendante qui se maintient et s'accentue jusqu'au terme de l'expérimentation **Tableau 8**.



Les lettres indiquent les groupes homogènes du test de Tukey (HSD). Les barres d'erreur représentent ± 1 écart-type.

Figure 23 : Effet des extraits de *Ceratonia siliqua* sur l'élongation racinaire du *Phaseolus vulgaris*. n=30 pour chaque groupe de traitement. Les différences sont indiquées par des lettres distinctes et des niveaux de signification (*p<0,05, **p<0,01, *** p < 0,001) par rapport au groupe témoin.

Le test post-hoc de Tukey (**Figure 23)** démontre que toutes les concentrations testées induisent une stimulation racinaire statistiquement supérieure par rapport au témoin (p < 0,001). Contrairement aux profils de réponse observés chez d'autres espèces compagnes, la dose la plus faible (Dose 0.1) s'avère ici suffisante pour provoquer une augmentation significative du développement racinaire, atteignant une longueur moyenne de 8,86 ± 0,81 cm contre 6,91 ± 0,53 cm pour le lot témoin. L'effet promoteur s'intensifie de manière linéaire avec l'élévation des doses ; les concentrations intermédiaires 0,25, 0,5 et 0,7 atteignent respectivement des longueurs de 9,87 ± 0,80 cm, 11,47 ± 0,81 cm et 13,31 ± 0,88 cm. La biostimulation culmine à la Dose 0.9 avec une longueur racinaire moyenne de 14,54 ± 1,13 cm, ce qui représente un gain de croissance de 110,4 % par rapport à l'échantillon de référence. La faible imbrication des barres d'erreur (écart-type, n = 30) au fil de la cinétique corrobore la robustesse et la régularité de cette réponse physiologique.

III.1.5.3. Effet sur *Daucus carota L*

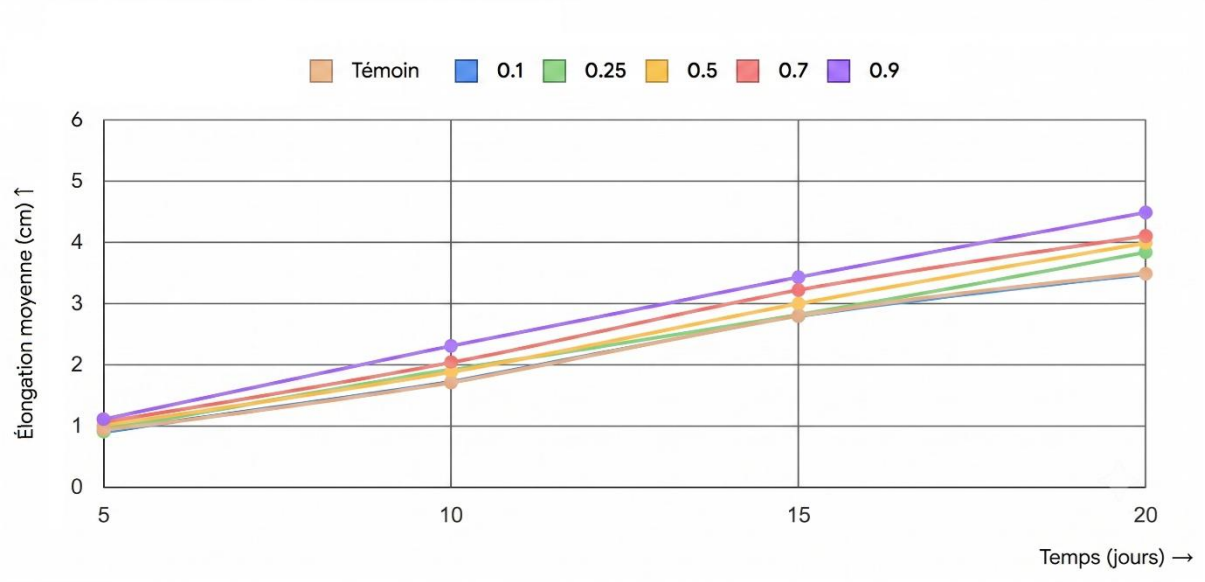


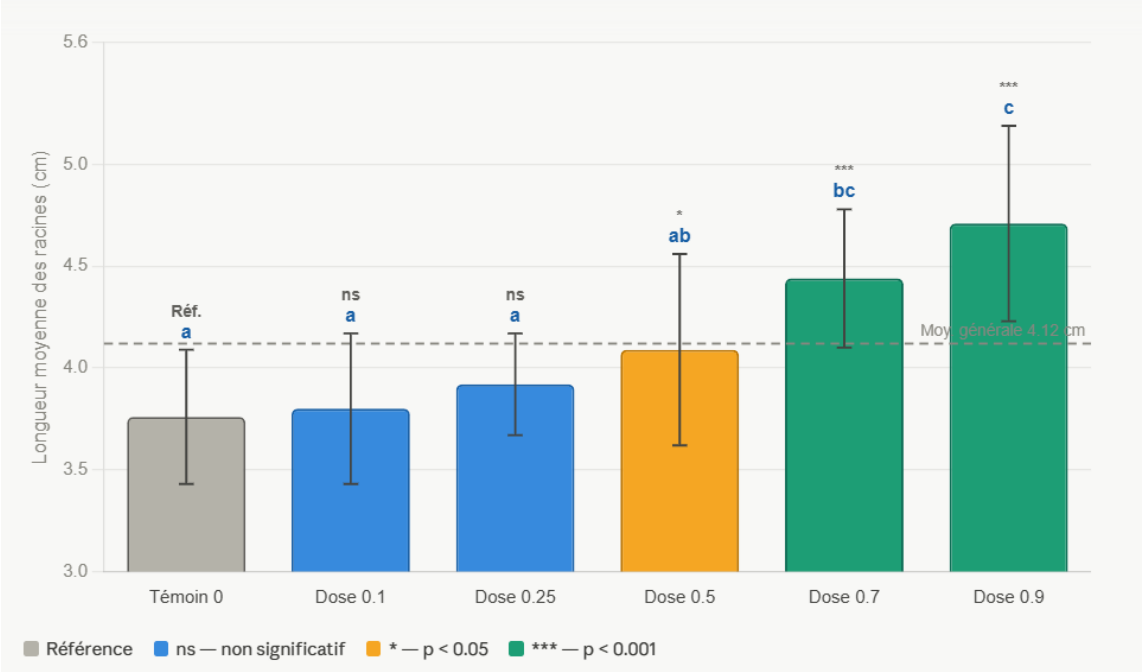
Figure 24 : Effet des extraits de *Ceratonia siliqua* sur l'élongation racinaire du *Daucus carota* L.

L'analyse de la cinétique d'élongation racinaire chez *Daucus carota* L **(Figure 24)**. révèle une croissance continue sur l'ensemble de la période d'incubation de 20 jours, indépendamment du traitement appliqué. Néanmoins, une divergence séquentielle des trajectoires de développement s'opère dès les cinq premiers jours, marquant l'initiation d'une réponse physiologique distincte face aux extraits de *Ceratonia siliqua*. Le lot témoin, dépourvu de tout apport biostimulant, enregistre le taux de croissance le plus faible, aboutissant à une élongation racinaire moyenne limitée à environ 8,4 cm au terme du suivi expérimental. Les résultats mettent en évidence un effet biostimulateur rigoureusement dose-dépendant. L'intensité de la promotion racinaire s'accroît de manière proportionnelle aux concentrations administrées, se traduisant par une stratification ordonnée des courbes de croissance. L'application de la concentration maximale (Dose 0.9) induit la réponse biologique la plus vigoureuse, permettant d'atteindre une longueur moyenne de 16,0 cm au vingtième jour. Cette performance équivaut à une augmentation de près de 90 % du développement racinaire par rapport au lot de référence. Les doses intermédiaires (0.1 à 0.7) génèrent des élongations qui s'échelonnent régulièrement entre ces valeurs extrêmes, confirmant l'aptitude de l'extrait à soutenir et à moduler de façon croissante le développement du système racinaire initial de l'espèce.

Tableau 9 : Effet des extraits de *Ceratonia siliqua* sur l'élongation racinaire du *Daucus carota L* (J20) incluant la Moyenne Générale et l'ANOVA. n=30 pour chaque groupe de traitement. Les différences sont indiquées par des lettres distinctes et des niveaux de signification (*p<0,05, **p<0,01, *** p < 0,001) par rapport au groupe témoin.

Traitement	Longueur moyenne en cm	Écart-type en cm	Significativité Tukey
Témoin	3,76	0,33	Lot de référence
T1	3,8	0,37	ns
T2	3,92	0,25	ns
T3	4,09	0,47	*
T4	4,44	0,34	***
T5	4,71	0,48	***

L'analyse des résultats obtenus au vingtième jour (J20) évalue l'impact des extraits de *Ceratonia siliqua* sur l'élongation racinaire initiale de *Daucus carota* L **Tableau 9**. Le développement naturel, illustré par le lot témoin, s'établit à une longueur moyenne de 3,76 ± 0,33 cm. Les premières concentrations testées (traitements T1 et T2) n'induisent qu'une très faible stimulation de la croissance, aboutissant à des longueurs respectives de 3,80 ± 0,37 cm et 3,92 ± 0,25 cm. Ces légers accroissements de +1,10 % et +4,30 % par rapport au témoin demeurent statistiquement non significatifs (ns) d'après le test post-hoc de Tukey. En revanche, l'effet biostimulant s'affirme et devient statistiquement validé à partir du traitement intermédiaire T3. L'application de cette dose génère une élongation racinaire de 4,09 ± 0,47 cm, soit une augmentation significative de 8,80 % *() vis-à-vis du lot de référence. Cette dynamique positive suit ensuite un profil nettement dose-dépendant pour les concentrations supérieures. Les traitements T4 et T5 provoquent les réponses biologiques les plus intenses, hissant les longueurs moyennes à 4,44 ± 0,34 cm et 4,71 ± 0,48 cm. Ces valeurs traduisent des gains de croissance substantiels, évalués respectivement à +18,10 % et +25,20 %, et se caractérisent par un niveau de significativité hautement élevé ()*, confirmant l'efficacité stimulatrice manifeste des fortes doses de l'extrait sur le système racinaire de la carotte **(Figure 25)**.



Barres d'erreur = ± 1 écart-type · La ligne pointillée indique la moyenne générale (4.12 cm) · Lettres = groupes homogènes Tukey HSD

Figure 25 : Effet des extraits de Ceratonia siliqua sur l'élongation racinaire du Daucus carota L (J20) incluant la Moyenne Générale et l'ANOVA. n=30 pour chaque groupe de traitement. Les différences sont indiquées par des lettres distinctes et des niveaux de signification (*p<0,05, **p<0,01, *** p < 0,001) par rapport au groupe témoin.

2. Discussion

Les résultats obtenus dans la présente étude montrent que l'extrait éthanolique de *Ceratonia siliqua* possède plusieurs activités biologiques d'intérêt, notamment une activité antioxydante, une activité antibactérienne et un effet biostimulant sur l'élongation racinaire. Le rendement d'extraction obtenu est de 8,763 %, ce qui indique que l'éthanol a permis d'extraire une proportion appréciable de composés solubles à partir du matériel végétal étudié. Toutefois, la comparaison directe de ce rendement avec la littérature reste limitée, car les études disponibles sur les extraits éthanoliques ou hydroéthanoliques de *Ceratonia siliqua* rapportent généralement les teneurs en composés phénoliques ou les activités biologiques, plutôt que le rendement global d'extraction exprimé en pourcentage. À titre d'exemple, Mansouri et al. 2022 se sont principalement intéressés à l'effet des méthodes d'extraction sur le profil phénolique et le potentiel antioxydant des extraits de gousses de *Ceratonia siliqua*, sans fournir une valeur de rendement directement comparable à celle de notre étude. Ainsi, le rendement de 8,763 % obtenu ici constitue surtout un indicateur interne de l'efficacité de l'extraction.

L'analyse phytochimique de notre extrait éthanolique a révélé une teneur en polyphénols totaux de 11,356 mg GAE/g d'extrait, une teneur en flavonoïdes de 9,917 mg QE/g d'extrait et une teneur en tanins de 8,763 mg TAE/g d'extrait. Ces résultats confirment la présence de métabolites secondaires de nature phénolique, susceptibles de contribuer aux activités biologiques observées. Les données bibliographiques montrent que les extraits de *Ceratonia siliqua* issus des feuilles, des graines, des gousses ou des fruits sont généralement riches en polyphénols, flavonoïdes et tanins, avec la présence de composés tels que l'acide cinnamique, l'acide férulique, l'acide sinapique, la rutine, l'acide gallique, la catéchine et la quercétine, comme l'ont rapporté Laaraj et al. 2025, Baslam et al. 2025 et Djebari et al. 2023. Cette richesse en composés bioactifs permet de considérer *Ceratonia siliqua* comme une source potentielle de molécules impliquées dans la protection cellulaire, la régulation du stress oxydatif et la stimulation de certains processus physiologiques associés à la croissance végétale.

La comparaison avec la littérature montre cependant que la composition phénolique de *Ceratonia siliqua* varie fortement selon l'organe végétal étudié, l'origine géographique, le solvant utilisé, la méthode d'extraction et l'unité d'expression des résultats. Laaraj et al. 2025 ont rapporté des teneurs nettement plus élevées dans un extrait éthanolique de feuilles sauvages de caroubier, avec 163,5 mg GAE/g de matière sèche pour les polyphénols totaux, 22,23 mg QE/g de matière sèche pour les flavonoïdes et 34,35 mg équivalents catéchine/g de matière sèche pour les tanins condensés. Ces valeurs sont supérieures à celles obtenues dans notre étude, particulièrement pour les polyphénols totaux et les tanins. Cette différence peut être liée à la richesse naturelle des feuilles en composés phénoliques, mais aussi aux différences de méthode d'extraction et d'expression des résultats, puisque notre étude exprime les teneurs par gramme d'extrait.

À l'inverse, Elbouzidi et al. 2023 ont rapporté, dans un extrait de feuilles de *Ceratonia siliqua*, 96,98 mg GAE/100 g de poids sec pour les polyphénols, 5,92 mg RE/100 g de poids sec pour les flavonoïdes et 29,61 mg CE/100 g de poids sec pour les tanins. Rapportées à un gramme de matière sèche, ces valeurs correspondent approximativement à 0,9698 mg GAE/g, 0,0592 mg RE/g et 0,2961 mg CE/g. Même si les unités et les standards utilisés ne sont pas strictement identiques à ceux de notre étude, ces valeurs apparaissent inférieures à celles observées dans notre extrait exprimé par gramme d'extrait. Mansouri et al. 2022 ont également montré que les extraits de gousses de *Ceratonia siliqua* présentent des teneurs en polyphénols totaux comprises entre 11,55 et 34,38 mg GAE/g de poids sec, et des teneurs en tanins comprises entre 3,3 et

6,55 mg CE/g de poids sec, selon la méthode d'extraction utilisée. Par rapport à ces données, notre teneur en polyphénols totaux de 11,356 mg GAE/g d'extrait se situe proche de la limite inférieure des valeurs rapportées pour les gousses, tandis que notre teneur en tanins de 8,763 mg TAE/g d'extrait est légèrement supérieure aux valeurs rapportées par Mansouri et al. 2022 pour les tanins des gousses. Globalement, notre extrait semble moins riche en composés phénoliques que les extraits foliaires les plus concentrés, mais il reste compatible avec les variations rapportées dans la littérature selon les organes et les conditions d'extraction.

L'activité antioxydante de l'extrait a été confirmée par les tests DPPH et ABTS. L'extrait étudié a présenté une IC_{50} de 0,39 ± 0,002 mg/mL pour le test DPPH et de 0,46 ± 0,05 mg/mL pour le test ABTS. Étant donné qu'une valeur d'IC_{50} plus faible traduit une activité antiradicalaire plus élevée, ces résultats indiquent que l'extrait possède une capacité antioxydante effective à des concentrations inférieures à 0,5 mg/mL. Ces résultats sont cohérents avec les travaux de Laaraj et al. 2025, Al-Azzawi et Al-Azzawi 2023, Aicha et al. 2022 et Djebari et al. 2023, qui ont montré que les extraits de feuilles ou de graines de *Ceratonia siliqua* possèdent une activité antioxydante importante dans différents essais, notamment DPPH et ABTS.

En comparaison avec les données disponibles, Laaraj et al. 2025 ont rapporté une IC_{50} DPPH de 0,293 mg/mL pour l'extrait éthanolique de feuilles sauvages de caroubier, ce qui indique une activité plus forte que celle observée dans notre étude pour le test DPPH. Cette différence peut être liée à la teneur phénolique beaucoup plus élevée observée dans leur extrait foliaire. Cependant, la même étude a rapporté une IC_{50} ABTS de 19,48 mg/mL, valeur nettement plus élevée que celle obtenue dans notre étude. Notre extrait présente donc une activité ABTS beaucoup plus marquée que celle rapportée par Laaraj et al. 2025, malgré une teneur phénolique globale plus faible. Khelouf et al. 2023 ont, quant à eux, rapporté une activité antioxydante plus forte dans un extrait de pulpe de caroube de Tunisie, avec une IC_{50} DPPH d'environ 114,4 µg/mL, soit 0,1144 mg/mL, et une activité ABTS de 70,3 µg/mL, soit 0,0703 mg/mL. Ces valeurs sont inférieures à celles de notre extrait, ce qui traduit une activité antioxydante plus élevée dans l'extrait de pulpe tunisien. Les différences observées peuvent être attribuées à l'organe végétal utilisé, à la composition chimique, aux conditions d'extraction, à l'origine géographique et aux méthodes analytiques adoptées. Ainsi, l'activité antioxydante de notre extrait peut être considérée comme significative et comparable à celle rapportée dans la littérature, bien qu'elle ne soit pas la plus élevée parmi les extraits de *Ceratonia siliqua* étudiés.

L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique a été évaluée contre Escherichia coli et Staphylococcus aureus. L'extrait a induit une zone d'linhibition de 15,5 ± 1,1 mm contre *Escherichia coli* et de 20,81 ± 2 mm contre Staphylococcus aureus. Ces résultats montrent que l'extrait est plus actif contre la souche Gram positive Staphylococcus aureus que contre la souche Gram négative *Escherichia coli*. Cette différence peut être expliquée par la structure de la paroi bactérienne, les bactéries Gram négatives possédant une membrane externe qui limite généralement la pénétration de certains composés bioactifs. Les études de Laaraj et al. 2025, Hsouna et al. 2015, Shuaib et al. 2025 et Benmansour 2020 confirment que les extraits de *Ceratonia siliqua* possèdent une activité antimicrobienne contre plusieurs bactéries Gram positives, Gram négatives et parfois contre certains champignons. Elbouzidi et al. 2023 ont également rapporté une activité antibactérienne à large spectre de l'extrait de feuilles de *Ceratonia siliqua* contre plusieurs souches bactériennes, y compris Escherichia coli et *Staphylococcus aureus*. Toutefois, les diamètres précis des zones d'inhibition n'étant pas détaillés dans les données disponibles, une comparaison directe en millimètres avec nos résultats n'est pas possible.

En comparaison avec les extraits de graines, notre extrait semble présenter une activité antibactérienne plus importante. Benmansour 2020 a rapporté des zones d'inhibition de 13 mm contre Escherichia coli et de 12 mm contre Staphylococcus aureus pour des extraits de graines de *Ceratonia siliqua*. Nos résultats sont donc supérieurs, avec 15,5 mm contre Escherichia coli et surtout 20,81 mm contre Staphylococcus aureus. Cette différence suggère que l'extrait éthanolique étudié dans notre travail pourrait être plus actif que l'extrait de graines rapporté par Benmansour 2020, au moins dans les conditions expérimentales considérées. De même, l'étude comparative publiée en 2025 sur l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de fenugrec, de cannelle et de caroubier a rapporté une zone d'inhibition d'environ 12,7 mm contre *Escherichia coli* pour l'extrait éthanolique de caroube à 100 %. Cette valeur reste inférieure à celle obtenue dans notre étude contre Escherichia coli. Toutefois, la comparaison doit rester prudente, car l'activité antibactérienne dépend fortement de la concentration de l'extrait, de la souche bactérienne utilisée, du type d'organe végétal, de la méthode de diffusion et des conditions expérimentales.

L'activité antibactérienne observée peut aussi contribuer indirectement à l'effet biostimulant. En effet, les microorganismes pathogènes présents à la surface des graines ou dans la rhizosphère peuvent réduire la germination, ralentir l'élongation racinaire ou provoquer des

altérations précoces des tissus. Un extrait possédant une activité antimicrobienne pourrait donc limiter la pression microbienne autour de la graine et créer des conditions plus favorables à la croissance initiale. Sur le plan mécanistique, Kisiriko et al. 2021 expliquent que les composés phénoliques peuvent altérer les membranes bactériennes, réduire le pH cytoplasmique, perturber la paroi cellulaire et provoquer des fuites de constituants intracellulaires, conduisant à la mort bactérienne. Cette action antimicrobienne pourrait expliquer, au moins partiellement, l'amélioration de la vigueur des plantules observée dans notre étude. Elle ne doit cependant pas être considérée comme le seul mécanisme possible, car l'effet biostimulant est probablement multifactoriel et peut résulter de l'association entre protection antimicrobienne, modulation du stress oxydatif, activation métabolique et amélioration de l'état physiologique des plantules.

Les résultats relatifs à l'activité biostimulante représentent la partie la plus originale de cette étude, car les références disponibles sur les extraits éthanoliques de *Ceratonia siliqua* ne rapportent pas d'essais directs portant sur l'élongation racinaire ou la biostimulation végétale. Chez *Cucurbita pepo*, l'extrait a montré une stimulation dose-dépendante de l'élongation racinaire. Au vingtième jour, la longueur racinaire moyenne du témoin était de 8,30 cm, tandis que les traitements T1, T2, T3, T4 et T5 ont atteint respectivement 9,51 cm, 10,35 cm, 14,46 cm, 17,11 cm et 19,59 cm. La dose la plus élevée a donc entraîné une augmentation de 136,0 % par rapport au témoin. L'effet devient statistiquement significatif à partir du traitement T3, ce qui indique que les faibles concentrations ne suffisent pas à produire une réponse physiologique nette, tandis que les concentrations intermédiaires et élevées stimulent fortement le développement racinaire.

Chez *Phaseolus vulgaris*, la réponse a été encore plus régulière et fortement marquée. Le témoin a présenté une longueur racinaire moyenne de 6,91 cm, alors que les traitements T1, T2, T3, T4 et T5 ont atteint respectivement 8,86 cm, 9,87 cm, 11,47 cm, 13,31 cm et 14,54 cm. Ces valeurs correspondent à des augmentations respectives de 28,20 %, 42,80 %, 66,00 %, 92,60 % et 110,40 % par rapport au témoin. Contrairement à *Cucurbita pepo*, toutes les concentrations testées ont induit une stimulation significative, ce qui suggère que *Phaseolus vulgaris* est plus sensible à l'extrait, même à faible concentration. Chez *Daucus carota*, l'effet biostimulant était plus modéré, mais il suivait également une tendance dose-dépendante. La longueur racinaire du témoin était de 3,76 cm, tandis que les traitements T1, T2, T3, T4 et T5 ont atteint respectivement 3,80 cm, 3,92 cm, 4,09 cm, 4,44 cm et 4,71 cm. L'augmentation maximale était

de 25,20 % à la dose T5, ce qui traduit une réponse positive mais plus faible que celles observées chez *Cucurbita pepo* et *Phaseolus vulgaris*.

L'absence d'études antérieures portant directement sur l'effet des extraits de *Ceratonia siliqua* sur l'élongation racinaire de *Cucurbita pepo*, *Phaseolus vulgaris*, *Daucus carota* ou d'autres espèces végétales empêche une comparaison directe avec la littérature. Cette absence rend néanmoins les résultats de biostimulation particulièrement intéressants, car ils suggèrent un axe de recherche encore peu exploré. La réponse dose-dépendante observée chez les trois espèces indique que l'extrait pourrait contenir des composés capables de favoriser le développement racinaire initial. Les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins pourraient contribuer à cet effet en intervenant dans l'équilibre oxydatif, dans la protection des jeunes tissus et dans certaines réponses physiologiques associées à la croissance végétale. Cependant, cette interprétation doit rester prudente, car elle nécessite des validations complémentaires par des mesures du taux de germination, de l'indice de vigueur, de la biomasse fraîche et sèche, de la teneur en chlorophylle, de l'activité des enzymes antioxydantes et de la charge microbienne autour des semences ou des racines.

Dans le contexte de la biostimulation, l'activité antioxydante de l'extrait est particulièrement importante, car la germination et le développement précoce des racines sont fortement influencés par l'équilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène et les systèmes antioxydants de la plante. Une quantité modérée d'espèces réactives de l'oxygène peut jouer un rôle de signal dans la germination et l'élongation cellulaire, tandis qu'un excès provoque des dommages oxydatifs. Ainsi, un extrait capable de réguler ce stress oxydatif pourrait favoriser un environnement physiologique plus favorable au développement racinaire. Cette hypothèse est appuyée par les travaux de Kisiriko et al. 2021, qui ont montré que les extraits riches en composés phénoliques provenant de plantes médicinales et aromatiques peuvent moduler les enzymes antioxydantes, notamment la catalase, la peroxydase et la superoxyde dismutase, tout en augmentant les teneurs endogènes en composés phénoliques et en acide ascorbique. Ces modifications contribuent à réduire la peroxydation lipidique et à améliorer la croissance des plantes, surtout en conditions de stress.

L'effet dose-dépendant observé dans notre étude peut également être discuté à la lumière du concept d'hormèse. Selon Aouzal et al. 2025 et Campos et al. 2022, les extraits végétaux riches en composés phénoliques peuvent exercer un effet stimulant à faibles ou moyennes concentrations, mais devenir phytotoxiques à des doses plus élevées. Cette réponse biphasique

est fréquente avec les extraits naturels, car les composés phénoliques peuvent agir comme signaux de stimulation à certaines concentrations, puis perturber la germination ou la croissance lorsqu'ils sont appliqués en excès. Dans notre étude, les résultats ne montrent pas d'effet inhibiteur aux doses testées. Au contraire, l'augmentation de l'élongation racinaire est progressive chez les trois espèces, avec une réponse maximale à la dose la plus élevée. Cela indique que les concentrations utilisées se situent probablement dans une zone stimulante et non phytotoxique. Toutefois, cette conclusion doit rester prudente, car des concentrations plus élevées que celles testées pourraient éventuellement provoquer une inhibition de la germination ou du développement racinaire.

Les comparaisons avec d'autres extraits végétaux biostimulants renforcent cette interprétation. Kalaivani et al. 2023 ont montré que des éliciteurs dérivés du sésame peuvent modifier les réponses physiologiques et biochimiques de Vigna radiata et contribuer à la défense contre des agents pathogènes tels que Rhizoctonia et Macrophomina. Szparaga et al. 2024 ont rapporté que des extraits de *Polygonum aviculare* associés à *Pseudomonas fluorescens* améliorent la germination et la croissance des plantules de *Melilotus officinalis*. Yadav et al. 2024 ont également montré que des extraits herbacés peuvent augmenter la germination, la croissance et la production de métabolites secondaires chez le wheatgrass. Ces travaux indiquent que les extraits végétaux riches en composés bioactifs peuvent agir comme agents de priming, capables de préparer la plante à mieux démarrer sa croissance et à mieux répondre aux contraintes biotiques ou abiotiques.

Les résultats d'Aouzal et al. 2025 sont particulièrement pertinents pour notre discussion, car ils montrent que les extraits méthanoliques et éthanoliques de *Dittrichia viscosa*, riches en polyphénols, peuvent améliorer la germination, la longueur des racines et certains paramètres agronomiques, ce qui appuie leur classification comme biostimulants naturels. De manière similaire, Ramírez-Pérez et al. 2025 ont rapporté que des extraits de plantes semi-désertiques riches en composés phénoliques favorisent la croissance racinaire et aérienne de plantules de *Capsicum annuum et Capsicum chinense*, avec un rôle possible de certains acides phénoliques comme l'acide férulique. Ces résultats ne concernent pas directement Ceratonia siliqua, mais ils soutiennent l'idée que des extraits végétaux phénoliques peuvent stimuler la croissance racinaire, ce qui est cohérent avec les augmentations importantes observées dans notre étude, notamment 136,0 % chez *Cucurbita pepo* et 110,40 % chez *Phaseolus vulgaris*.

D'autres catégories de biostimulants végétaux confirment également l'importance de la régulation antioxydante et métabolique dans l'amélioration de la croissance. Ciriello et al. 2024 ont montré que des biostimulants d'origine végétale peuvent agir comme agents de priming et améliorer les propriétés antioxydantes et nutritionnelles de microgreens appartenant aux Brassicaceae. Santos et al. 2024 ont rapporté que les extraits d'algues peuvent influencer la germination du navet et la culture du radis. Sun et al. 2024 ont également souligné que certains biostimulants, notamment les acides aminés et les hydrolysats protéiques, peuvent améliorer la croissance et la tolérance au stress en modulant le métabolisme et les réponses physiologiques des plantes. Ces données montrent que l'effet biostimulant ne dépend pas nécessairement d'un seul type de molécule, mais d'un ensemble de signaux biochimiques capables de stimuler la germination, la croissance racinaire, l'activité antioxydante et la résistance au stress.

Ainsi, les résultats obtenus avec *Ceratonia siliqua* peuvent être interprétés comme le reflet d'un potentiel biostimulant lié à plusieurs mécanismes complémentaires. Premièrement, les composés phénoliques présents dans l'extrait peuvent agir comme molécules antioxydantes et participer à la régulation des espèces réactives de l'oxygène durant la germination et l'élongation racinaire. Deuxièmement, l'activité antibactérienne de l'extrait peut protéger les semences et les jeunes racines contre certains microorganismes défavorables. Troisièmement, l'extrait pourrait exercer un effet de priming métabolique en activant des voies de défense ou de croissance, comme cela a été montré pour d'autres extraits végétaux riches en composés phénoliques. Cette combinaison de mécanismes pourrait expliquer la stimulation observée chez *Cucurbita pepo*, *Phaseolus vulgaris* et *Daucus carota*, avec des réponses plus fortes chez les deux premières espèces.

Dans l'ensemble, l'extrait éthanolique de *Ceratonia siliqua* étudié présente une richesse phytochimique modérée, une activité antioxydante notable, une activité antibactérienne intéressante et un effet biostimulant clair, dépendant de l'espèce végétale et de la dose appliquée. Comparé à la littérature, notre extrait possède des teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins inférieures à celles rapportées par Laaraj et al. 2025 pour les feuilles sauvages fortement phénoliques, mais il montre une activité ABTS plus élevée que celle rapportée dans cette même étude. Son activité antioxydante est plus faible que celle rapportée par Khelouf et al. 2023 pour l'extrait de pulpe tunisien, mais elle demeure biologiquement significative. Concernant l'activité antibactérienne, les zones d'inhibition obtenues dans notre étude, notamment 20,81 mm contre Staphylococcus aureus, sont supérieures à celles rapportées

par Benmansour 2020 pour les extraits de graines et à celle rapportée dans l'étude comparative de 2025 contre Escherichia coli. Enfin, les résultats de biostimulation racinaire mettent en évidence un effet original et prometteur, particulièrement chez *Cucurbita pepo* et *Phaseolus vulgaris*, où les doses les plus élevées ont augmenté la longueur racinaire respectivement de 136,0 % et 110,40 %.

En résumé, l'extrait éthanolique de *Ceratonia siliqua* présente les caractéristiques attendues d'un extrait végétal potentiellement biostimulant : une composition phénolique mesurable, une activité antioxydante efficace, une activité antibactérienne notable et une stimulation dose-dépendante de l'élongation racinaire. Les données de la littérature sur les biostimulants phénoliques montrent que ces propriétés peuvent favoriser la germination et la croissance initiale des plantules par la régulation du stress oxydatif, l'activation des défenses antioxydantes, la réduction de la pression microbienne et le priming métabolique. Même si aucune comparaison directe avec des essais de biostimulation par *Ceratonia siliqua* n'est actuellement disponible, les parallèles avec d'autres extraits végétaux riches en composés phénoliques soutiennent l'hypothèse selon laquelle les activités antioxydante et antibactérienne de notre extrait ont pu contribuer à l'amélioration de l'élongation racinaire observée dans cette étude. Des études complémentaires restent toutefois nécessaires pour standardiser les conditions d'extraction, identifier les composés actifs, vérifier l'absence de phytotoxicité à doses plus élevées et confirmer les mécanismes impliqués dans l'effet biostimulant.

Conclusion générale *et* perspectives

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Conclusion générale

Au terme de cette étude, il ressort que l'extrait éthanolique de *Ceratonia siliqua* L. présente un potentiel biologique intéressant, marqué par une richesse en composés phénoliques, une activité antioxydante notable, une activité antibactérienne appréciable et un effet biostimulant sur l'élongation racinaire de plusieurs espèces végétales. Le rendement d'extraction obtenu, estimé à 8,763 %, montre que l'éthanol a permis d'extraire une proportion significative de composés bioactifs présents dans le matériel végétal étudié. L'analyse phytochimique a mis en évidence la présence de métabolites secondaires importants, avec une teneur en polyphénols totaux de 11,356 mg GAE/g d'extrait, une teneur en flavonoïdes de 9,917 mg QE/g d'extrait et une teneur en tanins de 8,763 mg TAE/g d'extrait. Ces composés sont connus pour leur implication dans plusieurs activités biologiques, notamment la neutralisation des radicaux libres, la protection cellulaire et l'inhibition de certains microorganismes. L'activité antioxydante de l'extrait a été confirmée par les tests DPPH et ABTS. Les valeurs d'IC_{50} obtenues, respectivement 0,39 ± 0,002 mg/mL et 0,46 ± 0,05 mg/mL, indiquent que l'extrait possède une capacité antiradicalaire effective à des concentrations inférieures à 0,5 mg/mL. Cette activité peut être attribuée, au moins en partie, à la présence des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins, capables de piéger les radicaux libres et de contribuer à la régulation du stress oxydatif. L'activité antibactérienne a également été démontrée contre les deux souches testées. L'extrait a produit une zone d'inhibition de 15,5 ± 1,1 mm contre *Escherichia coli* et de 20,81 ± 2 mm contre Staphylococcus aureus. Ces résultats montrent une activité plus marquée contre la souche Gram positive Staphylococcus aureus. Cette différence peut être liée à la structure de la paroi bactérienne, les bactéries Gram négatives étant généralement plus résistantes en raison de la présence d'une membrane externe limitant la pénétration de certains composés bioactifs. Les résultats relatifs à la biostimulation constituent l'un des aspects les plus importants de cette étude. L'extrait éthanolique de *Ceratonia siliqua* a stimulé l'élongation racinaire de manière dose-dépendante chez les trois espèces végétales testées. Chez *Cucurbita pepo*, la longueur racinaire est passée de 8,30 cm chez le témoin à 19,59 cm au traitement T5, soit une augmentation de 136,0 %. Chez *Phaseolus vulgaris*, la longueur racinaire est passée de 6,91 cm à 14,54 cm, correspondant à une augmentation de 110,40 %. Chez *Daucus carota*, l'effet était plus modéré, avec une augmentation maximale de 25,20 %, passant de 3,76 cm chez le témoin à 4,71 cm au traitement T5. Ces résultats montrent que l'extrait agit différemment selon l'espèce végétale. *Phaseolus vulgaris* semble très sensible à l'extrait, puisque toutes les concentrations testées ont induit une stimulation significative. *Cucurbita pepo* présente

également une forte réponse, mais principalement aux concentrations intermédiaires et élevées. *Daucus carota* montre une réponse positive, mais plus faible, ce qui suggère que l'efficacité biostimulante dépend de la nature physiologique de l'espèce, de sa sensibilité aux composés phénoliques et de la concentration appliquée. L'ensemble des résultats permet de conclure que l'extrait éthanolique de *Ceratonia siliqua* possède un potentiel biologique multifonctionnel. Sa richesse en composés phénoliques pourrait expliquer, en partie, son activité antioxydante et antibactérienne, mais aussi son effet stimulant sur la croissance racinaire. L'effet biostimulant observé pourrait être lié à plusieurs mécanismes complémentaires, notamment la régulation du stress oxydatif, la protection des jeunes plantules contre certains microorganismes et l'activation de réponses physiologiques favorables à la croissance initiale. Ainsi, *Ceratonia siliqua* peut être considérée comme une source naturelle prometteuse de composés bioactifs présentant un intérêt à la fois biologique, agronomique et éventuellement phytosanitaire. Toutefois, même si les résultats obtenus sont encourageants, ils doivent être complétés par d'autres analyses afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués et de confirmer l'efficacité de l'extrait dans des conditions expérimentales plus larges.

Perspectives

À la lumière des résultats obtenus, plusieurs perspectives peuvent être proposées afin d'approfondir cette étude et de renforcer la valeur scientifique des conclusions.

Il serait d'abord nécessaire de compléter la caractérisation phytochimique de l'extrait par des méthodes analytiques plus précises, notamment la chromatographie liquide à haute performance ou la chromatographie couplée à la spectrométrie de masse. Ces analyses permettraient d'identifier les composés majoritaires responsables des activités observées, tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins ou d'autres métabolites secondaires.

Il serait également important d'élargir l'évaluation antioxydante en utilisant d'autres tests complémentaires, comme FRAP, TAC. Cela permettrait d'obtenir une vision plus complète du potentiel antioxydant de l'extrait, car chaque méthode repose sur un mécanisme réactionnel différent.

Concernant l'activité antibactérienne, il serait utile de déterminer les concentrations minimales inhibitrices et les concentrations minimales bactéricides de l'extrait. Ces paramètres permettraient de mieux évaluer l'efficacité réelle de l'extrait contre les souches bactériennes

testées. Il serait aussi pertinent d'élargir le spectre antimicrobien à d'autres bactéries pathogènes, ainsi qu'à certaines souches fongiques.

Pour l'activité biostimulante, les perspectives les plus importantes concernent l'évaluation d'autres paramètres de croissance. Il serait nécessaire de mesurer le taux de germination, l'indice de vigueur, la longueur de la tigelle, la biomasse fraîche et sèche, la teneur en chlorophylle et le développement global des plantules. Ces mesures permettraient de confirmer si l'effet observé sur l'élongation racinaire s'accompagne réellement d'une amélioration générale de la croissance.

Il serait aussi utile d'étudier les mécanismes physiologiques de la biostimulation, notamment par le dosage des enzymes antioxydantes comme la catalase, la peroxydase et la superoxyde dismutase. Ces analyses permettraient de vérifier si l'extrait agit réellement par régulation du stress oxydatif au niveau des plantules.

Une autre perspective importante consiste à tester des concentrations plus élevées et plus faibles que celles utilisées dans cette étude. Cela permettrait de déterminer la dose optimale de stimulation et d'identifier un éventuel seuil de phytotoxicité. Cette étape est essentielle, car les extraits riches en composés phénoliques peuvent parfois avoir un effet stimulant à certaines doses et un effet inhibiteur à des doses plus élevées.

Il serait également pertinent de réaliser des essais en conditions semi-contrôlées ou en plein champ afin de vérifier si l'effet biostimulant observé en conditions expérimentales se maintient dans un environnement agronomique réel. Ces essais pourraient inclure différents types de sols, différentes conditions hydriques et plusieurs espèces cultivées.

Enfin, il serait intéressant d'étudier la possibilité de formuler l'extrait de *Ceratonia siliqua* sous forme de biostimulant naturel applicable en agriculture. Cette perspective nécessiterait des études de stabilité, de conservation, de mode d'application, de sécurité environnementale et de rentabilité économique.

En conclusion, les résultats obtenus ouvrent des perspectives prometteuses pour la valorisation de *Ceratonia siliqua* comme source naturelle de composés bioactifs. L'extrait éthanolique étudié pourrait représenter une base intéressante pour le développement de produits naturels à activité antioxydante, antibactérienne et biostimulante. Cependant, des recherches

complémentaires restent indispensables pour identifier les composés actifs, confirmer les mécanismes d'action et valider son utilisation pratique dans le domaine agronomique.

Références Bibliographique

REFERENCES

Aicha, M., Maameri, Z., Sihem, H., Nadia, Z., Amira, N., & Abdelmalik, B. (2022). Phytochemical investigation of Algerian Ceratonia siliqua L. leaves extract, by evaluation of antioxidants, and analgesic effects. Egyptian Journal of Chemistry. https://doi.org/10.21608/ejchem.2022.172323.7141

Aksoy, Ö. (2022). Modelling the potential distribution of the carob (Ceratonia siliqua L.) in Turkey with MaxEnt software. International Journal of Ecosystems and Ecology Science (IJEES). https://doi.org/10.31407/ijees12.441

Al-Azzawi, S. M. M., & Al-Azzawi, M. (2023). Evaluation of the inhibitory and antioxidant activity of Ceratonia siliqua leaf and seed extract. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 1213. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1213/1/012063

Amar, Y., Potortí, A., Albergamo, A., Litrenta, F., Rando, R., Mouad, L., Brigui, J., Chouaibi, N., & Di Bella, G. (2024). Study of the lipid fraction of Moroccan and Italian carobs (Ceratonia siliqua L.). European Journal of Lipid Science and Technology. https://doi.org/10.1002/ejlt.202400036

Amrani, A., Bouakline, H., Elkabous, M., Brahmi, M., Karzazi, Y., Bachiri, E., & Tahani, A. (2022). Ceratonia siliqua L. seeds extract: Experimental analysis and simulation study. Materials Today: Proceedings. https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.09.127

Aouzal, B., Oudjane, F., Bourouh, L., Souilah, N., Laib, D. E., Benkherbache, N., Boufahja, F., & Bendif, H. (2025). Elucidating the dual agro-biochemical roles of Dittrichia viscosa methanolic and ethanolic extracts: Biostimulant-driven germination, crop enhancement, and antioxidant synergy. Ciência e Agrotecnologia. https://doi.org/10.1590/1413-7054202549006925

AOUZAL, Badis. Modération des effets toxiques du fongicide Tébuconazole par l'extrait de Ruta montana chez le rat Wistar. Thèse de doctorat LMD, Sciences de la nature et de la vie, spécialité Écophysiologie animale, Université du 20 Août 1955 Skikda, 2025. DOI : 10.13140/RG.2.2.24437.08161/1

Arachchi, M., Subhash, A., Bamigbade, G., Abu-Jdayil, B., Esposito, G., Ali, A., Kamal-Eldin, A., & Ayyash, M. (2025). Prebiotic potential of Ceratonia siliqua polysaccharides: Ultrasound-assisted extraction enhances gut microbial diversity and metabolic activity. International Journal of Biological Macromolecules, 143757. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.143757

REFERENCES

Ayache, S., Saafi, E., Emhemmed, F., Flamini, G., Achour, L., & Muller, C. (2020). Biological activities of aqueous extracts from carob plant (Ceratonia siliqua L.) by antioxidant, analgesic and proapoptotic properties evaluation. Molecules, 25. https://doi.org/10.3390/molecules25143120

Basharat, Z., Afzaal, M., Saeed, F., Islam, F., Hussain, M., Ikram, A., Pervaiz, M., & Awuchi, C. (2023). Nutritional and functional profile of carob bean (Ceratonia siliqua): A comprehensive review. International Journal of Food Properties, 26, 389-413. https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2164590

Baslam, A., Kabdy, H., Dilagui, I., Elhamzaoui, M., Chait, A., Garzoli, S., & Baslam, M. (2025). Phytochemical screening, physicochemical profiling, and bioactivity assessment of Ceratonia siliqua seed aqueous extract: Antioxidant and antimicrobial properties. Food Analytical Methods, 18, 1301-1314. https://doi.org/10.1007/s12161-025-02789-9

Batlle, I., & Tous, J. (1997). Carob tree: Ceratonia siliqua L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute.

Baumel, A., Mirleau, P., Viruel, J., Dagher-Kharrat, M., Malfa, S., Ouahmane, L., Diadema, K., Moakhar, M., Sanguin, H., & Médail, F. (2018). Assessment of plant species diversity associated with the carob tree (Ceratonia siliqua, Fabaceae) at the Mediterranean scale. Plant Ecology and Evolution. https://doi.org/10.5091/plecevo.2018.1423

Benmansour, N. (2020). Study of the biological activities of the seeds of the plant Ceratonia siliqua L. recovered in the Bejaia region. 4, 520-521. https://doi.org/10.26415/2572-004x-vol4iss1p520-521

Benyaich, A., Nouayti, A., Mekki, O., Errafia, R., Bahtat, F., & Aksissou, M. (2025). Phytochemical and pharmacological properties of Ceratonia siliqua L.: A comparative review of Moroccan and Mediterranean varieties. Journal of Applied Pharmaceutical Science. https://doi.org/10.7324/japs.2025.237923

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 181(4617), 1199-1200.

REFERENCES

Boublenza, I., Haitoum, A., Ghezlaoui, S., Mahdad, M., Vasai, F., & Chemat, F. (2019). Algerian carob (Ceratonia siliqua L.) populations. Morphological and chemical variability of their fruits and seeds. Scientia Horticulturae. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.05.064

Campos, L., Seixas, L., Dias, S., Peres, A. M., Veloso, A. C., & Henriques, M. (2022). Effect of extraction method on the bioactive composition, antimicrobial activity and phytotoxicity of pomegranate by-products. Foods, 11. https://doi.org/10.3390/foods11070992

Cegledi, E., Dobroslavić, E., Zorić, Z., Repajić, M., & Garofulić, I. (2024). Antioxidant activity of carob tree (Ceratonia siliqua L.) leaf extracts obtained by advanced extraction techniques. Processes. https://doi.org/10.3390/pr12040658

Chaila, S., & Soemphol, C. (2025). Design and testing of a nutrient solution control system for soilless culture using mathematical models. Indonesian Journal of Electrical Engineering and Computer Science. https://doi.org/10.11591/ijeecs.v37.i1.pp101-110

Ciriello, M., Campana, E., Kyriacou, M., El-Nakhel, C., Graziani, G., Cardarelli, M., Colla, G., De Pascale, S., & Rouphael, Y. (2024). Plant-derived biostimulants as priming agents enhanced antioxidant and nutritive properties in brassicaceous microgreens. Journal of the Science of Food and Agriculture. https://doi.org/10.1002/jsfa.13416

Dahmani, W., Elaouni, N., Abousalim, A., Akissi, Z., Legssyer, A., Ziyyat, A., & Sahpaz, S. (2023). Exploring carob (Ceratonia siliqua L.): A comprehensive assessment of its characteristics, ethnomedicinal uses, phytochemical aspects, and pharmacological activities. Plants, 12. https://doi.org/10.3390/plants12183303

Dammak, A., Chtourou, F., Luca, S., Skalicka-Woźniak, K., & Bouaziz, M. (2024). Insights into the phytochemical composition and antioxidant potential of the Tunisian Ceratonia siliqua L. Fitoterapia, 105919. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2024.105919

Darwish, W., Khadr, A., Kamel, M., Eldaim, M., Sayed, I., Abdel-Bary, H., Ullah, S., & Ghareeb, D. (2021). Phytochemical characterization and evaluation of biological activities of Egyptian carob pods (Ceratonia siliqua L.) aqueous extract: In vitro study. Plants, 10. https://doi.org/10.3390/plants10122626

Djebari, S., Wrona, M., Nerín, C., Djaoudene, O., Guemouni, S., Boudria, A., & Madani, K. (2023). Phenolic compounds profile of macerates of different edible parts of carob tree (Ceratonia siliqua L.) using UPLC-ESI-Q-TOF-MSE: Phytochemical screening and biological activities. Fitoterapia, 105696. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2023.105696

REFERENCES

Elbouzidi, A., Taibi, M., Ouassou, H., Ouahhoud, S., Ou-Yahia, D., Loukili, E., Aherkou, M., Mansouri, F., Bencheikh, N., Laaraj, S., Bellaouchi, R., Saalaoui, E., Elfazazi, K., Berrichi, A., Abid, M., & Addi, M. (2023). Exploring the multi-faceted potential of carob (Ceratonia siliqua var. Rahma) leaves from Morocco: A comprehensive analysis of polyphenols profile, antimicrobial activity, cytotoxicity against breast cancer cell lines, and genotoxicity. Pharmaceuticals, 16. https://doi.org/10.3390/ph16060840

Elhawary, E., Gad, M., Hegazy, M., Mostafa, R., Gattan, H., Alruhaili, M., Selim, A., Mashlawi, A., Alkhaibari, A., Alasmari, S., & Baz, M. (2025). Study of the effect of dryness and storage on Ceratonia siliqua L. stem extracts and evaluation of their insecticidal activity. Scientific Reports, 15. https://doi.org/10.1038/s41598-025-93181-4

Hadi, M., Hameed, I., & Ibraheam, I. (2017). Ceratonia siliqua: Characterization, pharmaceutical products and analysis of bioactive compounds: A review. Research Journal of Pharmacy and Technology, 10, 3585-3589. https://doi.org/10.5958/0974-360x.2017.00649.7

Hillcoat, D., Lewis, G., & Verdcourt, B. (1980). A new species of Ceratonia (Leguminosae-Caesalpinioideae) from Arabia and the Somali Republic. Kew Bulletin, 35, 261-271. https://doi.org/10.2307/4114570

Hsouna, A. B., Trigui, M., Jarraya, R., Damak, M., & Jaoua, S. (2015). Identification of phenolic compounds by high performance liquid chromatography/mass spectrometry (HPLC/MS) and in vitro evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of Ceratonia siliqua leaves extracts. Journal of Medicinal Plants Research, 9, 479-485. https://doi.org/10.5897/jmpr2011.685

Kalaivani, K., Senthil-Nathan, S., Stanley-Raja, V., & Vasantha-Srinivasan, P. (2023). Physiological and biochemical alterations in Vigna radiata L. triggered by sesame derived elicitors as defense mechanism against Rhizoctonia and Macrophomina infestation. Scientific Reports, 13. https://doi.org/10.1038/s41598-023-39660-y

Kassout, J., Hmimsa, Y., Fatehi, E., Ouahrani, A., Kadaoui, K., Chakkour, S., Ariza-Mateos, D., Palacios-Rodríguez, G., Navarro-Cerrillo, R., & Ater, M. (2022). Image analysis of Moroccan carob seeds (Ceratonia siliqua L.) revealed substantial intraspecific variations depending on climate and geographic origin. Ecological Processes, 11, 1-14. https://doi.org/10.1186/s13717-022-00378-w

REFERENCES

Kavvoura, D., Stefanakis, M., Kletsas, D., Katerinopoulos, H., & Pratsinis, H. (2023). Biological activities of Ceratonia siliqua pod and seed extracts: A comparative analysis of two Cretan cultivars. International Journal of Molecular Sciences, 24. https://doi.org/10.3390/ijms241512104

Khelouf, I., Karoui, I. J., & Abderrabba, M. (2023). Chemical composition, in vitro antioxidant and antimicrobial activities of carob pulp (Ceratonia siliqua L.) from Tunisia. Chemical Papers, 77, 6125-6134. https://doi.org/10.1007/s11696-023-02926-w

Kisiriko, M., Anastasiadi, M., Terry, L., Yasri, A., Beale, M., & Ward, J. (2021). Phenolics from medicinal and aromatic plants: Characterisation and potential as biostimulants and bioprotectants. Molecules, 26. https://doi.org/10.3390/molecules26216343

Laaraj, S., Choubbane, H., Elrherabi, A., Tikent, A., Farihi, A., Laaroussi, M., Bouhrim, M., Shahat, A., Noutfia, Y., Herqash, R., Chigr, F., Salmaoui, S., & Elfazazi, K. (2024a). Influence of harvesting stage on phytochemical composition, antioxidant, and antidiabetic activity of immature Ceratonia siliqua L. pulp from Béni Mellal-Khénifra region, Morocco: In silico, in vitro, and in vivo approaches. Current Issues in Molecular Biology, 46, 10991-11020. https://doi.org/10.3390/cimb46100653

Laaraj, S., Tikent, A., El-Rhouttais, C., Farihi, A., Ed-Dra, A., Bouhrim, M., Mothana, R., Noman, O., Salmaoui, S., Addi, M., Serghini-Caid, H., Noutfia, Y., & Elfazazi, K. (2024b). Nutritional value, HPLC-DAD analysis and biological activities of Ceratonia siliqua L. pulp based on in vitro and in silico studies. Scientific Reports, 14. https://doi.org/10.1038/s41598-024-82318-6

Laaraj, S., Elfazazi, K., Jabbari, C., Farihi, A., Ed-Dra, A., Boutagayout, A., Adiba, A., Al-zharani, M., Nasr, F. A., Qurtam, A. A., Noutfia, Y., & Salmaoui, S. (2025). Phytochemical characterization and biological activities of wild Ceratonia siliqua L. leaves: Antioxidant, antibacterial, and cytotoxic effects. Scientific Reports, 15. https://doi.org/10.1038/s41598-025-09062-3

Mansouri, F., Silva, J. C. D., Cacciola, F., Asraoui, F., Tayeq, H., Amar, Y. B. M., Lovillo, M. P., Chouaibi, N., & Brigui, J. (2022). Evaluation of different extraction methods on the phenolic profile and the antioxidant potential of Ceratonia siliqua L. pods extracts. Molecules, 27. https://doi.org/10.3390/molecules27196163

REFERENCES

Moumou, M., Mokhtari, I., Milenkovic, D., Amrani, S., & Harnafi, H. (2023). Carob (Ceratonia siliqua L.): A comprehensive review on traditional uses, chemical composition, pharmacological effects and toxicology (2002-2022). Journal of Biologically Active Products from Nature, 13, 179-223. https://doi.org/10.1080/22311866.2023.2237481

Oliveira, F., Freitas, R., Oliveira, M., Santos, S., Costa, J., Neta, H., Marques, I., & Cordeiro, C. (2022). Electrical conductivity of the nutrient solution for soilless cultivation of kohlrabi. Horticultura Brasileira. https://doi.org/10.1590/s0102-0536-20220201

Othmen, K., García-Beltrán, J., Elfalleh, W., Haddad, M., & Esteban, M. (2021). Phytochemical compounds and biological properties of carob pods (Ceratonia siliqua L.) extracts at different ripening stages. Waste and Biomass Valorization, 12, 4975-4990. https://doi.org/10.1007/s12649-021-01352-x

Pyrovolou, K., Revelou, P., Trapali, M., Strati, I., Konteles, S., Tarantilis, P., & Batrinou, A. (2025). Exploring the functional potential of the xyrophytic Greek carob (Ceratonia siliqua L.) cold aqueous and hydroethanolic extracts. Applied Sciences. https://doi.org/10.3390/app15168909

Ramírez-Pérez, C., Ramírez, H., Carrillo-Lomelí, D. A., Moo-Huchin, V. M., Hernández-Pérez, A., Peña-Ramos, F. M., Encina-Domínguez, J. A., & De Rodríguez, J. D. (2025). Biostimulant from semi-desert plant extracts for root and aerial growth of Capsicum annuum L. and C. chinense Jacq. seedlings. Industrial Crops and Products. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.121881

Ramón-Laca, L., & Mabberley, D. (2004). The ecological status of the carob-tree (Ceratonia siliqua, Leguminosae) in the Mediterranean. Botanical Journal of the Linnean Society, 144, 431-436. https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2003.00254.x

Richane, A., Rim, B., Wided, M., Riadh, K., Khaoula, A., Nizar, M., & Hanen, B. (2022). Variability of phenolic compounds and antioxidant activities of ten Ceratonia siliqua L. provenances. Biochemical Systematics and Ecology. https://doi.org/10.1016/j.bse.2022.104486

Rodríguez-Solana, R., Romano, A., & Moreno-Rojas, J. (2021). Carob pulp: A nutritional and functional by-product worldwide spread in the formulation of different food products and beverages. A review. Processes. https://doi.org/10.3390/pr9071146

REFERENCES

Rupawalla, Z., Shaw, L., Ross, I., Schmidt, S., Hankamer, B., & Wolf, J. (2022). Germination screen for microalgae-generated plant growth biostimulants. Algal Research. https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102784

Santos, D., Cotas, J., Pereira, L., & Bahcevandziev, K. (2024). Algae extracts in horticulture: Characterization of algae-based extracts and impact on turnip germination and radish culture. Sustainability. https://doi.org/10.3390/su16062529

Serio, S., Santoro, V., Celano, R., Fiore, D., Proto, M., Corbo, F., Clodoveo, M., Tardugno, R., Piccinelli, A., & Rastrelli, L. (2024). Carob (Ceratonia siliqua) leaves: A comprehensive analysis of bioactive profile and health-promoting potential of an untapped resource. Food Chemistry, 468, 142392. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.142392

Shuaib, M., Kabbashi, A., Eltawaty, S., & Ismail, A. (2025). In vitro anti-MDR bacteria, anti-inflammatory and antioxidant activities of Ceratonia siliqua L. AlQalam Journal of Medical and Applied Sciences. https://doi.org/10.54361/ajmas.258248

Sidina, M., Hansali, M., Wahid, N., Ouatmane, A., Boulli, A., & Haddioui, A. (2009). Fruit and seed diversity of domesticated carob (Ceratonia siliqua L.) in Morocco. Scientia Horticulturae, 123, 110-116. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.07.009

Stefi, A., Kalampokis, E., Ntroumpogianni, G., Katsiadrami, I., Nikou, T., Katsifas, E., Gkikas, D., Christodoulakis, N., & Halabalaki, M. (2025). The impact of temperature on the leaves of Ceratonia siliqua L.: Anatomical aspect, secondary metabolite analysis, and antimicrobial activity of the extracts. Plants, 14. https://doi.org/10.3390/plants14040557

Sun, W., Shahrajabian, M. H., Kuang, Y., & Wang, N. (2024). Amino acids biostimulants and protein hydrolysates in agricultural sciences. Plants, 13. https://doi.org/10.3390/plants13020210

Szparaga, A., Czerwińska, E., Kapusta, I., Piepiórka-Stepuk, J., Zaguła, G., Szparaga, Ł., Caruso, G., Erlichowska, B., & Deszcz, E. (2024). The insights into the activity of the extracts from Polygonum aviculare L. and Pseudomonas fluorescens for enhancing and modeling seed germination and seedling growth of Melilotus officinalis L. Lam. South African Journal of Botany. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.09.028

REFERENCES

Thomas, P., Garcia-Martí, X., Mukassabi, T., & Tous, J. (2024). International Biological Flora: Ceratonia siliqua. Journal of Ecology, 112, 1885-1922. https://doi.org/10.1111/1365-2745.14325

Xie, J., & Schaich, K. M. (2014). Re-evaluation of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical (DPPH) assay for antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62(19), 4251-4260

Yadav, A., Singh, S., & Yadav, V. (2024). Screening herbal extracts as biostimulant to increase germination, plant growth and secondary metabolite production in wheatgrass. Scientific Reports, 14. https://doi.org/10.1038/s41598-023-50

Yahiaoui, K., Bouchenak, O., Boumaza, S., Toubal, S., Blizak, D., Nouani, A., & Arab, K. (2021). Characterization and assessment of the antimicrobial function of total polyphenol extracts from pulps, leaves and seeds of two Ceratonia siliqua L. varieties. 7.

Annexes

ANNEXES



Annexe 1 : photo réelle de la bio stimulation.