

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MUSTAPHA STAMBOULI- MASCARA



Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de Biologie

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de

DOCTORAT

En Sciences de la nature et de la vie

Option : Microbiologie

Présentée par : M^{me} NAHAL BOUDERBA Nora

THEME

*Etude ethnobotanique, écologique et activités biologiques
de la coloquinte (*Citrullus colocynthis.L*) et du contenu floristique
de la région de Béchar*

Soutenue le :

Devant le jury composé de :

Président de jury :	M _r BELABID. L	Professeur à l'université de Mascara
Directeur de thèse :	M _r MOUSSAOUI. A	Professeur à l'université de Béchar
Co-directeur de thèse :	M _r MEDDAH. B	Professeur à l'université de Mascara
Examineur :	M _r LAZOUNI. H A	Professeur à l'université de Tlemcen
Examineur :	M _r HAREK. Y	Professeur à l'université de Tlemcen
Examineur :	M _r RAHOU BACHIR. G	MCA à l'université de Mascara

Année universitaire : 2015- 2016

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MUSTAPHA STAMBOULI- MASCARA



Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de Biologie

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de

DOCTORAT

En Sciences de la nature et de la vie

Option : Microbiologie

Présentée par : M^{me} NAHAL BOUDERBA Nora

THEME

***Etude ethnobotanique, écologique et activités biologiques
de la coloquinte (*Citrullus colocynthis.L*) et du contenu floristique
de la région de Béchar***

Soutenue le :

Devant le jury composé de :

Président de jury :	M _r BELABID. L	Professeur à l'université de Mascara
Directeur de thèse :	M _r MOUSSAOUI. A	Professeur à l'université de Béchar
Co-directeur de thèse :	M _r MEDDAH. B	Professeur à l'université de Mascara
Examineur :	M _r LAZOUNI. H A	Professeur à l'université de Tlemcen
Examineur :	M _r HAREK. Y	Professeur à l'université de Tlemcen
Examineur :	M _r RAHOU BACHIR. G	MCA à l'université de Mascara

Année universitaire : 2015- 2016

Je dédie ce travail à :

Mes parents ; En signe de ma profonde et affectueuse reconnaissance pour tous les sacrifices qu'ils ont bien voulu consentir pour moi, que ces pages soient pour eux en témoignage de mon grand amour.

Mon mari ; Pour sa patience exclusive, Son encouragement interminable, Sa compréhension réfléchie dans les tourments qui ont bouleversé Immanquablement la vie familiale au moment de l'élaboration captive de ce travail

Mes très chères enfants, Abderrahmane, Aicha, Khadidja, Rodaina et Mohammed

Ma très chère sœur, son marie et sa fille

Mes très chers frères

Mes enseignants

Mes ami(e)s

Remerciements

Au nom d'Allah, le Clément, le Miséricordieux

Avant tout, louanges et merci à mon seigneur, Dieu le tout puissant.

Tout d'abord, je tiens à remercier du profond du cœur, mon professeur et mon directeur de thèse, Pr MOUSSAOUI. Au directeur du laboratoire valorisation des ressources végétales et sécurité Alimentaire des zones semi arides du sud-ouest de l'Algérie (V. R. V. S. A) pour la qualité de son encadrement, sa disponibilité, son soutien et ses conseils.

Je remercie sincèrement le Pr MEDDAH. B, Co- directeur de thèse, de l'université de Mascara. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour m'avoir accordé sa confiance que pour m'avoir guidé dans mon travail tout au long de ces années. Ses conseils et ses commentaires mais aussi sa bienveillance et son humour auront été fort utiles, qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.

Je remercie chaleureusement le Professeur BELABID. L de l'université de Mascara, de l'honneur qu'il me fait en acceptant spontanément la lourde tâche de présider le jury de cette thèse. Trouvez ici l'expression de ma sincère reconnaissance pour cette marque d'intérêt

J'aimerais également remercier le Professeur LAZOUNI. H. A de l'université de Tlemcen pour ses conseils très précieux et ses encouragements, le Professeur HAREK. Y de l'université de Tlemcen, pour son aide précieuse ainsi que le Docteur RAHOU BACHIR. G ,MCA de l'université de Mascara pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse et pour avoir accepté d'en être rapporteur et surtout pour l'intérêt qu'il a porté à mon travail.

Mes remerciements les plus cordiaux vont à Monsieur le professeur ROMANE. A de l'université KADI AYAD de Marrakech pour son aide dans la réalisation des analyses minérale pouréé& son soutien et ses conseils.

Un immense merci, toute ma reconnaissance et mon profond respect à Mr Kadi. H maitre-assistant à l'université de Béchar, pour son aide ses conseils et surtout son soutien morale lors de la réalisation de cette thèse.

Je tiens à adresser mes sincères remerciements à Melle SLIMANI. A maitre-assistante à l'université de Béchar et Melle BENYAHYA. K ingénieur au laboratoire de recherche (V. R. V. S.A) de l'université de Béchar ; Soyez rassurées de ma reconnaissance.

J'adresse également mes remerciements à tout le personnel des laboratoires pédagogiques pour leur professionnalisme.

Je ne manquerai pas l'occasion d'explicitier ma reconnaissance à tous mes enseignants.

En fin, je voudrai terminer par remercier infiniment ceux qui sont là depuis le début et qui ont posé les bases de ce que je suis aujourd'hui, mes parents.

Grand merci à vous.

الملخص

الهدف من عملنا هذا هو ابراز خواص النباتات الطبية، تكوينها الكيميائي، والأنشطة المضادة للميكروبات وللأكسدة لنبات الحنظل، الجوز المائل والغسال، و هي نباتات مستوطنة في منطقة بشار.

أظهرت الدراسة أن 46.41% من السكان يستخدم نبات الحنظل كمخفض لنسبة السكر في الدم، و50% يستخدم نبات الجوز المائل كمنشط جنسي بينما يستخدم 72.2% نبات الغسال لعلاج ضربات الشمس.

أظهر الفحص الكيميائي النباتي وجود مركبات الفلافونويد، الالكالويدات، العفص والستيروول والتربين في أوراق الثلاثة نباتات وعدم وجود الستيروول والستيرويدات في أوراق الجوز المائل

هذا التنوع في المواد الكيميائية النباتية تؤكد في مردودية المستخلص المائي، المثنولي والفلافونيدات التي أعطت المردود 2.8%، 2.61%، و1.5% من الفلافونويد في أوراق الحنظل، الجوز مائل والغسال على التوالي

تم تحديد النشاط البكتيري بواسطة تقنية القرص والاتصال المباشرة لسبع سلالات بكتيرية، وتقنية النمو الشعاعي والكتلة الحيوية لأربع سلالات فطرية، وسجل أفضل تركيز مثبت في القولونية مع تركيز 6مغ/مل من المستخلص المائي لجذور الحنظل

وقد تم تثبيط السلالات الفطرية بنسبة 100% بكل المستخلصات النباتية بتركيزات مختلفة، حيث اظهر الاسبيرجيلوس اوكراسيوس حساسية عالية في تركيزات منخفضة من المستخلصات أو المركبات الفلافونويدية

طريقة محاصرة الجذور الحرة باستخدام DPPH. تم تطبيقها لقياس النشاط المضاد للأكسدة. التراكيز الفعلية للأكسدة التي تثبط الجذور الحرة هي 5ميكروغ / مل للمركبات الفلافونويدية لاوراق الحنظل، ثم 7 ميكروغ / مل للجوز المائل و8 ميكروغ / مل لأوراق الغسال.

الكلمات المفتاحية: الحنظل، الجوز المائل، الغسال، النباتات الطبية، الفحص الكيميائي النباتي، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للأكسدة.

Abstract:

Our work focuses on the ethnobotanical study and phytochemical, antimicrobial and antioxidant activities of *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium* and *Salsola vermiculata*, the endemic plants of Béchar area.

Ethnobotanical study showed that 46.41 % of the population use *Citrullus colocynthis* as hypoglycemic, 50 % use *Datura stramonium* as an aphrodisiac, and 72.2 % of *Salsola vermiculata* is used to treat sunburn.

The phytochemical screening showed the presence of flavonoids, alkaloids, tannins and sterols and terpenes in the leaves of the three plants and the lack of sterol and steroids in the leaves of *Datura stramonium*.

This wealth of phytochemicals is confirmed by the returns of aqueous extracts, méthanoliques extracts and flavonoids or they gave a yield of 2.8 %, 2.61 % and 1.5 % of flavonoids of leaves of *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium* and *Salsola vermiculata* respectively.

The antimicrobial activity was determined by the disk technique and direct contact with seven bacterial strains and the radial growth and biomass technic to four fungal strains, the best MICs were recorded in *Escherichia coli* with a concentration of 6mg / ml of the aqueous extract of the roots of *Citrullus colocynthis*

The tested fungal strains were inhibited 100% by all plant extracts at different concentrations, *Aspergillus ochraceus* presented a high sensitivity where he was inhibited at low concentrations of extracts or flavonoids. The tested fungal strains were inhibited at 100% by all plants at different concentrations, *Aspergillus ochraceus* presented a high sensitivity and it was inhibited at low concentrations of extract and flavonoids.

The method of capture free radicals using the DPPH. is applied to measure the antioxidant activity; actual concentrations of flavonoids which inhibit free radicals are 5µg / ml for *C.colocynthis* flavonoids leaves, 7 mg / ml for *D. stramonium* and 8µg / ml for *S.vermiculata* leaves.

Key words: *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium*, *Salsola vermiculata*, ethnobotanical, phytochemical screening, antimicrobial activity, antioxidant activity.

Résumé :

L'objectif de notre travail porte sur l'étude ethnobotanique, la composition phytochimique, les activités antimicrobienne et antioxydante de *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium* et *Salsola vermiculata*, des plantes endémiques de la région de Béchar.

L'étude ethnobotanique a prouvé que 46.41% de la population utilisent le *Citrullus colocynthis* comme hypoglycémiant, 50% utilisent *Datura stramonium* comme aphrodisiaque alors que *Salsola vermiculata* est utilisé à 72.2% pour traiter les brûlures de soleil.

Le criblage phytochimique a mis en évidence la présence des flavonoïdes, des alcaloïdes, des tanins, dans les feuilles des trois plantes et l'absence des stérols et stéroïdes dans les feuilles de *Datura stramonium*.

Cette richesse en substances phytochimiques est confirmée par les rendements des extraits aqueux, méthanolique et des flavonoïdes où ils ont donné un rendement de 2.8%, 2.61% et 1.5 % des flavonoïdes pour les feuilles de *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium* et *Salsola vermiculata* respectivement.

L'activité antimicrobienne a été testée par la technique des disques et le contact direct sur sept souches bactériennes et la technique de la croissance radiale et la biomasse pour quatre souches fongiques, les meilleurs CMI ont été enregistrées sur *Escherichia coli* avec une concentration de 6mg/ml de l'extrait aqueux des racines de *Citrullus colocynthis*.

Les souches fongiques testées ont été inhibées à 100% par tous les extraits des plantes à différentes concentrations, *l'Aspergillus ochraceus* a présenté une sensibilité importante où il a été inhibé à des faibles concentrations des extraits ou des flavonoïdes.

La méthode du piégeage des radicaux libres à l'aide du DPPH est appliquée pour mesurer l'activité antioxydante ; les concentrations effectives en flavonoïdes qui inhibent les radicaux libres sont 5µg/ml pour les flavonoïdes des feuilles de *C.colocynthis*, puis 7 µg/ml de *D. stramonium* et 8µg/ml pour les feuilles de *S.vermiculata*.

Mots clés : *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium*, *Salsola vermiculata*, ethnobotanique, criblage phytochimique, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

Liste des abréviations

%PR : pourcentage du pouvoir de réduction

A.flavu : *Aspergillus flavus*

A.niger : *Aspergillus niger*

A.ochraceus : *Aspergillus ochraceus*

Abs : Absorbance

C.colocynthis : *Citrillus colocynthis*

CI50 : Concentration inhibitrices de 50% des radicaux libres

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CYA : Milieu au *CzapekYeast Agar*

D.stramonium : *Datura stramonium*

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

G25N : Milieu a 25% glycérol et nitrate

G25N : Milieu a 25% glycérol et nitrate

MEA : Milieu *Malt Extract Agar*

MEA : Milieu *Malt Extract Agar*

P.expansum : *Penicillium expansum*

PDA : Potatos dextrose agar

PDA_{ac} : Potatos dextrose agar acidifié

PDB : Potato dextrose Broth

S.vermiculata : *Salsola vermiculata*

UFC : Unité formant colonie

UV : Ultra-violet

V/V : Volume/volume

Liste des tableaux

Tableau 01 : Composition chimique de la coloquinte.	10
Tableau 02 : Différentes classes des flavonoïdes	24
Tableau 03 : Résultats du criblage phytochimiques des différentes parties des plantes étudiées	69
Tableau 04 : Composition minérale des rhizosphères des plantes étudiées	71
Tableau 05 : Composition minérale des racines des plantes étudiées	71
Tableau 06 : Composition minérale des feuilles des plantes étudiées	72
Tableau 07 : Résultats de l'activité antibactérienne par les disques (<i>Citrullus colocynthis</i>)	76
Tableau 08 : Résultats de l'activité antibactérienne par les disques (<i>Datura stramonium</i>)	77
Tableau 09 : Résultats de l'activité antibactérienne par les disques (<i>Salsola vermiculata</i>)	78
Tableau 10 : Résultats de l'activité antibactérienne des flavonoïdes extraite des trois plantes étudiées par les disques	79
Tableau 11 : CMI des souches bactériennes par les extraits de <i>Citrullus colocynthis</i>	80
Tableau 12 : CMI des souches bactériennes par les extraits de <i>Datura stramonium</i>	81
Tableau 13 : CMI des souches bactériennes par les extraits de <i>Salsola vermiculata</i>	82
Tableau 14 : CMI des souches bactériennes par les flavonoïdes des plantes étudiées	83
Tableau 15 : Couleurs et diamètres des colonies des souches fongiques par la technique de single spore.	85
Tableau 16 : Les pourcentages d'inhibition des souches fongiques testées sous l'effet des extraits de <i>Citrullus colocynthis</i>	94
Tableau 17 : Les pourcentages d'inhibition des souches fongiques testées sous l'effet des extraits de <i>Datura stramonium</i>	103
Tableau 18 : Les pourcentages d'inhibition des souches fongiques testées sous l'effet des extraits de <i>Salsola vermiculata</i>	112

- Tableau 19** : Les pourcentages d'inhibition des souches fongiques testées sous l'effet des extraits de *Salsola vermiculata* 113
- Tableau 20** : Valeurs des IC₅₀ pour les différents extraits et les flavonoïdes des trois plantes étudiées. 121

Listes des figures

Figure 01: Biosynthèse des flavonoïdes	23
Figure 02: Squelette du flavone	24
Figure 03: Squelette du flavanol	24
Figure 04: Squelette du flavanone	24
Figure 05: Squelette du flavan-3-ols	24
Figure 06: Squelette du flavan-3-4-diols	24
Figure 07: Squelette du chalcon	24
Figure 08: Structure chimique des tanins hydrolysables	25
Figure 09: Structure chimique des tanins condensés	25
Figure 10 : Structure des coumarines	26
Figure 11 : Structure d'hyoscyamine	27
Figure 12 : Structure de conine	27
Figure 13 : Structure de sérotonine	27
Figure 14 : Structure chimique de Génine stéroïdique (Saponoside)	28
Figure 15 : Carte géographique de la wilaya de Béchar	42
Figure 16 : Protocol d'extraction des flavonoïdes	52
Figure17 : Mode d'inoculation des isolats d' <i>Aspergillus</i> selon la méthode de single spore	56
Figure 18 : Réaction de DPPH avec phénol	59
Figure 19 : Résultats du rendement en flavonoïdes des différentes parties des plantes étudiées	75

Liste des planches

Planche 01 : Structure de quelques acides phénols de la série benzoïque	21
Planche 02 : Structure de quelques acides phénols de la série cinnamique	22
Planche 03 : Photos originales prises entre 2011 et 2013 des différentes parties des plantes étudiées	45
Planche 04 : Courbe ombrothermique des années 2005-2006 ; 2006-2007	63
Planche 05 : Courbe ombrothermique des années 2007-2008 ; 2008-2009	64
Planche 06 : Résultats de l'utilisation des plantes médicinales dans la wilaya de Béchar	66
Planche 07 : Répartition de l'utilisation des plantes étudiées dans la wilaya de Béchar	68
Planche 08 : Rendement des extraits aqueux et hydrométhanolique des différentes parties des plantes étudiées	73
Planche 09 : Valeurs de pH des extraits des différentes parties des plantes étudiées	74
Planche 10 : Aspect macroscopique et microscopique des souches fongiques testées par la méthode de single spore	86
Planche 11 : Résultats de l'activité antifongique des extraits aqueux des différentes parties de <i>Citrullus colocynthis</i> par la méthode de la croissance radiale	88
Planche 12 : Résultats de l'activité antifongique des extraits hydrométhanoliques des différentes parties de <i>Citrullus colocynthis</i> par la méthode de la croissance radiale	89
Planche 13 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait aqueux des fruits et des feuilles de <i>Citrullus colocynthis</i>	90
Planche 14 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait méthanolique des racines et des feuilles de <i>Citrullus colocynthis</i>	90
Planche 15 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait hydrométhanolique des fruits et des racines de <i>Citrullus colocynthis</i>	92
Planche 16 : Résultats de l'activité antifongique des extraits aqueux des différentes parties de <i>Citrullus colocynthis</i> par la méthode de la biomasse	93
Planche 17 : Résultats de l'activité antifongique des extraits aqueux des feuilles et des grains de <i>Datura stramonium</i> par la méthode de la croissance radiale	96
Planche 18 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait aqueux des feuilles de <i>Datura stramonium</i>	97

Planche 19 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait aqueux des grains de <i>Datura stramonium</i>	97
Planche 20 : Résultats de l'activité antifongique des extraits hydrométhanoliques des feuilles et des grains de <i>Datura stramonium</i> par la méthode de la croissance radiale	98
Planche 21 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait hydrométhanolique des feuilles de <i>Datura stramonium</i>	99
Planche 22 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait hydrométhanoliques des grains de <i>Datura stramonium</i>	99
Planche 23 : Résultats de l'activité antifongique des extraits aqueux des feuilles et des grains de <i>Datura stramonium</i> par la méthode de la biomasse	101
Planche 24 : Résultats de l'activité antifongique des extraits hydrométhanoliques des feuilles et des grains de <i>Datura stramonium</i> par la méthode de la biomasse	102
Planche 25 : Résultats de l'activité antifongique des extraits aqueux des feuilles et des racines de <i>Salsola vermiculata</i> par la méthode de la croissance radiale	105
Planche 26 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait aqueux des feuilles de <i>Salsola vermiculata</i>	106
Planche 27 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait aqueux des racines de <i>Salsola vermiculata</i>	106
Planche 28 : Résultats de l'activité antifongique des extraits hydrométhanoliques des feuilles et des racines de <i>Salsola vermiculata</i> par la méthode de la croissance radiale	107
Planche 29 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait hydrométhanolique des feuilles de <i>Salsola vermiculata</i>	108
Planche 30 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait hydrométhanolique des racines de <i>Salsola vermiculata</i>	108
Planche 31 : Résultats de l'activité antifongique par l'extrait aqueux des feuilles et des racines de <i>Salsola vermiculata</i> par la méthode de la biomasse	110
Planche 32 : Résultats de l'activité antifongique par l'extrait hydrométhanolique des feuilles et des racines de <i>Salsola vermiculata</i> par la méthode de la biomasse	111
Planche 33 : Résultats de l'activité antifongique par les flavonoïdes des feuilles des trois plantes étudiés par la méthode de la croissance radiale	114

- Planche 34 :** Photos des résultats de l'activité antifongique des flavonoïdes des plantes étudiées 115
- Planche 35 :** Courbe de régressions linéaires des pourcentages d'inhibitions du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques et aqueux de *Citrullus colocynthis* 117
- Planche 36 :** Courbe de régressions linéaires des pourcentages d'inhibitions du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques et aqueux de *Citrullus colocynthis* 118
- Planche 37:** Courbe de régressions linéaires des pourcentages d'inhibitions du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des flavonoïdes de *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium* et *Salsola vermiculata* 120

Table des matières

Remerciement.....	I
ملخص.....	III
Abstract.....	IV
Résumé.....	V
Liste des abréviations.....	VI
Liste des tableaux.....	VII
Liste des figures.....	IX
Liste des planches.....	X
Table des matières.....	XIII

Introduction générale	01
------------------------------	----

Etude bibliographique	
I. CHAPITRE I : Plantes médicinales	04
I.1. Définition des plantes médicinales.....	04
I.2. Intérêt des plantes et domaine d'utilisation.....	05
I.3. Phytothérapie.....	06
I.4. Les différents types de la Phytothérapie.....	06
I.4.1. Aromathérapie.....	06
I.4.2. Gemmothérapie.....	06
I.4.3. Herboristerie.....	07
I.4.4. Homéopathie.....	07
I.4.5. Phytothérapie pharmaceutique.....	07
I.5. Avantages de la phytothérapie.....	07
I.6. Toxicité de certaines plantes.....	08
I.7. Plantes étudiées.....	09
I.7.1. <i>Citrullus colocynthis</i>	09
I.7.1.1. Description botanique.....	09
I.7.1.2. Classification classique.....	09
I.7.1.3. Origine et répartition géographique.....	10
I.7.1.4. Composition chimique.....	10
I.7.1.5. Effets thérapeutiques.....	11
I.7.1.6. Utilisation traditionnelle.....	11
I.7.1.8. Toxicité de la coloquinte.....	12

Table des matières

I.7.2. <i>Datura stramonium</i>	13
I.7.2.1. Description botanique	13
I.7.2.2. Classification botanique	14
I.7.2.3. Habitat	14
I.7.2.4. Composition chimique	14
I.7.2.5. Utilisation.....	15
I.7.2.5.1. Effet insecticide.....	15
I.7.2.5.2. Effet médicinale	15
I.7.2.6. Toxicité et Symptômes observés.....	16
I.7.2.7. Doses toxiques	16
I.7.3. <i>Salsola vermiculata</i>	17
I.7.3.1. Description botanique	17
I.7.3.2. Classification classique.....	17
I.7.3.3. Noms communs.....	17
I.7.3.4. Composition chimique et propriétés.....	18
II. CHAPITRE II : Métabolites secondaires d'origine végétale	20
II.1. Polyphénols	20
II.1.1. Acides phénoliques	21
II.1.2. Flavonoïdes	22
II.1.2.1. Biosynthèse et classes	22
II.1.3. Tanins.....	25
a-Tanins hydrolysables.....	25
b-Tanins condensés.....	25
II.1.3. Coumarines	26
II.2. Alcaloïdes.....	26
II.3. Saponosides.....	28
II.4. Terpènes et stéroïdes	28
II.5. Huiles essentielles.....	29
III. CHAPITRE III : Activités biologiques des substances végétales	31
III.1. Intérêts biologiques des substances bioactives.....	31
III.1.1. Polyphénols.....	31
III.1.1.1. Acides phénoliques	33
III.1.1.2. Flavonoïdes	33

Table des matières

III.1.1.3. Tanin	36
III.1.1.4. Coumarines.....	37
III.1.2. Saponosides.....	37
III.1.3. Alcaloïdes.....	38
III.1.4. Terpènes et stéroïdes.....	39

Partie expérimentale

CHAPITRE IV : Matériels et méthodes

IV.1. Présentation de la zone d'étude.....	41
IV.2. Récolte des plantes	44
IV.3. Etude ethnobotanique	46
IV.4. Etude phytochimique.....	46
IV.4.1. Criblage phytochimiques.....	46
IV.4.1.1. Mise en évidence des alcaloïdes.....	46
IV.4.1.2. Mise en évidence des saponosides	47
IV.4.1.3. Mise en évidence des tanins.....	47
IV.4.1.4. Mise en évidence des stérols insaturés et des terpènes.....	47
IV.4.1.5. Mise en évidence des stérols et des stéroïdes.....	47
IV.4.1.6. Mise en évidence des flavonoïdes	48
IV.5. Etude de la composition minérale des plantes.....	49
IV.5.1. La matière sèche	49
IV.5. 2. Composition minérale	49
IV.5. 2.1. Teneur en cendres	49
IV.5. 2.2. Dosage des éléments minéraux	49
IV. 6. Extraction des métabolites secondaires	50
IV. 6. 1. Extrait aqueux	50
IV. 6. 2. Extrait Méthanolique	50
IV.6.3 . Tests physicochimiques des extraits.....	50
a-Calcul des rendements des extraits réalisés (Afnor, 1986).....	50
b-Détermination du potentiel d'hydrogène (pH) (Afnor, 1986).....	51
IV. 6. 4. Extraction des flavonoïdes.....	51
IV.7. Etude de l'activité antibactérienne	53
IV.7. 1. Provenance des souches bactériennes.....	53

Table des matières

IV.7. 1. 1. Techniques d'études de l'activité antibactérienne.....	53
IV.7. 1. 1.1. Méthode de diffusion sur disque.....	53
IV.7. 1. 1. 2. Méthode du contact direct pour la détermination de CMI.....	54
IV.8. Etude de l'activité antifongique	55
IV.8. 1. Provenance des souches fongiques.....	55
IV.8. 2. Tests d'identification des souches fongiques.....	55
IV.8. 2. 1. Identification des genres	55
IV.8. 2. 2. Identification des espèces.....	56
IV.8. 2. 3. Techniques d'études de l'activité antifongique.....	57
IV.8. 2. 3.1. Préparation de la suspension sporale	57
IV.8. 2. 3.2. Evaluation de la croissance radiale sur milieu solide.....	57
IV.9. Etude de l'activité antioxydante.....	59
IV.9.1. Méthodes de réduction du DPPH.....	59
CHAPITRE V : Résultats et interprétations	62
V. 1. Paramètres climatiques	62
V. 1.1. Pluviométrie	63
V. 1.2. Température	63
V. 1. Enquête ethnobotaniques	65
IV. 2. Etude phytochimique.....	69
V. 3. Etude de la composition minérale des plantes.....	70
V. 4. Extraction des métabolites secondaires	73
V. 4. Tests physicochimiques des extraits.....	73
a/ Rendements des extraits	73
b/ pH des extraits	74
c/ Rendement en flavonoïdes.....	75
V. 5. Etude de l'activité antibactérienne	76
IV. 5. 1. Méthode des disques.....	79
IV. 5. 2. Méthode de contact direct pour la détermination de la CMI.....	80
V. 6. Etude de l'activité antifongique.....	84
V. 6. 1. Résultats de la technique de single sport.....	84
V. 6. 2. Résultats de l'activité antifongique.....	87
V. 6. 2. a. <i>Citrullus colocynthis</i>	87
V. 6.2.a.1. Méthode de la croissance radiale.....	87

Table des matières

V. 6.2.a.2. Méthode de la biomasse.....	91
IV. 6. 2. b. <i>Datura starmonium</i>	95
IV. 6. 2. b. 1. Méthode de croissance radiale.....	95
IV. 6.2.b.2. Méthode de la biomasse.....	100
IV. 6. 2. c. <i>Salsola vermiculata</i>	104
IV. 6. 2. c. 1. Méthode de croissance radiale.....	104
IV. 6.2.c.2. Méthode de la biomasse.....	109
IV. 6. 2. d. Activité antifongique des flavonoïdes des plantes étudiées	113
V.7. Etude de l'activité antioxydante	116
IV .7.1. Pouvoir de réduction des extraits testés	116
V .7.1. Pouvoir de réduction des flavonoïdes	119
V.7 .2.4.Valeurs des IC ₅₀	119
V. Discussion	123
<hr/>	
Conclusion générale	137
<hr/>	
Références bibliographiques	140
<hr/>	
Annexe	164
<hr/>	
Publications et communications	168
<hr/>	

Introduction générale

Introduction générale

Depuis la nuit des temps, l'homme a toujours loué les services de la nature pour soulager ses maux ; celle-ci lui a bien rendu à travers la médecine traditionnelle qui se définit selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme étant « l'ensemble de toutes les connaissances et pratiques explicables ou non pour diagnostiquer, prévenir ou éliminer un déséquilibre physique, mental ou social en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation transmise de génération en génération, le plus souvent oralement ou par écrit ». Bien que cette relation ait existé depuis toujours, tous les mystères de la nature ne sont pas encore perçus par l'homme (Ngavoura, 1990).

Les quelques 250 à 300 000 espèces inventoriées de plantes que l'on trouve sur terre, dont seulement 5 à 15% ont fait l'objet de recherche de molécules bioactives, représentent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels. Selon certains auteurs, les composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une très grande diversité de structures chimiques et ils possèdent aussi un très large éventail d'activités biologiques.

L'Algérie, grâce à sa situation géographique, son relief, sa grande variété de climats et de sols, possède une flore variée dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts plateaux, la steppe et oasis sahariennes, renfermant plus de 3000 espèces végétales (Saad *et al.*, 2005).

Dans les régions présahariennes, une grande partie des ressources végétales comme les plantes médicinales sont rencontrées à l'état spontané.

L'usage fréquent de ces plantes par les tradipraticiens et les résultats satisfaisants qui s'en suivent dans certains pays, principalement africains, à mener des réflexions plus poussées par la revalorisation de la phytothérapie (Badiaga, 2012).

Les plantes utilisent différents moyens pour se défendre des agressions de leur environnement que constituent les herbivores, les insectes, les bactéries, les moisissures, les rayons UV, etc. Certains de ces moyens de défense font appel à des composés chimiques qui interagissent avec le métabolisme de l'attaquant. Etant alors intoxiqué et affecté, ce dernier pourrait être découragé de poursuivre son attaque. Certains de ces

composés ont aussi un effet pharmacologique chez l'humain et peuvent donc servir de remèdes, tout dépendant de la dose utilisée (Jérôme bérubé, 2006).

La recherche de composés possédant une activité thérapeutique ne peut toutefois pas être entreprise au hasard compte tenu du très grand nombre d'espèces végétales. Cette démarche doit donc être orientée (Badiaga, 2012).

Dans cette optique, l'étude de la phytochimie fait l'objet de plusieurs projets de recherche pour aider à déterminer les constituants chimiques présents dans les plantes médicinales et ensuite d'étudier les propriétés pharmacologiques des plantes utilisées en médecine traditionnelle et permet donc d'orienter la recherche des composés bioactifs.

Au préalable, un travail de terrain a été effectué et dont le but consiste à mener une enquête ethnobotanique auprès des tradipraticiens et des herboristes.

Le principal objectif de ce projet de recherche visait à valoriser trois plantes sahariennes, *Citrullus colocynthis. L.*, *Datura stramonium* et *Salsola vermiculata* par l'évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante des extraits et des flavonoïdes de ces plantes.

Pour atteindre ce but, plusieurs objectifs spécifiques devaient être réalisés :

- 1) Procéder une étude ethnobotanique suite à une enquête effectuée dans la région de Béchar.
- 2) Faire un criblage phytochimique pour les différentes parties des trois plantes étudiées.
- 3) Analyser la composition minérale et déterminer la teneur en métaux lourds des plantes et des rhizosphères des plantes étudiées.
- 4) Préparer des extraits aqueux et méthanoliques à partir des différentes plantes.
- 5) Extraction des flavonoïdes à partir des plantes étudiées.
- 6) Évaluer l'activité antibactérienne des extraits et des flavonoïdes sur des souches bactériennes Gram-négative et Gram-positive.
- 7) Évaluer l'activité antifongique des extraits et des flavonoïdes sur des souches d'origine alimentaire.
- 8) Évaluer l'activité antioxydante des extraits et des flavonoïdes des plantes étudiées.

Etude bibliographique

Chapitre 01 : Plantes médicinales

Chapitre I : Plantes médicinales

L'usage des plantes en médecine est très ancien. On a même découvert que certains animaux sauvages utilisent instinctivement certaines plantes pour se soigner. Les plantes médicinales font partie du savoir de base de toutes les sociétés humaines (Paul, 2001).

I.1. Définition des plantes médicinales

La Pharmacopée française (X^{ème} édition) donne une définition claire des plantes médicinales : « Les plantes médicinales sont des drogues végétales qui possèdent des propriétés médicamenteuses. Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques » (Pharmacopée Française, 2009).

Une plante est dite médicinale quand elle possède des vertus pour soulager, prévenir ou guérir. Ces vertus peuvent se trouver dans les feuilles, les racines de la plante médicinale, ou parfois dans les trois parties (Descheemaeker, 2010). Elles sont utilisées sous plusieurs formes : en tisane, broyées, en baumes, en huiles essentielles ou en compresses dans différentes applications (Avramov, 2003; Wills *et al.*, 2000).

Elles peuvent être la source de nouvelles molécules candidates biomédicament. Cependant, l'usage des plantes médicinales peut apporter directement des réponses à certains problèmes de santé ; mais avant de pouvoir recommander l'usage de telle ou telle espèce pour une maladie, il est nécessaire de valider l'usage traditionnel qui en fait (Roux et Catier, 2007 ; Sofowora, 2010).

En d'autres termes, il convient d'évaluer scientifiquement l'activité pharmacologique de la plante médicinale retenue et apprécier si celle-ci confirme sa réputation. De plus, il est impératif de vérifier également l'absence de toxicité des plantes employées (Ernst et Pitter, 2005; Faure *et al.*, 2007).

I.2. Intérêt des plantes et domaine d'utilisation

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et dans le domaine de la pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui sont surtout utilisés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semis synthèse (Bahorum, 1997).

L'usage des plantes en médecine est très ancien. Plusieurs chercheurs ont découvert que les animaux sauvages utilisent instinctivement certaines plantes pour se soigner. Les plantes médicinales font partie du savoir de base de toutes les sociétés humaines (Paul, 2001).

La vérité est que la médecine moderne manque cruellement de nouveaux traitements. Il faut plusieurs années pour qu'un nouveau médicament franchisse toutes les étapes de la recherche et de la fabrication qui engendre un coût énorme. Ce qui explique la nécessité des chercheurs et des sociétés pharmaceutiques de trouver de toute urgence des nouvelles sources de traitements, qui se tournent de plus en plus vers la médecine traditionnelle (Shetty, 2010).

En Afrique, en Asie et en Amérique latine, de nombreux pays font appel à la médecine traditionnelle pour répondre à certains de leurs besoins en soins de santé. En Afrique la médecine traditionnelle constitue le premier recours pour près de 80% de la population (OMS, 2002). Ils se tournent de plus en plus vers la médecine traditionnelle (Shetty, 2010).

I.3. Phytothérapie

Il vient de deux mots grecs : phyton (plante) et thérapie (Soigner). La phytothérapie consiste donc à soigner avec les plantes. Ces plantes peuvent être utilisées fraîches ou volontairement séchées (Vaudrauil ,2012).

La phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et /ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes (Wichtl ,2003).

La phytothérapie anti hypertensive connaît de nos jours un essor important et l'utilisation d'extraits de plantes à visée thérapeutique est une pratique courante en médecine traditionnelle africaine. Il s'agit d'une pratique millénaire basée sur un savoir empirique qui s'est transmis et enrichi au fil d'innombrables générations. La phytothérapie, étymologiquement le traitement par les plantes, est une méthode thérapeutique qui utilise l'action des plantes médicinales (Malick, 2006 et Sadok ,2009).

I.4. Les différents types de la Phytothérapie

I.4.1. Aromathérapie

L'aromathérapie est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes (huiles essentielles) substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau (Goeb, 1999 et Maatoug, 1990).

I.4.2. Gemmothérapie

Elle se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules (Guenter, 1975).

I.4.3. Herboristerie

Correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée et l'utilise soit entière, soit une partie de cette dernière (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale (Hostettmann, 1997).

I.4.4. Homéopathie

Elle a recours aux plantes d'une façon prépondérante mais non exclusive ; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale (Kerhar et Adam, 1974).

I.4.5. Phytothérapie pharmaceutique

Utilise des produits d'origine végétale obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide (Yildiz, 2007).

I.5. Avantages de la phytothérapie

N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses telles que la tuberculose (Peyron, 2000).

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus. La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme et, souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite (Bruneton, 1993. Franchomme et Penoel, 1990).

I.6. Toxicité de certaines plantes

Les plantes médicinales étant pharmacologiquement actives elles peuvent être responsables d'effets nuisibles, dangereux voire mortels nécessitant une vigilance continue (Skalli & Soulaymani, 2008).

De même, il ne faut pas utiliser des plantes d'origine douteuse, puisque les facteurs de pollution, la cueillette et les méthodes de conservation, de stockage... peuvent altérer les propriétés des plantes (Sadok, 2009).

I.7. Plantes étudiées

Le Sahara, le plus vaste et le plus chaud des déserts du monde, possède dans sa partie Nord, le Sahara septentrional avec une végétation diffusée et clairsemée. La flore est variée dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts plateaux, la steppe et les oasis sahariennes, dont on trouve plus de 300 espèces végétales spontanées dans la région présaharienne. Une grande partie de ces ressources végétales sont rencontrées à l'état spontané (Askri *et al.*, 2003).

I.7.1. *Citrullus colocynthis*

Est une espèce proche de la pastèque. Elle est fortement tolérante à la sécheresse et se trouve dans de nombreux pays d'Afrique, du Moyen-Orient et d'Asie. La coloquinte possède plusieurs noms vernaculaires comme « hadja, handal, hantel, tifersit, timhididdjit » (Chiali, 1973).

I.7.1.1. Description botanique

C'est une espèce annuelle ou vivace, liane herbacée à tiges angulaires, rampantes ou migrantes, munies de fleurs jaunes verdâtres à sexes séparés, pédonculées, solidaires aux axilles des feuilles. Les feuilles sont larges de 5 à 10cm de longueur, rugueuses et découpées en 3 à 7 lobes.

Chaque plante produit 15-30 fruits appelés gourdes, de 30 cm de diamètre, dont la couleur varie du jaune clair au roux, de pulpe intérieure spongieuse dans laquelle se fixent les graines (Debuigne, 1984; Chiali, 1973).

I.7.1.2. Classification classique

Règne : *Plantae*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Viuolaes*

Famille : *Cucurbitaceae*

Genre : *Cirtullus*

Nom binominal : *Citrullus colocynthis*(L) (Schard, 1838).

I.7.1.3. Origine et répartition géographique

La coloquinte, originaire des soles arides, est très fréquente dans les régions tropicales humides ou modérément sèches. Elle est peu présente dans les zones tempérées (Bruneton, 1996). Elle occupe une région très vaste qui s'étend du Nord-Africain, du Sahara, Egypte, Arabie Saoudite jusqu'en Inde ainsi que la région méditerranéenne (Batanouny *et al.*, 1999 ; John et Cincinnati, 1898).

I.7.1.4. Composition chimique :

La coloquinte est une plante qui contient plusieurs substances chimiques. Chaque organe de cette plante contient des composants chimiques bien définis le tableau 01 représente la composition chimique.

Tableau 01 : Compositions chimiques de la coloquinte.

Partie	Composant	Référence
Graine	19% huile ;13.5% protéine ;2.1% cendre ;52.9% fibre brute ;4.9% Azote libre ;322mg/100g potassium ;119mg/100g phosphore ;3.3mg/100g fer ;Alcaloïde ;glucoside ;Saponosides. Acide gras insaturé ; vitamine E ; poly phénol.	(Sawaya <i>et al.</i> , 1986) (Sebbagh <i>et al.</i> , 2007) (Albareda, 1999)
Pulpe	Quantité importante des composés hémolique et de flavonoïdes ; α -élatérine ; colocynthix ; citrulene ; citrullol ; la colocynthe et la colocynthine ; cociorbitacine A, B.	(Kumar <i>et al.</i> , 2008) (Offonry et Achi, 1998) (Alland, 1994)
Racine	α -élatérine.	(Marzouk <i>et al.</i> , 2009)

I.7.1.5. Effets thérapeutiques

Selon Hartwel, (2002), cette plante est utilisée comme remède pour le cancer. Le carcinome, l'endothélium, la leucémie, les tumeurs du foie et de la rate et même de l'œil. Les expériences de Hollander (2001) montrent que la solution de *Citrullus colocynthis* exerce une action motrice secondaire sur l'utérus et l'intestin du lapin et une action inhibitrice primaire suivi d'une action motrice secondaire sur le cœur de la grenouille (Nations et Nuto, 2002).

En 1995, une équipe de chercheurs d'Emirat Arabes Unis montrent après une étude menée sur 24 plantes, que le *Citrullus colocynthis* a une activité anti-inflammatoire.

D'autre part l'extrait des racines possède une activité antitumorale et anticancéreuse (Benmahdi, 2000).

I.7.1.6. Utilisation traditionnelle

Il y a plusieurs modes d'utilisation :

- *Citrillus colocynthis* est utilisée en dermatologie et contre la chute des cheveux et indiquée pour le traitement du rhumatisme et les piqûres de scorpions (Benmahdi, 2000).
- La coloquinte est très utilisée contre les hémorroïdes en application locale soit seule, soit associée à des feuilles de tabac.
- Les feuilles sont utilisées contre l'hémorragie. Elles sont prescrites pour soulager les douleurs des membres inférieurs, le dos et les articulations (Banarjee et Dandiya, 1967).
- Concernant le traitement du diabète par la coloquinte, plusieurs modes d'utilisation ont été mentionnés :
 - Mettre une graine sous la langue 2 à 3 fois par jour.
 - Fruits frais coupés en tranche utilisés sous les pieds.
 - Préparation d'une poudre à partir de l'épicarpe séché et mélangé avec les aliments en petite quantité (Merzouki *et al.*, 2000).

- *Citrullus colocynthis* est utilisée en tant qu'abortif et pour traiter l'hémorroïdes, les infections bactériennes et le cancer (Kumar *et al.*, 2008).

I.7.1.8. Toxicité de la coloquinte

Sa consommation à des doses plus ou moins importantes peut provoquer divers accidents comme des diarrhées sanglantes et violentes, des douleurs abdominales, des douleurs épigastriques et rénales et une névralgie faciale (Galvez Contreras *et al.*, 1996).

Les feuilles et les fruits sont particulièrement toxiques pour les moutons. La dose de 0,25 à 10 g/kg provoque la mort des animaux en 4 à 5 jours avec difficulté de respiration consécutive à une hémorragie pulmonaire, une entérite, une chute de poils et des diarrhées. Une quantité de 800 mg/kg de l'extrait éthanolique des feuilles de cette espèce est une dose toxique pour les rats et peut entraîner la mort de 60% de ces derniers après 24 heures (Elawad *et al.*, 1984; El Wasfi, 1994).

Les études de la toxicité sur des petits ruminants suggèrent que la consommation du fruit endommage essentiellement le foie, les reins et l'appareil gastro-intestinal (Yaniv *et al.*, 1999).

I.7.2. *Datura stramonium*

Datura stramonium est une des trois solanacées parasympholytiques officinales, avec la belladone et la jusquiame noire (Pelikan, 2003).

Elle possède plusieurs noms vernaculaires comme : chdeq-jmel, Habala, Mandjstramoine, pomme-épineuse, pomme poison ou herbe du diable, herbe à la Taupe (Hans, 2007 ; Murray, 2008).

I.7.2.1. Description botanique

Datura stramonium est une plante herbacée annuelle, rameuse, robuste, pouvant dépasser 1m de hauteur [30cm à 2m] et poussant à l'état sauvage. Sa racine est pivotante, ses rameaux fortement ramifiés et son odeur réputée fétide lui évite d'être consommée, surtout par temps chaud (Goullé *et al.*, 2004 ; Boullard, 2001).

Feuilles alternées, très grandes ovales aiguës profondément sinuées ou découpées en lobes inégaux pointus à face supérieure vert sombre. La face inférieure blanchâtre et marquée par des nervures saillantes à la partie inférieure de la feuille (Beniston, 1984).

Les fleurs sont dressés, courtement pédicellées, souvent solitaires à l'aisselle des feuilles, grandes (5-10 cm) de long, ont un calice (3-5 cm) à 5 dents, tubuleux et anguleux, de couleurs vert pâle (Nabors ,2008; Edouard et al, 2001). La Corolle est tubuleuse (8-10 cm), plissée, évasée en entonnoir ou trompette, de couleur blanche, parfois violacée et rose, comportant 5 plis, se terminant en lobes pointus). 5 étamines incluses. A la période de floraison qui s'étale de juillet à septembre, la fleur et le fruit sont très remarquables et facilement identifiables (Murray, 2008).

Les fruits capsulaires sont ovoïdes, pourvus d'épines, à 4 valves épaisses et qui découvrent une colonne placentaire centrale portant les graines (Ozenda, 2004).

Les graines noires ou brunes, sont très nombreuses environ 400, réniformes et chagrinées, à surfaces réticulée (4-5×2-3×1-5mm) (Kothe, 2007).

I.7.2.2. Classification botanique

Règne : plantae

Division : magnoliophyta

Classe : magnoliopsida

Ordre : *solanales*

Famille : *solanaceae*

Nom binominale : *Datura stramonium*.

I.7.2.3. Habitat

C'est une plante envahissante, naturalisée partout, qui préfère les sables maritimes mais prospères également dans les friches et les décombres et dans les terrains vagues et cultivés. La stramoine pousse en Amérique, en Europe, en Asie et en Afrique du nord (Bruneton, 2005 ; Litzinger, 1981).

I.7.2.4. Composition chimique

Datura stramonium est riche en substances minérales (15-18 %) et en alcaloïdes, flavonoïdes, coumarines et tanins (Berkov *et al.*, 2005).

Toutes les parties de la plante renferment des alcaloïdes : hyoscyamine, atropine et scopolamine (Masson, 2007).

Leurs quantités et leurs proportions varient selon la partie de la plante ainsi que les conditions environnementales [Feuilles : 0.2-0.6% d'alcaloïdes dans les feuilles sèches graines : mêmes alcaloïdes 0.2-0.5%. Fleurs : 0.4%. racine : 0.06-0.3%] (Boullard, 2001).

Datura stramonium présente une teneur totale en alcaloïdes de 0,2% à 0,6% ; le tiers est de la scopolamine ; les deux tiers restants de l'hyoscyamine et de l'atropine. Les jeunes plantes sont plus riches en scopolamine que les plants adultes (Gouille *et al.*, 2004 ; Miraldi *et al.*, 2001).

I.7.2.5. Utilisation

I.8.2.5.1. Effet insecticide

Les alcaloïdes de *Datura stramonium* sont les principales composantes du métabolisme secondaire. Ce sont des produits souvent basiques (gout amer) et plutôt hydrophiles. Ils jouent un rôle de défense contre les doryphores pour le maraichage. Les graines sont aussi utilisées comme raticide ou pesticide contre les chenilles raveuses, les puces, les chiques (Chang *et al.*, 1999).

I.7.2.5.2. Effet médicinale

Datura stramonium était utilisé comme remède naturel (effet antispasmodique et sédatif), pour traiter l'asthme, les quintes de toux de la coqueluche, (notamment sous forme de cigarettes ou à l'aide de feuille, pulvérisées que l'on place sur une plaque chaude et dont on inhale la fumée) (Kothe, 2007).

La stramonium est également appliquée sur la peau pour soulager les douleurs de rhumatisme et des névralgies. Les alcaloïdes dérivés des Tropanes diminuent les sécrétions et décontractent les muscles lisses (Masson *et al.*, 2001).

Son hyoscyamine et sa scopolamine administrée à l'état pur, soulagent les victimes de la maladie de Parkinson du fait de leur action sur les muscles des membres inférieurs via le système nerveux central. Elle entre aussi dans diverses préparations sédatives pour calmer les patients atteints de troubles mentaux (Boullard, 2001).

Elle décontracte les muscles du tube digestif (colique intestinal), ceux des parois des bronches et ceux de la vessie et régularise les sécrétions digestives (Khare, 2003).

I.7.2.6. Toxicité et Symptômes observés

Les premiers symptômes apparaissent rapidement après l'ingestion [10-20 minutes dans le cas d'une infusion] : bouche séchée, troubles visuels, faiblesse musculaire pouvant aller jusqu'à une incapacité à se tenir debout, diminution des sécrétions, vomissement, surexcitation, fièvre (Beniston, 1984 ; Murray, 2008).

Il peut apparaître également des troubles du comportement : à type de désorientation spatio-temporelle ; ce sont eux qui, fréquemment entraînent l'hospitalisation (Parissis et al, 2003).

Dans la plupart des cas, une sécheresse des muqueuses, une mydriase marquée et si la dose est suffisante, une élévation de la température corporelle jusqu'à 39,5°C et plus. La tachycardie est importante, souvent égale ou supérieure à 120 battements par minute, elle peut dépasser 150. L'individu est congestionné, sa face et son cou sont rouges, sa peau chaude et sèche (Strobel *et al.*, 1991).

La sécheresse buccale est provoquée par 0,5 mg d'atropine, la mydriase nécessite 1 mg. Ces symptômes et la tachycardie sont très marqués pour une dose de 2mg et l'intoxication est nette pour des doses de 3 mg à 5 mg (Lan et al, 1990).

Les doses toxiques généralement admises sont 5mg d'atropine et 4mg de scopolamine (adulte). Pour l'enfant, chez lequel le pronostic est plutôt réservé, la dose toxique est évaluée, pour les deux alcaloïdes, à 0,1 mg/kg. Chez l'adulte, la dose létale d'atropine serait supérieure ou égale à 10 mg, celle de la scopolamine supérieure à 2-4 mg (Perrotta et al ,1995).

Il faut également noter que les effets peuvent varier de façon très importante d'un individu à l'autre (Miraldi et al, 2001).

I.7.3. *Salsola vermiculata*

Salsola vermiculata L., est une espèce pastorale très commune dans les zones arides de l'Afrique du Nord et du Moyen Orient. Malgré leur grande aptitude germinative les semences de cette espèce sont caractérisées par une courte longévité. L'étude des caractéristiques germinatives des semences de la variété villosa a montré que son optimum thermique en phase de germination se situe entre 10°C et 25°C. A la température optimale la capacité germinative des semences dépasse 90% au bout de 48 heures. Cette capacité germinative est d'autant plus élevée que les semences sont plus fraîchement récoltées (Benabadji, 1995).

I.7.3.1. Description botanique

Plante annuelle, ligneuse buissonnant à tige herbacée, à odeur fétide et commun dans le Sahara centrale et le Sahara occidentale. Les feuilles sont linéaires, épaisses, rigides, atténuées, de pointe épineuse, sessiles et étroitement imbriquées. La bractée florale est dépourvue de pointe épineuse, ovale lancéolée. Les fleurs sont hermaphrodites ou polygames à deux bractées, un périanthe fructifère blanchâtre à 5 tépales plus petit de 2 à 4mm de diamètre. Chaque fleur porte de 4 à 5 étamines saillante à la floraison. Le fruit est muni d'une aile transversale et entouré par les tépales (l'ensemble simule souvent une corolle brillante). La graine est horizontale et subglobulaire (Qezel et Santa, 1962).

I.7.3.2. Classification classique

Règne : Plantae

Embranchement : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Caryophyllale

Famille : Amaranthaceae

Genre : *Salsola*

Espèce : *Salsola vermiculata*

I.7.3.3. Noms communs : En français elle est appelé Soude vermiculée (Bock, 2011); en arabe Ghassal.

I.7.3.4. Composition chimique et propriétés

Salsola vermiculata est riche en saponosides, flavonoides, chalcones, coumarines, triterpenoides et en glycosides (Wang *et al.*, 2004).

L'utilisation de cette plante est très limitée (elle est utilisée comme savon pour laver le linge chez les nomades) (Ozenda, 1977).

Etude bibliographique

Chapitre 02 : Métabolites secondaires d'origine végétale

Chapitre II : Métabolites secondaires d'origine végétale

Les propriétés thérapeutiques des plantes sont dues à des produits chimiques ou des substances bioactives, les plantes comme les animaux produisent un grand nombre de métabolites primaires qui englobent les lipides, les protéines et les sucres qui sont nécessaires à leurs existences. De plus les plantes médicinales produisent des métabolites secondaires qui ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures la plus parts des métabolites secondaires sont des antibactériens ou antifongiques protègent les plantes contre les champignons, les bactéries, les animaux et les autre plantes (Ernest, 2000).

Les métabolites secondaires sont localisés dans certaines parties des végétaux. Selon l'espèce, ils présentent un grand intérêt économique, dans des domaines aussi divers que la pharmacie, les arômes, les pigments, les additifs alimentaires et les pesticides (Wivecke, 2003 ; Ayad, 2008).

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies (Hartmann, 2007). Ils sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ils sont classés selon leur structure chimique (Cyril, 2001).

II.1. Polyphénols

Le terme polyphénol est introduit en 1980. Il remplace le terme ancien de tanin végétal. De la lignée des grandes familles de molécules largement présentes dans le règne végétal, on retrouve tout un panel de composés phénoliques allant de molécules simples (acides phénoliques) à des molécules complexes (tanins) (Chou *et al.*, 2001).

Ils sont des métabolites secondaires bioactifs d'origine végétale avec un noyau aromatique ou benzoïque auquel sont liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester,...). Ces radicaux libres donnent aux polyphénols des activités antioxydantes (Jean, 2005).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits. Ce sont des pigments, responsables des teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruits (jaune, orange, rouge).

II.1.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales. Les acides phénoliques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbone (Psotová *et al.*, 2005) Les acides phénols ou acides phénoliques ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature. Ils se divisent en deux catégories : les acides phénols dérivés de l'acide benzoïque sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'esters ou d'hétérosides (Haslam, 1994).

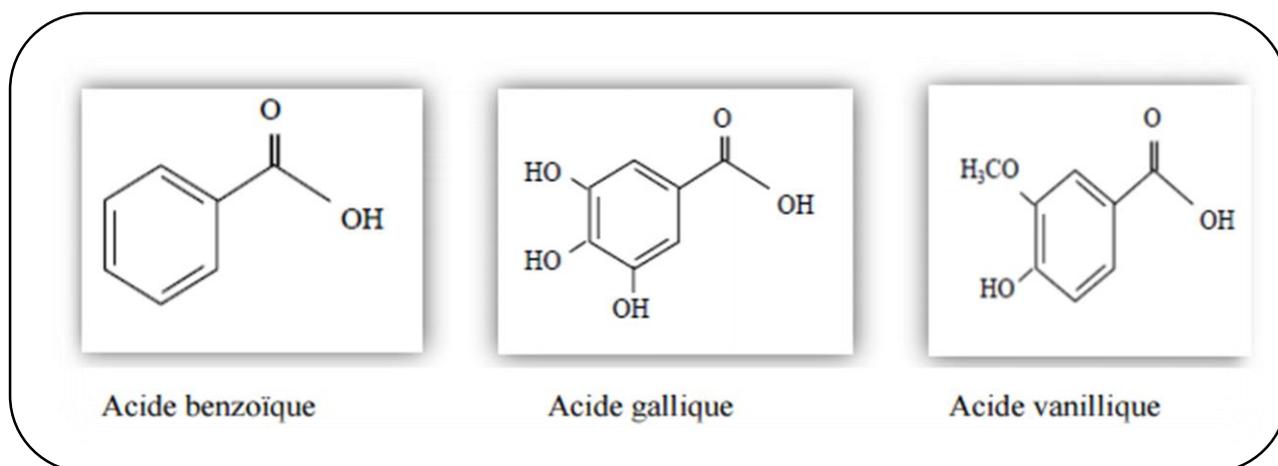


Planche 01 : Exemple de quelques acides phénols de la série benzoïque (Pawlowska *et al.*, 2006 ; Jean 2009).

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide sinaptique (Haslam *et al.*, 1994) dont certains sont représentés dans la planche 02 .

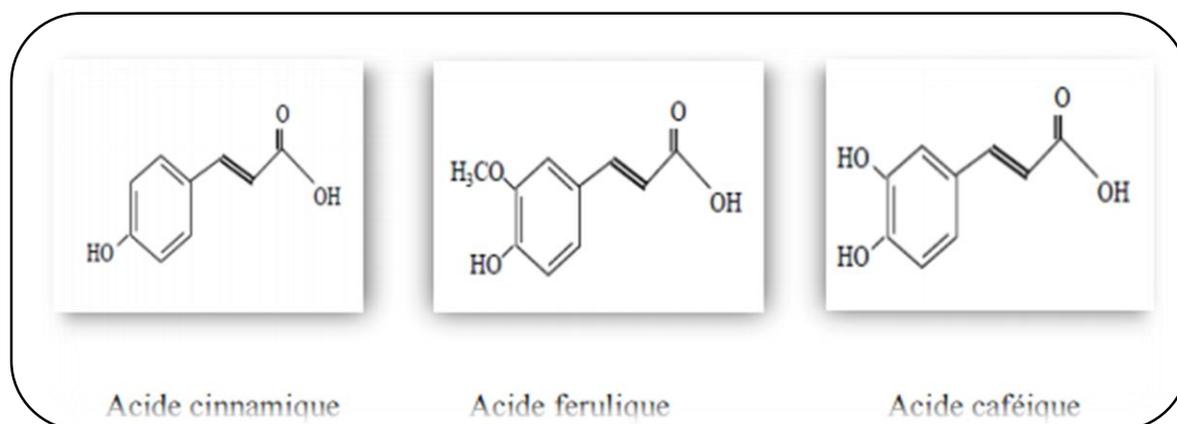


Planche 02 : Exemple de quelques acides phénols de la série cinnamique (Pawlowska *et al.*, 2006; Jean, 2009).

II.1.2. Flavonoïdes

II.1.2.1. Biosynthèse et classes

Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux. Presque toujours hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes. A ce jour, plus de 4000 flavonoïdes naturels ont été décrits (Bruneton, 1999). Les flavonoïdes jouent un rôle important dans le système de défense. Ils sont largement présents dans les fruits, les légumes et le thé. Les flavonoïdes peuvent fonctionner soit comme chélateurs de métaux (quercétine) ; soit capteurs de radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxydes et peroxydes (Souley, 2004).

Flavonoïdes (de flavus, « Jaune » en latin) est le terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes de carbones qui à son niveau le plus simple, consiste en deux cycles phényles, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C6-C3-C6). Le pont en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C (Chebil, 2006). Sur le plan biosynthèse les flavonoïdes possèdent tous le même élément structural de base car ils dérivent d'une origine biosynthétique commune. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose. Les cycles B et C proviennent eux aussi du métabolisme du glucose mais par la voie du shikimate via la phénylalanine qui est convertie en p-coumarate puis en p-coumaroyl CoA.

Le p-coumaroyl-CoA et les 3 malonyls-CoA se condensent en une seule étape enzymatique pour former une chalcone, la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone. Le cycle C se forme par cyclisation de la chalcone, réaction catalysée par la chalcone isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à une seule 2(S)-flavanone : la naringénine. Ce cycle s'hydrate ensuite pour former les différentes classes de flavonoïdes (Lhuillier, 2007) (Figure 01).

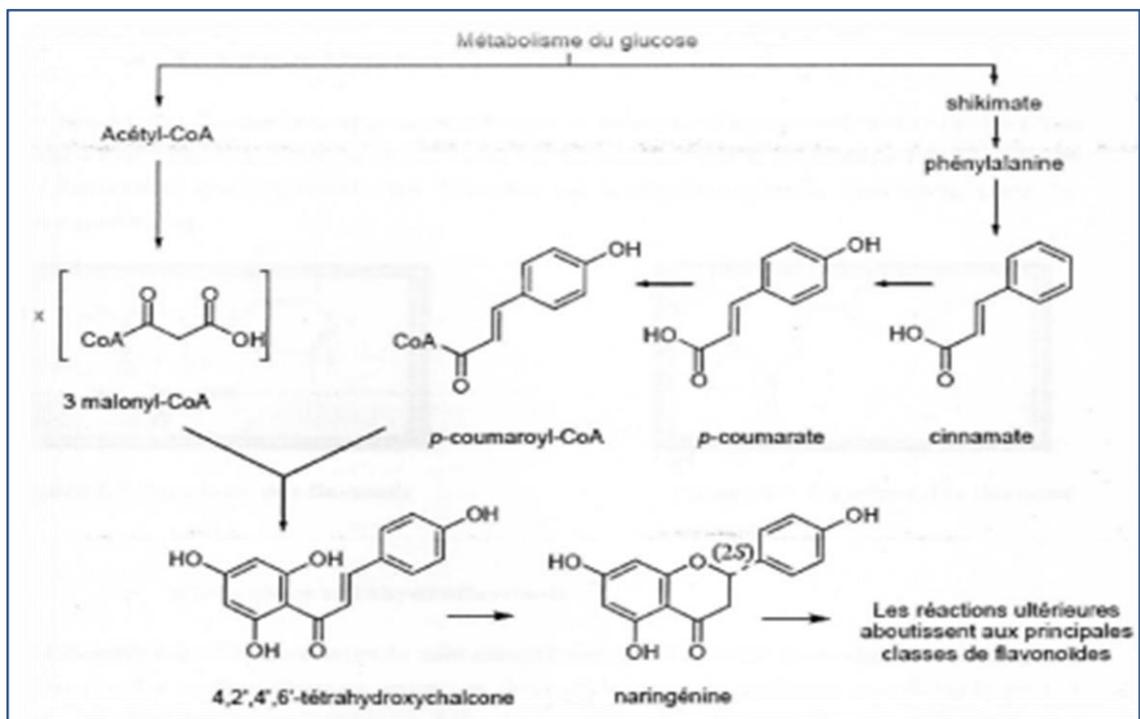
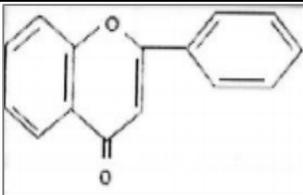
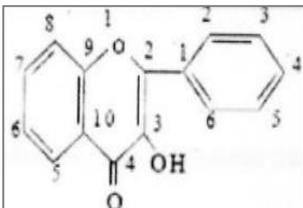
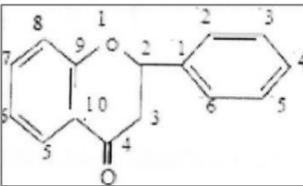
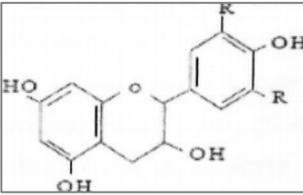
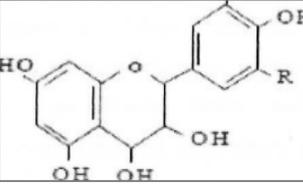
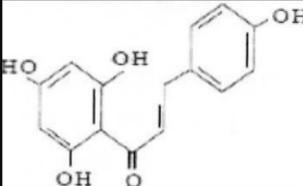


Figure 01 : Biosynthèse des flavonoïdes (Lhuillier, 2007).

Selon la structure et le degré d'oxydation de l'hétérocycle ; les flavonoïdes peuvent être classés en plusieurs classes (Labé, 2008)

Tableau 02 : Différentes classes des flavonoïdes (Jean, 1999; Adjadj, 2009).

Classes	Squelettes	Nom
Flavones et Flavanols		Figure02 : squelette du flavone
		Figure03 : squelette du flavanol
Flavanone et dihydroflavanols		Figure04 : squelette du flavanones
Flavan-3-ols, Falavan-3-4-diols et anthocianidols		Figure05 : squelette du Flavan-3-ols
		Figure06 : squelette du falavan-3-4-diols
Chalcons et aures		Figure07 : squelette du chalcon

II.1.3. Tanins

Les tanins sont des polymères phénoliques qui constituent un groupe des composés et qui ont une la capacité de lier et précipiter des protéines. Ils sont un mélange de glucosides et de proanthocyanidine et sont subdivisées en deux groupes :

a) Tanins hydrolysables

Ce sont des esters de glucoses ou d'acide phénols, sont constitués d'un noyau central -le glucose- et de chaînes latérales conduise à des molécules ramassées plus rigides (Wilfred, 2006).

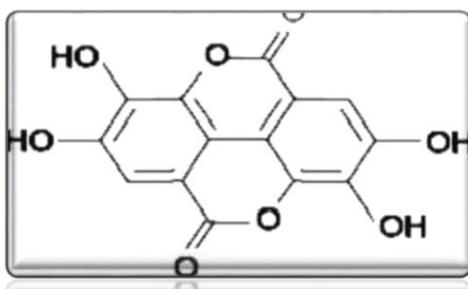


Figure 08 : Structure chimique des tanins hydrolysables (Adigun *et al.*, 2001)

b) Tanins condensés

Les tanins condensés, appelés aussi polyphénols ou proanthocyanidine, sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols (Bessas, 2008 ; Mellouk, 2009).

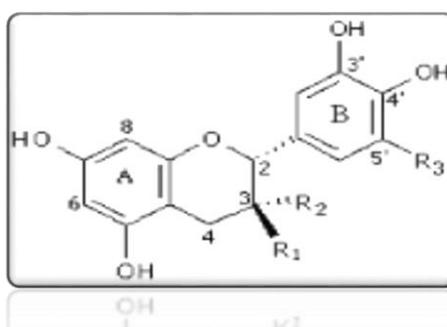


Figure 09 : Structure chimique des tanins condensés (Bessas, 2008).

II.1.3. Coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipentis odorata* Wild., Fabaceae) d'où fut isolée en 1982 la coumarine (Jean, 1999). Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (Ford *et al.*, 2001).

Elles sont solubles dans les alcools et dans les solvants organiques tels que l'éther ou les solvants chlorés avec lesquels on peut les extraire. Les formes hétérosidiques sont plus ou moins solubles dans l'eau. Ces molécules possèdent la structure de base suivante (Bruneton, 1999).

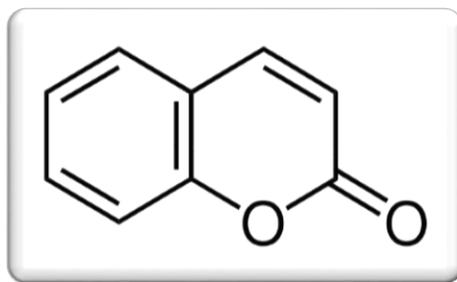


Figure 10 : Structure des coumarines (Bruneton, 1993)

II.2. Alcaloïdes

Le terme alcaloïde a été introduit pour la première fois par le pharmacien allemand (Bruneton, 1999). Les alcaloïdes représentent un groupe très vaste de métabolites secondaires avec structure, distribution et activités biologiques diverses (Milcent et Chau, 2003). Ils sont extraits en majorité (15%-30%) des plantes à fleurs (Kapoor, 1995).

Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés, basiques, d'origine naturelle, liquides, entraînés par la vapeur d'eau si leur structure ne comporte pas d'oxygène ; ils sont solides et cristallisables, notamment sous forme de sels dans le cas contraire (Bruneton, 2003).

Ils sont généralement synthétisés dans les tissus périphériques des plantes, puis sont stockés dans des compartiments tels que les vacuoles. La régulation de la synthèse de ces alcaloïdes, qui peut s'exercer au niveau de l'expression enzymatique, est dépendante du stade de différenciation. Leur rôle dans les plantes est assez peu connu. Certains pourraient intervenir dans les relations de défense plantes-prédateurs (Wichtl et antone, 2003).

Il y a plus de 10000 alcaloïdes connus dont on distingue 3 classes (Bruneton, 1999).

- **Alcaloïdes vrais** : ils existent à l'état de sels et sont formés à partir des acides aminés (Bruneton, 1993).

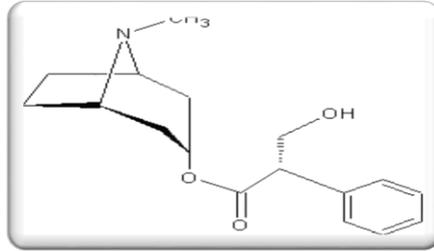


Figure 11 : Structure d'Hyoscyamine (Tadeusz, 2007)

- **Pseudo alcaloïdes** : ils ne dérivent pas d'acides aminés (Bruneton, 1993).

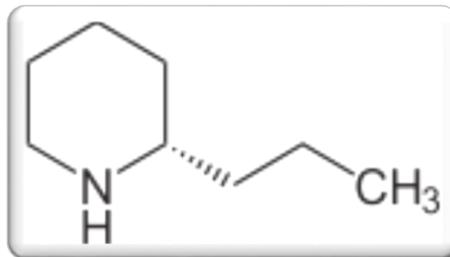


Figure 12 : Structure de Conine (Bruneton, 1993)

- **Proto alcaloïdes** : Ils ont un caractère basique et sont élaborés à partir d'acides aminés (Bruneton, 1993).

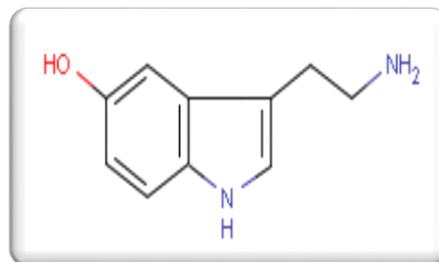


Figure 13 : Structure de Sérotonine (Bruneton, 1993)

Les alcaloïdes en raison de leurs propriétés toxiques ou médicamenteuses, ont toujours présenté pour le pharmacien un intérêt exceptionnel (caféine, cocaïne...) (Guignard et Consson , 2000).

II.3. Saponosides

Les saponosides sont des métabolites secondaires hétérosidiques composés d'une partie hydrophobe (aglycone) et d'une partie hydrophile osidique. Ils ont un radical glucidique (glucose, galactose) attaché avec un radical aglycone.

Ils se caractérisent également par des propriétés tension actif et ont un pouvoir hémolytique.

Ces molécules attachées avec les cholestérols forment un complexe qui est du à la formation des pores qui entraînent à l'altération au niveau de la membrane des globules rouges (lyse cellulaire) (Chwalek, 2004).

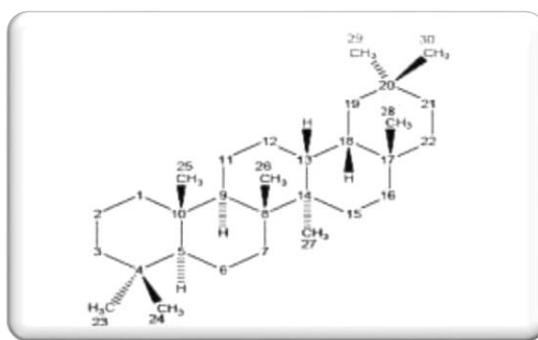


Figure 14 : Structure chimique de Géninestéroïdique (saponoside) (Katerere, 2003).

II.4. Terpènes et stéroïdes

Les terpènes et les stéroïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux. Aujourd'hui il y a 20000 différents métabolites terpéniques connus et sont classés selon leur nombre d'atomes de carbone en monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, sesterpènes, triterpènes et tetraterpènes (Bruneton, 1993, Dorothea, 2006).

II.5. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges très complexes de substances volatiles aromatiques obtenues à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation ou par expression. Du point de vue chimique, il s'agit de mélanges extrêmement complexes.

Les huiles essentielles (HE) sont constituées de différents composés : terpènes, esters, cétones, phénols et d'autres éléments (Benayad, 2008)

Les huiles essentielles des plantes sont très recherchées car elles sont généralement dotées de propriétés biologiques intéressantes. Certaines ont des propriétés pharmaceutiques reconnues, d'autres sont utilisées comme bases de parfums ou comme additifs alimentaires. La qualité des huiles essentielles dépend d'un grand nombre de paramètres d'origines différentes tels que : l'origine botanique, le cycle végétatif, le site producteur et les conditions géographiques et climatiques (Merghache & al ,2009).

Etude bibliographique

Chapitre 03 : Activités biologiques des substances végétales

Chapitre III : Activités biologiques des substances végétales

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques car elles contiennent des métabolites secondaires qui agissent directement sur l'organisme (Iserin, 2001).

Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : parmi lesquels, les composés phénoliques, les terpènes, les stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités biologiques (Ali *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2007)

III.1. Intérêts biologiques des substances bioactives

III.1.1. Polyphénols

Parmi les nombreux intérêts qu'offrent les polyphénols à la santé, nous pouvons citer :

a. Activités antioxydantes : La principale caractéristique des polyphénols est qu'ils sont des agents antioxydants très puissants (Oszmianski *et al.*, 2007). En effet, ils sont capables de piéger les radicaux libres et d'activer les autres antioxydants présents dans le corps. Cette même activité antioxydante permet aux polyphénols de réguler les radicaux bon ou mauvais (parfois les deux), comme l'oxyde nitrique qui favorise une bonne circulation sanguine, coordonne l'activité du système immunitaire avec celle du cerveau et module la communication entre les cellules de ce dernier (Srivastava *et al.*, 2000; Kenny *et al.*, 2007).

b. Activités anticancéreuses : Les substances polyphénoliques sont capables d'activer les mécanismes naturels de la défense anticancéreuse. En effet, les premiers stades de la phase d'initiation cancéreuse peuvent être bloqués par la capacité des tissus cibles à intercepter et à métaboliser les agents mutagènes. Des cellules impliquées, comme les hépatocytes, synthétisent des enzymes dites de phase I (notamment des monooxygénases, telles que les cytochromes P-450) qui peuvent oxyder les substances mutagènes hydrophobes en produits constituant le substrat des enzymes de phase II (glucoronyl transférases, sulfotransférases...).

Ces dernières convertissent leurs substrats en espèces hydrolysables facilement excrétées hors des cellules (Jhonson, 1999).

c. Prévention des maladies cardiovasculaires : En effet, la consommation des polyphénols favorise la protection contre les altérations cardiaques et vasculaires (Martin et Andriantsitohaina, 2002). Au niveau des artères, ces molécules préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) évitant ainsi l'artériosclérose (Yamanaka, 1996). Les polyphénols inhibent aussi l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui induit l'occlusion des artères (Rein *et al.*, 2000).

d. Prévention contre les maladies hormono-dépendantes : L'exemple le plus important est la prévention contre l'ostéoporose. Ceci en modulant la réponse aux œstrogènes endogènes. Certains polyphénols (isoflavones) ont une structure chimique proche des œstradiols, ce qui leur permet de se fixer sur les récepteurs des œstrogènes, provoquant finalement une régénération rapide des tissus, tous tissus confondus (os, muscle, ...) (Gerber et Berta, 2006). Aussi, les effets bénéfiques des polyphénols (lignanes en particulier) dans la prévention de cancers hormono-dépendants ont été largement documentés ces dernières années par des études épidémiologiques identifiant une relation entre la présence de lignanes dans la ration alimentaire et le taux d'incidence de certains cancers (Lainé *et al.*, 2007).

III.1.1.1. Acides phénoliques

Ils sont considérés comme des substances phytochimiques avec des effets prébiotiques, antioxydants, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est faible et sont considérés comme non toxiques. Pharmacologiquement, le mieux caractérisé est l'acide caféique (Psotová *et al.*, 2003). L'acide férulique empêche l'apparition du cancer des poumons chez les souris, l'acide gallique empêche l'apparition du cancer oesophagien chez les rats (Hal, 2003).

Les acides phénoliques comme l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide é gallique, sont capables de réduire la surface des lésions gastriques produites par l'andométhacine chez les rates (Funatogawa *et al.*, 2004; Ruggiero *et al.*, 2006).

III.1.1.2. Flavonoïdes

Beaucoup des flavonoïdes ont des actions antiallergiques, antivirales et certains fournissent une protection contre les maladies cardiovasculaires (Narayana *et al.*, 2001).

a. Activités antimicrobiennes : L'activité antimicrobienne des flavonoïdes a été démontrée par de nombreuses études. Cette activité est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes (Ulanowska *et al.* 2006).

a.1 Activités antibactériennes : Les flavonoïdes ont une activité antibactérienne très vaste et très diversifiée. En effet, ils s'attaquent à un grand nombre de bactéries avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème dans lequel il se trouve : les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries : *Staphylococcus aureus* (Babayi *et al.*, 2004), *Escherichia coli* (Ulanowska *et al.*, 2006), *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Heliotropium sinuatum*, *Proteus mirabilis* ... etc. (Didrak 1999, Modak 2001, Okigbo *et al.*, 2005).

Chaque composé agit spécifiquement sur un ou plusieurs germes. Exemple : sur plusieurs bactéries testées, l'apigénine a montré une forte activité contre toutes les souches testées et une faible activité contre *Staphylococcus aureus*. Au contraire, la galangine n'a donné une activité que sur *Staphylococcus aureus*, les autres microorganismes se sont avérés résistants contre cette molécule (Basile *et al.*, 1999, Cushnie, 2003, Martini *et al.*, 2004).

a.2 Activités antifongiques : Les flavonoïdes ont une activité antifongique très puissante. L'une des études les plus importantes sur cette activité est celle d'Ortuno et ses collaborateurs (2006) qui ont démontré l'activité des flavanones glycosides et des polyméthoxyflavones extraites de *Cirtus parasidi* et de *Cirtus sinensis* sur *Penicillium digitatum*.

Batawita et ses collaborateurs (2002), dans leur étude sur les flavonoïdes de *Conyza aegyptica* L., ont aussi démontré que ces molécules ont une action fongicide et fongistatique sur différents agents de mycoses : *Microsporium canis*, *Microsporium gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* et *Candida zeylanoïdes*. Néanmoins, les études portées sur l'activité antifongique des flavonoïdes restent encore insuffisantes du fait de la grande hétérogénéité des moisissures et des levures.

a.3 Activités antivirales : Les flavonoïdes sont aussi connus pour leur activité antivirale, principalement contre le rétrovirus HIV responsable du symptôme d'immunodéficience acquise (SIDA), le virus d'influenza, le virus de l'herpès (HV), l'adénovirus (ADV) et le virus de la grippe A (Spedding *et al.*, 1989, Choi *et al.*, 2009). Certains chercheurs (Spedding *et al.*, 1989) ont d'abord suggéré que ces polyphénols agissaient comme inhibiteurs de la transcriptase et/ou la transcriptase reverse de l'agent viral et de l'ADN et l'ARN polymérase de la cellule hôte ; bloquant ainsi tout le processus infectieux. D'autres travaux plus récents ont ensuite démontré que les flavonoïdes inhibaient plus exactement la synthèse de l'ARNm viral (Choi *et al.*, 2009). Ceci impliquait que les flavonoïdes n'intervenaient pas dans l'absorption des agents viraux mais plutôt à un stade plus avancé impliqué dans la réplication virale.

b. Activité protectrice sur l'ADN : Les flavonoïdes peuvent protéger l'ADN contre les dommages qui sont provoqués par les rayonnements UV (Koostra, 1994).

c. Activités antiprolifératives : Les flavonoïdes ont montré un effet antiprolifératif sur plusieurs variétés de cellules néoplasiques humaines telles que les cellules de la leucémie lymphoïde et myeloïde (Larocca *et al.*, 1990) ; les cellules cancéreuses ovariennes et gastriques (Scambia *et al.*, 1990) et les cellules cancéreuses de la prostate (Peterson et Barnes, 1993). Ils peuvent effectuer plusieurs activités enzymatiques et / ou régler l'activité d'autres enzymes qui peuvent jouer un rôle critique dans la prolifération et la croissance des cellules (Marin *et al.*, 2002).

d. Activités sur les parois vasculaires : Ghedira (2005) rapporte que l'ingestion des flavonoïdes d'origine alimentaire a été associée à une réduction considérable de la mortalité liée aux maladies cardiovasculaires. Il cite aussi qu'une étude faite sur 805 sujets de sexe masculin menée aux Pays-Bas a mis en évidence une corrélation négative entre la prise de flavonoïdes d'origine alimentaire et les maladies cardio-vasculaires.

Les flavonoïdes exercent un effet sur l'agrégation des plaquettes qui bloquent la microcirculation et mènent à la pathologie vasculaire (Marin *et al.*, 2002).

e. Activités anti-allergiques : Les flavonoïdes inhibent les enzymes telles que l'AMPc phosphodiesterase et ATPase Ca^{2+} -dépendante responsable de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles (Favier, 2003).

f. Activités anti-inflammatoires : Les flavonoïdes telles que la cathéchine et la galangine inhibent de façon modérée la cyclooxygénase, tandis que l'apégénine et la phlorétine diminuent l'activité cyclooxygénase et inhibent l'agrégation plaquettaire (Girotti-chanu, 2006).

g. Activité anti-ulcéreuses : Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques (Baggio *et al.*, 2007).

h. Activités lipolytiques : La génistéine augmente significativement la lipolyse. Le pycnogénole stimule la lipolyse et inhibe la lipogénèse (Girotti-chanu, 2006).

III.1.1.3. Tanin

A cause de leurs effets astringents, les tanins sont très utiles quand il y a trop de sécrétion (les bronchites ; les diarrhées ; les plaies saigneuses). Les plantes a tanins sont très utilisées en tant que vulnéraires (plaies, blessures....) car elles permettent aux plaies de se renfermer (Samaya 2006).

a. Inhibition des enzymes : L'une des conséquences directes de la capacité des tannins à complexer les protéines est l'inactivation des enzymes soit directement par fixation aux sites actifs, soit indirectement par l'encombrement stérique créé par la fixation des molécules de tannins sur l'enzyme (Zimmer et Cordesse, 1996).

b. Activité antioxydante : De nombreux tannins présentent des propriétés antioxydantes par le piégeage des radicaux libres ou encore par l'inactivation des ions pro-oxydants (Bruneton, 1999; Feucht et Treutter, 1999; Hässig *et al.*, 1999; Lim *et al.*, 2007). Grâce à leurs fonctions phénoliques qui ont un fort caractère nucléophile, les tannins sont d'excellents piègeurs de radicaux libres. Les radicaux libres, tels le fer et le cuivre sous forme libre sont des espèces chimiques instables et très réactives. Ils s'attaquent à l'ADN et perturbent le processus de réplication induisant des mutations cancérigènes. Ainsi, des activités antimutagènes et anticancéreux ont été attribuées à certains tannins en raison de leur propriété anti-oxydante (Chung *et al.*, 1998; Jung et Ellis, 2001; Richelle *et al.*, 2001).

c. Effet antiseptique : L'activité antiseptique des tannins a été largement décrite. Certaines drogues à tannins présenteraient des effets antimicrobiens (Chung *et al.*, 1998; Bruneton, 1999 ; Hatano *et al.*, 2005; Song *et al.*, 2006), antifongiques (Baba Moussa *et al.*, 1999; Bruneton, 1999) ou antiviraux (Chung *et al.*, 1998; Yamaguchi *et al.*, 2002; Song *et al.*, 2005). Néanmoins, les applications actuelles en thérapeutique restent restreintes (Bruneton, 1999).

III.1.1.4. Coumarines

Les coumarines sont des molécules biologiquement actives ; elles manifestent diverses activités : anti-agrégation plaquettaires, anti-inflammatoires, anticoagulantes, antitumorales, diurétiques, antimicrobiennes, antivirales et analgésique (Ojala et *al.*, 2000; Chen et *al.*, 2004).

La coumarine, connue pour ses propriétés anti-œdémateuses, a fait l'objet d'études cliniques chez des patients atteints de cancers avancés : elle est immunostimulante et développerait une activité cytotoxique (Bruneton, 1999).

III.1.2. Saponosides

Les saponosides facilitent la pénétration des autres substances au niveau de la peau et au niveau de l'intestin et aussi au niveau de toutes les muqueuses. Elles dissolvent les graisses et par voie de conséquence, elles sont irritantes (Samaya, 2006).

a. Activités antimicrobienne et antivirale : Un bon nombre de saponosides assure la défense du végétal contre l'attaque microbienne ou fongique (Hanort, 2004 ; Garcez et *al.*, 2003). Cette manifestation serait aussi caractéristique de l'effet hémolytique et le pouvoir complexant des saponosides qui s'exercerait sur les stéroïdes de la membrane des champignons. Ils ont également des propriétés anti-inflammatoires, anti-œdémateuses, antitussives et analgésiques (Chwalek, 2004; May, *al.*, 2001).

Mothana et Lindequist (2005) ont signalé une activité antimicrobienne des extraits chloroformique et méthanolique de la résine de *Dracaena cinnabaride* l'île de Soqotra contre *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (ATCC 6059), *Micrococcus flavus* (SBUG 16) et *Escherichia coli* (ATCC 11229). Mothana et *al.*, (2006) ont également signalé une activité antivirale de l'extrait méthanolique de la résine de *D. cinnabari* contre le virus de l'herpès simplex et le virus de la grippe humaine.

b. Activités cytotoxique et antitumorale : Les saponines isolées des espèces de la famille des raliaceae ont également présenté des propriétés cytotoxiques sur les cellules cancéreuses. Une nouvelle saponine isolée des écorces des racines d'*Aralia dasyphylla* Miq (Araliaceae) par Xiao *et al.*, 1999 a montré une activité cytotoxique significative sur les cellules KB et HeLa-S3 avec des valeurs d'IC50 de 1,2 g/ml pour les cellules KB et de 0,002 g/ml pour les cellules HeLa-S3 (Guy, 2010).

c. Activités analgésique et anti-inflammatoire : Deux nouvelles saponines furent isolées par Moharram *et al.*, (2007) à partir des feuilles de *Dracaena ombet* à une dose élevée, de 30 mg/kg, la fraction riche en saponines de ces feuilles montra des activités analgésiques et anti-inflammatoires significatives tandis qu'à la même dose aucune activité antiulcéreuse n'a été notée.

III.1.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes ont en général une activité biologique qui leur permet d'être un composant de nombreux médicaments comme principe actif (Davis, 2006).

Les plantes utilisent les alcaloïdes pour la plupart d'entre elles dans leur système de défense contre les herbivores car ces composés sont toxiques (Guette, 2006).

Les alcaloïdes agissent directement sur le système nerveux avec des effets sur la conscience et la motricité. L'action sur le système nerveux peut aller jusqu'à une action antispasmodique, mydriatique, anesthésique locale ou analgésique et narcotique (Hartmann et Witte, 1995 ; Scouller, 2006).

La spartéine isolée de *Cytisus scoparius* est très toxique mais le sel de sulfate correspondant est utilisé en médecine comme agent stimulant du rythme cardiaque. Elle est également utilisée pour provoquer la contraction de l'utérus au cours de l'accouchement (Dwoskin et Crooks, 2002).

III.1.4. Terpènes et stéroïdes

Beaucoup de terpènes servent comme des additifs dans les industries alimentaires et cosmétiques (Tsao et Coats, 1995) et plusieurs d'entre eux possèdent des activités biologiques, anti-microbienne, insecticide, anti-carcinogène, anti-inflammatoire (Murakami *et al.*, 2004 ; Griffin, 1999), anesthésique et anti-histaminique (des mono et sesquiterpènes), diurétique (β -eudesmol) (Velicković *et al.*, 2003 ; Hsiou *et al.*, 2000), neuroprotective (α -terpinène, γ -terpinène, et trans-caryophyllène) (Hyun et Hyang ; 2007). On peut citer également les propriétés anti-tumorales et cytotoxiques des diterpènes (taxol), et des activités anti-oxydantes attribuées surtout aux diterpènes phénoliques (Hill, 1993 ; Valdés, 1994).

Partie expérimentale

Chapitre 04 : Matériels et méthodes

Chapitre IV : Matériel et méthodes

Dans le but de valoriser les plantes médicinales et aromatiques du sud algérien en vue leur impact sur notre santé par leur richesse en substances a propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et antiradicalaires, une enquête ethnobotanique, un criblage phytochimique, ainsi qu'un dosage biochimique des flavonoïdes de trois plantes *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium* et *Salsola vermiculata* ont été effectués dans ce travail.

Les analyses ont été réalisées au laboratoire de recherche de la biologie Valorisation des ressources végétales et sécurité sanitaires des aliments des zones semis aride du sud-ouest de l'Algérie à l'université de Béchar et au laboratoire de recherche de chimie à l'université KADI AYAD à Marrakech.

IV.1. Présentation de la zone d'étude

La région sud-ouest de l'Algérie est composée de cinq wilayas qui sont la wilaya d'Adrar, Béchar, Tindouf, Naàma et Bayadh. Chaque wilaya à sa spécificité géologique, hydrologique et hydrogéologique (Lefkir, 2005).

La wilaya de Béchar (figure 15) avec une superficie de 5050 km² et une densité de 31,44 hab/km² situé à 1200 km au sud-ouest de la capitale Alger. Elle est limitée au Nord par la wilaya de Naàma, à l'Ouest par l'état du Maroc, au Sud par la wilaya d'Adrar, et Tindouf, au Sud-ouest et à l'Est par la wilaya d'El- Bayadh. Elle est divisée en 21 communes, elle compte en 2007 une population de 187107 habitants essentiellement concentrée au niveau de la commune de Béchar, presque 62% de la population totale de la wilaya (Lefkir, 2005).

➤ Aperçu Pédologique

Le sol qui caractérise notre station est un sol sableux qui composé de 70 à 80% de sable ou de silice, avec les caractéristiques suivantes :

- C'est un sol léger sans résistance particulière.
- Il se réchauffe rapidement quand il fait chaud.
- Il est très perméable, il se dessèche donc facilement.
- Il est en général pauvre en élément fertilisants.
- Il est de tendance acide (Margulis, 1963).



Figure 15 : Carte géographique de la Wilaya de Béchar (Clement, 2007).

➤ Aperçu géomorphologique

Cours d'eau et relief

La Saoura est constitué à partir de l'Oasis d'Igli bâtie au pied des dunes du grand erg occidental (massif dunaire) par la confluence de l'oued Zouzfana, oued désertique à crues rares en provenance des montagnes des Ksour entre Figuig et Béni-Ounif, et l'oued Guir, rivière torrentielle à crues fréquentes qui reçoit les eaux du grand atlas oriental dans la région au Nord de Boudenib et Bouanan (Chavillon, 1964 in Boulenoir, 2015).

Plus de 80% de la surface totale de la zone à une altitude comprise entre 420m et 580m, avec une altitude moyenne de 535.5m ce qui montre que la zone d'étude présente une topographie plutôt plate. Elle est surtout caractérisée par des reliefs faibles (Chavillon, 1964 in Boulenoir, 2015).

Le grand erg occidental est constitué de chaîne de dune de sable, d'altitude variant de 40 à 100m. La partie sud présente des dunes plus massives et plus hautes (Conrad, 1969) ;

Les formations quaternaires occupent de très grandes surfaces. Ces formations constituent le sommet de la petite Hamada, des terrasses alluviales, des encroutements de calcaires, des ergs, des alluvions récentes d'oued, de sebkhas des dépôts de pente.

La vallée de la Saoura est attachée aux monts de l'Ougarta, elle s'étend en lisière depuis Igli jusqu'au Foug Khneg, au sud de Karzaz, bordée à l'est par le grand Erg occidental, tandis que vers l'ouest, elle est limitée par la Hamada de Guir et les reliefs orientant cette chaîne (Paryen, 1952 in Boulenoir, 2015)

Donc le territoire de la wilaya de Béchar est formé de cinq (5) principaux reliefs :

- Les montagnes : elles sont dénudées et parfois élevées, Citons Djebel Antar (1953m), Djebel Grouz (1.835m) et Djebel Béchar (1206 m).
- Les Vallées : ce sont des dépressions façonnées par les cours d'eau importants. Les principales sont celles de la Zouzfana, du Guir et de la Saoura.

- Les Regs (Hamada) : ce sont de vastes étendues rocailleuses. Les plus importantes sont celles de Guir et Daoura.

- Les ergs : ils représentent des massifs dunaires pouvant atteindre jusqu'à 300 m de hauteur. Les ergs existants portent le nom de Grand Erg Occidental, Erg Erraoui, Erg El Atchane, et l'Erg Iguidi.

- Les Oueds : six principaux oueds sillonnent la wilaya. Du Nord au Sud on rencontre Oued Namous, Oued Zouzfana, Oued Béchar, Oued Guir, Oued Saoura et Oued Daoura.

➤ **Aperçu climatique**

Cette région constitue un point de liaison entre les hauts plateaux et le grand Sahara ; elle a un climat Saharien, pendant l'hiver la température varie de 0° à 25°C et pendant l'été, elle peut dépasser les 40°C (Schnack, 2005).

Elle se situe dans l'étage semi-aride à hiver froid avec une pluviométrie annuelle moyenne dont le maximum est de 12mm apparaît au mois de Novembre, le minimum est en Juillet avec 0,39mm, la précipitation moyenne annuelle est de 72,97mm, à l'exception de la période de crue qu'a connu la ville de Béchar en octobre 2008 où les précipitations ont dépassé 100mm. La saison pluvieuse s'étend du mois d'octobre au mois de mars, avec un maximum en novembre (Lefkir, 2005).

IV.2. Récolte des plantes

Les espèces spontanées *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium* et *Salsola vermiculata* ont été récoltées dans leur habitat naturel dans la ville de Béchar, *Citrullus colocynthis* a été récolté de 20km du chef-lieu, le mois de Novembre 2011, *Datura stramonium* de oud Béchar durant le mois de Septembre 2012 et *Salsola vermiculata* de Kénadsa le mois d'Octobre 2011(Planche 3).

Le matériel végétal récolté est ensuite séché à l'ombre, la durée du séchage varie entre les espèces sélectionnées et même entre les parties de la même espèce. Une fois séchée, la matière végétale a été réduite en poudre à l'aide d'un mortier, puis conservée à une température de 25° C.



Planche 03 : Photos originales prises entre 2011 et 2013 des différentes parties des plantes étudiées

a : Fruits de *C. colocynthis* ; b : Fleur de *Citrullus colocynthis* ; c : Grains de *C. colocynthis*
 d : Feuilles et tiges de *C. colocynthis* ; e : Fruits et grains de *D.stramonium* ; f : Feuilles de
D.stramonium ; g : Fleurs de *D.stramonium* ; h : *Salsola vermiculata* ;
 i : Fleurs de *Salsola vermiculata*

IV.3. Etude ethnobotanique

A l'aide de 656 fiches questionnaires (Annexe I), les enquêtes ethnobotaniques sur le terrain ont été menées dans la période allant de Septembre 2011 au Mai 2014.

Les fiches questionnaires sont destinées aux herboristes et aux gens âgés résidants dans la wilaya de Béchar. Les fiches du questionnaire ont été traitées par le logiciel SPSS pour une étude statistique.

IV.4. Etude phytochimique

IV.4.1. Criblage phytochimiques

Cette partie consiste en une étude phytochimique des feuilles de *Datura stramonium*, les feuilles et les fruits de *Citrullus colocynthis* et les feuilles de *Salsola vermiulata* pour la mise en évidence des principaux phytoconstituants (flavonoïdes, saponosides, stérols, stéroïdes alcaloïdes, tanins).

Le criblage phytochimique des plantes a été établi suivant la procédure standard, décrite par Harbone, 1998.

IV.4.1.1. Mise en évidence des alcaloïdes

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant, on met 3g du matériel végétal et 30 ml d' HCl dilué, on porte l'ensemble à reflux pendant 15mn, puis on filtre le mélange.

On ajoute l'ammoniaque (NH₃) pour alcaliser l'extrait acide jusqu'à l'obtention de pH=9-10. On extrait la solution trois fois avec 20ml de CHCl₃ et on évapore la phase organique à l'aide d'un rotavapeur (Büchi Rotavapor R-215), puis, on ajoute 2 ml de HCl dilué.

Enfin, on traite la solution avec quelques gouttes de réactif de Mayer, l'apparition d'un précipité blanc marque la présence des alcaloïdes.

IV.4.1.2. Mise en évidence des saponosides

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant, on place 5 g de matériel végétal en présence de 50 ml d'eau distillée. On porte l'ensemble à reflux pendant 30mn, puis, on filtre le mélange.

Après refroidissement, on met 6ml de la solution dans un tube à essai, puis, on agite fortement pendant 30 secondes, et on laisse reposer 15 secondes puis on mesure la hauteur de la mousse.

IV.4.1.3. Mise en évidence des tanins

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant, on met 5 g de matériel végétal en présence de 50 ml d'éthanol, ont porté l'ensemble à reflux pendant 30mn, puis, on filtre le mélange.

Deux ml de la solution est traité avec quelques gouttes du FeCl_3 , l'apparition d'une coloration verte indique l'existence des tanins

IV.4.1.4. Mise en évidence des stérols insaturés et des terpènes

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant, on place 5 g de matériel végétal en présence de 50 ml de chloroforme, on porte l'ensemble à reflux pendant 30mn, puis, on filtre le mélange.

Le filtrat est mis dans un tube à essai, et on ajoute 50ml de H_2SO_4 avec précaution sur les parois du tube, l'apparition à l'intersection des deux phases, d'une couleur verte qui se transforme en rouge signale l'existence des stérols insaturés et des terpènes.

IV.4.1.5. Mise en évidence des stérols et des stéroïdes

Dans un flacon, on met 5g de matériel végétal en présence de 20 ml d'éthanol, on laisse ainsi la solution pendant 24 h, puis, on filtre le mélange.

On réalise une évaporation de la solution à l'aide d'un rotavapeur (Büchi Rotavapor R-215), puis, on dissout les résidus dans le CHCl_3 et on filtre plusieurs fois. Enfin, on divise le filtrat dans deux tubes à essai.

✓ On ajoute 1 ml de CH_3COOH , puis, 1 ml de H_2SO_4 concentré sur les parois des tubes à essai avec précaution. La non apparition de la couleur verte indique la présence des stérols insaturés.

✓ On ajoute un volume égal de H_2SO_4 concentré avec précaution sur les parois du tube à essai. La couleur jaune qui ne se transforme pas en rouge implique l'absence des stéroïdes.

IV.4.1.6. Mise en évidence des flavonoïdes

Dans un flacon, on met 5 g de matériel végétal en présence de 75 ml de l' HCl dilué pendant 48 h, puis, on filtre le mélange. On alcalise 10 ml du filtrat avec NH_4OH , l'apparition de la couleur jaune clair indique la présence des flavonoïdes.

IV.5. Etude de la composition minérale des plantes

Dans cette partie, nous allons caractériser la composition minérale des différentes parties des trois plantes étudiées ainsi que le sol qui entoure la racine de la plante (rhizosphère).

Sur le plan toxicologique, nos investigations seront orientées vers la recherche des contaminants lourds (le chrome, le cobalt, le cadmium, le nickel,...etc), le protocole expérimental suivi est celui de Achak *et al.*, 2009.

IV.5.1. La matière sèche

Le pourcentage massique de la matière sèche contenue dans un échantillon est déterminé par déshydratation dans une étuve. La déshydratation est effectuée sur des masses connues d'échantillons dans une étuve à 105°C à pression atmosphérique jusqu'à poids constant (environ 6 heures). A la sortie de l'étuve, le matériel végétal est laissé dans un dessiccateur jusqu'à retour à la température ambiante avant d'être pesé. On déduit de la perte en poids la teneur en eau et par suite, la teneur en matière sèche.

IV.5. 2. Composition minérale

IV.5. 2.1. Teneur en cendres

La minéralisation par calcination est utilisée pour déterminer la teneur en cendres (AFNOR, 1974), Espèces Taux des cendres (% MS)

IV.5. 2.2. Dosage des éléments minéraux

Les éléments minéraux sont dosés dans différentes échantillons des plantes à fin de déterminer le taux des nutriments majeurs, secondaires, oligoéléments et les contaminants lourds. L'appareil utilisé à cet effet, est un spectromètre d'émission plasma type JOBIN - YVON 70 ICP (Inductif Couplet Plasma) ULTIMA ET JY 70.

IV. 6. Extraction des métabolites secondaires

Différents extraits ont été préparés à partir des différentes plantes séchés par l'utilisation des solvants de polarité déférente.

IV. 6. 1. Extrait aqueux

Cinquante grammes de broyat des différentes parties des plantes a été mixés avec 400 ml d'eau distillée dans un flacon stérile en verre, après une macération de 24h, on la plaçait dans un chauffe ballon adapté à un réfrigérant (montage à reflux) pendant 1heure à partir de l'apparition de la première goutte puis on a filtré cette solution dans des conditions aseptiques.

IV. 6. 2. Extrait Méthanolique

Cinquante grammes de broyat des différentes parties des plantes ont été mixés avec 200 ml de méthanol/eau distillée (2V/1V) dans un flacon stérile en verre, après 24h on a placé la solution dans le ballon d'un montage à reflux pendant 1heure à partir de l'apparition de la première goutte puis on a filtré cette solution dans une zone stérile.

L'extrait récupéré est évaporé dans un rotavapeur (Büchi Rotavapor R-215) pour éliminer les 2/3 du méthanol.

IV.6 .3 . Tests physicochimiques des extraits

A. Calcul des rendements des extraits réalisés (Afnor, 1986)

Le principe de cette méthode consiste à faire une dessiccation de 5ml de l'extrait (aqueux et/ou méthanolique) à 105°C jusqu'à l'obtention du poids constant.

Les résultats sont exprimés selon la formule suivant :

$$M_s = (P_1 - P_0) / 5$$

M_s : Matière sèche.

P₀ : Poids de la tarre.

P₁ : Poids des verres en montre + poids de la matière sèche.

B. Détermination du potentiel d'hydrogène (pH) (Afnor, 1986)

On introduit l'électrode du pH mètre étalonné dans 50ml de l'extrait et on enregistre le pH de la solution.

IV. 6. 4. Extraction des flavonoïdes

L'extraction est un procédé chimique qui permet de séparer un composé d'un mélange ou d'une solution. Le meilleur solvant à utiliser est celui dans lequel le composé à extraire est très soluble. Une succession d'opérations peut être nécessaire avant que le composé ne puisse être isolé par distillation ou par évaporation du solvant (Skoog *&al*, 1990 ; Lide, 1996).

L'extraction des flavonoïdes a été faite selon la méthode de (Lee *&al*, 1995) modifiée et utilisée par (Bouchelta *&al*, 2005) 50g de la poudre de chaque plante (feuilles et tiges) a été chauffés à 90°C sous reflux dans un mélange (eau distillée /éthanol absolu) (250 ml /250 ml) pendant 4 heures. L'extrait a été filtré à travers le papier filtre de 0,45 µm de porosité.

La phase hydro-éthanolique a été évaporée pour éliminer l'éthanol et ensuite extraite par 100 ml de n-butanol puis acidifiée par le HCL à 10 % jusqu'au pH =3, la phase n-butanolique a été évaporée à sec.

Le résidu sec a été extrait trois fois par 200 ml du mélange eau distillée / acétate d'éthyle (v/v) pendant une heure, la phase organique a été basifiée par NaHCO₃ jusqu' au pH =9, après 15 minutes de repos la phase organique (flavonoïdes) a été évaporée à sec. Le résidu sec a été dissout dans l'éthanol à 1% pour les tests biologiques (figure 16).

- **Calcul de rendement des flavonoïdes**

Le rendement est calculé par la différence entre le poids du ballon plein (après élimination du solvant par évaporation rotatif) et le poids du ballon vide selon la formule suivante :

$$\text{Rdt} = \frac{\text{Masse du ballon après séchage} - \text{Masse du ballon vide}}{\text{Masse du matériel végétal}} \times 100$$

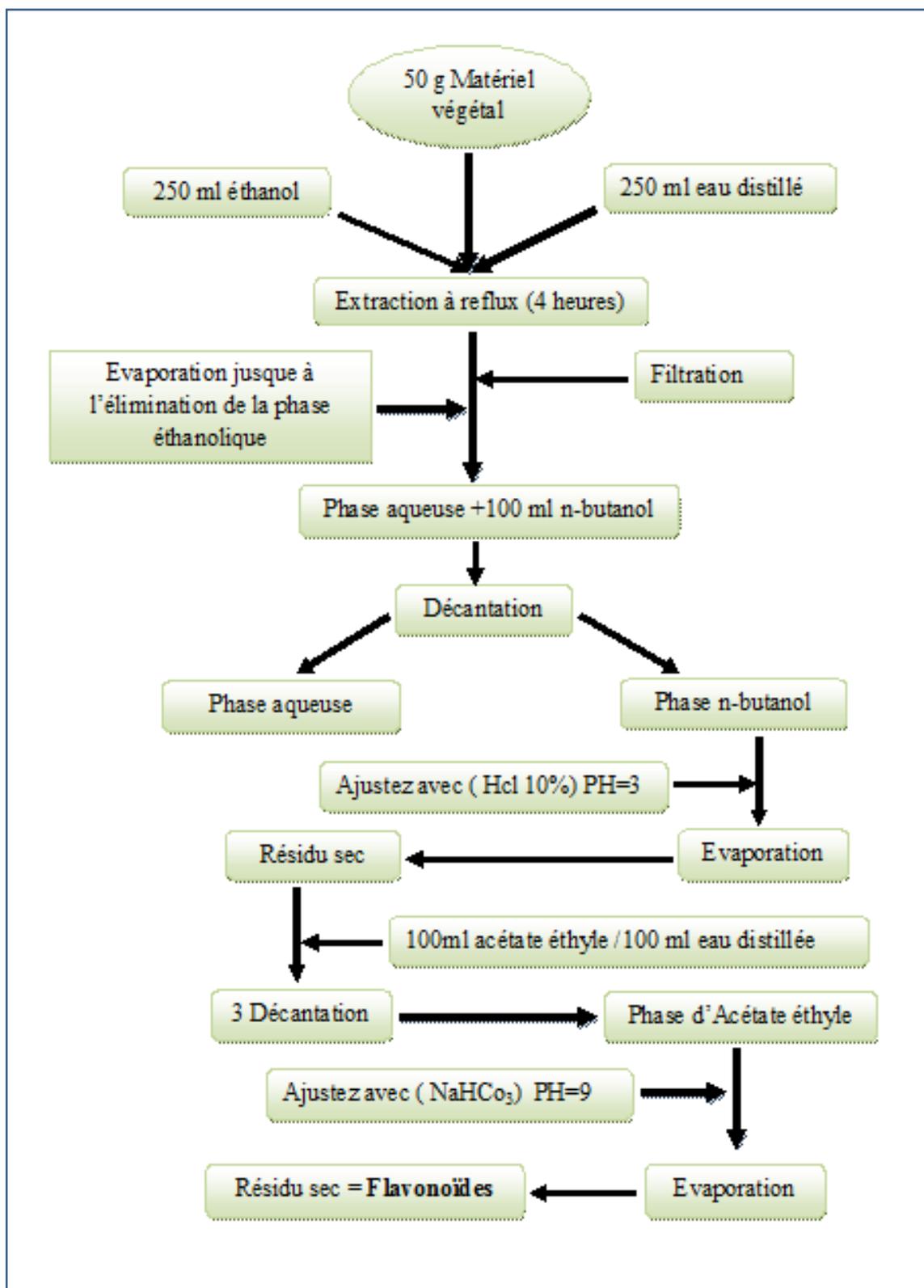


Figure 16 : Protocole d'extraction des flavonoïdes (Bouchelta &al, 2005)

IV.7. Etude de l'activité antibactérienne

IV.7. 1. Provenance des souches bactériennes

Les souches utilisées dans le présent travail sont largement rencontrées dans diverses pathologies chez l'homme. Elles sont des souches de référence proviennent de l'institut Pasteur d'Alger, conservées au laboratoire de recherche (V.R.V.S.A) de Béchar.

- **Gram-positif:** *Listeria monocytogenes* (ATCC19115); *Bacillus stearothermophilus* (ATCC11778); *Staphylococcus aureus* (ATCC25923); *Enterococcus faecalis* (ATCC29212).
- **Gram-négatif:** *Klebsiella pneumonia* (ATCC4352); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853); *Escherichia coli* (ATCC25922).

IV.7. 1. 1. Techniques d'études de l'activité antibactérienne

Dans un premier temps, les extraits des plantes ainsi que les flavonoïdes dissous dans l'éthanol à 1% ont été testés vis-à-vis des souches bactériennes par la méthode de diffusion sur disque et dans l'affirmation, la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu solide a été déterminée.

Préparation des inocula

Les souches sont revivifiées dans l'eau peptone et incubées à 37°C pendant 24 h, puis des suspensions bactériennes de 10⁶ UFC/ml ont été préparées d'où une prise de 100µl de cette dernière estensemencé par boîte de Pétri.

IV.7. 1. 1.1. Méthode de diffusion sur disque

Cette méthode est dite de Vincent, elle est utilisée en premier lieu pour les huiles essentielles et rapportée par Kar et Jain (1971).

Cette méthode, consiste à mesurer le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance microbienne autour d'une source d'antibactérienne déposée à la surface de la gélose Mueller-Hinton présensemencé par 100µl de la suspension bactérienne. Cette source peut être un disque en papier buvard stérile imprégné d'un volume fixe (5µl)

de l'extrait à tester. La mesure de la zone d'inhibition a eu lieu après 24h d'incubation à 37°C .

IV.7. 1. 1. 2. Méthode du contact direct pour la détermination de CMI

La CMI correspond à la concentration provoquant l'absence de croissance d'une population initiale de bactérie.

Cette technique consiste à mettre en culture les bactéries dans des boîtes Pétri. Après la solidification de la gélose on ensemence les souches bactériennes en stries. L'incubation a été faite à 37°C pendant 24 heures (Bendjillali en 1986).

IV.8. Etude de l'activité antifongique

IV.8. 1. Provenance des souches fongiques

Les souches utilisées dans le présent travail sont largement rencontrées dans diverses aliments, Elles sont des souches isolées et purifiées au niveau du laboratoire de recherche de Biologie de l'université de Béchar à partir des aliments stockés (Blé dur et café).

IV.8. 2. Tests d'identification des souches fongiques

Cette identification a pendant longtemps été exclusivement basée sur l'observation des caractères cultureux et morphologiques de l'espèce. Les progrès récents de la biologie moléculaire ont permis de proposer des outils d'aide à l'identification. Toutefois, la complexité du règne fongique fait, qu'à l'heure actuelle, ces outils ne peuvent pas encore remplacer complètement l'examen morphologique, qui reste la base de l'identification (Tabuc , 2007).

IV.8. 2. 1. Identification des genres

Cette technique décrite par Haris *et al.*, 1989 consiste à inoculer les spores des moisissures des lames menées de petits carrés de PDAac. Ces morceaux sont coupés à partir d'une boîte coulée en couche épaisse pour éviter la déshydratation, Les spores sontensemencées sur les périphériques du milieu pour leurs fournir un potentiel d'oxygène élevé afin qu'elles puissent germer. Ensuite une lamelle est déposée sur l'inoculum. Les lames sont déposées sur une enceinte revêtue par du papier imbibé avec de l'eau distillée. L'ensemble est conditionné dans une chambre stérile puis incubée à $25\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Après 2 à 3 jours d'incubation, on dépose 2 à 3 gouttes de Lactophenol (bleu de coton) sur des nouvelles lames stériles et on dépose la lamelle sur le lactophenol et on fait l'observation microscopique des conidies par l'agrandissement progressif $\times 10$, $\times 40$, $\times 100$.

IV.8. 2. 2. Identification des espèces

L'identification des espèces d'*Aspergillus* et *Penicillium* ont été réalisées sur trois milieux différents qui sont :

MEA à 25°C, nous informes sur la couleur de thalle.

G25N à 25°C, milieu à base de glycérol (25%) ou L'aw est faible.

CYA utilisé à deux températures de 5 et 37°C, donnent une croissance variant selon l'aw à des températures variables.

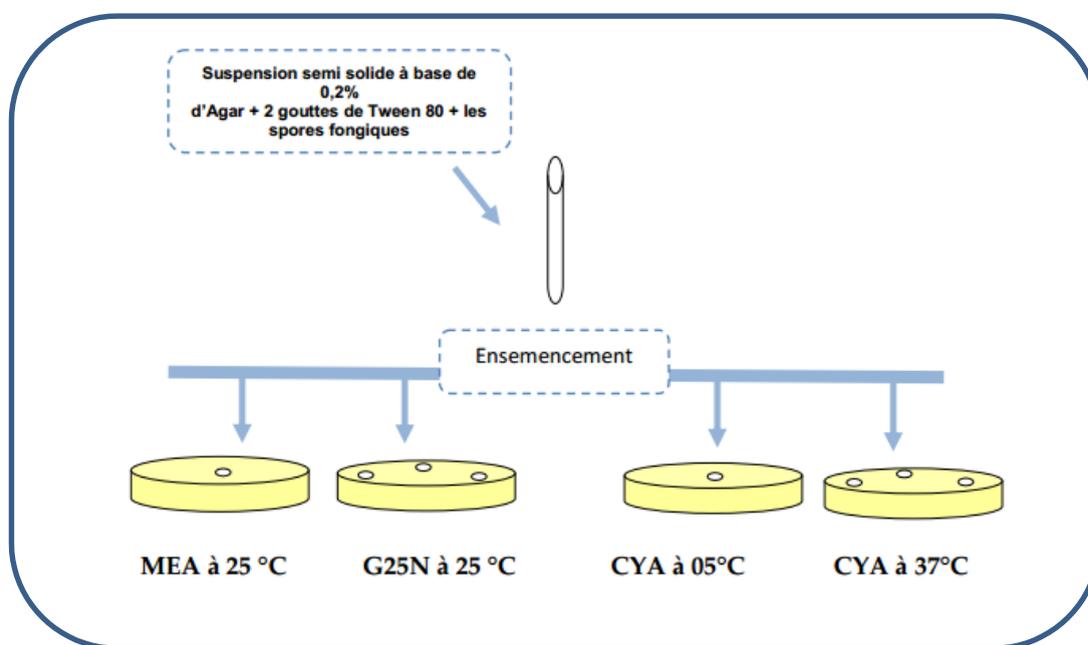


Figure 17 : Mode d'inoculation des isolats d'*Aspergillus* (sur les différents milieux de cultures MEA à 25 °C G25N à 25 °C CYA à 37°C) selon la méthode de single spore (Pitte, 1973)

Pour toutes les cultures obtenues après 7 jours, l'identification est fondée sur la technique de Pitt et Hocking 1985 selon les caractéristiques suivantes :

On mesure les diamètres des colonies macroscopiques en millimètres sur le fond de la boîte. La croissance ou la germination microscopique à 5°C est évaluée par analyse en microscopie à faible grossissement, en mettant la boîte de pétri de 5°C sur les champs optique du microscope et en examinant la lumière transmise (Botton et al, 1990).

L'aspect de la colonie est examiné à l'œil nu ou sous une loupe. Pour déterminer les couleurs des colonies, on les examine à la lumière du jour ou sous lumière fluorescent.

-Le genre *Aspergillus* est déterminé par les caractères cultureux et microscopiques en se référant au manuel de Pitt (1973).

-Le genre *Penicillium* est déterminé par les caractères cultureux et microscopiques en se référant au manuel de Ramirez (1982).

IV.8. 2. 3. Techniques d'études de l'activité antifongique

IV.8. 2. 3.1. Préparation de la suspension sporale

Les espèces récupérées d'une culture pure de 7 jours sont consisté à inoculer dans des tubes à hémolyses remplie par une solution à 0.2 agar et quelques gouttes de tween 80 et on agite les tubes par le vortex.

La densité de chaque suspension sporale a été ajustée à 10^5 spores/ml à l'aide d'une cellule hématimétrique de type Malassez (Mouaragadja et M'batchi, 1998).

IV.8. 2. 3.2. Evaluation de la croissance radiale sur milieu solide

L'essai antifongique contre les moisissures a été estimé par la méthode de contact directe ; la méthode utilisée est celle de Serghat *et al.*, 2004, où chaque extrait est testé par

l'addition de 1, 3, et 5ml de l'extrait à un volume de PDAac pour avoir 20 ml. Après agitation des tubes par l'agitateur vortex, le milieu est coulé dans des boites de Pétrie.

L'inoculation se fait par la méthode de single spore à partir de la suspension préparé préalablement (Hibar et al, 2006 ; Soro et al, 2010). Une boite de Pétrie contenant 20ml de milieu PDAac sans extrait est inoculées pour servir du témoin.

Après incubation à 25°C pendant 7 jours on tenant compte de la croissance radiale des différentes concentrations des souches fongique par rapport au témoin.

Expression des résultats

On calcule l'indice antifongique (pourcentage d'inhibition) par la formule suivante (Wang et al ,2005 ; Singh et al. 2009) :

$$\text{Indice antifongique} = (100 - Da/Db) \times 100$$

Da : Diamètre de la zone de croissance de l'essai

Db : Diamètre de la zone de croissance du témoin.

IV.8. 2. 3.2. Evaluation de la biomasse sur milieu liquide

Dans des flacons contenant 50ml du milieu PDB plus 25mg/l de chloramphénicol, on ajoute des différentes volumes des extrais, après agitation on ensemence une quantité des spores à partir d'une suspension sporale ajustée à 10^5 spores/ml.

On introduit des flacons témoins et on incube tous les flacons à 25°C pendant 7jours (Tubajika, 2006)

Après la filtration du milieu par le papier filtre, on obtient des biomasses. Cette dernière est séchée dans l'étuve à 105°C pendant 3 heures pour prendre les poids des marcs (Dhandhukia et al, 2007).

Le poids de la biomasse est déterminé selon la formule suivant (Imtiaj et lee, 2007):

P0 : Poids du papier filtre

$$P = P1 - P0$$

P1: Poids du papier filtre et la biomasse des moisissures après séchage

IV.9. Etude de l'activité antioxydante

IV.9.1. Méthodes de réduction du DPPH

Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) est un radical organique stable de couleur rouge pourpre.

La méthode au DPPH est décrite par plusieurs auteurs dans la littérature (Anderson et Padhye, 2004, Iwashima et al, 2005) . En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune, ce qui entraîne une diminution de son absorbance (Gachkar & *al.*, 2006).

On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :

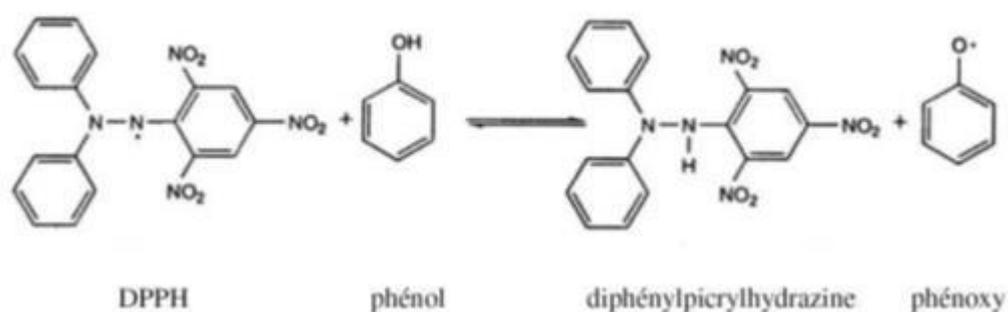


Figure 18: Réaction de DPPH avec phénol (Koleva *et al.*, 2002)

Le protocole expérimentale suivi est celui décrite par (Archana *et al.* 2005 ; Dung *et al.*, 2008).

Cent microlitres (100 μ l) de différentes concentrations des extraits ont été mélangés avec 2,9ml de la solution de DPPH 0,004% (p/v) dans des tubes à essai secs. Après 30 min d'incubation à une température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 517 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

Le contrôle négatif est composé de 100µl de méthanol et de 2.9ml de la solution de DPPH. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'absorbance de l'acide ascorbique est mesurée dans les mêmes conditions que celle des extraits.

L'activité anti-radicalaire est exprimée par le pouvoir de réduction de la solution de méthanol de DPPH (Rachid *et al.*, 2010).

D'après Dung *et al.*, 2008 et Eyob *et al.*, 2008, le pouvoir de réduction est déterminé en appliquant la formule suivante :

$$PR = (A_c - A_e) / A_c \times 100$$

PR: pouvoir de la réduction en %

Ac: absorbance de la solution de DPPH en absence des extraits.

Ae: absorbance de la solution de DPPH en présence des extraits.

La variation du pouvoir de réduction en fonction de la concentration des extraits et de la vitamine C, nous permet de calculer le paramètre CE₅₀.

La CE₅₀ « Concentration Efficace » est définie comme étant la concentration des extraits (ou de la vitamine C) nécessaire pour réduire 50% des radicaux libres dans le milieu réactionnel. Plus la valeur de CE₅₀ est basse, plus l'activité anti-radicalaire est élevée, et vice versa (Gramza *et al.*, 2005).

Les valeurs CE₅₀ moyennes ont été calculées graphiquement à partir de trois essais séparés où l'abscisse est représentée par les concentrations des composés testés et l'ordonnée par le pouvoir de réduction en pourcentage (Brand, 1995; Portes, 2008).

Partie expérimentale

Chapitre 05 : Résultats et interprétations

Chapitre V : Résultats et interprétations

Le travail expérimental réalisé au cours de ce travail a pour but d'étudier l'utilisation traditionnelle, la composition phytochimiques et quelques activités biologiques de trois plantes endémiques du sud-ouest de l'Algérie.

V. 1. Paramètres climatiques

La Wilaya de Béchar est caractérisée par un climat de type désertique continental dont on distingue deux zones :

- **La zone de transition** délimitée par Béni Ounif au nord et le parallèle d'Igli au sud : très chaude en été (+ 45°C) et froid rude en hiver (2 à 3°C). Les précipitations sont de l'ordre de 60 mm/an. Les vents de sable sont fréquents et souvent violents (100km/h).

- **La zone désertique** qui s'étend au-delà de Béni Abbés. Les précipitations sont de l'ordre de 40 mm/an. Les vents de sable sont très fréquents.

Notre étude climatologique est effectuée selon les principaux paramètres climatiques, température et précipitation météorologique pendant une période de cinq ans de 2005 jusqu'à 2009 ; de la station d'Oumchgag qui se trouve dans la commune de Lahmar, située à 35 km au nord de Béchar, tandis que celle d'Ouriah qui se trouve dans le territoire de la commune de Mougheul, située à 50km au nord Est du chef-lieu de wilaya.

V. 1.1. Pluviométrie

Le régime pluviométrique au Sahara est irrégulier, les pluies peuvent survenir à n'importe quelle saison, dépourvue d'une répartition régulière.

V. 1.2. Température :

La température est considérée comme un facteur abiotique fondamental par l'association direct de son action sur les plantes et leur environnement. Nous avons remarqué que le minimum de température est enregistré aux mois de Décembre et Janvier avec (7- 11) °C, tandis que le maximum est enregistré aux mois de Juillet et Aout avec 43°C. Les courbes ombrothermiques des planches 04 et 05 représentent les valeurs de températures moyennes enregistrées dans les deux stations (Oumchag et Ouriah), au cours des années 2005-2006, 2006-2007, 2007-2008 et 2008-2009.

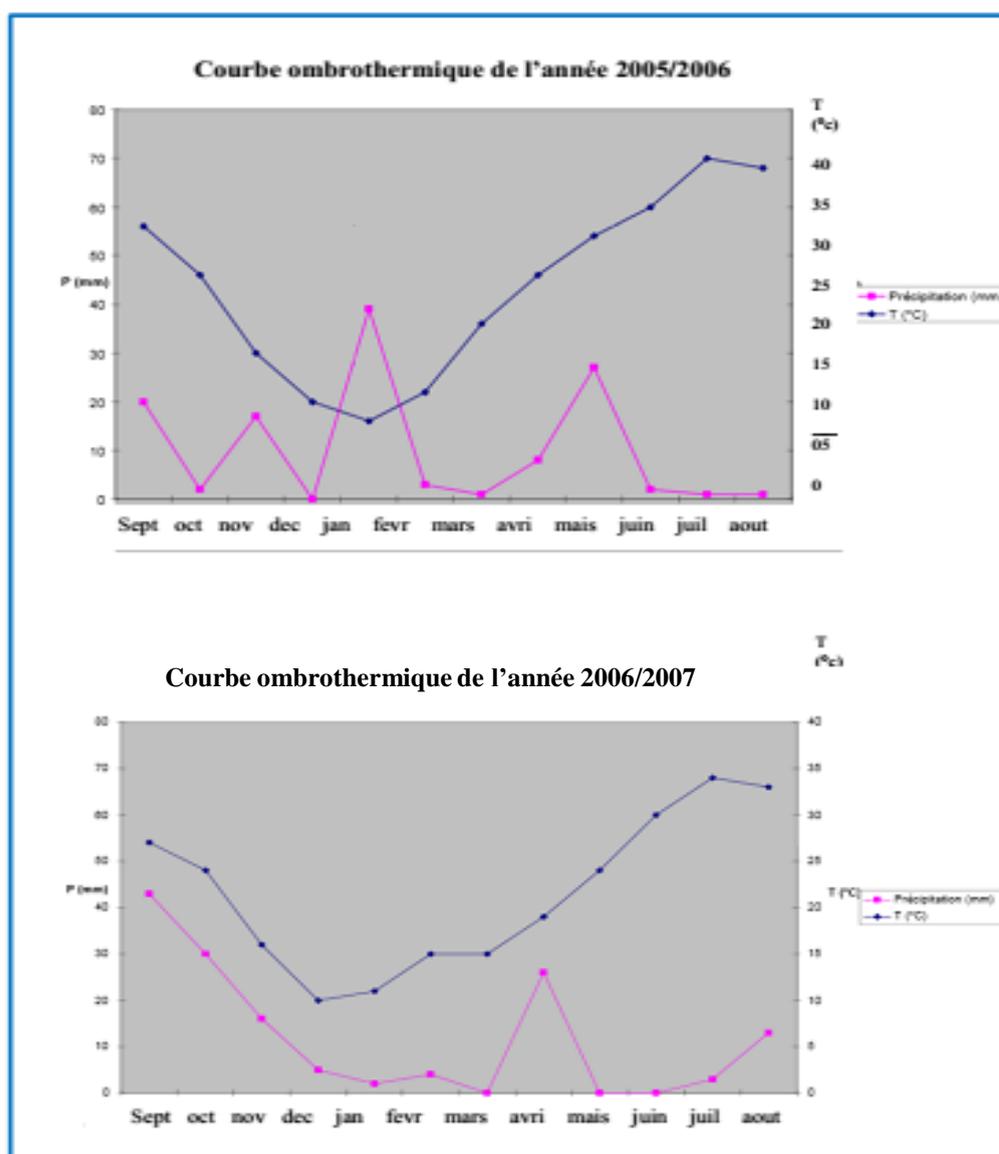


Planche 04 : Courbes ombrothermiques des années 2005-2006, 2006-2007.

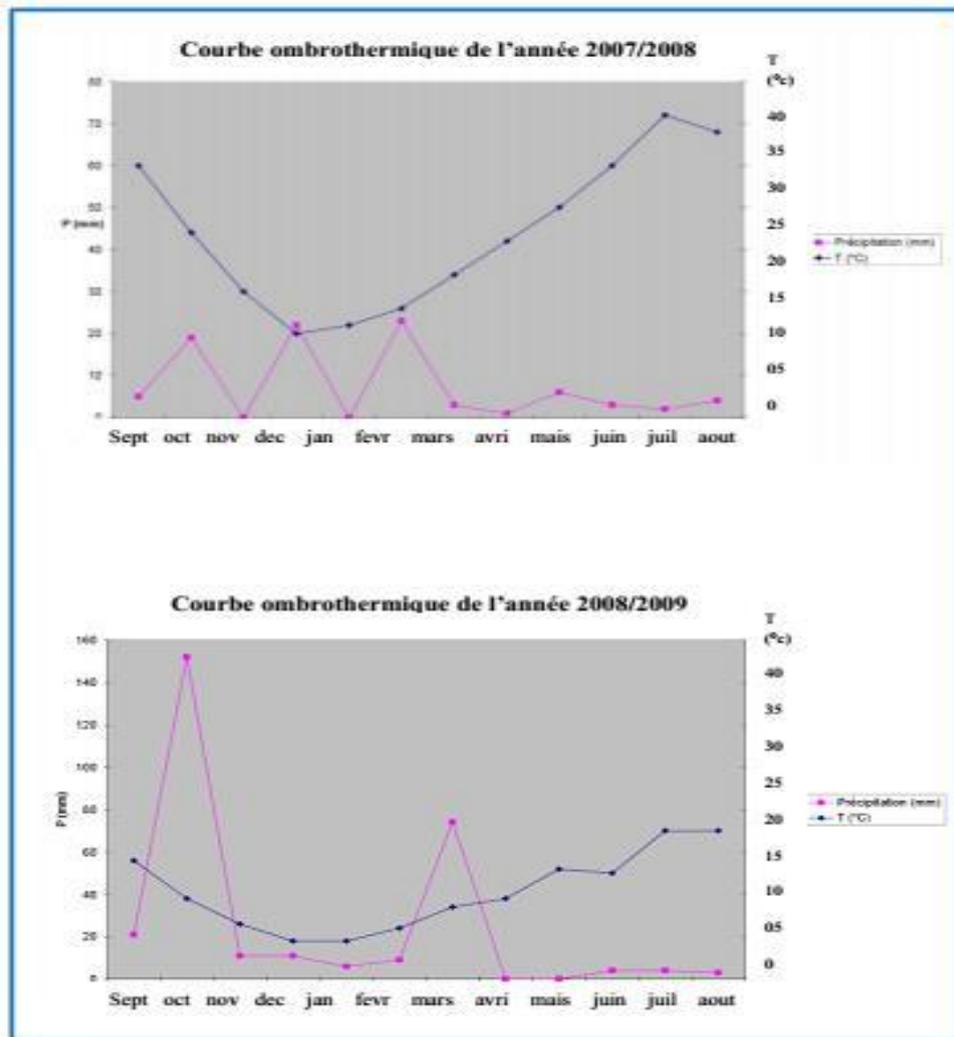


Planche 05 : Courbes ombrothermiques des années, 2007-2008, 2008-2009.

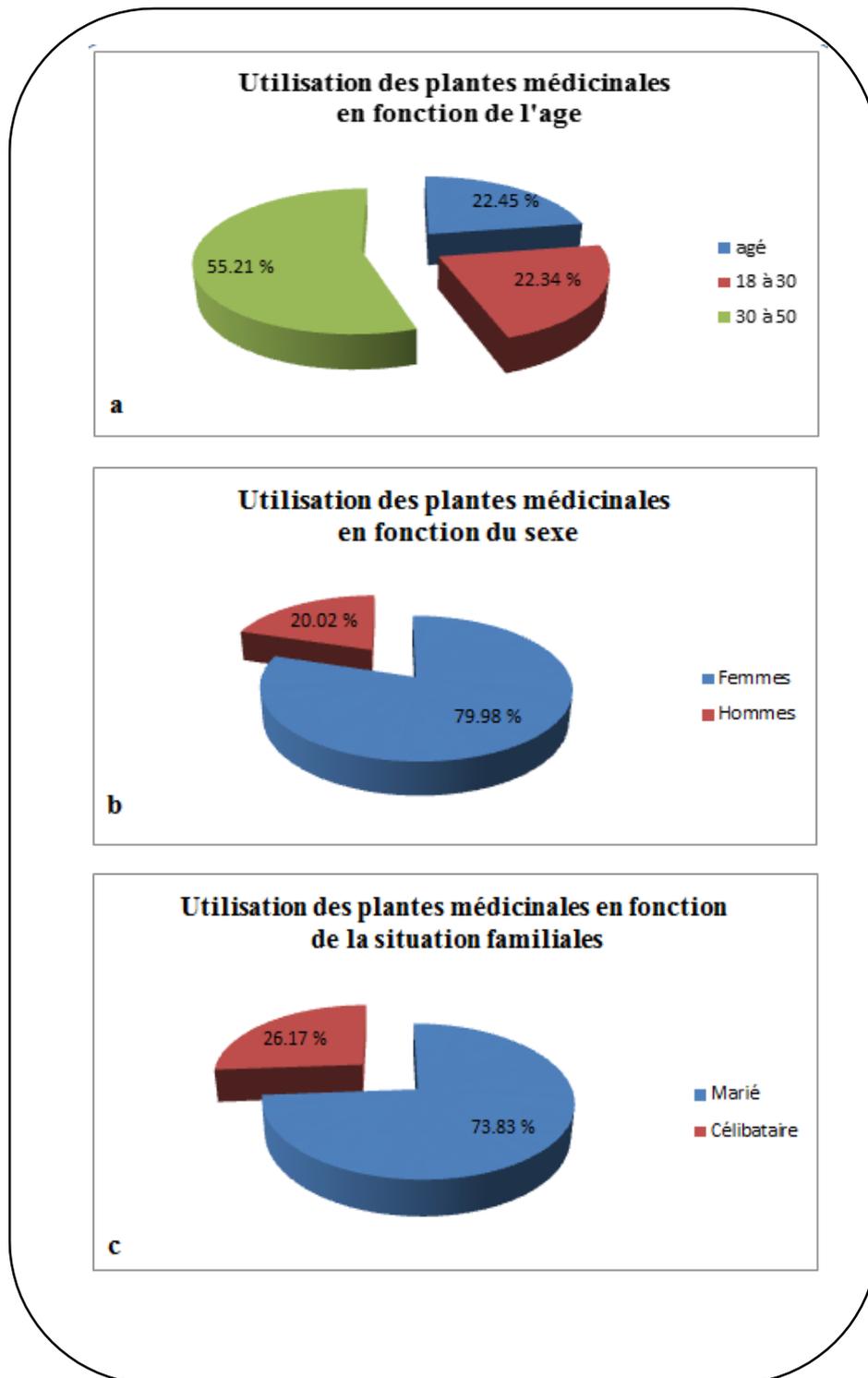
V. 1. Enquête ethnobotanique

Les résultats obtenus sont répertoriés selon l'utilisation des plantes ainsi que le traitement des maladies.

L'utilisation des plantes médicinales dans la wilaya de Béchar est répandue chez toutes les tranches d'âge, avec une prédominance chez les personnes âgées de 30 à 50 ans avec 55.21%. Cependant, pour les personnes les plus âgées et la tranche d'âge de 18 à 30 ans, l'utilisation des plantes médicinales ne représente pas un grand intérêt thérapeutique on note un taux de 22,45 % et 22,34 % respectivement ces résultats sont montrés dans la planche 6(a).

L'utilisation des plantes médicinales varie selon le sexe dont les femmes utilisent beaucoup plus les plantes médicinales que les hommes. En effet 79.98% des femmes questionnées utilisent la médecine traditionnelle contre 20.02 % de la population masculine, la planche 6(b) rapporte ces résultats.

La planche 6 (c) indique que les plantes médicinales sont beaucoup plus utilisées par les personnes mariées 73,83% que par les célibataires 26.17 %, car celles-ci leurs permettent d'éviter ou de minimiser les charges matérielles exigées par le médecin et le pharmacien.



a : En fonction de l'âge. **b** : En fonction du sexe. **c** : en fonction de la situation familiales

Planche 06 : Résultats de l'utilisation des plantes médicinales dans la wilaya de Béchar.

Chacune des plantes étudiées est utilisées pour traiter des maladies bien précises ; la planche 07(a) indique que la *Citrullus colocynthis* est utilisé à 46.41% comme hypoglycémiant par les diabétiques et à 15% pour traiter le rhumatisme, les autres utilisations ne dépassent pas les 10%.

Datura stramonium est moins utilisé par les habitants de la région à cause de sa toxicité et ces préparations qui exigent des expertes en médecine traditionnelle. Cette plante est utilisée à 44% comme aphrodisiaque en mélange avec d'autres plantes, ce pourcentage est suivi par 38% des utilisations pour la prise de poids, alors que 9% de *D. stramonium* est utilisée pour soulager les crises d'asthme, 5% de la population utilise la plante en cosmétologie pour préparer des masques utilisé contre les chutes des cheveux.

La planche 07(c) montre que l'utilisation traditionnelle de la *Salsola vermiculata* est très limité par rapport aux deux autres plantes dont la proportion la plus importante de l'utilisation est le traitement des coups de soleils suivi par le traitement des gerçures des pieds avec 72.2% et 21.81% respectivement.

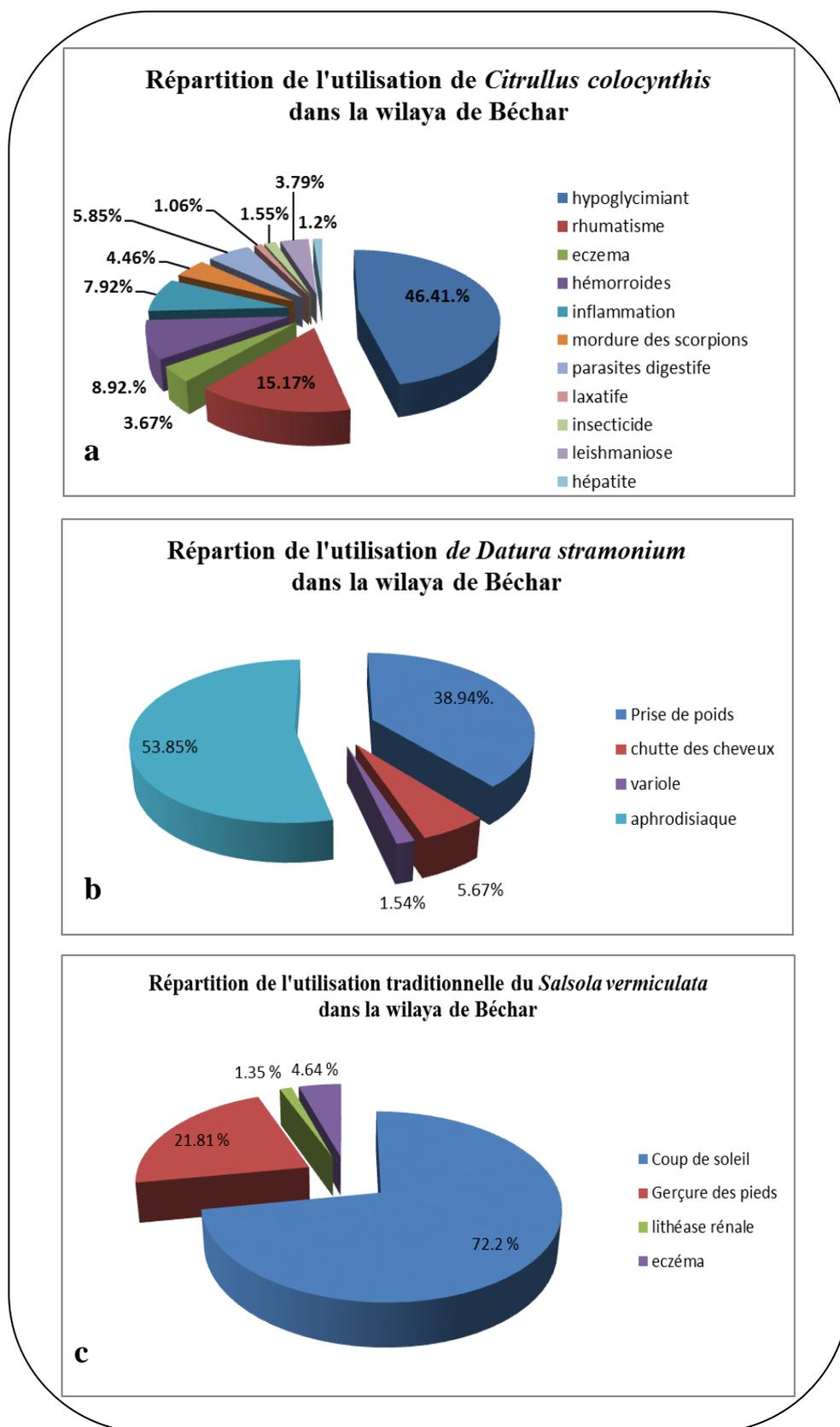


Planche 07 : Répartition de l'utilisation des plantes étudiées dans la wilaya de Béchar
 a. *Citrullus colocynthis* ; b. *Datura stramonium* ; c. *Salsola vermiculata*

IV. 2. Etude phytochimique

Les principaux groupes chimiques identifiés selon les méthodes classiques de caractérisation et d'identification sont consignés dans le tableau 03 où on a trouvé que l'écorce de la coloquinte contient des alcaloïdes, flavonoïdes, saponosides, stérols et terpène ; les feuilles de la *Datura stramonium* sont riches en Alcaloïde, Saponoside, tanins, Stérols insaturé et terpène, Stérols, Flavonoïde, autant que les grains contiennent une quantité moindre des flavonoïdes et des saponosides ; alors que les feuilles du *Salsola vermiculata* sont très riches en Saponosides et elles contiennent des flavonoïdes des tanins des stérols et des terpènes.

Tableau 03 : Résultats du criblage phytochimique des différentes parties des plantes étudiés.

Métabolites secondaire	<i>Citrullus colocynthis</i>			<i>Datura stramonium</i>		<i>Salsola vermiculata</i>	
	Fruits	Feuilles	Racines	Feuilles	Grains	Feuilles	Racines
Alcaloïdes	+	+/-	+/-	+	++	+	+
Flavonoïdes	+	+	+/-	+	+/-	+	+
Saponosides	+	+/-	+	+	+/-	++	+
Tanins	+	+/-	+	+	+	+	+
Stérol insaturé et terpènes	+	+	+	++	++	+	+
Stérols et stéroïdes	+	+	+	-	++	+	+

++ : Forte Présence
- : Absence

+: Moyenne présence

+/- : Faible présence

V. 3. Etude de la composition minérale des plantes

Dans cette partie, nous allons caractériser la composition minérale des différentes parties des trois plantes étudiées et la composition minérale de la rhizosphère.

La composition minérale des rhizosphères des plantes étudiées rapportés sur le tableau 04, exprime qu'il y a une concentration très élevée en Fe dans la rhizosphère de *Salsola vermiculata* 408.4ppm, alors qu'il ne dépasse pas 110ppm dans les autres rhizosphères étudiées, la même rhizosphère contient une concentration élevée de Na et K par rapport aux rhizosphères de *Citrullus colocynthis* et *Datura stramonium*.

Les résultats rapportés sur le tableau 05 présentent les valeurs des concentrations des minéraux dans les racines de *Citrullus colocynthis* et *Datura stramonium*, ou la dose qui a été remarquable est celle du K, dans les racines de *Citrullus colocynthis* 319.8ppm.

La composition minérale des feuilles des plantes étudiées est citée sur le tableau 06 ; ou on a trouvé que les feuilles de *Salsola vermiculata* contiennent des doses plus élevées en Na, K, et Mg ou les concentrations sont, 945, 237 et 187 respectivement.

Tableau04 : Composition minérale des Rhizosphères des plantes étudiées

Rhizosphère	Al (ppm)	As (ppm)	B (ppm)	Ba (ppm)	Be (ppm)	Bi (ppm)	Ca (ppm)	Cd (ppm)	Co (ppm)	Cr (ppm)	Cu (ppm)	Fe (ppm)	K (ppm)	Li (ppm)	Mg (ppm)
<i>C.colocynthis</i>	75.69	0.127	0.089	0.47	0.101	<0.051	118.206	0.124	<0.011	0.202	0.232	110.55	18.16	0.101	149.831
<i>D.stramonium</i>	43.04	0.115	0.032	0.361	0.100	<0.051	67.464	0.125	<0.011	0.152	0.210	62.662	9.204	0.069	80.388
<i>S.vermiculata</i>	98.75	1.448	0.160	0.338	0.108	<0.051	97.258	0.122	<0.011	0.211	0.546	408.04	32.59	0.240	42.43

Rhizosphère	Mn (ppm)	Mo (ppm)	Na (ppm)	Ni (ppm)	P (ppm)	Pb (ppm)	Sb (ppm)	Se (ppm)	Si (ppm)	Sn (ppm)	Sr (ppm)	Ti (ppm)	V (ppm)	W (ppm)	Zn (ppm)
<i>C.colocynthis</i>	2.319	<1.928	1.49	0.164	1.79	0.28	0.119	0.072	0.187	0.116	0.39	0.79	0.229	<0.006	0.437
<i>D.stramonium</i>	1.029	<1.928	1.294	0.136	0.755	0.253	0.114	0.079	0.611	0.118	0.352	0.537	0.196	<0.006	0.388
<i>S.vermiculata</i>	1.685	<1.928	39.32	0.249	2.01	0.772	0.134	0.067	<0.136	0.122	0.447	0.406	0.242	<0.006	0.415

Tableau05 : Composition minérale des racines des plantes étudiées

Racines	Al (ppm)	As (ppm)	B (ppm)	Ba (ppm)	Be (ppm)	Bi (ppm)	Ca (ppm)	Cd (ppm)	Co (ppm)	Cr (ppm)	Cu (ppm)	Fe (ppm)	K (ppm)	Li (ppm)	Mg (ppm)
<i>C.colocynthis</i>	6,067	0,088	0,212	0,235	0,096	<0.051	75,360	0,109	0,070	0,096	0,242	8,925	319,833	0,337	93,652
<i>S.vermiculata</i>	2.513	0,106	0,135	0,187	0,099	<0.051	93,315	0,123	0,081	0,101	0,248	7,891	76,488	0,009	35,386

Racines	Mn (ppm)	Mo (ppm)	Na (ppm)	Ni (ppm)	P (ppm)	Pb (ppm)	Sb (ppm)	Se (ppm)	Si (ppm)	Sn (ppm)	Sr (ppm)	Ti (ppm)	V (ppm)	W (ppm)	Zn (ppm)
<i>C.colocynthis</i>	0,756	<1.928	42,847	0,097	15,520	0,142	0,178	0,154	1,907	0,079	1,317	0,213	0,100	0,0238	1,340
<i>S.vermiculata</i>	0,458	<1.928	30,131	0,094	5,424	0,149	0,111	0,105	2,173	0,153	1,383	0,111	0,100	0,008	0,332

Tableau06 : Composition minérale des feuilles des plantes étudiées

Feuilles	Al (ppm)	As (ppm)	B (ppm)	Ba (ppm)	Be (ppm)	Bi (ppm)	Ca (ppm)	Cd (ppm)	Co (ppm)	Cr (ppm)	Cu (ppm)	Fe (ppm)	K (ppm)	Li (ppm)	Mg (ppm)
<i>C.colocynthis</i>	7,849	0,092	0,393	0,262	0,099	<0.051	41,490	0,123	0,082	0,100	0,259	8,948	305,942	0,013	63,404
<i>D.stramonium</i>	3,491	0,075	0,169	0,249	0,097	<0.051	97,879	0,108	0,082	0,087	0,265	5,070	284,956	0,157	62,007
<i>S.vermiculata</i>	11,879	0,158	0,364	0,26	0,099	<0.051	69,154	0,124	0,031	0,114	0,267	32,41	237,038	0,529	187,053
Feuilles	Mn (ppm)	Mo (ppm)	Na (ppm)	Ni (ppm)	P (ppm)	Pb (ppm)	Sb (ppm)	Se (ppm)	Si (ppm)	Sn (ppm)	Sr (ppm)	Ti (ppm)	V (ppm)	W (ppm)	Zn (ppm)
<i>C.colocynthis</i>	0,490	<1.928	1,899	0,083	30,901	0,138	0,112	0,078	1,273	0,118	1,135	0,194	0,109	<0.006	0,692
<i>D.stramonium</i>	0,408	<1.928	56,21	0,084	10,915	0,184	0,160	0,154	2,332	0,083	1,492	0,154	0,095	0,017	0,966
<i>S.vermiculata</i>	1,721	<1.928	945,46	0,112	11,258	0,203	0,112	0,170	0,149	0,142	1,224	0,228	0,111	<0.006	0,489

V. 4. Extraction des métabolites secondaires

V. 4. Tests physicochimiques des extraits

a/ Rendements des extraits :

Dans la plupart des plantes étudiées les extraits hydrométhanolique représentent des rendements plus élevé que celle des extraits aqueux. Le meilleur rendement est enregistré par l'extrait hydrométhanolique des fruits de la coloquinte avec 108mg/ml ; les résultats sont mentionnés sur la planche 08.

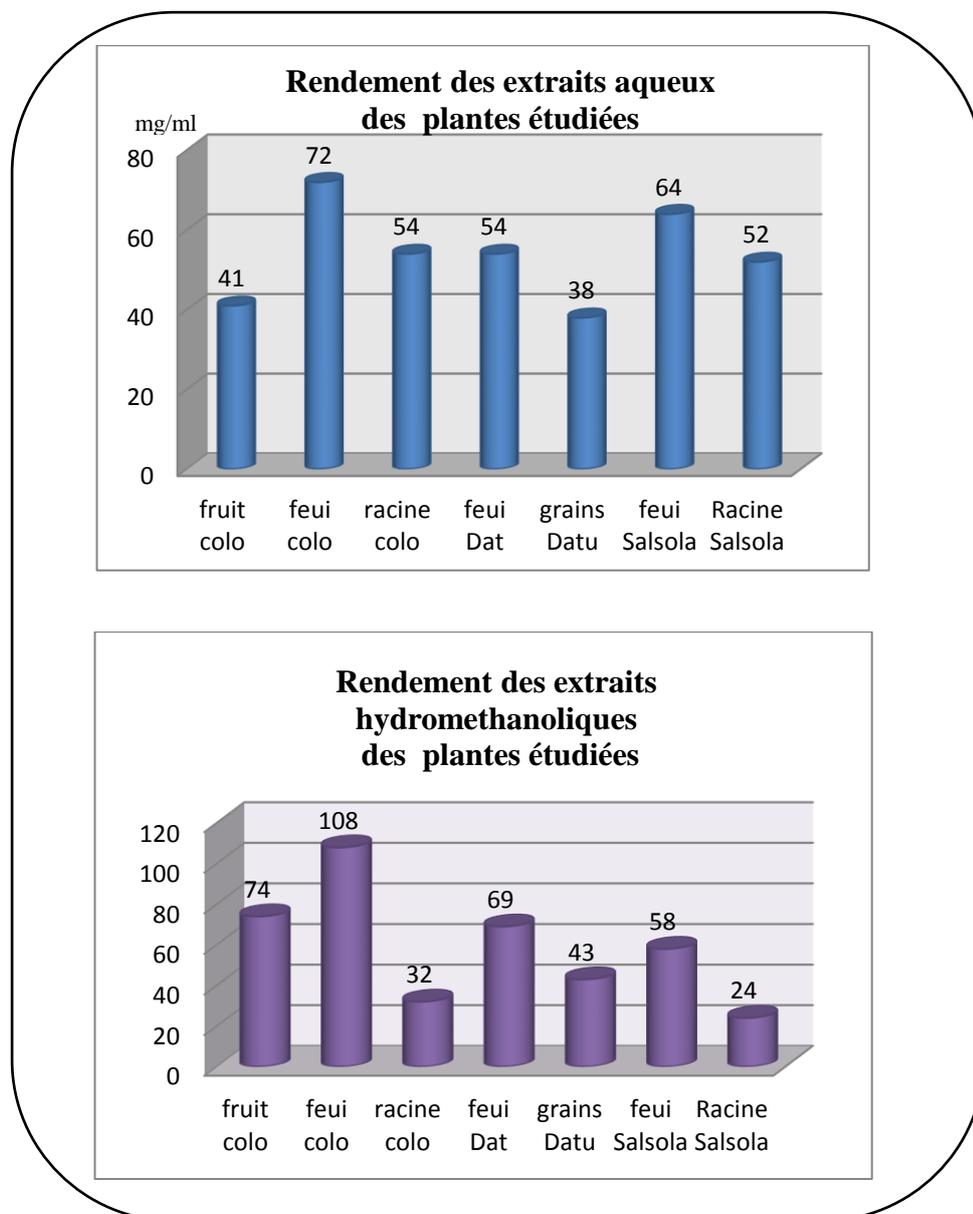


Planche 08 : Rendement des extraits aqueux et hydrométhanolique des différentes parties des plantes étudiées

b/ pH des extraits :

La planche 09 rapporte que les pH des extraits sont acides entre 4.46 et 6.24 sauf l'extrait hydrométhanolique des feuilles de la coloquinte qui est neutre avec un pH de 7.18.

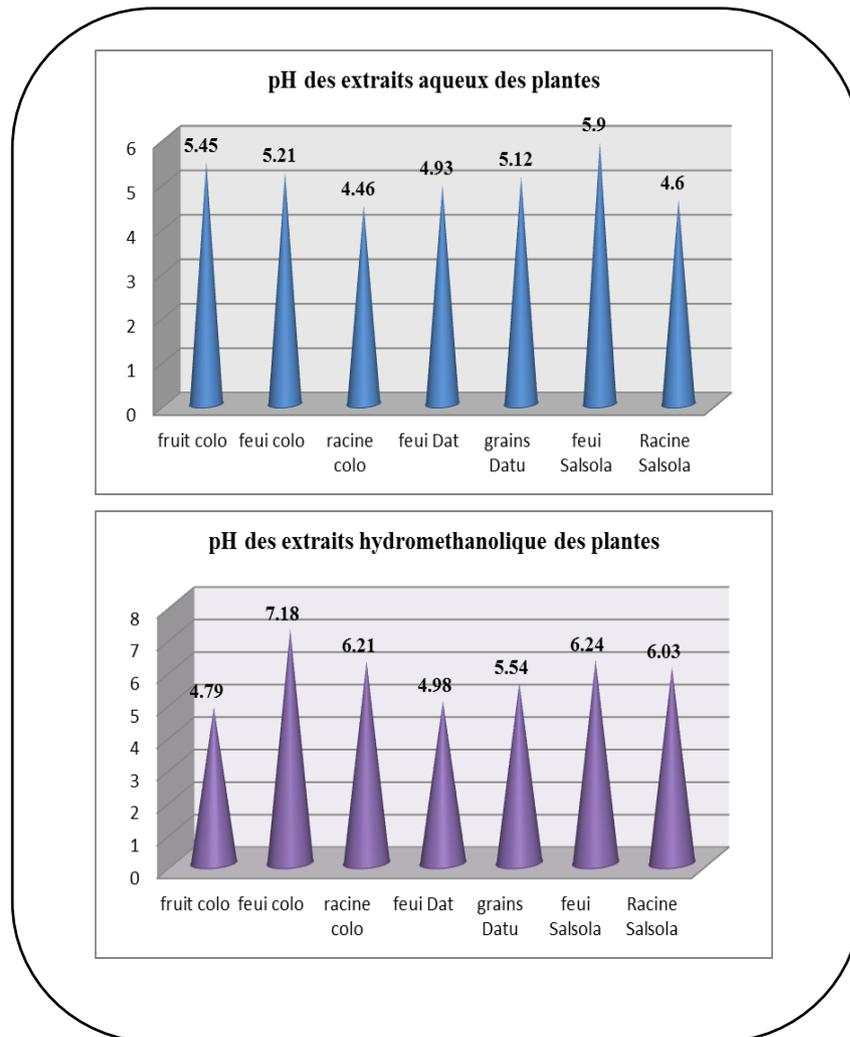


Planche 09 : Valeurs de pH des extraits des différentes parties des plantes étudiées

c/ Rendement en flavonoïdes :

Dans les trois plantes étudiées on a remarqué que la partie aérienne (feuilles) est plus riche en flavonoïdes par rapport à la partie des racines, fruits et grains, ces résultats sont représentés dans la figure 19.

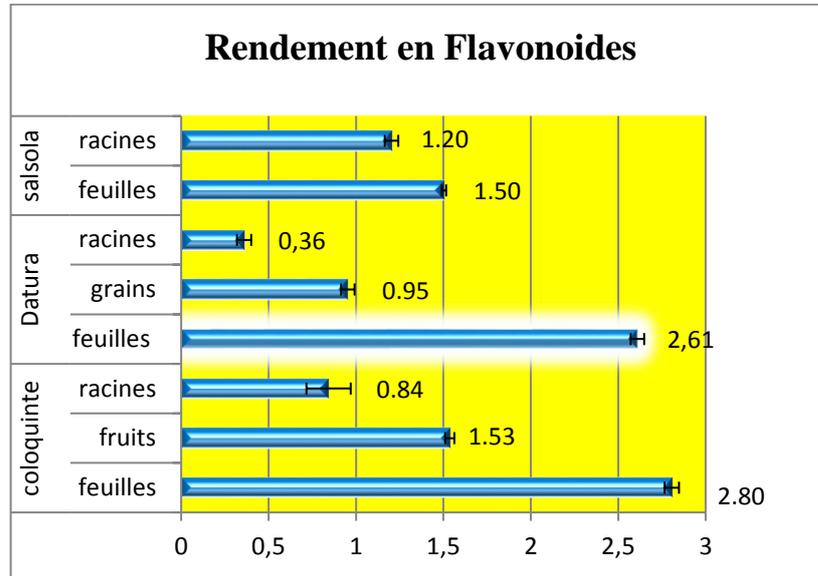


Figure 19 : Résultats du rendement en flavonoïdes des différentes parties des plantes étudiées.

V. 5. Etude de l'activité antibactérienne

IV. 5. 1. Méthode des disques

a/ *Citrullus colocynthis*

A partir des résultats rapportés sur le tableau 07 on a constaté que les extraits des racines ont donné les meilleures zones d'inhibition avec un diamètre de 11.4mm pour *Listeria monocytogen* et *E.coli*.

Tableau 07 : Résultats de l'activité antibactérienne par les disques (*Citrullus colocynthis*)

Les souches bactériennes	Diamètres d'inhibitions (mm)					
	Fruits		Feuilles		Racines	
	Aq	Hyd	Aq	Hyd	Aq	Hyd
<i>Klebsiella pneumonia</i> (ATCC4352)	9.0±0.97	9.4±0.00	10.5±0.00	10.2±1.41	10.4±0.54	11.0±1.01
<i>Listeria monocytogen</i> (ATCC19115)	9.9±1.01	10.0±1.41	10.8±0.78	11.9±1.02	11.4±0.34	10.2±1.03
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)	9.8±0.54	10.4±1.41	10.2±0.84	10.7±0.84	11.0±1.35	10.8±1.26
<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	9.2±0.74	10.0±1.35	8.9±1.01	10.9±0.54	10.4±1.12	11.1±0.63
<i>Bacillus sterothermophilus</i> (ATCC11778)	9.8±1.35	9.2±1.41	9.8±1.20	9.7±0.00	10.4±1.20	11.2±0.97
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	9.6±1.00	10.0±0.40	10.6±1.26	10.3±1.00	10.6±0.97	10.6±1.01
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC29212)	9.4±1.54	8.6±0.41	10.5±1.03	9.7±1.12	10.7±0.54	10.7±1.41

b/ *Datura stramonium* :

Les résultats rapportés sur le tableau08 indiquent que l'activité antibactérienne des feuilles et des grains de *Datura stramonium* est très limité ou le meilleure diamètre est enregistré par l'extrait hydrométhanolique des feuilles c'est 11.4 mm

Tableau 08 : Résultats de l'activité antibactérienne par les disques (*Datura stramonium*)

Les souches bactériennes	Diamètres d'inhibitions (mm)			
	Feuilles		Grains	
	Aq	Hyd	Aq	Hyd
<i>Klebsiella pneumonia</i> (ATCC4352)	6.0±0.00	6.00±00	6.0±00	7.2±0.74
<i>Listeria monocytogen</i> (ATCC19115)	6.0±0.00	11±0.89	7.5±0.5	10.2±0.74
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)	6.00±0.00	8.4±0.48	6±00	8±1.26
<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	7.4±0.48	8.2±0.74	9±0.63	9.4±1.01
<i>Bacillus sterothermophilus</i> (ATCC11778)	8.2±0.40	8.4±0.8	7.8±0.74	7.4±0.48
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	7.2±0.74	11.2±0.74	11±0.63	10.4±0.48
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC29212)	6.0±0.00	9.2±0.74	10±0.63	10.2±0.4

c/ *Salsola vermiculata* :

A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que les extraits des feuilles et des racines de *Salsola vermiculata* ont donné des diamètres très limités dont le meilleur n'a pas dépassé 11.4 mm, alors que les zones d'inhibition des autres souches n'ont pas dépassé les 10mm (tableau 09).

Tableau 09 : Résultats de l'activité antibactérienne par les disques (*Salsola vermiculata*)

Les souches bactériennes	Diamètres d'inhibitions (mm)			
	Feuilles		Racines	
	Aq	Hyd	Aq	Hyd
<i>Klebsiella pneumonia</i> (ATCC4352)	8.40±0.48	8.80±0.74	8.7±0.40	8±0.63
<i>Listeria monocytogen</i> (ATCC19115)	8.80±0.40	8.80±0.40	11.3±0.74	9.2±0.74
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)	11.2±0.74	12.0±0.63	7.4±0.80	8±1.41
<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	9.80±0.74	8.6±1.01	8.6±1.01	8.2±0.40
<i>Bacillus sterothermophilus</i> (ATCC11778)	9.80±0.40	8.6±0.48	8.5±0.80	9±0.63
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	11.2±0.40	7.6±1.20	9.5±0.75	7.8±0.97
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC29212)	10.0±0.63	9.0±0.63	8.00±00	8.4±0.80

D / Flavonoïdes

Les résultats rapportés sur le tableau 10 montrent que les flavonoïdes extraite des feuilles de *Datura stramonium* ont donné un diamètre de 12mm vis-à-vis *Listeria monocytogen* ; c'est le meilleur diamètre enregistré par les flavonoïdes des plantes étudiés.

Tableau 10 : Résultats de l'activité antibactérienne des flavonoïdes extraite des trois plantes étudiées par les disques :

Les souches bactériennes	Diamètres d'inhibitions (mm)		
	Flavonoïdes <i>C. colocynthis</i>	Flavonoïdes <i>D. stramonium</i>	Flavonoïdes <i>S. vermiculata</i>
<i>Klebsiella pneumonia</i> (ATCC4352)	8.40±1.95	7.60±1.01	6.00±0.00
<i>Listeria monocytogen</i> (ATCC19115)	7.00±1.54	12.00±1.54	10.00±1.09
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)	10.80±0.74	8.80±1.72	8.60±0.8
<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	10.60±0.8	11.00±1.54	6.80±0.74
<i>Bacillus sterothermophilus</i> (ATCC11778)	11.60±1.62	9.20±0.74	8.80±1.46
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	9.60±1.35	9.00±1.26	7.60±1.62
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC29212)	9.40±0.48	8.60±1.35	6.00±0.00

IV. 5. 2. Méthode de contact direct pour la détermination de la CMI

a / *Citrullus colocynthis*

On a procédé à la méthode de contact direct pour but de déterminer les différentes concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits étudiés ; les CMI des extraits aqueux et hydrométhanoliques des trois parties de *Citrullus colocynthis* sont présentées sur le tableau 11 ou on a noté que la meilleur CMI est enregistré par l'extrait hydrométhanolique des racines avec 5.6mg/ml vis-à-vis *Klebsielle pneumonia*, *Listeria monocytogen* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Tableau 11 : CMI des souches bactériennes par les extraits de *Citrullus colocynthis*.

Souches bactériennes	CMI (mg/ml)					
	Fruits		Feuilles		Racines	
	Aq	Hyd	Aq	Hyd	Aq	Hyd
<i>Klebsiella pneumonia</i> (ATCC4352)	9.8	13.93	17.1	10.8	18.9	5.6
<i>Listeria monocytogen</i> (ATCC19115)	9.8	10.85	17.1	10.8	18.9	5.6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)	9.8	13.93	25.2	10.8	20.92	5.6
<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	9.45	13.93	17.1	08.1	15.52	6.0
<i>Bacillus sterothermophilus</i> (ATCC11778)	9.45	10.85	25.2	10.8	21.6	6.0
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	9.8	10.85	25.2	10.8	21.6	6.0
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC29212)	9.8	12.40	25.2	10.8	15.52	6.0

b/ *Datura stramonium*

L'efficacité des extraits de *Datura* sur les souches bactériennes a été déterminée par mesure de la CMI ou on a enregistré une meilleurs CMI de 2mg/ml de l'extrait aqueux des grains vis-à-vis *Staphylococcus aureus*, les résultats de la CMI des extraits de *Datura stramonium* sont rapportés dans le tableau 12.

Tableau 12: Résultats de l'activité antibactérienne par CMI (*Datura stramonium*)

Souches bactériennes	CMI (mg/ml)			
	Feuilles		Grains	
	Aq	Hyd	Aq	Hyd
<i>Klebsiella pneumonia</i> (ATCC4352)	11.70	16.44	–	7.58
<i>Listeria monocytogen</i> (ATCC19115)	26.00	29.9	9.5	4.77
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)	18.85	17.19	–	7.58
<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	14.30	14.20	12.7	13.43
<i>Bacillus sterothermophilus</i> (ATCC11778)	13.65	14.95	9.5	13.43
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	13.00	7.47	2	4.77
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC29212)	14.3	17.94	4.22	7.58

c/ Salsola vermiculata

Les CMI des souches par les extraits de *Salsola* sont moins important dont les extraits aqueux des feuilles et des racines non pas inhibé les souches bactérienne même à des doses très importantes, les extraits hydromethanoliques ont inhibé les souches a différentes concentrations, Les résultats sont mentionnés dans le tableau 13.

Tableau 13 : Résultats de l'activité antibactérienne par CMI (*Salsola vermiculata*)

Souches bactériennes	CMI (mg/ml)			
	Feuilles		Racines	
	Aq	Hyd	Aq	Hyd
<i>Klebsiella pneumonia</i> (ATCC4352)	16	2.9	/	3
<i>Listeria monocytogen</i> (ATCC19115)	/	11.6	/	4.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)	/	7.25	/	4.2
<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	/	8.7	/	3.6
<i>Bacillus sterothermophilus</i> (ATCC11778)	/	13.05	/	4.2
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	/	11.5	/	4.2
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC29212)	/	11.5	/	4.2

c/ Flavonoïdes

Les CMI des flavonoïdes des plantes étudiées sont rapportés dans le tableau 14, ou on a trouvé que *Listeria monocytogen* a été inhibée par les trois flavonoïdes des plantes à différentes concentrations, 1.5µg/ml par des flavonoïdes de *Datura stramonium*, 3µg/ml de la coloquinte et 6.5µg/ml des feuilles de *Salsola vermiculata*.

Tableau 14 : CMI des souches bactériennes par les flavonoïdes des plantes étudiées :

Les souches bactériennes	Diamètres d'inhibitions (µg/ml)		
	Flavonoïdes <i>C. colocynthis</i>	Flavonoïdes <i>D. stramonium</i>	Flavonoïdes <i>S. vermiculata</i>
<i>Klebsiella pneumonia</i> (ATCC4352)	–	3	–
<i>Listeria monocytogen</i> (ATCC19115)	3	1.5	6.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)	–	–	5
<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	6.5	3	–
<i>Bacillus sterothermophilus</i> (ATCC11778)	–	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	5	–	–
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC29212)	6.5	5	–

V. 6. Etude de l'activité antifongique

V. 6. 1. Résultats de la technique de single sport

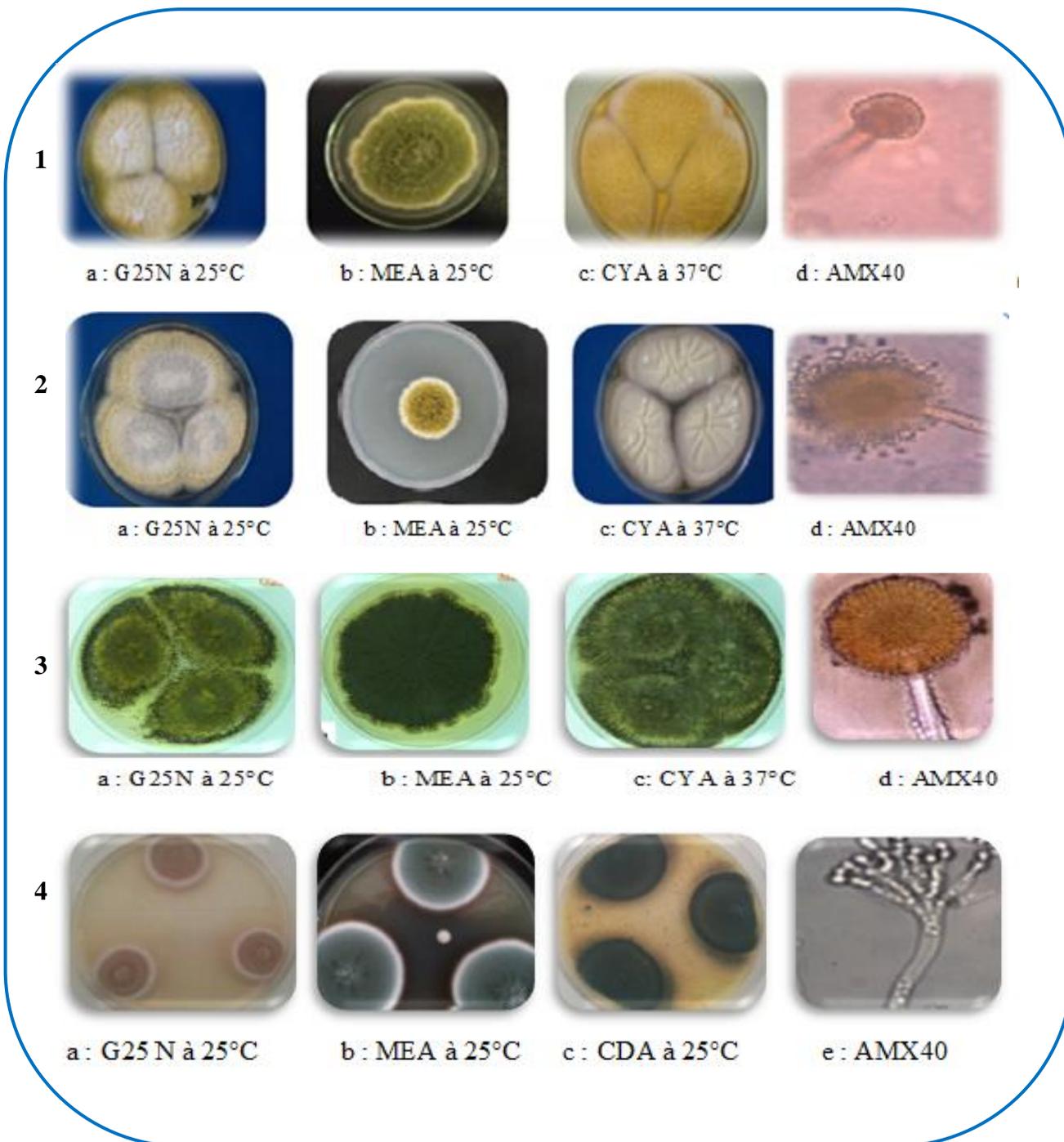
L'identification des genres à l'aide du guide de Barnett (1972) se fait par l'étude des caractères macroscopiques (couleur et aspect du mycélium) et microscopiques (méthode de microculture).

L'identification des espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium* a été réalisée après culture sur différents milieux et à différentes températures.

En se référant aux ouvrages de Pitt (1973) et Ramirez (1982), la détermination des espèces se fait après lecture des diamètres, des couleurs des mycéliums et des métabolites produits, le tableau 15 rapporte les diamètres et les couleurs des mycéliums après 14 jours d'incubation.

Tableau 15 : Couleurs et diamètres des colonies des souches fongiques par la technique de single spore.

Les souches fongiques	Milieux	Couleur	Diamètres après 14 jours d'incubation (mm)
<i>Aspergillus flavus</i>	MEA	Vert	82
	CYA 37°C	Jaune avec contour blanc	41
	CYA 5°C	/	0
	G25N	Blanc avec contour blanc	46
<i>Aspergillus ochraceus</i>	MEA	Vert jaunâtre avec contour blanc	68
	CYA 37°C	Beige	51
	CYA 5°C	/	0
	G25N	Blanc jaunâtre	41
<i>Aspergillus niger</i>	MEA	Noir	64
	CYA 37°C	Noir	61
	CYA 5°C	/	0
	G25N	Noir et jaune claire	46
<i>Penicillium expansum</i>	MEA	Bleu et contour blanc	30.1
	CYA 37°C	Marron foncé et contour beige	43.8
	CDA 25°C	Beige et contour blanc	30.5
	G25N	Blanc	26.5



1 : *A. flavus* 2: *A. ochraceus* 3 : *A. niger* 4 : *P. expansum*

Planche 10 : Aspect macroscopique et microscopique des souches fongiques testées par la méthode de single spore

V. 6. 2. Résultats de l'activité antifongique

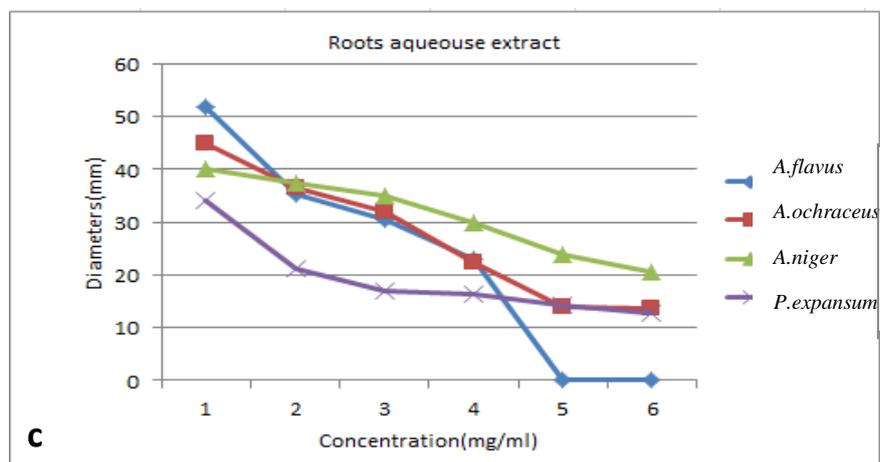
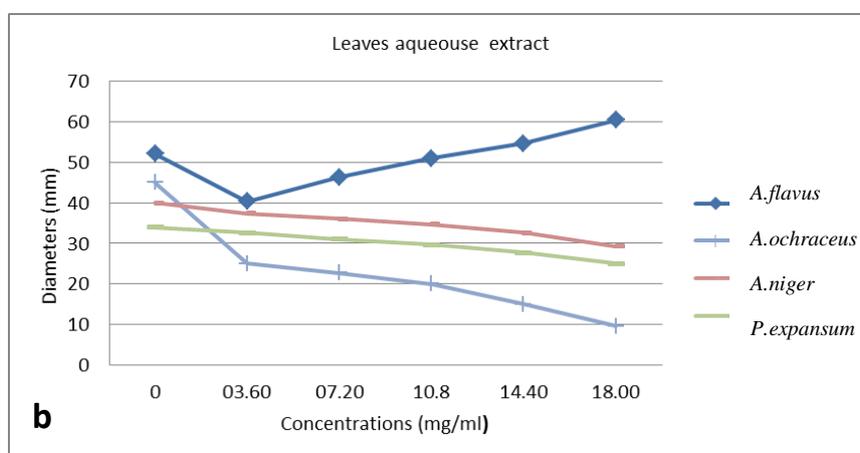
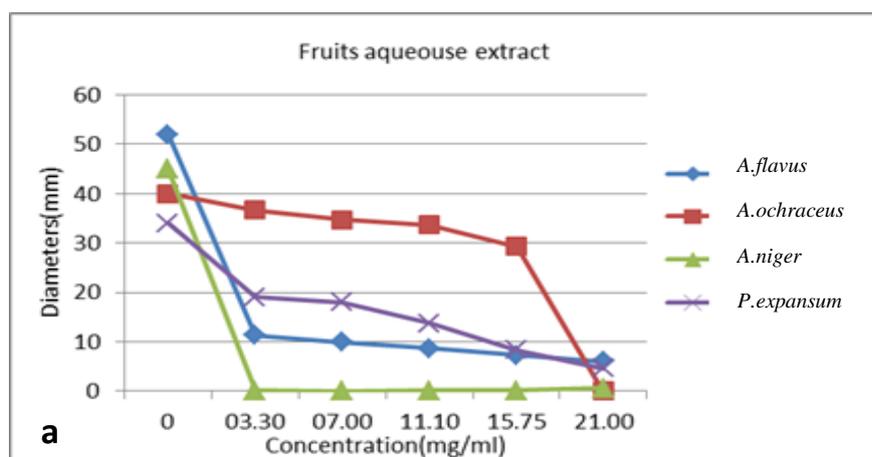
V. 6. 2. a. *Citrullus colocynthis*

V. 6.2.a.1. Méthode de la croissance radiale

La lecture sommaire des différents supports graphiques planches 13 et 14 donnant l'effet des extraits testés sur les souches étudiées, en général les extraits ont exercés un effet antifongique variable sur les souches testés selon l'extrait (aqueux ou méthanolique) et la partie de la plante où on a effectué l'extraction (feuilles, racines ou fruits).

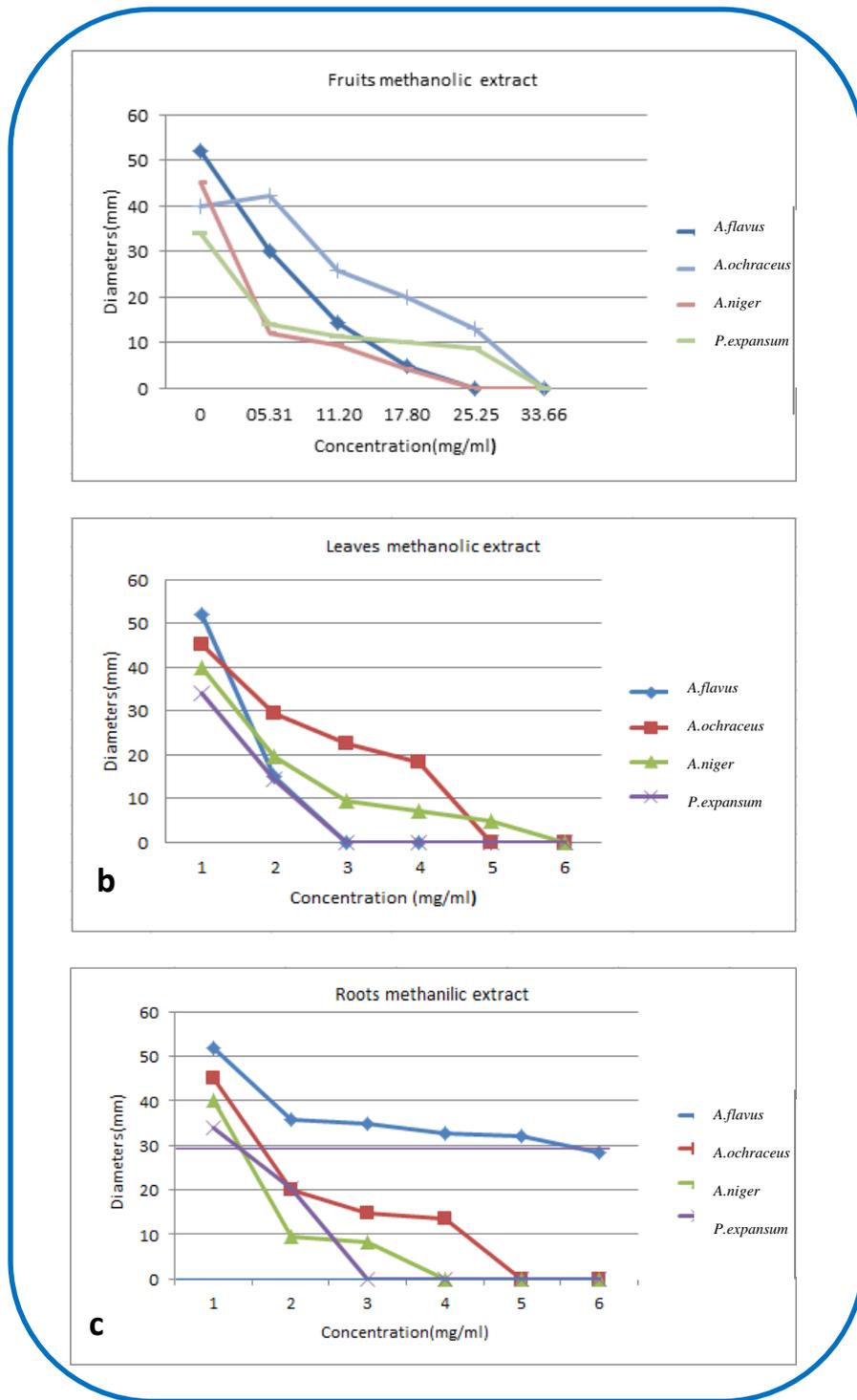
L'extrait aqueux des fruits a donnés des meilleurs résultats ou il a inhibé toutes les souches testés à différentes concentrations, la meilleur concentration d'inhibition par l'extrait aqueux est 3.3mg/ml pour *Aspergillus niger*, les résultats sont illustré sur la planche 11 et 13.

Les extraits hydrométhanoliques ont inhibé toutes les souches testées à différentes concentrations ou ces derniers ont donné une forte inhibition par rapport aux extraits aqueux des mêmes parties de la plante ; les meilleures inhibitions enregistrées sont celle de *Penicillium expansum* à la concentration de 3mg/ml par l'extrait des racines et des feuilles, ce qui est montré sur la planche 12 et 14.



a : Extrait aqueux des fruits, b : Extrait aqueux des feuilles, c : Extrait aqueux des racines

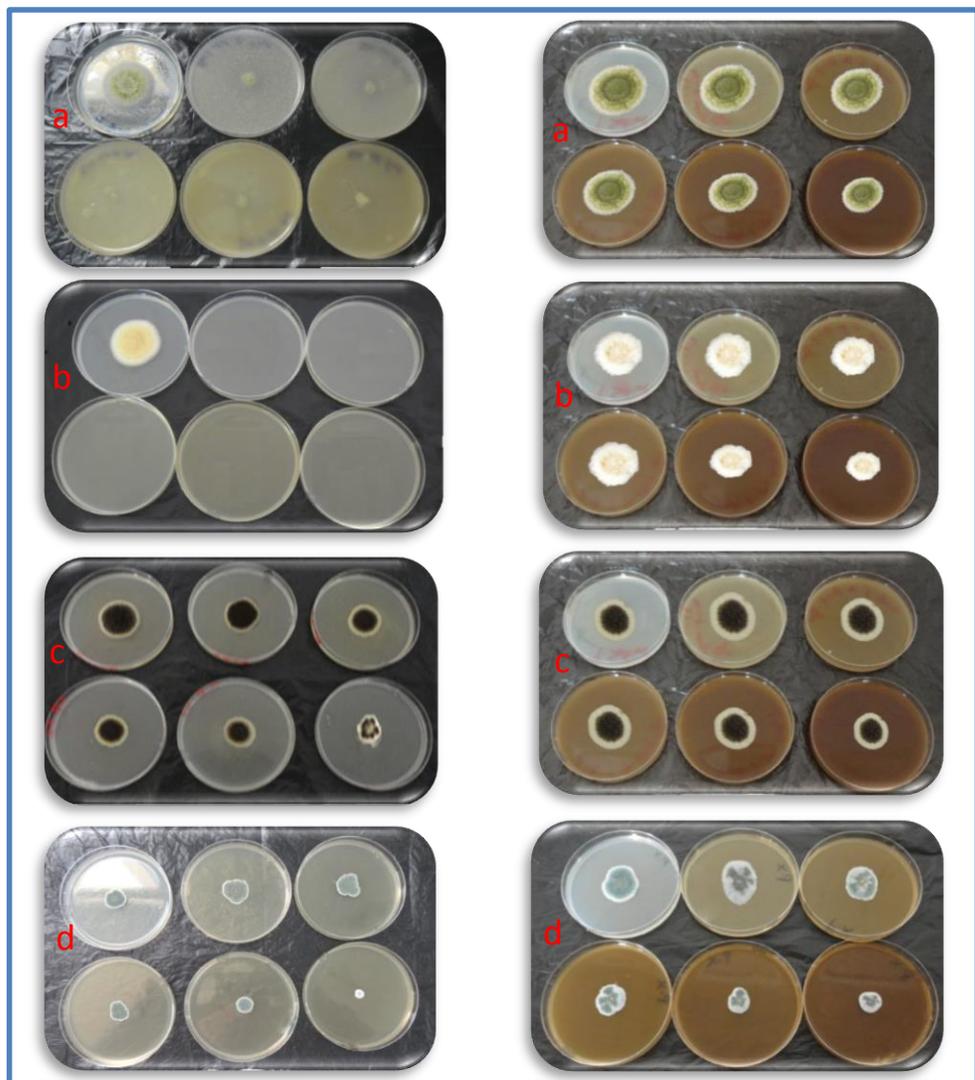
Planche 11 : Résultats de l'activité antifongique des extraits aqueux des différentes parties de *Citrullus colocynthis* par la méthode de la croissance radiale



a : Extrait hydrométhanolique des fruits, b : Extrait hydrométhanolique des feuilles

c : Extrait hydrométhanolique des racines

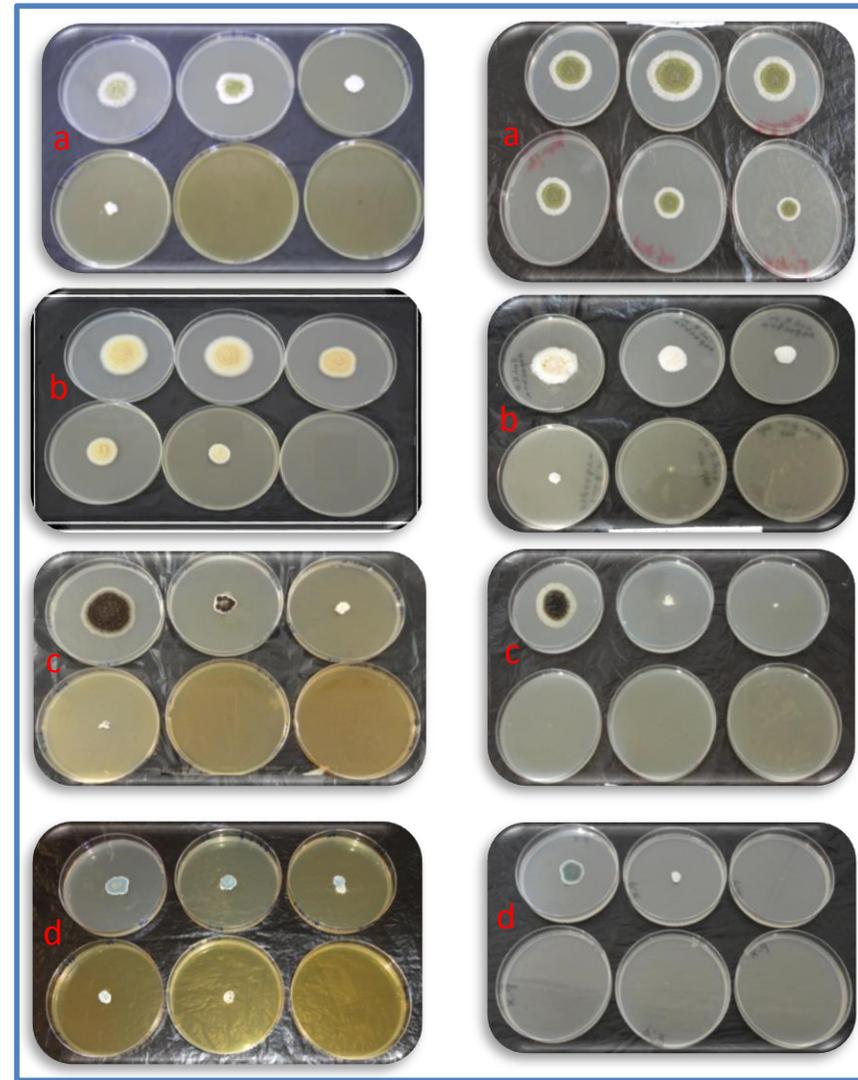
Planche 12 : Résultats de l'activité antifongique de l'extraits hydrométhanoliques des différentes parties de *Citrullus colocynthis* par la méthode de la croissance radiale



a : *A. flavus* ; **b** : *A. ochraceus* ; **c** : *A. niger* ; **d** : *P. expansum*

Gauche : Extrait aqueux des fruits ; **Droite** : Extrait aqueux des feuilles

Planche13 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait aqueux des fruits et des feuilles de *Citrullus colocynthis*



a : *A. flavus* ; **b** : *A. ochraceus* ; **c** : *A. niger* ; **d** : *P. expansum*

Gauche : Extrait hydrométhanolique des fruits ; **Droite** : Extrait hydrométhanolique des racines

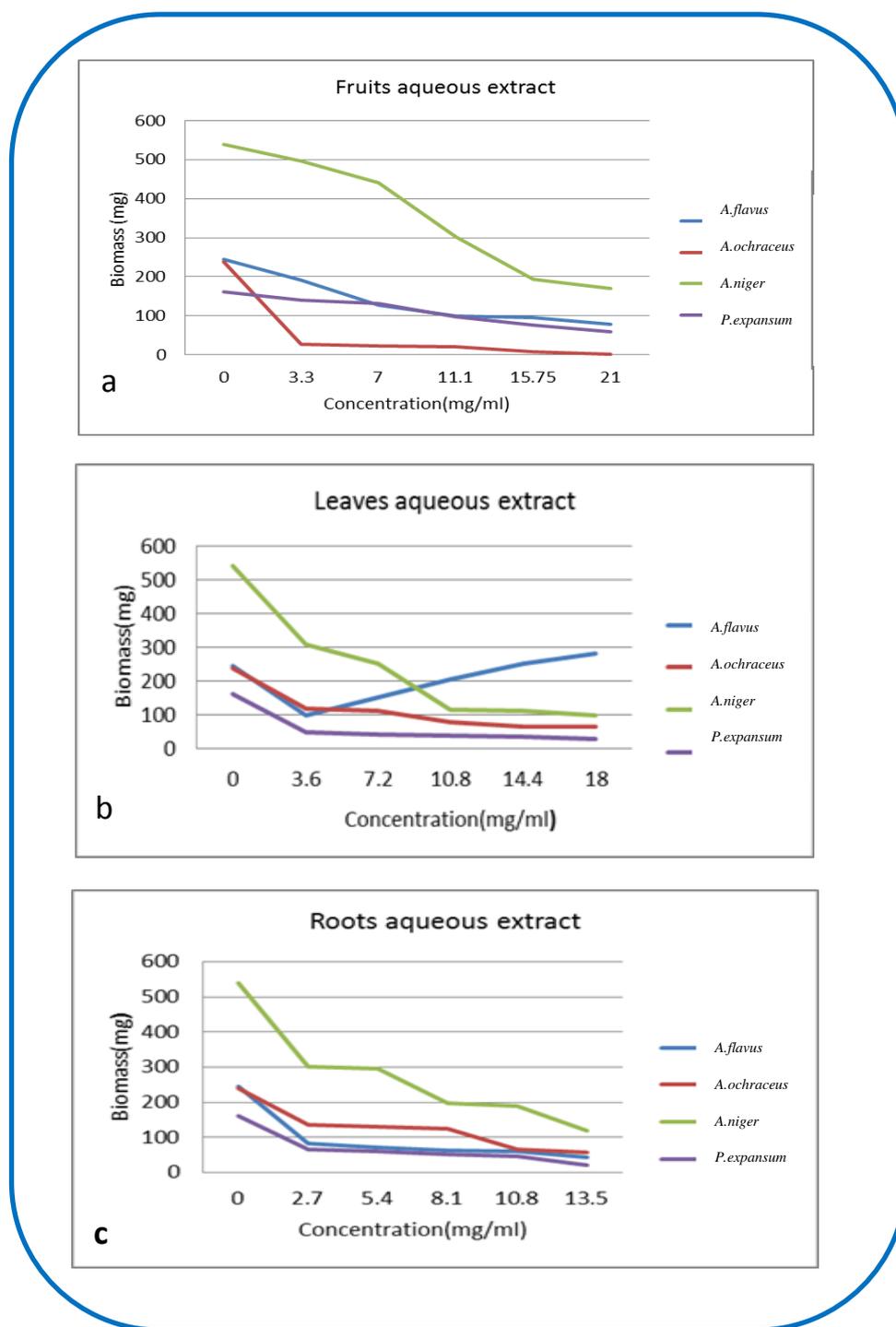
Planche14 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait hydrométhanolique des fruits et des racines de *Citrullus colocynthis*

V. 6.2.a.2. Méthode de la biomasse

En effet les différents résultats collectés et consignés dans les supports graphiques des planches 15 et 16 affichent une diminution de la biomasse fongique proportionnelle à la concentration de l'extrait ajouté au milieu.

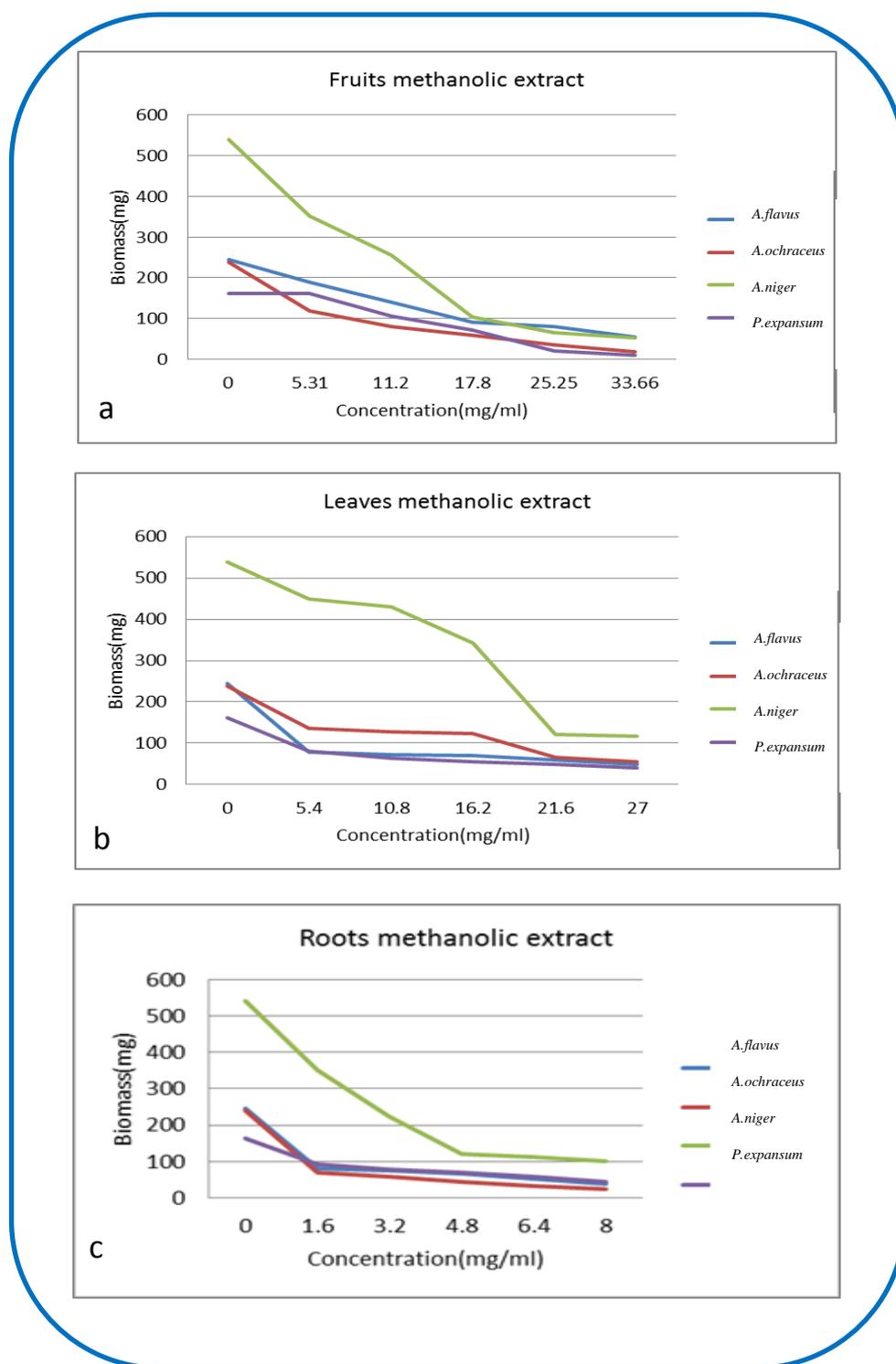
Les mesures des biomasses fongiques sous l'effet des différentes concentrations des extraits aqueux démontrent l'efficacité de ces derniers sur les souches testés ou on a noté une meilleure réduction de l'*A. ochraceus* 100% par l'extrait aqueux des fruits de la coloquinte, ces résultats sont rapportés sur la planche 15.

Les extraits hydrométhanolique ont également contribué un pouvoir antifongique plus important vis-à-vis tous les souches étudiées avec une meilleur réduction de la biomasse du *P. expansum* avec les extraits des trois parties (fruits, feuilles et racines), ces résultats sont mentionnés sur la planche 16.



a : Extrait aqueux des fruits, b : Extrait aqueux des feuilles, c : Extrait aqueux des racines

Planche 15 : Résultats de l'activité antifongique des extraits aqueux des différentes parties de *Citrullus colocynthis* par la méthode de la biomasse



a : Extrait méthanolique des fruits, b : Extrait méthanolique des feuilles

c : Extrait méthanolique des racines

Planche 16 : Résultats de l'activité antifongique de l'extraits hydrométhanoliques des différentes parties de *Citrullus colocynthis* par la méthode de la biomasse.

- **Calcul des pourcentages d'inhibition :**

Après les calculs des pourcentages d'inhibition on a constaté que toutes les souches fongique testés ont été inhibées à 100% par les trois extraits hydrométhanolique des fruits, feuilles et racines, alors que les extraits aqueux ont inhibé quelques souches tel que l'*A.ochraceus* et le *A.flavus* à la concentration 3.3mg/ml et 10.8mg/ml ; les résultats sont rapporté sur le tableau 16.

Tableau 16 : Les pourcentages d'inhibition des souches fongiques testées sous l'effet des extraits de *Citrullus colocynthis* :

		<i>A.flav</i> (%)	<i>A.ochr</i> (%)	<i>A.niger</i> (%)	<i>P.exp</i> (%)
Fruits	Aqu	Af _{21mg/ml} = 88.46	Af _{3.3mg/ml} =100	Af _{21mg/ml} = 37.5	Af _{21mg/ml} =85.29
	Met	Af _{25.25mg/ml} =100	Af _{33.66mg/ml} =100	Af _{25.25mg/ml} =100	Af _{33.66mg/ml} =100
Feuilles	Aqu	Af= _	Af _{18mg/ml} = 77.77	Af _{18mg/ml} =25.00	Af _{18mg/ml} =26.47
	Met	Af _{10.80mg/ml} =100	Af _{21.6mg/ml} =100	Af _{27mg/ml} =100	Af _{10.8mg/ml} =100
Racines	Aqu	Af _{10.80mg/ml} =100	Af _{13.5mg/ml} =75.55	Af _{13.5mg/ml} =47.5	Af _{13.5mg/ml} =61.76
	Met	Af _{8.00mg/ml} =44.23	Af _{6.4mg/ml} =100	Af _{4.8mg/ml} =100	Af _{3.2mg/ml} =100

IV. 6. 2. b. *Datura stramonium***IV. 6. 2. b. 1. Méthode de croissance radiale**

D'après les résultats présentés sur les planches 17 , 18 et 19 l'extrait aqueux des feuilles et des grains de la *Datura stramonium* ou on a enregistré une diminution importante de la croissance radiale des souches fongiques testées sous l'effet de l'extrait aqueux des feuilles alors que l'extrait aqueux des grains a présenté un faible effet sur les souches testées avec une faible diminution de l'*A. ochraceus* et le *P. expansum*, il est à noter qu'il y a une augmentation dans les diamètres de l'*A. flavus* et l'*A. niger*.

En revanche, les extraits hydrométhanoliques des feuilles et des grains ont donné une meilleure inhibition par rapport aux extraits aqueux, une diminution importante de la croissance radiale a été enregistrée pour l'*A. flavus* et l'*A. niger* ou le diamètre de l'*A. niger* a été diminué de 75mm à 9mm ; les résultats sont illustrés sur les planches 20, 21 et 22.

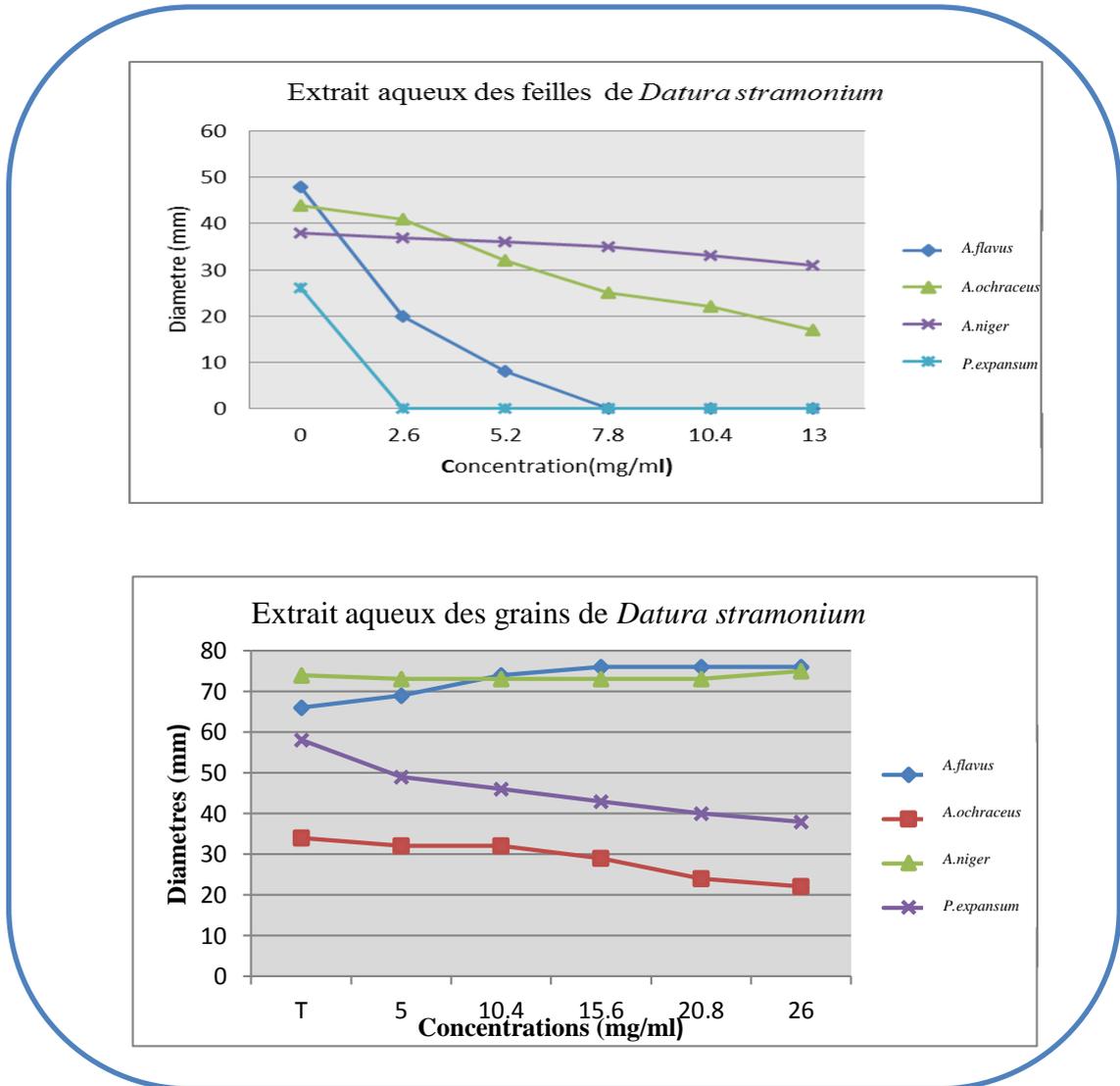
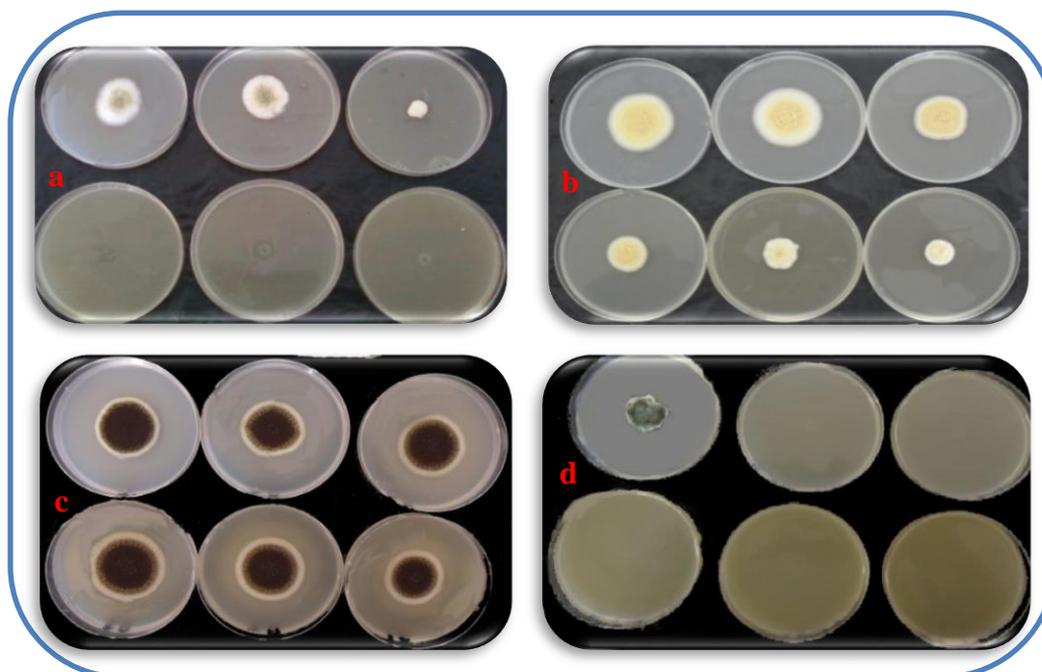
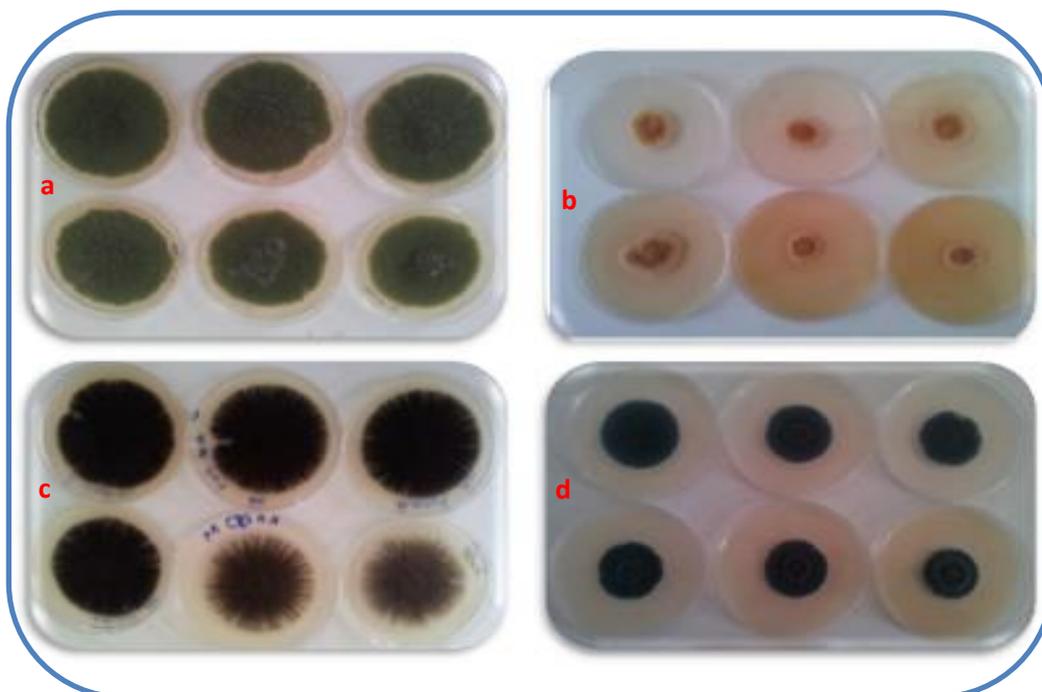


Planche 17 : Résultats de l'activité antifongique des extraits aqueux des feuilles et des grains de *Datura stramonium* par la méthode de la croissance radiale



a : *A. flavus* ; **b** : *A. ochraceus* ; **c** : *A. niger* ; **d** : *P. expansum*

Planche18 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait aqueux des feuilles de *Datura stramonium*



a : *A. flavus* ; **b** : *A. ochraceus* ; **c** : *A. niger* ; **d** : *P. expansum*

Planche19 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait aqueux des grains de *Datura stramonium*

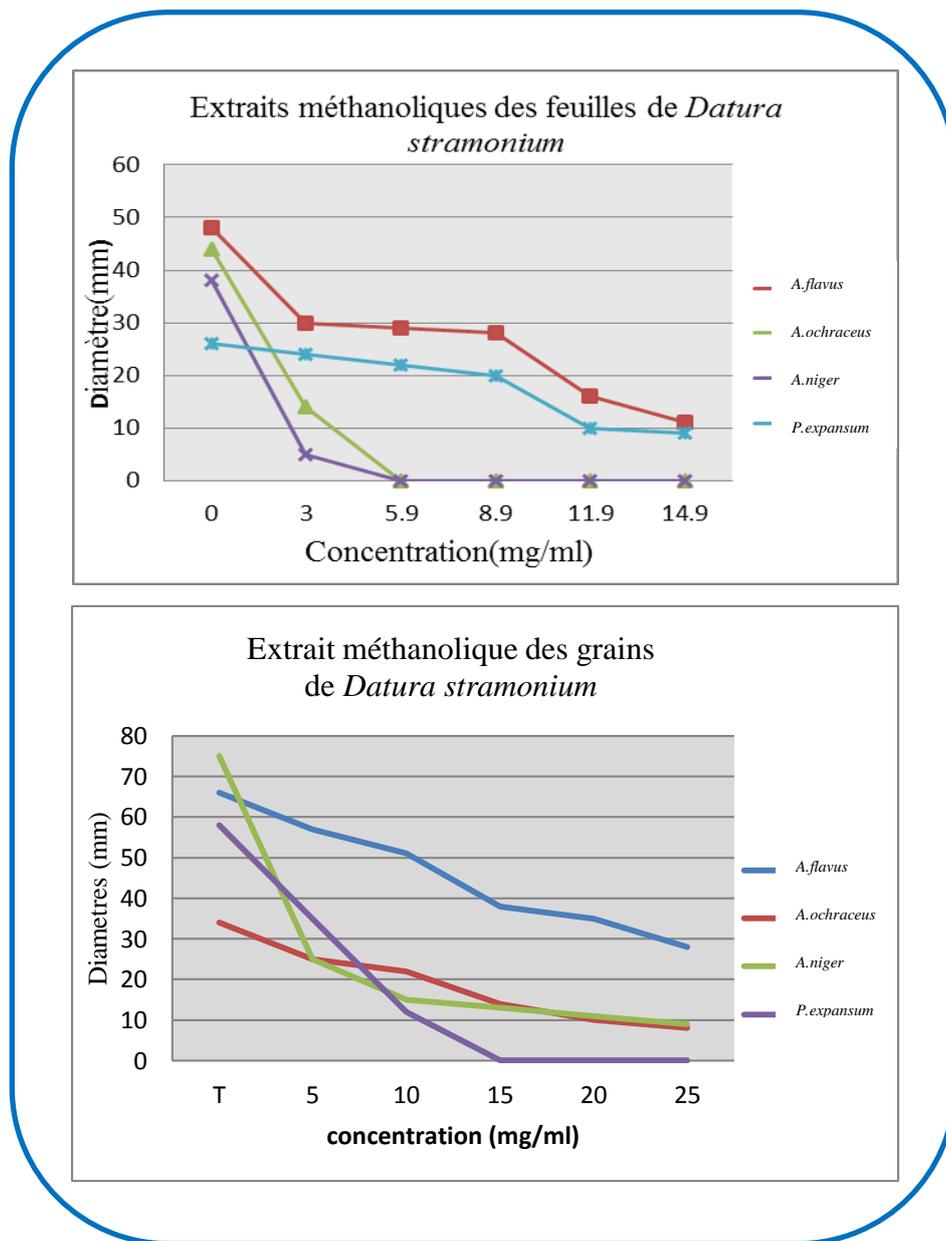
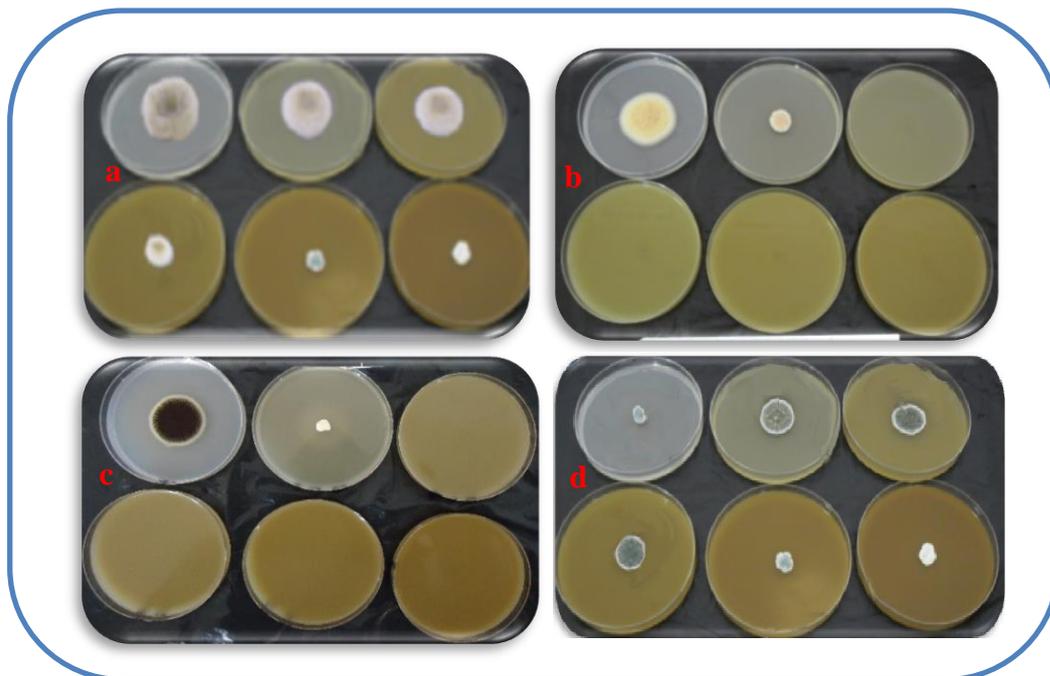
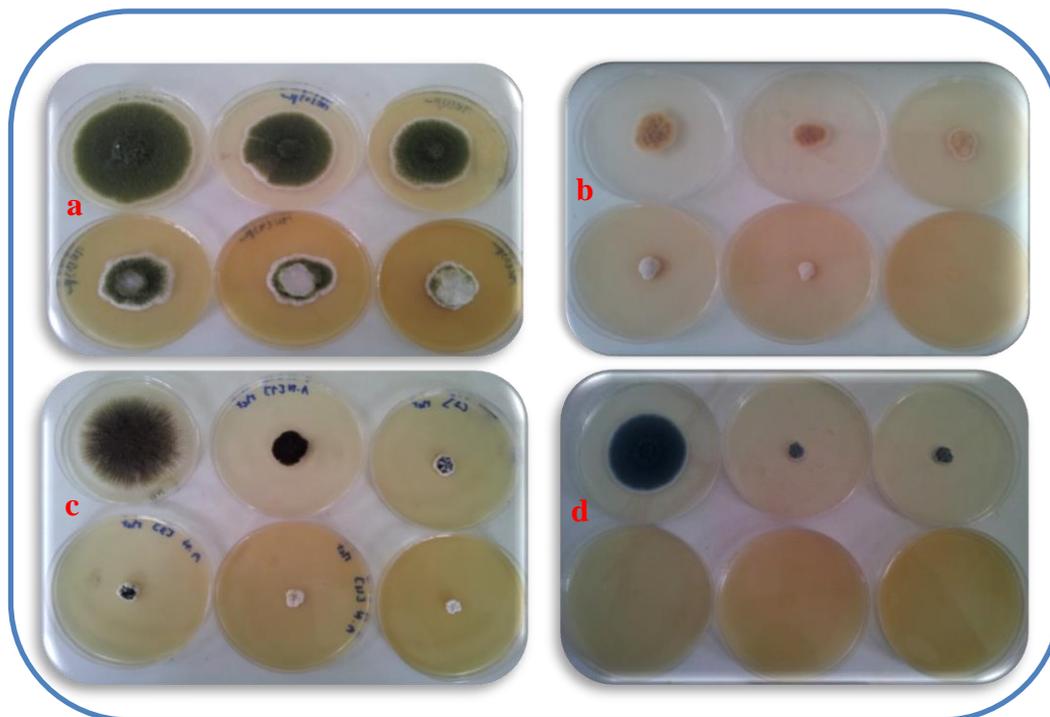


Planche 20 : Résultats de l'activité antifongique des extraits hydrométhanoliques des feuilles et des grains de *Datura stramonium* par la méthode de la croissance radiale



a : *A. flavus* ; **b** : *A. ochraceus* ; **c** : *A. niger* ; **d** : *P. expansum*

Planche21 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait hydrométhanolique des feuilles de *Datura stramonium*



a : *A. flavus* ; **b** : *A. ochraceus* ; **c** : *A. niger* ; **d** : *P. expansum*

Planche22 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait hydrométhanolique des grains de *Datura stramonium*

IV. 6.2.b.2. Méthode de la biomasse

En effet les différents résultats collectés et consignés dans les supports graphiques des planches 23 et 24 affichent une diminution de la biomasse fongique proportionnelle à la concentration de l'extrait ajouté au milieu.

Les extraits aqueux des feuilles et des grains ont inhibés toutes les souches fongiques testé sauf pour l'*A.flavus* on a enregistré une augmentation de la biomasse avec l'extrait aqueux des grains par apport au témoin qui a été de 170 mg alors que à la concentration 26mg/ml on a enregistré 326mg ; les résultats sont rapportés sur la planche 23.

En outre les souches fongiques ont été inhibées par les extraits hydrométhanoliques ou le *P.exponsum* est inhibé à 100% par l'extrait hydrométhanolique des grains, ces résultats sont illustrés sur la planche 24.

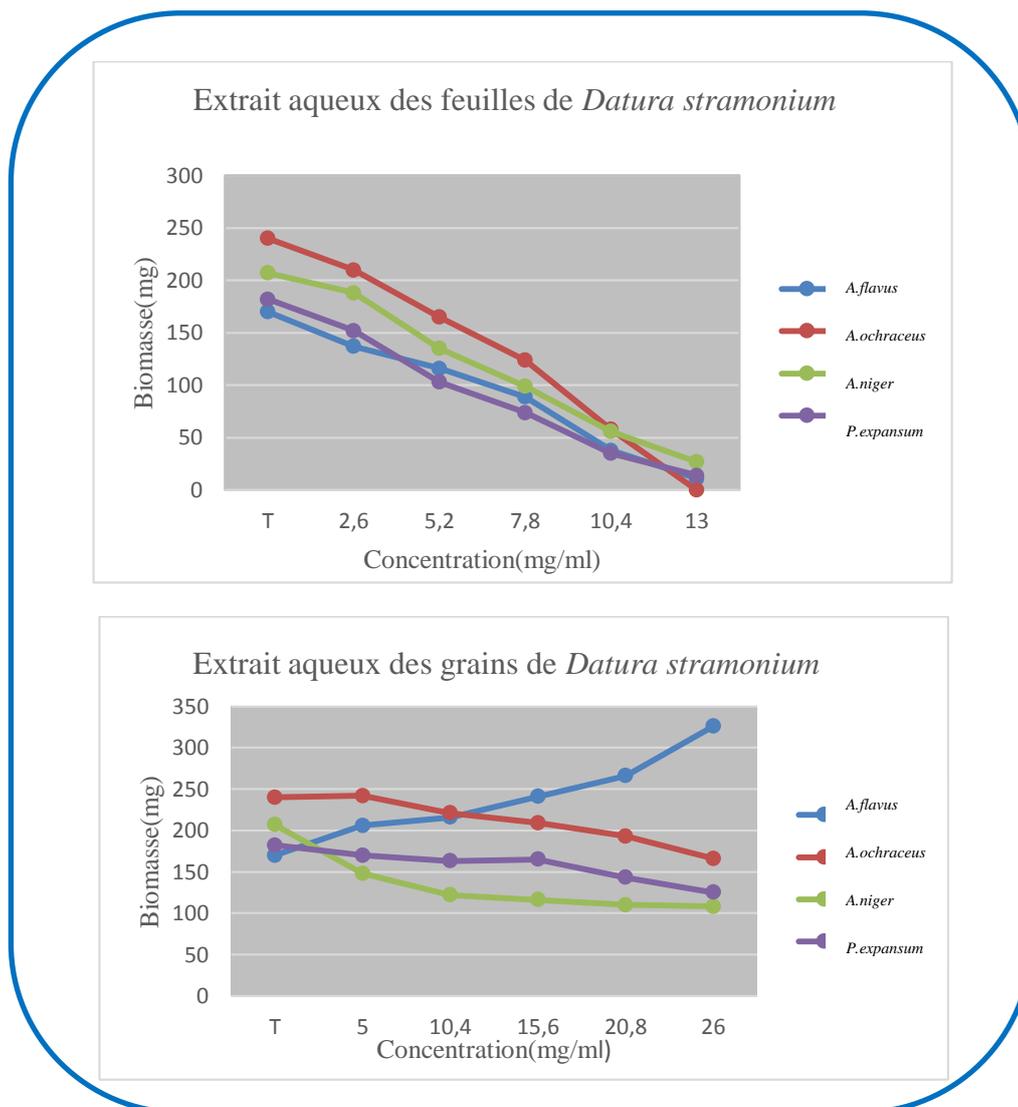


Planche23 : Résultats de l'activité antifongique des extraits aqueux des feuilles et des grains de *Datura stramonium* par la méthode de la biomasse.

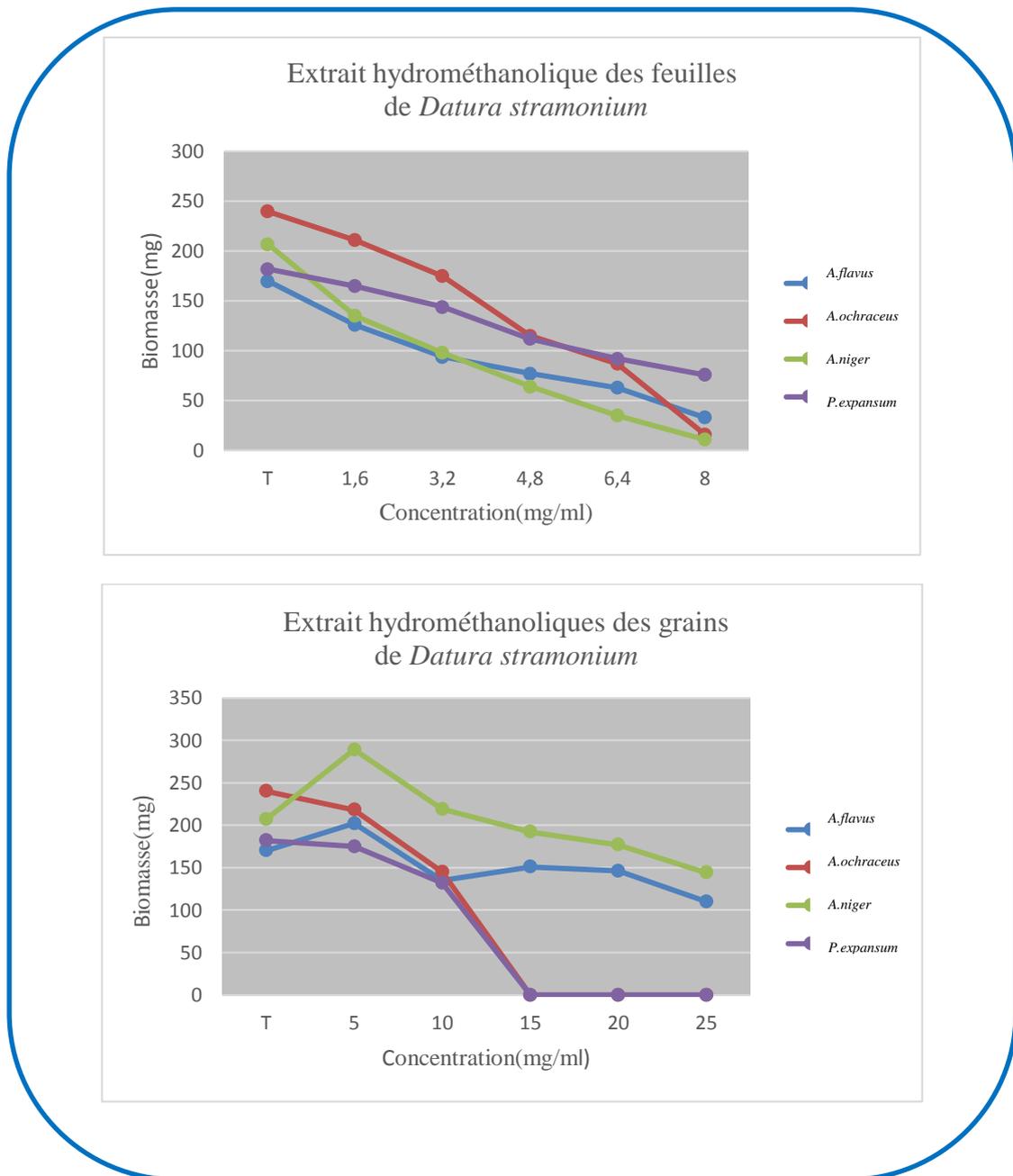


Planche 24 : Résultats de l'activité antifongique des extraits hydrométhanoliques des feuilles et des grains de *Datura stramonium* par la méthode de la biomasse

- **Calcul des pourcentages d'inhibition :**

Le tableau 17 rapporte les pourcentages d'inhibition des souches fongiques testées par apport aux concentrations des extraits aqueux et hydrométhanoliques des feuilles et des grains de *Datura stramonium* ou les valeurs d'inhibition de l'*A. ochraceus* et *A. niger* est de 100% avec l'extrait hydrométhanolique des feuilles à la concentration 5.9mg/ml. L'extrait aqueux des feuilles a inhibé totalement l'*A. flavus* et l'*A. ochraceus* à des concentration de 7.8 et 2.6 mg/ml respectivement.

L'inhibition des extraits des grains est très limitée ou la seule souche inhibée à 100% est le *P.expansum* par l'extrait hydrométhanolique.

Tableau 17 : Les pourcentages d'inhibition des souches fongiques testées sous l'effet des extraits de *Datura stramonium* :

		<i>A.flav</i>	<i>A.ochr</i>	<i>A.niger</i>	<i>P.exp</i>
Feuilles	Aqu	Af _{7.8mg/ml} = 100	Af _{13mg/ml} =85.29	Af _{13mg/ml} = 37.5	Af _{2.6mg/ml} =100
	Metha	Af _{14.9mg/ml} =80.76	Af _{5.9mg/ml} =100	Af _{5.9mg/ml} =100	Af _{14.9mg/ml} =56.52
Grains	Aqu	Af= /	Af _{26mg/ml} = 35	Af= /	Af _{26mg/ml} =34
	Metha	Af _{25mg/ml} =57	Af _{25mg/ml} =76	Af _{25mg/ml} =88	Af _{15mg/ml} =100

IV. 6. 2. c. *Salsola vermiculata***IV. 6. 2. c. 1. Méthode de croissance radiale**

Les résultats présentés sur la planche 25, 26 et 27 expriment que les diamètres des souches fongiques testées ont été augmentés proportionnellement avec la concentration de l'extrait aqueux des feuilles ajouté au milieu, sauf pour le *P. expansum* qu'on a enregistré une faible diminution du diamètre. Les diamètres des souches fongiques ont été diminués sous l'effet de l'extrait aqueux des racines sauf pour l'*A.niger* qu'il y a une augmentation relative avec l'augmentation du volume de l'extrait ajouté au milieu.

Les extraits hydrométhanoliques ont donnés des effets plus importants, toutes les souches fongiques ont été totalement inhibées a des faibles concentrations, ces résultats sont présentés sur la planche 28, 29 et 30.

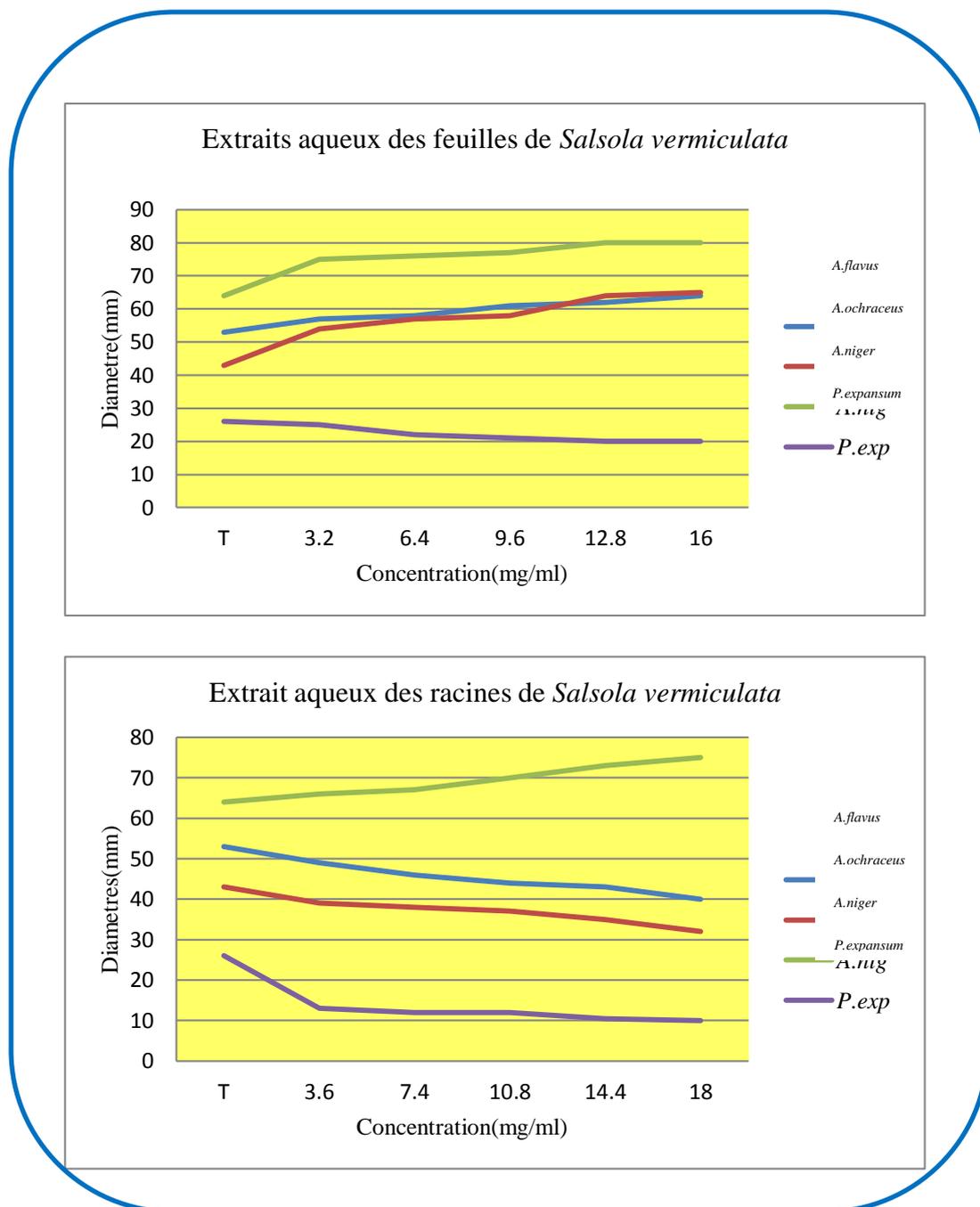
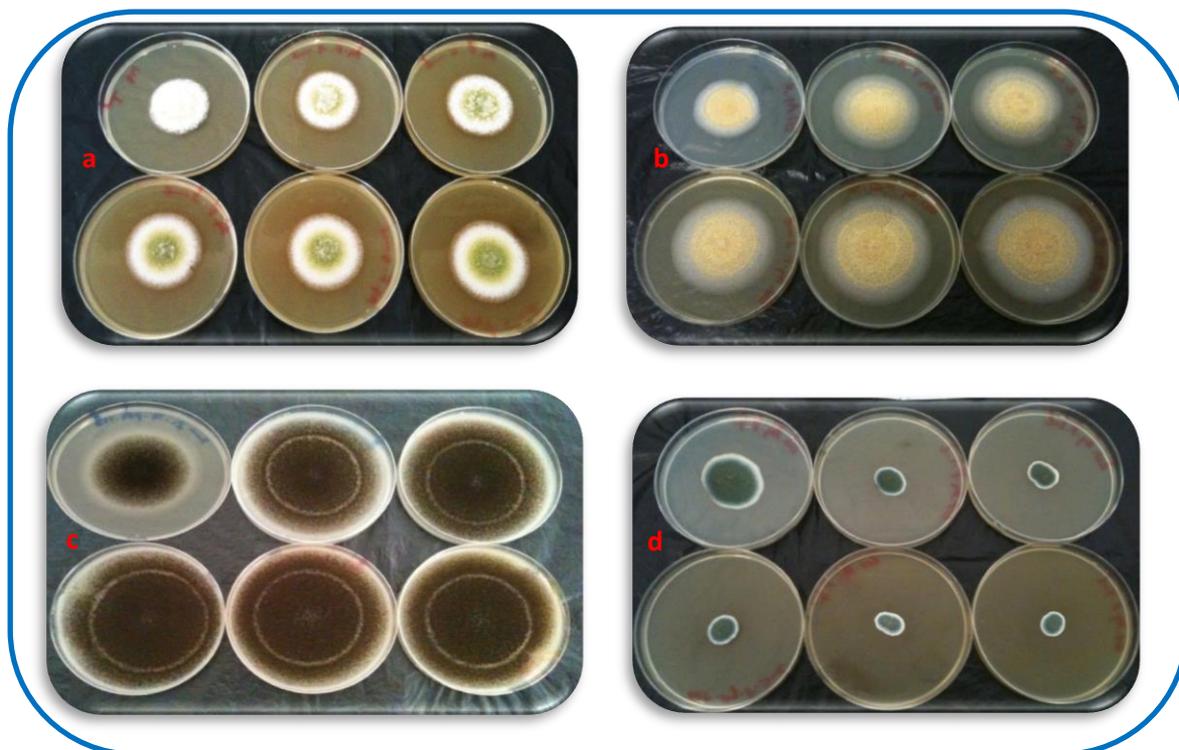
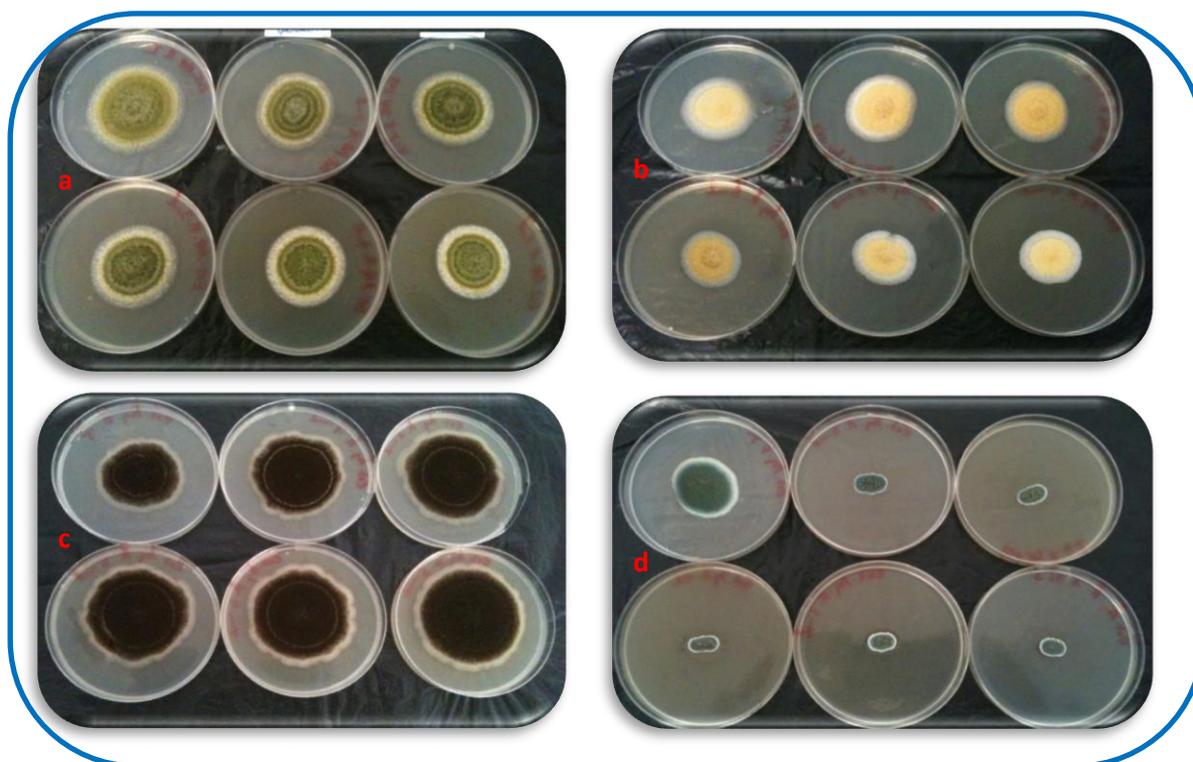


Planche 25 : Résultats de l'activité antifongique des extraits aqueux des feuilles et des racines de *Salsola vermiculata* par la méthode de la croissance radiale



a : *A. flavus* ; **b** : *A. ochraceus* ; **c** : *A. niger* ; **d** : *P. expansum*

Planche26 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait aqueux des feuilles de *Salsola vermiculata*



a : *A. flavus* ; **b** : *A. ochraceus* ; **c** : *A. niger* ; **d** : *P. expansum*

Planche27 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait aqueux des racines de *Salsola vermiculata*

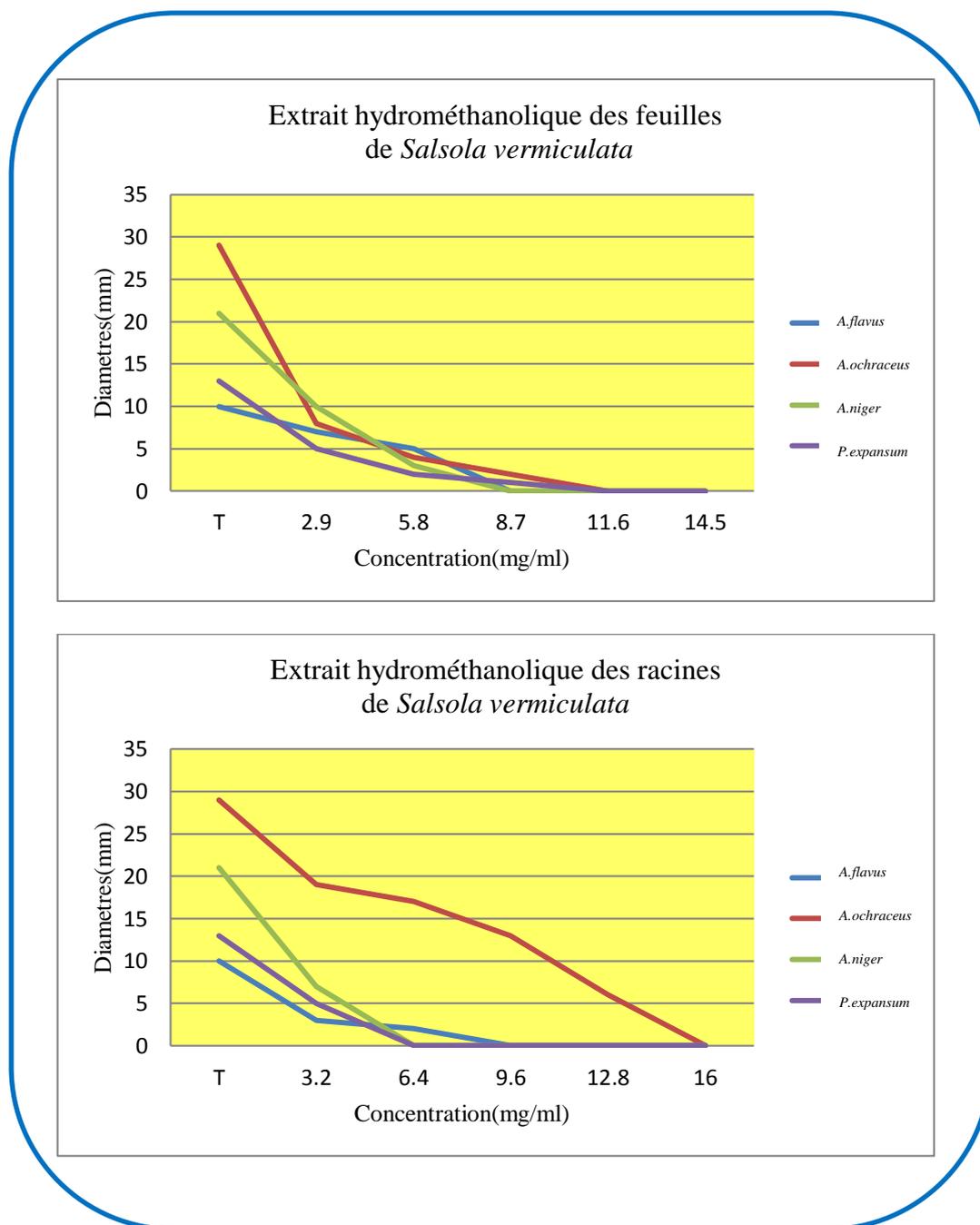
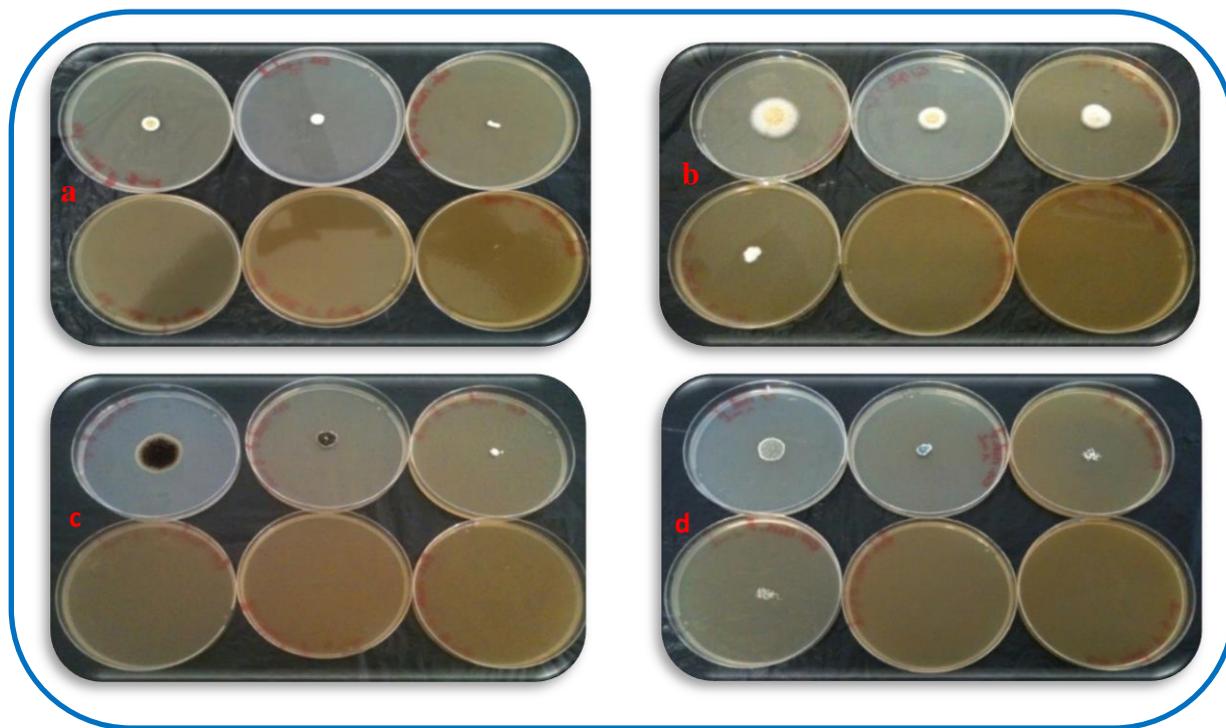
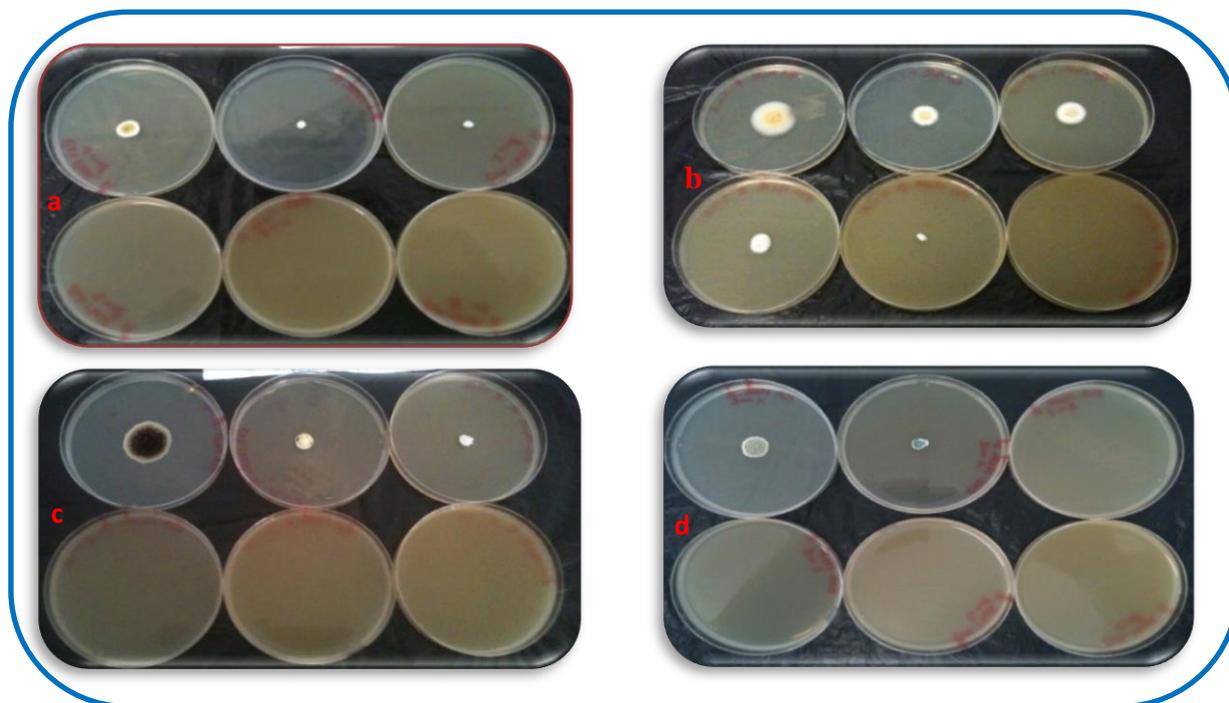


Planche 28 : Résultats de l'activité antifongique des extraits hydrométhanoliques des feuilles et des racines de *Salsola vermiculata* par la méthode de la croissance radiale



a : *A. flavus* ; **b** : *A. ochraceus* ; **c** : *A. niger* ; **d** : *P. expansum*

Planche 29 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait hydrométhanolique des feuilles de *Salsola vermiculata*



a : *A. flavus* ; **b** : *A. ochraceus* ; **c** : *A. niger* ; **d** : *P. expansum*

Planche 30 : Photos des résultats de l'activité antifongique par l'extrait hydrométhanolique des racines de *Salsola vermiculata*

IV. 6.2.c.2. Méthode de la biomasse

Par l'extrait aqueux des feuilles et des racines de *Salsola vermiculata* les biomasses de toutes les souches fongiques ont été diminuées à des concentrations variables, ces résultats sont illustrés sur la planche 31.

L'extrait hydrométhanolique des feuilles et des racines a diminué les biomasses des souches proportionnellement avec les concentrations des extraits ajouté aux milieux, la meilleure diminution est enregistrée par l'*A.niger* ou la biomasse du témoin a dépassé les 325mg les résultats sont mentionnés sur la planche 32.

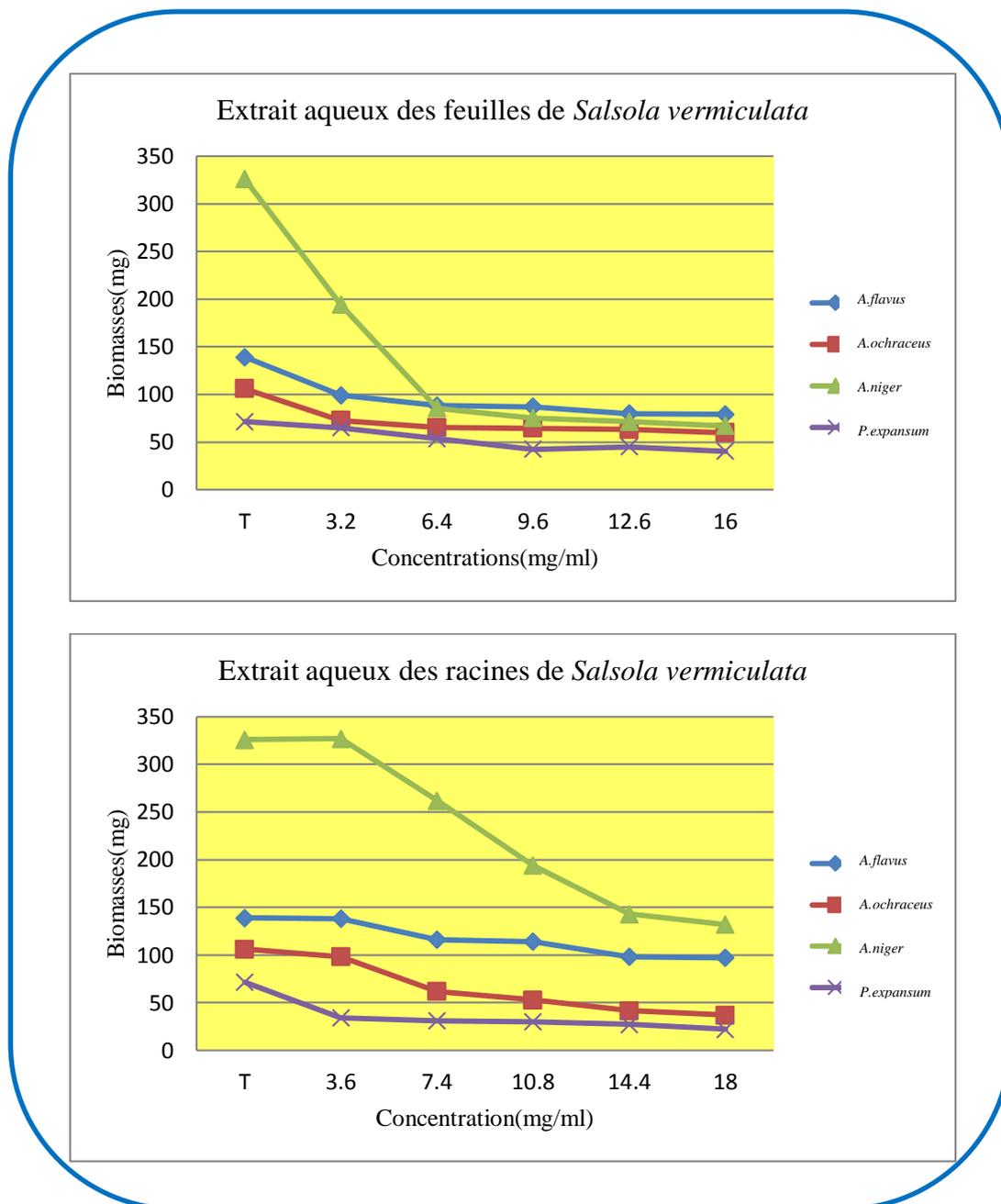


Planche 31 : Résultats de l'activité antifongique par l'extrait aqueux des feuilles et des racines de *Salsola vermiculata* par la méthode de la biomasse

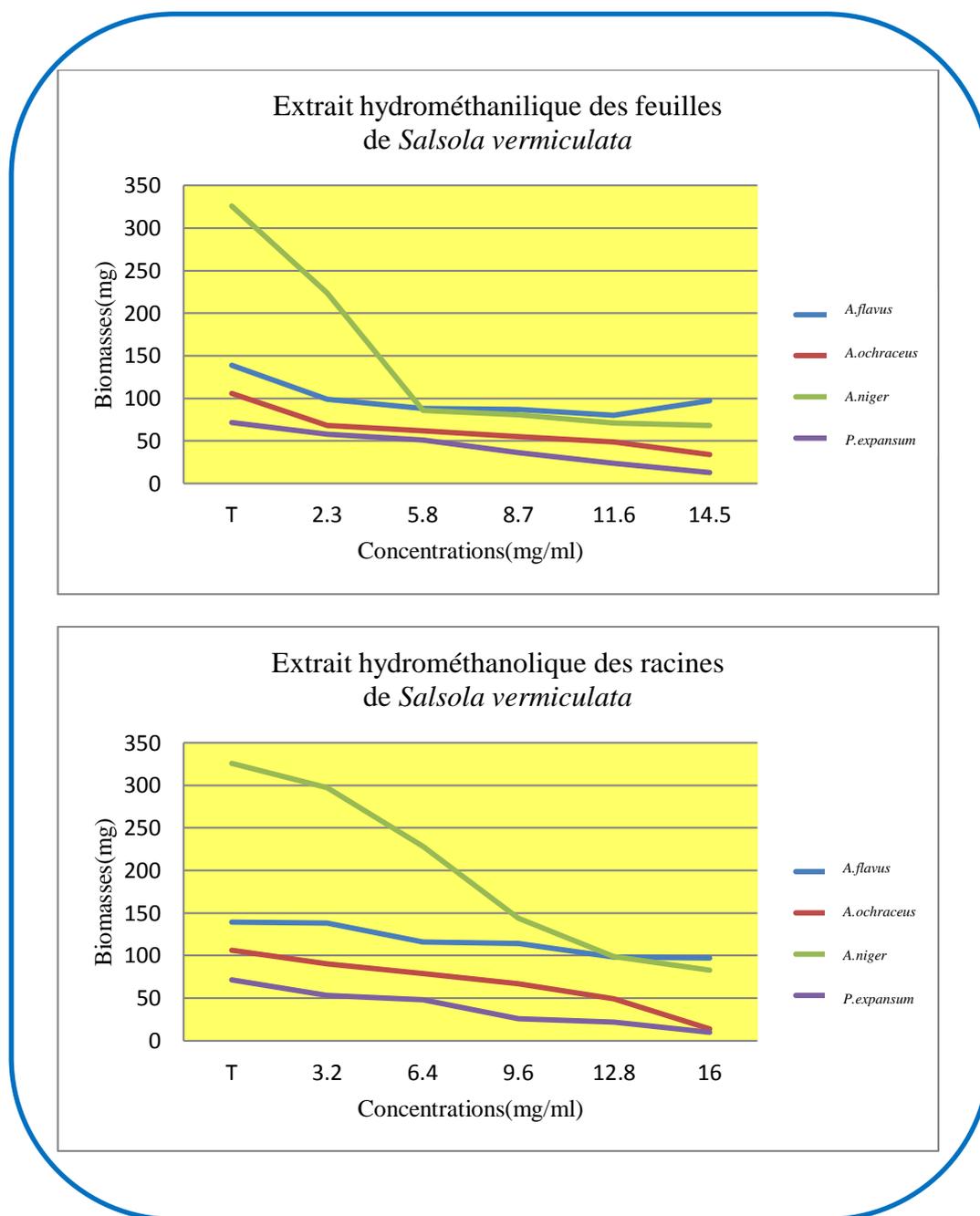


Planche 32 : Résultats de l'activité antifongique par l'extrait hydrométhanolique des feuilles et des racines de *Salsola vermiculata* par la méthode de la biomasse

- **Calcul des pourcentages d'inhibition :**

Le tableau 18 rapporte les pourcentages d'inhibition des souches fongiques testées par rapport aux concentrations des extraits aqueux et hydrométhanoliques des feuilles et des grains de *Salsola vermiculata* ou la valeur d'inhibition des quatre souches étudiées par l'extrait hydrométhanolique des feuilles et des racines est de 100%. L'extrait aqueux des feuilles a diminué la croissance de la *P. expansum* seulement.

Tableau 18 : Les pourcentages d'inhibition des souches fongiques testées sous l'effet des extraits de *Salsola vermiculata*:

		<i>A.flav</i>	<i>A.ochr</i>	<i>A.niger</i>	<i>P.exp</i>
Feuilles	Aqu	Af = /	Af = /	Af = /	Af _{16mg/ml} =23.08
	Meth	Af _{8.7mg/ml} =100	Af _{11.6mg/ml} =100	Af _{8.7mg/ml} =100	Af _{8.7mg/ml} =100
Racines	Aqu	Af _{18mg/ml} =27.27	Af _{18mg/ml} =25.58	Af = /	Af _{18mg/ml} =22.26
	Meth	Af _{9.6mg/ml} =100	Af _{16mg/ml} =100	Af _{6.4mg/ml} =100	Af _{6.4mg/ml} =100

IV. 6. 2. d. Activité antifongique des flavonoïdes des plantes étudiées :

Le support graphique 33 démontre les effets des flavonoïdes extraite des feuilles des plantes étudiées sur les quatre souches fongiques ; Les flavonoïdes des feuilles de *Citrullus colocynthis* ont donné une bonne inhibition de *A. niger* et le *P. expansum* à des concentrations de 3 et 4µg/ml, concernant *A. ochraceus* et *A. flavus* une diminution proportionnelle à la concentration des flavonoïdes a été enregistrée.

Les flavonoïdes de la *Datura stramonium* ont inhibé le *P. expansum* à une concentration de 1.5µg/ml alors que la croissance des autres souches a été réduit par rapport au témoin, il est a noté une fluctuation de la croissance mycélienne de *A. niger* à la concentration 3µg/ml.

Les flavonoïdes extraits de *Salsola vermiculata* sont plus efficace sur le *P. expansum* par rapport aux autres souches fongiques ou il a été inhibé à 1.5µg/ml alors qu'une diminution de la croissance radiale est notée pour les autres souches.

- Calcule des pourcentages d'inhibition :

Le tableau 19 rapporte les pourcentages d'inhibition des souches fongiques testées par rapport aux concentrations des flavonoïdes des feuilles des plantes étudiées ou le *P. expansum* a été inhibé à 100% par les trois plantes, *A. niger* est inhibé à 100% par les flavonoïdes de *Citrullus colocynthis*.

Tableau 19 : Les pourcentages d'inhibition des souches fongiques testées sous l'effet des extraits de *Salsola vermiculata*:

	<i>Citrullus colocynthis</i>	<i>Datura stramonium</i>	<i>Salsola vermiculata</i>
<i>A. flavus</i>	Af _{6.5mg/ml} =74.2	Af _{6.5mg/ml} =57.14	Af _{6.5mg/ml} =43.6
<i>A. ochraceus</i>	Af _{6.5mg/ml} =73.2	Af _{6.5mg/ml} =42.8	Af _{6.5mg/ml} =68.5
<i>A. niger</i>	Af _{6.5mg/ml} =100	Af _{3mg/ml} =30	Af _{6.5mg/ml} =38
<i>P. expansum</i>	Af _{5mg/ml} =100	Af _{1.5mg/ml} =100	Af _{1.5mg/ml} =100

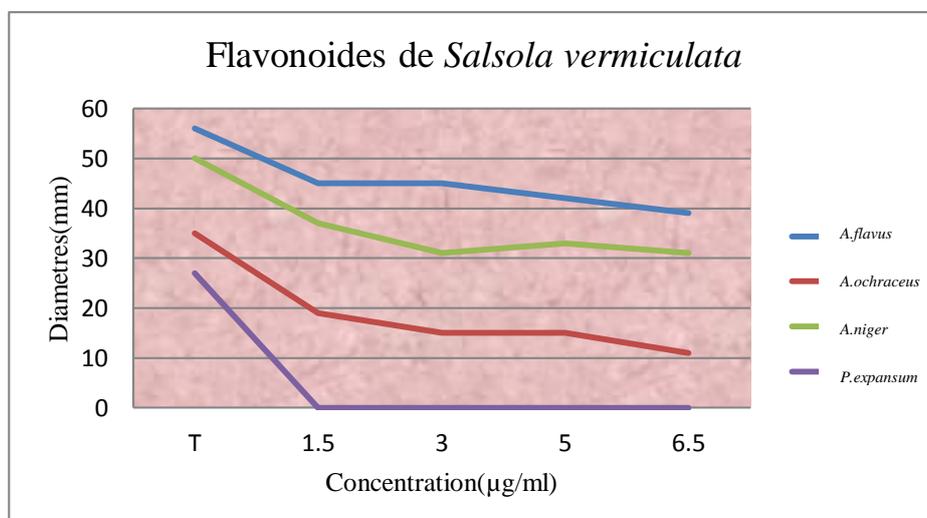
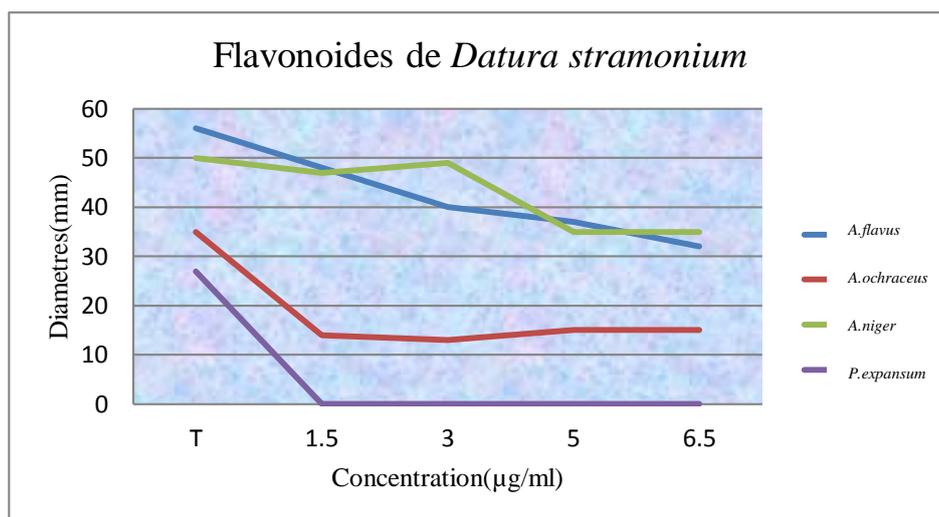
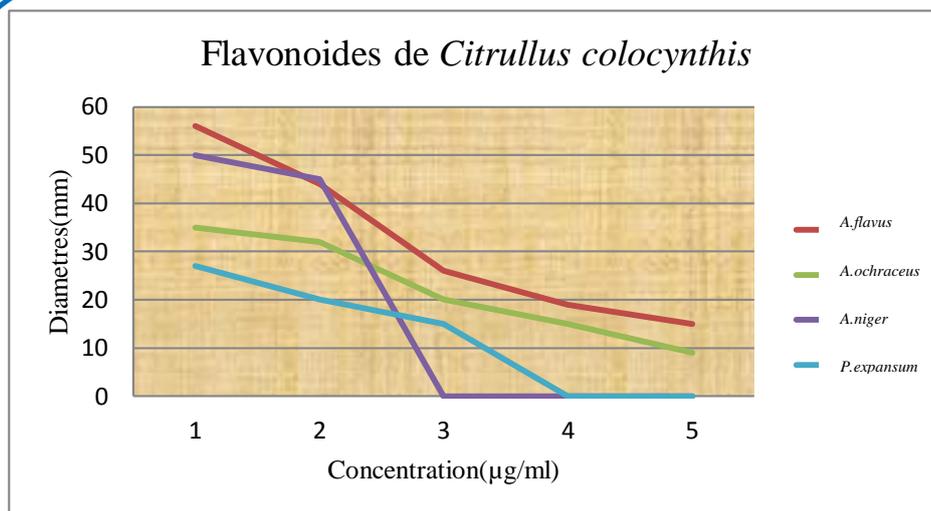
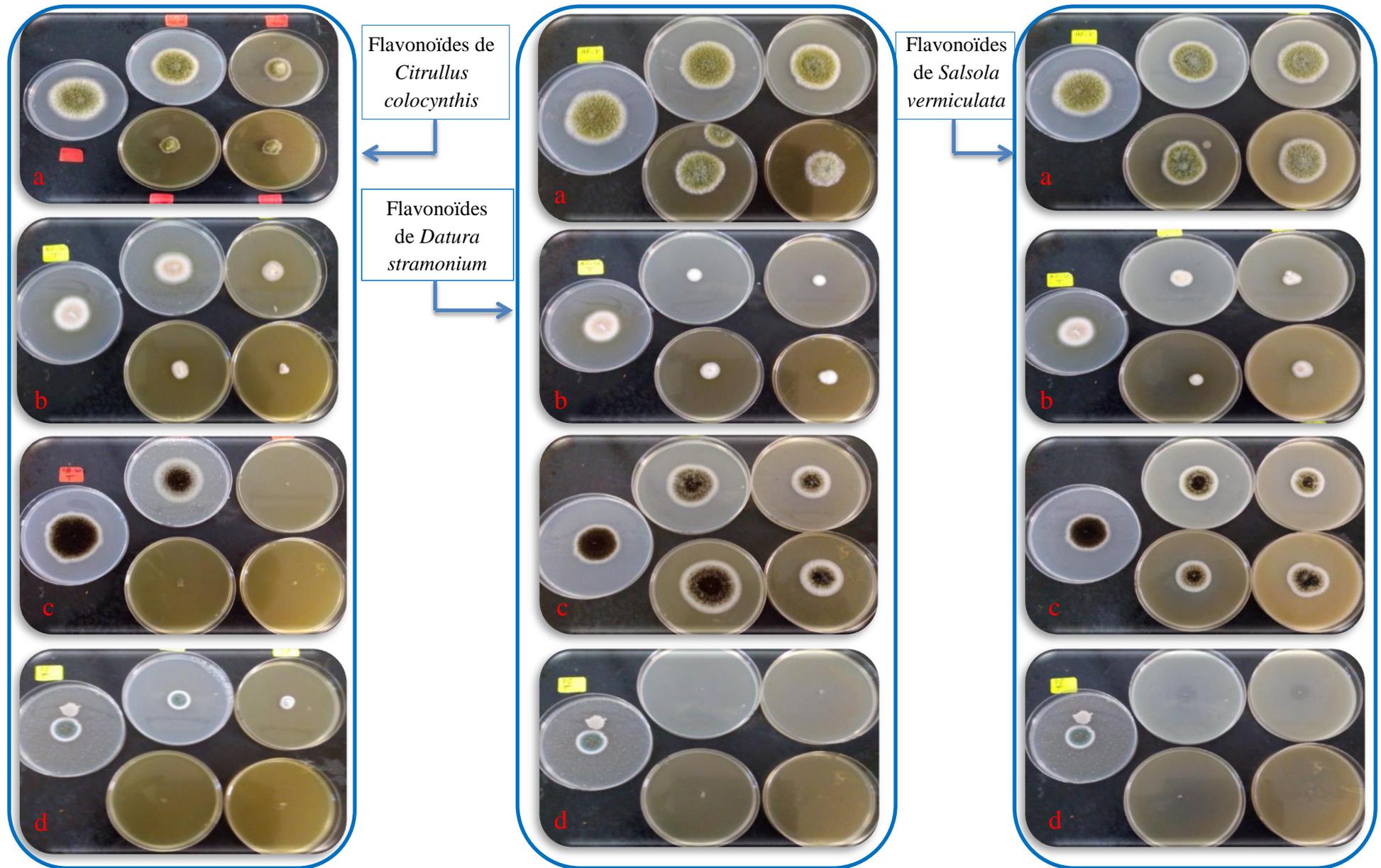


Planche 33 : Résultats de l'activité antifongique par les flavonoïdes des feuilles des trois plantes étudiées par la méthode de la croissance radiale.



a : *A. flavus* ; b : *A. ochraceus* ; c : *A. niger* ; d : *P. expansum*

Planche 34 : Photos des résultats de l'activité antifongique des flavonoïdes des plantes étudiées

V.7. Etude de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante exprime la capacité de réduction des radicaux libres. Pour nos extraits (Aqueux, Hydrométhanolique et Flavonoidiques) nous avons employé la méthode au DPPH, ce radical libre présente une coloration violette sombre, lorsqu'il est piégé par des substances antioxydantes, la forme réduite confère à la solution une coloration jaune pâle, le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration de la couleur de la forme libre en solution dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire.

Cette activité a été évaluée en spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur rouge pourpre à la couleur jaune mesurable à 517 nm

La méthode par le DPPH[•] a été choisie pour évaluer l'activité antioxydante par ce qu'elle est l'une des méthodes les plus simples, les plus rapides et les plus efficaces grâce à la grande stabilité du radical (Bozin et *al.*, 2008).

IV .7.1. Pouvoir de réduction des extraits testés

Après le calcul des pourcentages du pouvoir de réduction (%PR) pour chaque concentration des extraits, on a tracé le graphe $PR\% = f(C)$.

La capacité de la réduction du radical libre DPPH[•] Pendant 30minutes par les extraits des trois plantes est représentée par les graphes des planches 35 et 36 qui représentent les pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations en extraits et en acide ascorbique.

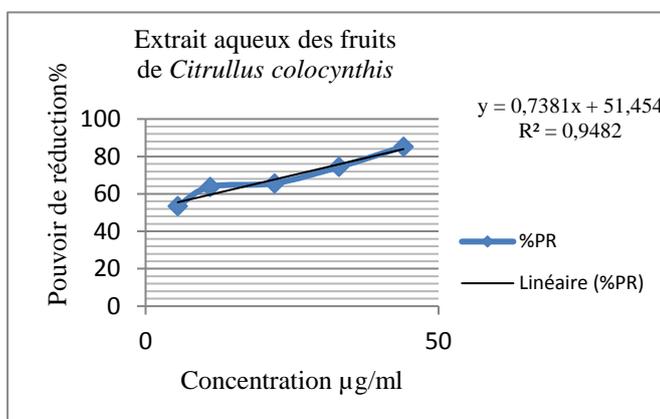
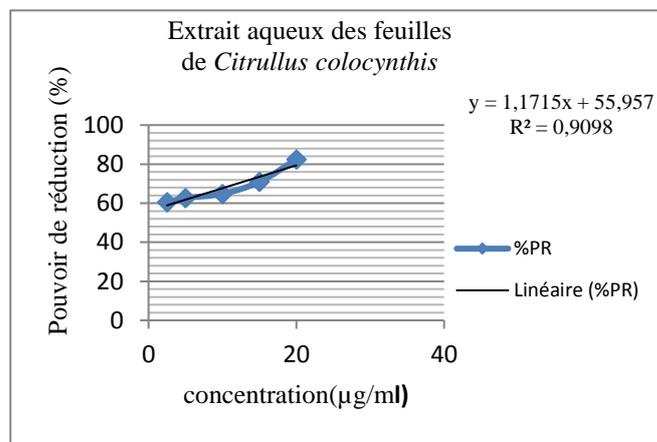
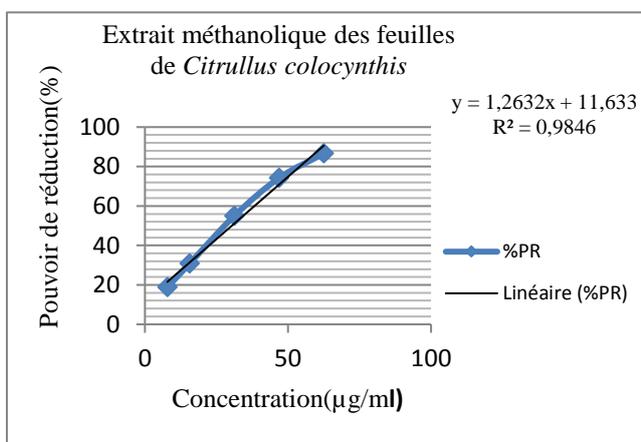
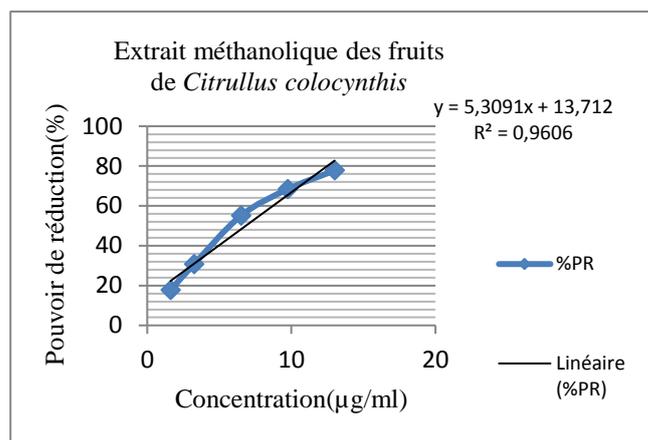
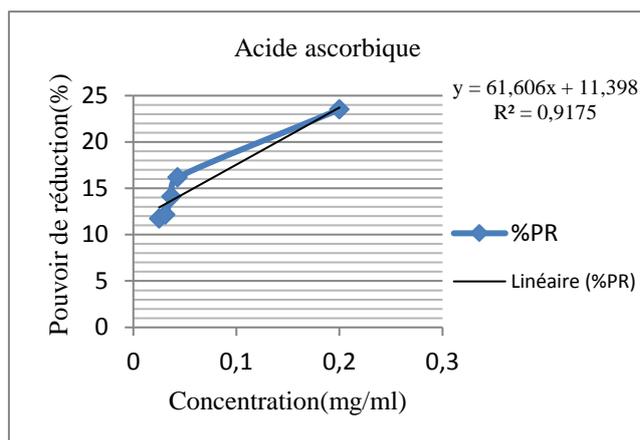


Planche 35: Courbe de régressions linéaires des pourcentages d'inhibitions du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques et aqueux de *Citrullus colocynthis*

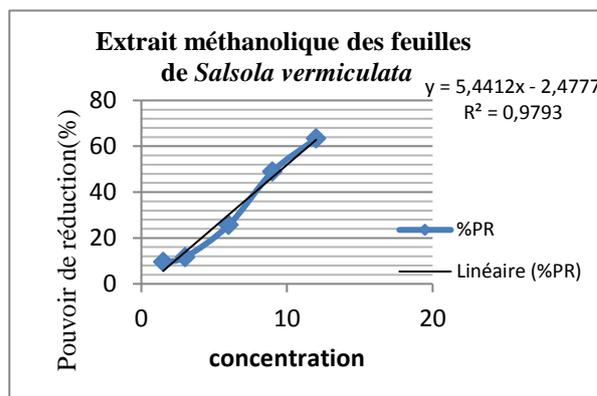
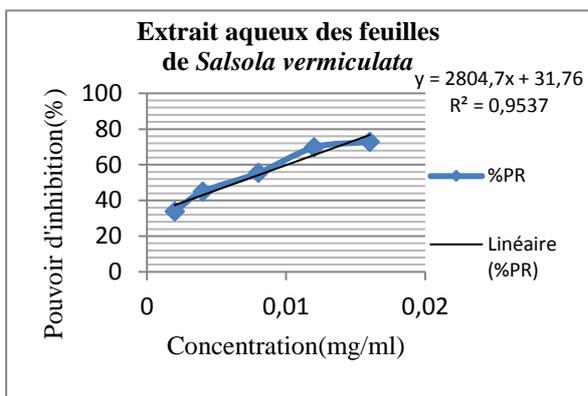
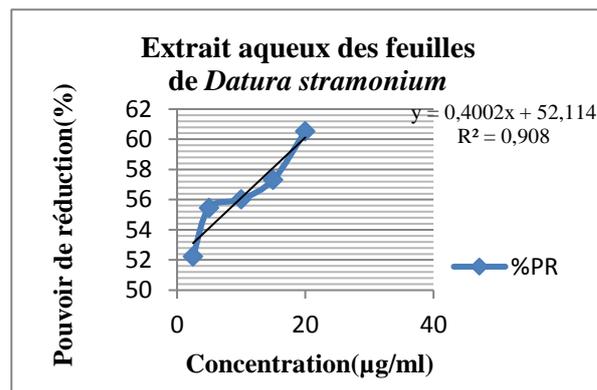
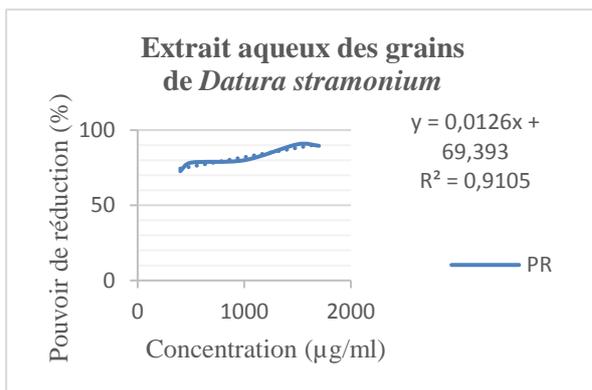
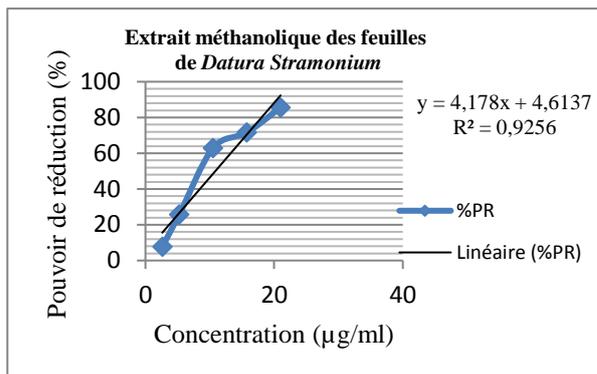
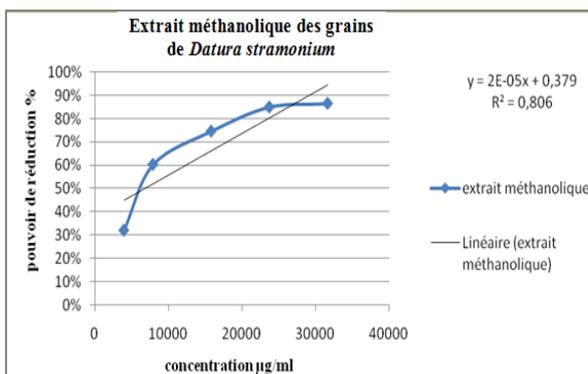


Planche 36 : Courbe de régressions linéaires des pourcentages d'inhibitions du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits méthanoliques et aqueux de *Datura stramonium* et *Salsola vermiculata*

V.7.1. Pouvoir de réduction des flavonoïdes

Les résultats des calculs des pourcentages d'activité montrent que le pourcentage de réduction le plus élevée est donnée par les flavonoïdes des grains de *D.stramonium* (93,83%), puis les flavonoïdes des feuilles de *D.stramonium* (76.62%) et ensuite les flavonoïdes des fruits de *C. colocynthis* avec (70,76%) , les résultats sont présentés sur la planche 37.

V.7.2.4. Valeurs des IC₅₀

Pour chaque extrait étudié, nous avons analysé une gamme de dilution pour établir la concentration de chaque extrait nécessaire pour réduire 50% du radical libre, autrement appelée IC₅₀

Les valeurs d'IC₅₀ sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe. % pouvoir de la réduction = $f(\text{concentrations})$

Il est à noter que l'IC₅₀ représente la concentration efficace du substrat qui cause la réduction de 50% du DPPH en solution. Les valeurs d'IC₅₀ des différents extraits ont été estimées en utilisant la courbe de régression linéaire

Dans la présente étude, les flavonoïdes des trois plantes ont réduit le radical DPPH• avec des valeurs d'IC₅₀ de 5µg/ml ; 7 µg/ml et 8µg/ml pour les flavonoïdes des feuilles *C. colocynthis*, *D. stramonium* et *S. vermiculata* respectivement.

A partir des équations de régression linéaire des graphes représentées préalablement on a calculé les IC₅₀ de chaque extrait, les valeurs sont rapportées sur le tableau 20.

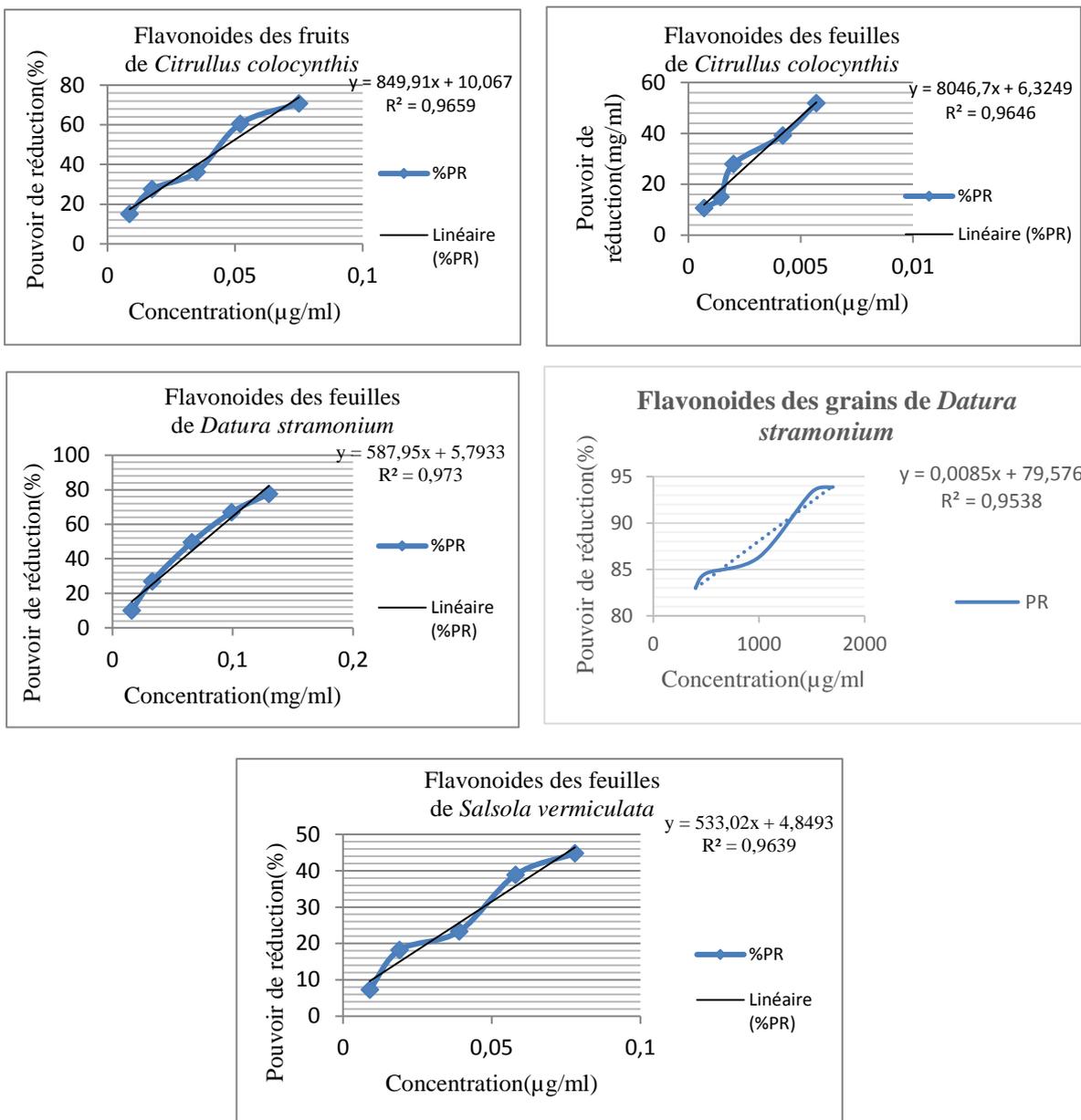


Planche 37 : Courbe de régressions linéaires des pourcentages d’inhibitions du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des flavonoïdes de *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium* et *Salsola vermiculata*

Tableau 20 : Valeurs des IC₅₀ pour les différents extraits et les flavonoïdes des trois plantes étudiées.

Plantes	Parties	Extrait	IC50 (µg/ml)
<i>C. colocynthis</i>	Feuilles	Aqueux	508
		Méthanolique	3037
		Flavonoïdes	5
	Fruits	Aqueux	196.99
		Méthanolique	683
		Flavonoïdes	40
<i>D. stramonium</i>	Feuilles	Aqueux	231.82
		Méthanolique	1083
		Flavonoïdes	7
	Grains	Aqueux	38
		Méthanolique	38
		Flavonoïdes	18
<i>S. vermiculata</i>	Feuilles	Aqueux	65.03
		Méthanolique	873
		Flavonoïdes	8
Acide ascorbique			62.6

Partie expérimentale

Chapitre 06 : Discussions

Discussion

L'histoire des plantes médicinales est associée à l'évolution des civilisations, dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine (Bouzouita et *al.*, 2008).

Ce travail a ciblé trois plantes saharienne connue par des effets thérapeutiques, *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium* et *Salsola vermiculata* dont le but est de la recherche des nouvelles substances bioactives qui inhibent la croissance de certaines bactéries, champignons ou même à effet anti radicalaire.

Dans la région de la Saoura les valeurs des précipitations mensuelles indiquent que les mois de septembre, octobre, janvier, mars et avril sont les mois ou on peut enregistrer les meilleures précipitations

Le régime pluviométrique dans la région saharienne est irrégulier, car les pluies peuvent survenir à n'importe quelle saison, dépourvus d'une répartition régulière (Boulenoir, 2015).

L'origine des précipitations est variable selon les saisons. En été, elles sont dues aux dépressions de moussons. En hiver ces dépressions accompagnent la migration des fronts polaires vers le sud, tandis qu'en saison intermédiaire, les précipitations sont dues aux dépressions Sud-Sahariennes, traversant les Sahara (Dubief, 1963).

Les valeurs des températures moyennes de cette région du sud du pays montrent que les mois de juillet et Aout sont les mois les plus chauds, ou elle dépasse les 43°C , par contre décembre et janvier sont les mois les plus froids (7- 11°C), il faut prendre en considération que l'insolation influe directement sur la température des surfaces aussi bien par sa durée journalière que par l'angle d'incidence du rayonnement solaire (Dubief, 1963).

Les enquêtes ethnobotaniques réalisées sur le terrain ont permis d'interroger 656 personnes dont 79.98% de sexe féminin contre 20.02% de sexe masculin, Ceci peut être expliqué par l'utilisation des plantes médicinales par les femmes à cause de leur responsabilité en tant que mères, ce sont elles qui donnent les premiers soins en particulier pour les enfants. Ces résultats confirment d'autres travaux ethnobotaniques réalisés par, Ziyayat *et al.*, 1997; Hmamouchi, 2001; Jouad *et al.*, 2001 ; Eddouks *et al.*, 2002 ;Tahraoui *et al.*, 2007; Mehdioui et Kahouadji, 2007;Salhi *et al.*, 2010 ; Benkhniqne *et al.*, 2010 .

La tranche d'âge de 30 à 50 ans représente plus de 50% des utilisateurs des plantes médicinales, en plus 73.83% de ces derniers sont mariés ce qui explique que beaucoup de traitements sont liés à la stérilité.

En effet, les personnes âgées sont censées fournir des informations plus fiables, du fait qu'elles détiennent une bonne partie du savoir ancestral qui se transmet oralement. La transmission de cette connaissance est en danger actuellement parce qu'elle n'est pas toujours assurée (Weniger, 1991 ; Anyinam, 1995).

Ces plantes ont été utilisées par les herboristes pour traiter quelques maladies, à savoir que 46.41% de la population utilise *Citrullus colocynthis* à cause de ses propriétés hypoglycémiantes, ce qui est prouvé par les travaux de (Al-Ghaithi *et al.*, 2004 ; Jayaraman *et al.*, 2009), alors que 15% est utilisé pour les maladies des articulations tel que la rhumatisme ce qui est confirmé par Banarjee et Dandiya en 1967 ; ils ont prouvé que les feuilles sont utilisées contre l'hémorragie et elles sont prescrites pour soulager les douleurs des membres inférieurs, le dos et les articulations.

Selon les travaux de Halimi en 2004 sur les plantes médicinales, la coloquinte présente des effets sur le rhumatisme, l'hémorragie, la constipation, les morsures des scorpions.

Les travaux publiés par Marzouk *et al.*, 2011 sur l'évaluation comparative de l'activité antimicrobienne de *Citrullus colocynthis* constaté que la coloquinte est utilisée dans la médecine traditionnelle tunisienne comme un traitement de nombreuses maladies tel que les Inflammations difficiles à gérer et les Rhumatismes ; en outre Abdul Rahuman *et al.*, 2008 a travaillé sur l'activité larvicide et molusquicide des acides oléique et linoléique isolé à partir de *Citrullus colocynthis* (Linn), et il a constaté qu'ils ont des effets contre la Leishmanioses.

L'huile des graines de la coloquinte possède des propriétés pour la lutte contre les animaux et les insectes à venin (Fejjal *et al.*, 2011).

L'utilisation de *Datura stramonium* en médecine traditionnelle reste très limitée à cause de sa toxicité selon Benlemdini *et al.*, 2014. Rageau, en 1973 a signalé que les *Datura* ont été employés dans les empoisonnements criminels ; à dose appropriée. Ces empoisonnements entraîneraient la perte de la raison sans provoquer la mort.

Cette plante n'a été jamais utilisée seule en traitement sauf les feuilles comme cigarette pour soulager les crises d'asthme ce qui est confirmé par Polygenis-Bigendako et Lejoly, 1989.

Les propriétés aphrodisiaques présentent 44.73% des utilisations traditionnelles de *Datura stramonium* ou la plante est utilisée en petite quantité mélangée avec les graines oléagineuses et le miel, Aouadhi en 2010 a exprimé que la stramoine a des propriétés aphrodisiaques et hallucinogènes à faible dose, autrefois elle est employée pour soigner la folie. Elle peut induire le sommeil profond de longue durée semblable à la mort.

Les feuilles et les graines de *Datura stramonium* contiennent de l'hyoscyamine, de l'atropine et plus de scopolamine. Elles ont des propriétés antispasmodiques, anti-asthmatiques et sont utilisées dans la maladie de Parkinson (Jouzier ; 2005) ; en outre Ngo Bum *et al* en 2011 ont prouvé que les alcaloïdes de *Datura stramonium* ont un effet antiépileptique.

L'étude ethnobotanique de *Salsola vermiculata* a montré que 72.2% de l'utilisation de cette dernière est pour soulager les inflammations de la peau due aux coups de soleil 22% et 4.64% est utilisé en mélange avec *Lawsonia inermis* pour traiter les gerçures des pieds et l'eczéma respectivement.

Dans ce présent travail on a prouvé que les fruits de la coloquinte est riche en substances chimiques bioactive tel que : les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les saponosides, les stérols et les stéroïdes, stérols insaturé et terpènes, alors que les feuilles et les racines ne contiennent que des traces des alcaloïdes, ce qui corrobore avec les travaux d'Usman et *al.*, 2003 qui a confirmé la richesse des fruits de la coloquinte de Pakistan en flavonoïdes, glycosides et tanins.

En outre les travaux publiés par Belsem et *al.*, 2009 sur la composition des fruits de la coloquinte de la Tunisie indiquent la présence des alcaloïdes des stéroïdes et l'absence des saponosides.

Uma et Sekar dans ces travaux publiés en 2014 confirme la présence des alcaloïdes dans les feuilles, les racines la pulpe et même à l'écorce des fruits de la coloquinte et l'absence des tanins dans tous les parties de la plante, il a prouvé aussi la présence des saponosides dans les différents parties sauf à l'écorce des fruits

Sunil, 2008 dans ces recherches a montré la présence de grandes quantités de composés phénoliques et des flavonoïdes. La quantification ultérieure a montré la présence de 0.74% des composés phénoliques et de 0.13% des flavonoïdes dans la masse fraîche.

L'analyse phytochimique des feuilles de *Datura stramonium* nous a montré qu'elles sont très riches en substances chimiques, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponosides, les tanins, les stérols insaturés et les terpènes, ce qui est en concordance avec les résultats de Morton, 1997; Walker, 1997 ; Ritchason, 2000.

Friedman en 2004 a exprimé que les alcaloïdes des grains de *Datura stramonium* ont été mesurés par différents techniques ; HPLC, TLC (Thin Layer Chromatography), ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), GC-MS et spectroscopie UV. Ou les valeurs varient entre 1,69 et 2,71 mg/g pour l'atropine et 0,36 et 0,69 mg/g pour l'ascopolamine ; alors que Vieira *et al.*, 2010 le rendement des flavonoïdes des feuilles de *Datura stramonium* est 2,4% .

Le criblage phytochimique réalisé, des feuilles et des racines de *Salsola vermiculata* montre la présence des saponosides en quantité importante dans les feuilles, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les stéroïdes, les stérols insaturés et les terpènes ; ces résultats sont en accord avec ceux des travaux d'Al-Saleh *et al.* (2009) qui ont démontré la présence des alcaloïdes, flavonoïdes, saponosides, stérols, terpènes et tanins dans une espèce du même genre *Salsola villosa*.

Sur le plan toxicologique, nos investigations sont orientées vers la recherche des contaminants lourds (lechrome, lecobalt, lecadmium, lenickel, le plomb...etc).

D'abord, les sources de pollution environnementale avec les métaux toxiques sont tout à fait diverses, s'étendant des émissions industrielles et du trafic à l'utilisation de la boue de purification et des expédients agricoles, tels que le cadmium contenant des fongicides organiques, de mercure et de l'arséniate de plomb d'insecticide (Gosslim *et al.*, 1984 ; Schilcher *et al.*, 1987). En second lieu, les métaux lourds peuvent souiller différentes plantes causant des risques sanitaires sérieux des tels dommages de rein, de symptômes de la toxicité chronique, d'échec rénal et de dommages de foie.

Les analyses des éléments minérales des rhizosphères ont révélé qu'il y a une spécificité de la rhizosphère de *Salsola vermiculata* ; quelques composés sont présent en quantité très importante par rapport aux autres tel que Fe, K et Na ; cette spécificité est due probablement à la présence des résidus de charbon dans la zone de prélèvement à savoir que c'est la seul plante dominante sur les terrils de charbon dans la région de Béchar, cette hypothèse a été confirmé par Michel en 1992, dont il a confirmé qu'un trop grand pourcentage de sodium a été trouvé dans les résidus charbonnière, en 1997, Bengoa et ces collaborateurs ont signalé que les résidus de charbon contient 48.5% de cendre et que ces sols sont riches en sels minéraux.

Les doses des minéraux au niveau des racines ne contiennent aucune anomalie ou les doses des éléments toxiques tel que le plomb, le cobalt, le cadmium...ect sont présents en traces.

Les feuilles de *Salsola vermiculata* contiennent une dose très importante en Na 945.5ppm alors que pour les deux autres plantes la dose ne dépasse pas 56ppm pour *D. stramonium* et 1.89ppm pour les feuilles de *C.colocynthis* ; tandis qu'il y a une dose importantes de Mg dans les feuilles de la même plante 187ppm par rapport à 63ppm pour les deux autres plantes.

La rhizosphère de *Salsola vermiculata* contient 39 et 42 ppm de Na et Mg respectivement ce qui nous confirme l'hypothèse de l'accumulation de ces deux composés dans les feuilles de *Salsola vermiculata*.

L'utilisation de solvants à polarités différentes pour la préparation de nos extraits permet de séparer les composés de la poudre des plantes selon leur polarité et degré de solubilité dans le solvant d'extraction (Lee et al., 2003).

L'eau semble être le meilleur solvant pour extraire la majorité des constituants chimiques responsable des différentes activités biologique, ce qui démontre la pertinence de la forme traditionnelle d'utilisation (Yadav *et al.*, 2013).

La gravité du phénomène de résistance des bactéries et champignons aux antibiotiques et antifongiques, de nombreux produits naturel ont été testé dans le but de trouver des substances antibactérienne et antifongique, sans effet néfaste et à faible coût Économique (Kundu *et al* ,2004 ; Sarouch *et al.*, 1998).

C'est dans cette optique que l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux, hydrométhanolique et l'extrait flavonoidique des différentes parties des trois plantes a été réalisés sur 7 souches bactériennes.

Un meilleur diamètre d'inhibition est enregistré par l'extrait hydrométhanolique des feuilles de *Sasola vermiculata* (12mm) vis-à-vis *Pseudomonas aerugenosa*, la souche qui pose le plus grand problème de résistances aux antibiotique dans le milieu hospitalier.

Il est évident que les organismes Gram négatifs tel que *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* ont montré une sensibilité légèrement supérieure aux extraits par rapport aux organismes Gram positifs utilisés à savoir *Staphylococcus aureus*, *Bacillus stearothermophilus* et *Enterococcus faecalis*

Cette différence entre Gram positif et les bactéries Gram négatif pourrait être attribuée à la différence morphologique entre ces micro-organismes ; la bactérie Gram négatif possède une couche phospholipidique externe de la membrane et une structure lipopolysaccharide, Cela rend la paroi cellulaire imperméable aux solutions lipophiles ; tandis les porines constituent une barrière sélective des solutions hydrophiles avec une limite d'exclusion d'environ 600Da (Nikaido et Vaara, 1985). Les bactéries Gram positives devraient être plus sensibles car ils ne disposent qu'une couche extérieure peptidoglycane qui ne constitue pas une barrière de perméabilité efficace (Scherrer *et al.*, 1971).

Montserrat en 2009 dans ces recherches a prouvé qu'il y a une relation très importante entre le pH et l'inhibition de la croissance des bactéries dont il confirme que le pH acide inhibe la croissance des bactéries. En revanche, Certains agents antimicrobiens sont influencés par le pH, on trouve ceux qui sont plus actifs à pH acide, d'autres à pH alcalin (Cleenewerck et Frimat, 2004; Molinier e tMassol, 2008).

Staphylococcus aureus est révéle la souche la plus sensible ou la CMI enregistrés par l'extrait aqueux des grains de *Datura stramonium* est 2 mg/ml ce qui est confirmé par Sylvie, 2011.

Listeria monocytogen a été inhibée par les flavonoïdes des feuilles de *Datura stramonium* à une concentration de 1.5µg/ml, ce qui a été confirmé par Ali Boutlelis en 2012, dont il a montré que les flavonoïdes de *Datura stramonium* inhibent des souches bactériennes telles qu'*E.coli* et *S.aureus*.

On a remarqué que les flavonoïdes ont donné des diamètres d'inhibition très limité par la technique des disques alors que les CMI ont été enregistré à des concentrations très faible 1.5µg/ml, et 3µg/ml par les flavonoïdes de *Datura stramonium* vis-à-vis *Listeria monocytogene* et *Klebseilla pneumonia* respectivement.

Selon James, 1972 deux limitations sont suggérées pour cette méthode :

- Il y'a certains composés inhibiteurs qui peuvent être absorbés par le papier filtre.
- Des concentrations inadéquates peuvent diffuser dans l'agar, en donnant de faux résultats

Le mécanisme d'action des flavonoïdes sur les microorganismes demeure encore imprécis, certaines études ont commencé à donner un début d'explication de leur activité antibactérienne en citant des exemples bien explicites ; comme celui de la quercétine censée agir sur l'ADN gyrase d'*Escherichia coli* (Dadi et al. 2009).

En effet, selon les travaux de Dadi et ses collaborateurs ; 2009, la quercétine est capable d'inhiber l'ADN gyrase bactérienne par deux mécanismes :

- Elle se fixe sur l'ADN au niveau des sites d'insertion de l'enzyme bloquant ainsi son activité.
- Elle bloque le site de fixation de l'ATP se trouvant sur l'ADN gyrase.

Dans les deux cas l'action du flavonoïde se manifeste par le clivage de l'ADN bactérien, désormais incapable de subir les modifications topologiques nécessaires à son bon fonctionnement.

Les résultats de l'effet antifongique sur les souches de la flore toxigène tel que *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus niger* et *Penicillium expansum*, c'est révèle très prometteuse. Les essais ont montré que les extraits hydrométhanolique sont plus efficaces sur les souches testées, quel que soit pour le *Citrullus colocynthis* ou *Salsola vermiculata*.

Ces résultats sont en concordance avec les travaux de Belsem en 2009 qui a montré que les extraits méthanolique de fruit donnent la meilleure activité antifongique contre *Candida albicans*, *Candida kreuser* ; *Candida parapsilosis* et *Candida glabrata*.

En revanche, les travaux de Mshvildadze et *al.*, 2000 ; Abdel Ghani et *al.*, 2008, ont confirmé l'activité de quelque extrait des fruits de la coloquinte en montrant son grand potentiel antimicrobien en particulier contre les souches multi résistantes.

Il est à noter que l'extrait aqueux des feuilles de *Citrullus colocynthis* a donné des résultats inattendus ou la croissance radiale est inversement proportionnelle à la concentration de cet extrait pour *Aspergillus flavus*, ainsi qu'avec l'extrait aqueux des feuilles de *Salsola vermiculata*, on a enregistré la même remarque pour les trois souches d'*Aspergillus*, cette augmentation peut être signifiée que les souches utilisent l'extrait aqueux comme source de carbone et d'azote, ou il y a l'existence d'un stimulateur pour la croissance de ces champignons. Cette hypothèse est utilisée aussi par d'autres auteurs, qui ont remarqué le même phénomène (Holetz et al., 2002)

Maria en 2007 a exprimé que les alcaloïdes isolés de *Datura metel* et *Datura stramonium* ont inhibé 20 souches de *Candida*.

L'activité antifongique des extraits aqueux et méthanolique de *Salsola vermiculata* reste très limitée par rapport aux autres plantes étudiées d'où avec les extraits aqueux on n'a pas enregistré une inhibition importante des souches fongiques.

Cependant, les travaux réalisés sur l'activité antifongique de quelques plantes du sud de la Tunisie par Bouaziz et al. en 2009 concluent que l'extrait méthanolique de *S.vermiculata* n'a pas inhibé la croissance d'*A.niger*.

Alors que Mughal dans ces travaux en 2008 a montré que l'extrait méthanolique de *S.kali* a présenté une activité importante vis-à-vis *A.flavus*. Cependant, Shahidi et al. en 2004 ont montré que les extraits de *Salsola kali* n'ont induit aucune activité vis-à-vis de deux souches de *Candida*.

La richesse de cette plante en saponosides lui donne des activités biologiques très variables par exemple l'effet antimicrobien (Drissa, 2003 ; Harikrishna et al, 2004).

Cette activité antifongique est due probablement à la richesse des extraits de ces plantes en composés actifs révélés par le criblage phytochimique, qui confirme la présence des flavonoïdes, des saponosides, des stérols, des stéroïdes et les tanins, ces composés ont des actions antifongiques selon plusieurs auteurs (Scalbert, 1991 ; Nacoulma, 1996 ; Nuh et al., 2005).

Thierry Lekounougou en 2008 a signalé que les tanins ont la capacité de complexe les protéines fongiques ou virales, alors que les saponosides sont capables de dénaturé les stéroïdes de la membrane des champignons

Le *Penicillium expansum* a été inhibé par les flavonoïdes isolés des feuilles de *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium* et *Salsola vermiculata*, alors que *Aspergillus niger* est inhibé par les flavonoïdes de *Citrullus colocynthis*.

Selon Cowan (1999) les flavonoïdes possèdent une affinité chimique aux lipides membranaires, d'où on peut supposer que la cible microbienne des flavonoïdes est la membrane cytoplasmique

Les plantes aromatiques élaborent des molécules caractérisées par de nombreuses fonctions capables de piéger les radicaux libres, d'où leurs effets antioxydants. Ces substances sont notamment réactives vis-à-vis de l'oxygène (particulièrement les radicaux hydroxydes et superoxydes fortement agressifs) ainsi que vis-à-vis de molécules azotées (mono- et dioxyde d'azote), des radicaux hypochlorites ou des radicaux d'acides gras

Notre étude biologique cadre l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits (aqueux, méthanolique et des flavonoïdes). Le choix de cette classe de composé est justifié par sa nature polyphénolique susceptible d'avoir un effet antioxydant. Cette étude est faite par une quantification spectrophotométrique des trois extraits (aqueux, méthanoliques et les flavonoïdes) avec l'utilisation de l'acide ascorbique comme étant contrôle positif.

La lecture de la courbe de tendance de l'acide ascorbique indique que le pourcentage d'inhibition ou le piégeage des radicaux libres DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration de l'acide ascorbique. Ce résultat est en accord avec les travaux de (Coa, 1993).

L'extrait aqueux et méthanolique des grains de *Datura stramonium* représente un CI50 très important par rapport aux extraits aqueux et méthanolique des autres plantes avec un CI50 de 38µg/ml, suivi par l'extrait aqueux de *Salsola vermiculata*, puis les extraits des feuilles de *Citrullus colocynthis*. Cette activité a été prouvée par les travaux de Delazar en 2006 ou il a confirmé que l'extrait méthanolique des fruits de *Citrullus colocynthis* possède une activité antioxydante importante, en outre Bouaziz *et al.*, 2009 indique que *Salsola vermiculata* possède une activité antioxydante très intéressante.

Halliwell, 1994 et Cotelle, 2001 ont confirmé que l'action antioxydante des phytoconstituants ne s'exerce pas seulement par l'inhibition et la désactivation des radicaux libres, elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation des traces d'ions métalliques responsables de la production de ROS.

Klervi, 2005 ; Panovska, 2005 et Sokol, 2007 ont proposé l'hypothèse que l'activité antiradicalaire des extraits méthanoliques et aqueux des plantes est probablement liée à leur contenu en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins. Les composés phénoliques semblent être des bons candidats pour leurs activités antioxydantes du fait de la présence de nombreux hydroxyles, pouvant réagir avec les radicaux libres.

Les flavonoïdes des différentes parties des trois plantes ont présenté une activité antioxydante très importante en comparaison à celle des extraits, les feuilles de *Citrullus colocynthis* ont donné une IC50 de 5µg/ml, les feuilles de *Datura stramonium*, IC50 de 7µg/ml et pour *Salsola vermiculata* CI50 de 8µg/ml ce qui a été confirmé par Fuhrman *et al.*, 1995.

Globalement, les résultats obtenus dans le présent travail indiquent l'existence d'une corrélation linéaire remarquable et significative entre le pouvoir antiradicalaire des extraits et leur teneur en flavonoïdes, ce qui est confirmé dans plusieurs travaux ultérieurs sur l'activité anti-radicalaire des extraits des plantes réalisés par Mansouri *et al.*, 2005; Beta *et al.*, 2005; Samaniego *et al.*, 2007.

Amic *et al.*, 2003 ; Marfak, 2003 et Sokol-Letowska, 2007 ont constaté que nombreuses études ont établi des relations entre les structures chimiques des flavonoïdes et leur capacités antioxydantes, l'activité de ces molécules à piéger les radicaux libres dépend essentiellement de leur structures , dont Kang *et al.* (2003) a suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire.

En fait, leur activité antiradicalaire nécessite :

a- Les molécules possédant une double liaison entre les carbones C2 et C3 et un groupement carbonyle en C4 sont les flavonoïdes dont les activités anti-oxydantes sont les plusmarquées (Van Acker *et al.*, 1996; Harborne et Williams, 2000).

b- Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C3-OH) fortement réactif (Rice-Evans *et al.*, 1996).

D'après Halliwell, 1994 ; les mécanismes d'action d'un antioxydant peuvent comprendre le piégeage direct des ROS « Reactive Oxygen Species » : L'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production de ROS.

D'autres études ont montré que les flavonoïdes sont aussi des bons inhibiteurs d'autres enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la cyclooxygénase et la lipooxygénase (Landolfi, 1984) .

En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène, l'effet scavenger des flavonoïdes (FLOH) est attribué à leur faible potentiel redox qui les rend thermodynamiquement capable de réduire les radicaux libres (R•) par un transfert d'atome d'hydrogène à partir des groupements hydroxyle. Cette réaction donne naissance au radical aroxyde (FLO•) et à la molécule radicalaire rendu stable (RH), le FLO• subira par la suite un réarrangement structurale permettant la redistribution de l'électron célibataire sur le cycle aromatique et la stabilisation de radicaux aroxyde (Javanovic *et al.*, 1994).

Conclusion générale

Conclusion générale

L'exploitation du potentiel biologique des espèces végétales revêt un intérêt important, ainsi les nouvelles démarches consistent à s'intéresser à la recherche des principes actifs dans les produits naturels d'origines végétales.

Notre travail a porté sur la partie aérienne et racinaire de trois plantes de différentes familles, qui poussent à l'état spontané dans la zone semis aride du sud-ouest de l'Algérie.

Après l'identification botanique des trois espèces végétales étudiées (*Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium* et *Salsola vermiculata*), une étude ethnobotanique a été effectuée où les plantes sont très utilisées dans la région en médecine traditionnelle, *Citrullus colocynthis* est utilisé en premier lieu comme hypoglycémiant, alors que *Datura stramonium* est utilisé comme aphrodisiaque et *Salsola vermiculata* est utilisée pour soulager les douleurs et les brûlures des coups de soleil.

Un criblage phytochimique des différentes familles chimiques est effectué aux trois plantes, ce criblage est basé sur la recherche des Alcaloïdes, flavonoïdes, saponosides, terpènes, stérols et stéroïdes.

Les résultats ont révélé que les feuilles de *Salsola vermiculata* sont les plus riches en saponosides, les feuilles de *Datura stramonium* sont les plus riches en alcaloïdes et après un dosage des flavonoïdes on a constaté que les feuilles de *Citrullus colocynthis* sont les plus riches de ces derniers.

Les flavonoïdes ont été extraits à partir des feuilles et des fruits ou grains des plantes où ils ont donné des rendements importants surtout dans les feuilles qui représentent la partie la plus riche en flavonoïdes, *Citrullus colocynthis* a donné un rendement de 2.80% alors que *Datura stramonium* a donné 2.60%.

Dans le second volet abordé par cette étude, le test antimicrobien effectué, a révélé une activité antibactérienne très limitée par rapport à celle antifongique ; *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Listeria monocytogenes* ont été inhibées à une concentration de 5.6mg/ml de l'extrait hydrométhanolique des racines de *Citrullus colocynthis*, au moment où les quatre souches fongiques isolées à partir des aliments ont été inhibées à 100% par la plus part des extraits testés.

L'aptitude des flavonoïdes bruts à stabiliser les radicaux libre a été évaluée par la technique de réduction du radical libre 1,1-diphényl-2-picryl-hydrasyl (DPPH[•]), habituellement employée pour estimer l'activité antioxydante des substances dans les émulsions ou les résultats montrent que l'oxydation du DPPH est efficacement inhibée par les extraits et les flavonoïdes testés.

Suivant les résultats qu'on a obtenus expérimentalement, nous pouvons prédire que les extraits sont plutôt des substances bioactives alors que les flavonoïdes sont des agents antioxydants de première classe.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* constitue une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active.

Des essais complémentaires seront nécessaires comme un fractionnement, une purification, et une identification des flavonoïdes isolées par diverses techniques chromatographiques, dont la chromatographie liquide à haute performance et des méthodes spectrales adaptées de RMN s'imposent.

Il serait intéressant de mener une enquête détaillée sur les fractions des extraits naturels démontrant l'activité antimicrobienne et antioxydante *in vitro*, en vue d'identifier l'espèce chimique ou les composés responsables de ces activités.

L'étude des modes d'action de ces composés sur les différents microorganismes s'imposent à fin de les utiliser comme des agents de prévention et à intérêt alimentaire.

En conclusion, il serait intéressant d'approfondir les investigations phytochimiques et biologiques sur ces espèces afin d'isoler les molécules responsables des activités observées, ce qui permettra d'élargir l'arsenal thérapeutique des médicaments à base de plantes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Abdel Ghani SB, Weaver L, Zidan ZH, Hussein MA, Keevil CW, Brown RCD, 2008. Microwave assistée par synthèse et antimicrobien activités de dérivés flavonoïdes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 18: 518 -522.
2. Abdul rahuman. A, Venkatesan.P ET Gopalakrishnan Geetha, 2008. Mosquito larvicidal activity of oleic and linoleic acids isolated from *Citrullus colocynthis* (Linn.) Schrad.
3. Achak. N, Romane. A, Dahbi . A ; 2009 ; Metals contents and organic composition in the leaf of three species of cupressaceae from the Atlas Mountains, Marrakech (Morocco). *Journal Physical and Chemical News.* 47, pp. 98-102.
4. AFNOR V 05-112 ; 1974 ; Fruits et légumes, détermination des cendres,
5. Afnor, 1986. Fromages, détermination de la matière sèche (méthode par étuvage). NF V04 282, in : AFNOR (Ed.), Recueil de normes françaises. Laits et produits laitiers. Méthodes d'analyse, Paris La Défense. P 104–105.
6. Ahsan H.,Ali A.,R.,2003.Oxygen free radicals and systemic autoimmunity.*Clinical and experimental immunology.*131 :398-404.
7. Alexandra Boucher & Laurence Lagarce ; 2010 ;*Datura Stramonium* :potentiel d'abus et de dépendance Mise à jour des données des CEIP-A et des CAPTV ;Comité de Coordination de Toxicovigilance ; France ;p :4.
8. Al-Ghaithi, F., El-Ridi, R. M., Adeghate, E., et al. ,2004. Biochemical effects of *Citrullus colocynthis* in normal and diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry.* (pp 1–7). N° 5266047. Kluwer Academic Publishers.
9. Ali Boutlelis D, Ouahiba B, Benkherara., 2012., Activité antibactérienne des flavonoides d'une plante médicinale spontanée *Marrubium vulgare*L.de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien)
10. Ali N.A.A., Julish W.D., Kusunich C., Lindesquist U., 2001. Screening of yamani midicinal plant for antibactérial and cytotoxic activities.*Journal of Eenthnopharmacology,* 74 :173-179.
11. Aliasgharpour; Hekmatshoar. Hosseyiniand Some-Eh; 2004; Lipids in the stigmatic secretion of *datura stramonium l (solanaceae)*;Iranian Journal of Science & Technology, Transaction A, Vol. 28, No. A ; Iran ; p :1.

12. Aline Oliveira Da Conceição ; 2010 ; Effet d'extraits de plantes médicinales sur la différenciation cellulaire et le transport du calcium par les cellules *Syncytiotrophoblaste-Like* Humaines ; Thèse de doctorat ; Université du Québec à Montréal ; p :65
13. Alland, 1994. Gomme du Soudan anglo- égyptien bull sei-pharm. Vol 21 ; P : 477-487.
14. Allane Taous ;2009 ;Etude de pouvoirs antioxydant et antibactérien de quelques espèces végétales locales alimentaires et non alimentaires ;Mémoire de magister ;Université M'hamed Bougara Boumerdès ; p :25.
15. Al-Saleh I, Coskun S, El-Doush I, Billedo G, Mashhour A, Jaroudi K., 2009. Outcome of in-vitro fertilization treatment and DDT levels in serum and follicular fluid. *Med Sci Monit* 15(11): BR320–BR333
16. Amic D., Davidovic-Amic D., Beslo D., Trinajstic N., 2003. Structure –radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica Chemical Acta*, 76: 55-61.
17. Andersen, B., Thrane, U. 1996. Secondary metabolites produced by *Alternaria infectoria* and their use as chemotaxonomic markers. *Mycotoxin Res.*, 12, 54–60.
18. Anyinam, C – 1995 - Ecology and ethnomedicine: exploring links between current environmental crisis and indigenous medical practices. *Social Science and Medicine* 4: 321-329.
19. Aoki T, Akashi T, Ayabe S.I 2000"Flavonoides of leguminous plants : structure , biological activity and biosynthesis" , *Journal of plants Research* 113:475-488.
20. Aouadhi. S., 2010. Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle, Magister en toxicologie, Faculté de médecine, Tunisie.
21. Archana B., Dasgupta N. and De B., 2005. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. *Food Chem.* 90, pp. 727-733
22. Artaud. C. R., Langdon K. R. 1977. *Datura sp.* : weed, ornamental, drug, poison ;with a bizarre medical history. *Nematology (botany) circular* N° : 25.
23. Atole S.K, C.R Jangde C.R, Philip Preety, Rekhe D.S, Aghav D.V, Waghode H.J ET Chougule A.M, 2009. Safety Evaluation Studies of *Citrullus Colocynthis* for diabetes in Rats.
24. Babulka P; 2007; Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales ; de la médecine traditionnelle à la phytothérapie modern ; *Phytothérapie*, Vol. 5, pp137-145.

25. Badiaga Mamado ; 2012 ; Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* smith une plante médicinale africaine récoltée de Mali ; Thèse de doctorat en chimie organique, université de Bamako
26. Baggio, C.H ; Freita, C.S ; Otofujii, G.M ; Cipriani, T.R ; Souza, L.M ; Sasaki, G.L ; Iacomini, M ; Marques, M.A ; Mesia-Vela, S ; 2007 ; Flavonoid-rich fraction of *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reiss protects the gastric mucosa of rodents through inhibition of both H⁺, K⁺-ATPase activity and formation of nitric oxide, *J Ethnopharmacol*, 113 (3), 433-440 .
27. Bahorum T ; 1997 ; Substances naturelles actives, la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle, Amas ; Food and agricultural research Council, Réduit Mauritiens. France ; Université de Lille I, p150.
28. Banarjee. S .P et Dandiya .P. C, 1967 . *J.Pharm ; Sci*; 56 : 1665.
29. Barnett .H.L et Hunter.B.B, 1972. *Illustrated genera of imperfect fungi* . Burgess Publishing Company. Minnesota (USA), 3^{ème} édition. P: 165.
30. Belsam. M, Marzouka. Z, Rachel. D, Haioui .E, Fenina. n, Aouni. M, 2009. antibactériale et anticancéreuse. Screening of Tunisian CC S from medicine in ethnopharmacology.
31. Bendjillali B; Tantaoui El araki A. Ismaili Alaoui M, et Ayadia A., 1986., Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes médicinales et phytothérapie*. Vol, 20, p155, 167.
32. Bengoa.c , j. Font, a. Moros,a. Fortuny, a.fabregat et f. Giralt, 1997., influence des catalyseurs Hétérogènes Sur le cotraitement D'un lignite du berguedà Avec un résidu De distillation sous vide, *Revue de l'institut Français du pétrole*, vol. 52, N 1.
33. Benkhniq O., Zidane L., Fadli M., Elyacoubi H., Rochdi A. & Ouira A., 2010 ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraa Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Barc*. 53 : 191-216.
34. Benlamdini. N, Elhafian . M, Rochdi. A. , Zidane. L ; 2014 ; Étude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale du Haut Atlas oriental (Haute Moulouya) ; *J. Appl. Biosci.*, 78:6771 – 6787
35. Benmahdi, 2000. valorisation de certaines plantes à activité hypoglycémisante comme la coloquinte thèse magistère, 2000 Université de Tlemcen.

36. Beta T., Nam S., Pexter J.E., Sapirstein H.D., 2005. Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller milled fractions. *Cereal Chem*, 82(4): 390-393.
37. Botton B, Bretton A, Fevre H, Gauthier S, Guy Ph, Larpen J P, Reymond P, Sanglier J, Vayssier T & Veau P. 1990. Moisissures utiles et nuisibles : Importance industrielle. 2^{ème} Ed. MASSON. Paris.
38. Bouaziz M., Dhouib A., Loukil S., Boukhris M., Sayadi S., 2009. Polyphenols content, antioxidant and antimicro-bial activities of extracts of some wild plants collected from the south of Tunisia. *Afric. J. Biotechn.* 8 (24),7017-7027
39. Bouchelta Aziz, Boughdad Ahmed, Belenzer Abelali, 2005. Effet biocides des alcaloides, des saponines et des flavonoides extraits de *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae) sur Bemisia tabaci (Gennadius) (Homoptera Aleyrodidae), *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 9(4), 259-269.
40. Boulenoir. A ; 2015 ; Bio écologie de l'antomofaune des différentes palmeraies de la région de la Saoura (Béchar) : Application à quelques espèces fréquentant la plante hôte *Phoenix dactylifera* L ; Thèse de doctorat en Biologie, Université de Tlemcen.
41. Bozin, B ; Mimika-Dukic ; Samajilik, I, Jovin., E ; 2008 ; Antimicrobial et antioxydant properties of Rosmary and Sage essential oils. *J. Agric. Food. Chem.*, 55 : 7878-7885.
42. Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, 28, p. 25-30.
43. Bruneton J. 1999 ; Pharmacognosie ; Phytochimie ; Plantes médicinales, 3eme édition ; Ed : Tec et Doc Paris
44. Bruneton J ; 2005 ; Plantes toxiques ; Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux ; Ed : Lavoisier ; 3eme édition ; p 618.
45. Bruneton la voisier. J , 1993. Les plante médicinales, 2^{ème} edition. p : 278-279 Doc (Ed), Paris, P : 1120.
46. Bruneton. J ; 1993 ; Pharmacognosie et phytochimie ; 2^{ème} édition ; plantes médicinales , Ed : lavoisier ; p 278-279 .

47. Chang, S .T, Wang, S.Y, Wu, C.L, Chen, P.F, et Kuo, Y.H, 2000. Comparison of the antifungal activity of cadinane skeletal sesquiterpenoids from *Taiwania* (*Taiwania cryptomerioides* Hayata) heartwood, *Holzforschung*, 54, p: 241-245.
48. Chavillon . J ; 1964 ; Etude stratigraphique des formations quaternaires du Sahara Nord Occidental (de colomb Béchar à Regane), thèse de Doctorat, Publ. C. RZA. Serv. Géologie, n° 5, Paris, CNRS. PP : 393-395.
49. Chialir. M, 1973.Contribution à la naissance de la pharmacopée traditionnelle algérienne ; thèse de doctorat d'état en pharmacie.
50. Cleenewerck. M.B, Frimat. P; 2004. Progress en dermato-allergologie, John Libbey Eurotext, Paris. P. 411.
51. Clément J. ,1978. Ecologie appliquée à la sylviculture. Ed. Bordas, Paris,P_-184.
52. Conrad. G ;1969; Evolution continentale. Poste hercynien de Sahara Algérien (Saoura, Erg Checn, Tanzrouft, Ahnet), Pub : CNRZA. Paris, série géologique n°10, P 527 .
53. Cotelle N., 2001., Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr. Top. Med. Chem.* 1. P569-590.
54. Cowan, MM., 1999. Plant product as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 12,no. 4, p. 564-582
55. Dadi PK, Ahmad M, Ahmad Z., 2009., Inhibition of ATPase activity of *Escherichia coli* ATP synthase by polyphenols. *Int J Biol Macromol.*; 45(1):72–79. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2009.04.004
56. Dafni A Z, Yaniv D and Palevitch; 1984. Ethnobotanical survey of medicinal plants in Northern Israel. *J. Ethnopharmacol.* 10:295-310.
57. Dal-Ros S., 2009. Dysfontion endothéliale et pathologies cardiovasculaires :rôle du stress oxydant et effets protecteurs des polyphénols végétaux, thèse de doctorat, université de strasbourg, 105p.
58. Dan Scafferman, Alex B; Ella S et Yaniv Z ; 1998 ; Evaluation of *Citrullus colocynthis* a desert plant native in Israel, as potential source of edible oil ; *Journal of arid environments* ; 40 :431-439.
59. Dastidar S.G ?Manna A, Kumar K A ; Mazumdar K, Dutta N.K ; Chakrabatary A. N; Motohashi N et Shirataki Y. 2004 ; Studies on the antibacterial potentiality of isoflavones. *International journal of antimicrobial agents.* 23; 99-102.

60. Davis .B.D, Needs .P.W, Kroon .P.A, et Brodbelt J.S, 2006. *Identification of isomeric flavonoid glucuronides in urine and plasma by metal complexation and LC ESI-MS/MS*. Journal of Mass Spectrometry .Vol.41 (7). P: 911-920
61. Debuigne, 1984. Larousse des plantes qui guérissent
62. Delaveau P; 1987; Les épices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments; Albin Michel Editeur. P 372.
63. Delazar A, Gibbons S, Kosari AR, Nazemiyeh H, Modaresi M, Nahar L, Satyajit DS (2006). Flavone c- glycosides and cucurbitacin glycosides from *Citrullus colocynthis*. DARU. 14:109-114.
64. Descheemaeker.K, 2010. Nutri-et phytothérapie,Makhu .P.11.
65. Dhandhukia P.C., ThakkarV.R(2007) Standardization of growth and fermentation creteria of *Lasiodiplodia theobromae* for production of jasmonic Acid. African journal of Biotechnology;6(6): 707-712.
66. Donatien Kone , 2009. Enquête Ethnobotanique de six plantes médicinales maliennesExtraction, identification d'alcaloïdes- caractérisation, quantification de polyphénols : Etude de leur Activité antioxydante. Thèse de Doctorat. Université de Bamako Thèse En cotutelle avec l'université Paul Verlaine de METZ-UPV-M(France).
67. Dorothea, 2006. Terpene synthèse and the regulation diversity and biological roles of terpene metabolism; Current plant biology 9 :297-298.
68. Driss Lamnaouer,2002 ; Conduite d'essais d'extraction et d'analyse des huiles essentielles et des principes actifs des plantes médicinales et aromatiques ;Programme de l'UICN en Afrique du Nord : Phase III ;p : 3.
69. Drissa Sangare, 2003 ; Etude de la prise en charge de la paludisme par les thérapeutes traditionnels dans les aires de sante de kendio (Bandiagara) et de Finkolo AC (Sikasso) ; Thèse pour obtenir une grade de Docteur en pharmacie ;Université de Bamako.
70. Dubief J. , 1963. Le climat du Sahara (tome01), INS météo, phys, Glob Edition Alger ; p275.
71. Dung N.T., Kim J.M. and Kang S.C., 2008. Chemical composition, antimicrobial and epigallocatechin accelerate Cu+2 induced low density lipoprotein oxidation in propagation phase. FEBS Lett. 1996, 401 : 230-4.
72. Dwoskin, L. P. ; Crooks, P;2002; A.Biochem. Phamacol,63, 89.

73. Eddouks, M., Maghrani, M., Lemhadri, A., Ouahidi, M.L., Jouad, H., 2002. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet). *Journal of Ethnopharmacology* 82, 97–103.
74. El Wasfi .A, 1994. pharmacological Studies on *Citrullus colocynthis*. *Journal of Herbs, Specie and Medicinal Plants*.
75. Elawad. A , Abdel Bari. E. M , Mmehmoud. O .M , Adam S. E ,1984. The Effect of *Citrullus colocynthis* on Sheep. *Vet. Hum.Toxicol*
76. Eyob S., Martinsen B.K., Tsegaye A., Appelgren M. and Skrede G., 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of extract and essential oil of korarima (*Aframomum corrorima* (Braun) P.C.M. Jansen). *African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (15), pp.2585-2592.
77. Fatma Al-Ghaithi, Mamdouh R. El-Ridi, Ernest Adeghate , Mohamed H. Amir., 2004., Biochemical effects of *Citrullus colocynthis* in normal and diabetic rats1 2., *Journal of Molecular and Cellular Biochemistry* : 1–7, 2004.
78. Favier, A ; 2003 ; Le stress oxydant, intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhensiondes mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, *Actualité en chimie*, 108-115.
79. Fejjal. N, N.E. Gharib, S. El Mazouz, A. Abbassi, A. Belmahi., 2011., Brulure grave du membre inferieur par l'association d'eau chaude et de *citrullus colocynthis*., *Euro-Mediterranean Council for Burns and Fire Disasters.*, 24(2): 102–103.
80. Franchomme. P et Penoel. D ; 1990 ; Matière médicale aromatique fondamentale ; L'aromathérapie exactement, encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles ; R. Jollois ; Edition :Limoge, 446p.
81. Friedman M (2004). Analysis of biologically active compounds in potatoes (*Solanum tuberosum*), tomatoes (*Lycopersicon esculentum*), and jimson weed (*Datura stramonium*) seeds. *J. Chromatogr.*, 1054: 143-155.
82. Fuhrman B., Lavy A., Aviram M., 1995. Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin. Nutr.* 61 :549-554.

83. Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A. and Rasooli I., 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.*, 102: pp.898-904.
84. Ghedira, K ; 2005 ; Les flavonoides : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique, *Phytothérapie*, 4, 162-169 ;
85. Girotti-Chanu, C ; 2006 ; Etude de la lipolyse et de la synthèse des composés du derme sous l'effet de la cirsimarine, flavone extraite de *Microtea debilis*. Thèse de Doctorat, institut national des sciences appliquées de Lyon, p 127 ;
86. Goeb Ph ; 1999 ; Aromathérapie pratique et familiale ; Edition :MDB.
87. Gossling, R. E., Smith, R. P., Hodge, H. C., & Braddock, L. E., 1984., *Clinical toxicology of commercial products* (5th ed.). Baltimore: Williams and Wilkins.
88. Gramza A., Pawlak-Lema Oska K., Korczak J., Sowicz E.W. and Rudzinska M., 2005. Tea extracts as free radical scavengers. *Polish Journal of Environmental Studies* Vol. 14, N° 6 pp. 861-867.
89. Griffin, S.G., Wyllie, S.G., Markham, J.L., Leach, D.N; 1999; The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour and fragrance journal* 14,322-332.
90. Guenter E ; 1975 ; The essential oils. Vol II, III, IV, V, VI, D; VanNostrand; Edition: New York USA.
91. Guy,B,K,N ; 2010; Isolement et caractérisation des saponosides de trois plantes de la famille des araliaceae et dracaenaceae et evaluation de leur activité cytotoxique sur cellules tumorales, Thèse de doctorat, Université de Yaounde1 .
92. Habs, M., Jahn, S. A. A., Schmähl, D., 1984. Carcinogenic Activity of Condensate from Coloquint Seeds (*Citrullus colocynthis*) after Chronic Epicutaneous Administration to Mice. Germany. *Cancer Research Clinical Oncology. J Cancer Res Clin Oncol* (1984) 108:154-156 9.
93. Halimi A, 2004 ; *Elnabatat eltibia fi eldjazair* ; Ed : Berti ; p 304.
94. Halliwell B. ,1994. Free radicals and antioxidants. *Nutr. Rev.* 52 : 253-265.
95. Halliwell B. ,1994. Free radicals and antioxidants. *Nutr. Rev.* 52 : 253-265
96. Halliwell B. ,1994. Free radicals and antioxidants. *Nutr. Rev.* 52 : 253-265.
97. Harbone JB, Mabry T J, Mabry H., 1975. *The flavonoids*. Chapman and Hall ; London ; (2-4, 46, 129, 868,878).

98. Harborne J. B., Williams C. A. ,2000. advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. 55 : 481-504.
99. Harborne, J.B. 1998, *Phytochemical methods-a guide to modern techniques of plant analysis*. *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 2(7).
100. Harikrishna .D, Appa-Rao.A.V, Prabhakar .M.C, 2004. Pharmacological investigation of prunin-6-o-p-coumarate , Flavonoide glicoside, *Indian Journal Pharmacol*,Vol 36(4).p: 244-250
101. Haris C., 1989., *Introduction to modern microbiology black wall scientific publication*. p. 179.
102. Harrison D., Griending K.K., Landmesser U.,Horing B., Drexler H.,2003. Role of oxydative stress in atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*.91 :7-11. Haslam E. Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod*. 1994, 11: 41-66.
103. Hartmann, T. ; Witte; 1995; *L.Alkaloids : Chemical and biological perspectives* , Ed. S. W. Pelletier, vol.9, Ch. 4, 155.
104. Hidar. K., Daami- Remadi M., Jabnoun- Khiareddine H. Znaidi I.E., Elmahjoub M., 2006., Effet des extraits de compost sue la croissance mycélienne et l'agressivité du *Fusarium oxysporum f.s radicislycopersici*. *Biotechnol. Agron. Environ* ; 10(2) : 101-108.
105. Hill,R.A ;1993; *In the chemistry of natural products*, 2 nd edn Ed.R.H.Thomson,Blackie,Glasgow.124.
106. Hmamouchi, M. 2001 - *Les plantes médicinales et aromatiques marocaines*. 2éme. Ed. 389 p.
107. Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez DAG, Naka mura CV, Dias Filho BP (2002). Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 97:1027-1031.
108. Hostettmann K ; 1997 ; *Tout savoir sur le pouvoir des plantes*; Edition: Favre, S.A ., Lausanne, Suisse.
109. Hsiou-Y.D.,Yang-ch.W.,and Hang-ch.L; 2000; *Journal of the chinese chemical society*,47,pp .561-566.
110. Hyun-J.,Hyun ,J.K.,Hyang, S. C; 2007; *Quntitative sructure-activity relationship (QSAR) for neuroprotective activity of terpenoids*.*Life sciences*80,835-841.

111. Imtiaj.A, Lee.T.S, 2007. Screening of antibacterial and antifungal activities from Korean wild mushrooms. *Journal of agricultural sciences*.vol,3(3).p :316-321.
112. Iserin Paul, 2001, La rousse Encyclopédie des plantes médicinales, ED la rousse, pp 10-17 et 132.
113. Iwashima, Y., Katsuya, T., Ishikawa, K.,2005.; Association of hypoadiponectinemia with smoking habit in men. *Hypertension*, 45:1094–100.
114. James. O.B.O, Segree. W, Ventura. A.K ; 1972, Some antibacterial properties of Jamaican honey, *West Indian Medical Journal*, Vol. 21. p.
115. Javanovic, S.V., Steenken, S., Tomic, M., Marjanovic, B., Simic, M.J.,1994. Flavonoids as antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*. 116: 4846-4851.
116. Jayaraman. R, Arihara Shivakumar, T. Anitha, Vishal D. Joshi, Narahari N. Palei, 2009. Antidiabetic effect of petroleum ether extract of *Citrullus colocynthis* fruits against streptozotocin-induced hyperglycemic rats.
117. Jeffrey. C, 1990. Systematic of the Cucurbitaceae: An overview. In: Bates D.M, Robinson R W et Jeffrey C (eds.)-Biology and utilization of the Cucurbitaceae. Cornell Univ. Press, Ithaca: 3-28.
118. Jérôme bérubé-gagnon ; 2006 ; Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana* ; Thèse de doctorat en chimie ; l'université du Québec à Chicoutimi.
119. Jouad, H., Haloui, M., Rhiouani, H., El-Hilaly, J.,Eddouks, M., 2001. Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez-Boulemane). *Journal of Ethnopharmacology* ; 77, 175–182.
120. Jouzier. E., 2005., Solanacées médicinales et philatélie. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 144, 311-332.
121. Kang CI, Cobos-Trigueros. N, José A. Martínez, Alex Soriano., 2003. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: risk factors for mortality and influence of delayed receipt of effective antimicrobial therapy on clinical outcome. *Clin. Infect. Dis.* 37:745–751
122. Kar .A ; Jain SR., 1971., The antibacterial activity of some essential oils and their combination. ; *Planta medica.*, 20 : 118-123.

123. Kerhar O et Adam g.j ; 1974 ; La pharmacopée sénégalaise traditionnelle ; Plantes médicinales et toxiques ; Vigot Frères. Paris, 488.
124. Klervi L.L., 2005. Connaissance chimiotaxonomique du genre *Turbinaria* et étude des composés de défense de différents espèces de Sargassacées des Iles Salmon (Pacific sud). 210p.
125. Koleva I.I., Van Beek T.A., Linssen J.P.H., De Groot A. and Evstatieva L.N., 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*, 13, pp. 8-17.
126. Kooststra, M ; 1994 ; Protection from UV-B-induced DNA damage by flavonoids, plant Mol Biol, 26, 771-774.
127. Kundu.S , Jernigan. R., 2004, Molecular Mechanism of Domain Swapping in Proteins: An Analysis of Slower Motions.
128. Landolfi, R. , 1984 ; Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. *Biochemical Pharmacology*, v.33, p.1525-1530.
129. Larocca, L.M; Piantelli, M; Leone,G; Sica, S; Teofili, L; Benedetti-Panici, P; Scambia,G; Mancoso,S; Capelli,A; Renelliti, P.O; 1990; Type II oestrogen binding sites in acute lymphoid and myeloid leukaemias: growth inhibitory effect of oestrogen and flavonoids; *Britt J Haemathol*, 75,489-495.
130. Lee SE, Hwang HJ, Ha JS, Jeong HS and Kim JH., 2003.,Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. *Life Sci.*,73: 167-179.
131. Lee Y, Howard LR, Villalon B, 1995.Flavonoïdes and antioxydant activity of fresh pepper(*Capsicum annum*) cultivars *J.Foodv Sci*,60(3),p473-476
132. Lefkir. A, 2005. Cartographie des ressources hydrique de la wilaya de Béchar .Th7se de doctorat en Génie civile ; Université de Béchar. p : 187
133. Lehucher-Michel M.P.,Lesgards J.F.,Delubac O.,Stocker P.,Durand P.,Prost M.,2001.stress oxydant et pathologies humaines.*La Presse médicale*.30 :1076-1081.
134. Levi, A., et Claude E. T. ,2005. Polymorphisms among chloroplast and mitochondrial genomes of *Citrullus* species and subspecies. *USA. Genetic Resources and Crop Evolution* (2005) 52: 609–617. Springer.
135. Lhuillier Amélie, 2007.Contribution à L'étude Phytochimique de Quatre plante Malgaches : *Agauria Salicifolia* Hook.F ex Oliver,*Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae),*Tambourissa Trichophylla* Baker (Monimiaceae),et *Embelia Concinna*

- Baker (Myrsinaceae).Mémoire de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse, France.
136. Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F., Tian Y., 2007. Evaluation of antioxydant capacity and total phenolic contenu of different of selected microalgae. *Food Chimestry*.102:771-776.
 137. Lide .D.R, 1996. Handbook of chemistry and physic,CRC Press, Boca Raton (Ela)76Ed.
 138. Maatoug H ; 1990 ; Nos plantes médicinales ; Lexiques cliniques des plantes médicinales non toxiques employées en Tunisie.
 139. Malick ; 2006 ; Contribution à l'étude ethnobotanique et ethnopharmacologique des plantes médicinales sénégalaises dans traitement l'hypertension artérielle ; Thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie 10 mai 2006 .p-2
 140. Mansouri A., EmbarekG., Kokkalou E., kefalas P., 2005. Phenolic profile and antioxydant activity of the Algerian ripe date fruit (*phonix dactylifera*). *Food Chemestry*, 89: 411-420.
 141. Marfak Abdelghafour ;2003 ;Radiolyse gamma des flavonoïdes. étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides ; Thèse pour obtenir le grade de Docteur de l'Université De Limoges ; p :23.
 142. Margulis. H ; 1963 ; Pédologie générale ; Gauthier-Villars, pp101
 143. Maria José A., María Ai, Paulina B ; 2007 ; Active antifungal substances from natural sources., *ARKIVOC* (vii) 116
 144. Marin,F.R; Frutos, M,J ; Perez-Alvarez, J.A ; Martinez-Sanchez, F ; Del Rio ; 2002 ; Flavonoids as nutraceutical :structural related antioxidant properties and their role on ascoric acid preservation, studies in natural products chemistry ; Elsevier Science, 26,741-778.
 145. Marzouk Belsem, Marzouk Zohra, Maha Mastouri, Nadia Fenina et Mahjoub Aouni, 2011.Comparative evaluation of the antimicrobial activity of *Citrullus colocynthis* immature fruit and seed organic extracts.
 146. Mehdioui R. et Kahouadji A: 2007. Étude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d'Amsittène: cas de la Commune d'Imi n'Tlit (Province d'Essaouira). Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie n°29: 11-20.

147. Michel swistek., 1992., Caracterisation et valorisation de residus hydrocarbonés lourds charbonniersetpetrolier., thèse de doctorat en chimie, Uuniversite Demetz.
148. Moharram, F.A., El-shenawy, S. M; 2007; Antinoceptive and anti-inflammatory Steroidal Saponins from *Dracaena ombet*, *Planta Med.*73, 1101–1106.
149. Molinier. A, Massol. J ; 2008. Pathologie médicale et pratique infirmière, Vol. 3, LAMARRE, Paris. P. 601.
150. Montserrat-Martí.G. ; Jesús Julio C., Sara P.,Carmen., Pérez-Rontomé.,Rubén M., Jorge A., Melchor Maestro. ; 2009, Summer-drought constrains the phenology and growth of two co-existing Mediterranean oaks with contrasting leaf habit: implications for their persistence and reproduction., *Trees*, 23: 787-799
151. Morton. W; 1997. Olive leaf extract, Kensington, New York. P. 9–14.
152. Mothana, R.A.A., Lindequist, U; 2005; Antimicrobial activity of some medicinal plants of island SoqotraJ. *Ethnopharmacol.* 96, 177–181.
153. Mouaragadja.I, M'batchi.B.,1998.,Etude et identification de la pourriture de l'oseille de Guinée au Gabon. *Fruits*, 53(1): 57-68.
154. Mouellet Mibindzou ; 2004;Screening phytochimique de deux espèces de plantes : *Crotalaria retusa* L et *Hallea ciliata* Aubrev. & Pellgr. Récoltées au Gabon ; Thèse de doctorat ; Bamako ; 88p.
155. Mshvildadze V, Favel A, Delmas F, Elias R, R Faure, Decanosidze Q, Kemertelidze E, G Balansard.,2000., Antifongique et antiprotozoaire activités de saponines de *Hedera colchica*. *Pharmazie*, 55: 325-326.
156. Mughal. T, 2008. Ethnomedicinal Studies of Flora of Southern Punjab and Isolation of Biologically Active Principles. Thèse de doctorat. Department of chemistry Lahore college for women university, PAKISTAN
157. Multon,J . L ; 1982 ; Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés- Céréales , oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux . Techniques et documentation Lavoisier Paris Apria. Volume1, 576 pages.
158. Murakami, A., Tanaka, T., Lee, J.-Y.,Surch, Y.-J., Kim, H.W. , Kawabata, K., Nakamura, Y. , Jiwajinda, S., Ohigashi, H ; 2004 ; .Zerumbone, Asesquiterpene en subtropical ginger, suppresses skin tumor initiation and promotion stages in ICR mice. *International journal of cancer*110, 481-490.

159. Nacoulma O.G, 1996, Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso : cas du Plateau central, Thèse de Doctorat d'Etat. Université d'Ouagadougou, Burkina Faso. Tome1 et 2, page : 581.
160. Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi M.S et Ghorbani A, 2005 ; Labiatae family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology- Iranian Journal of Pharmaceutical Research; Vol. 2;pp 63-79
161. Ngavoura Pierre ; 1990 ; Fiabilité de la Médecine Traditionnelle dans le monde moderne « Contribution du Forestier » ; Thèse de doctorat ; Libreville ; 123p.
162. Ngo Bum. E., G.S. Taiwe, F.C.O. Moto, G.T. Ngoupaye, R.R.N. Vougat, V.D. Sakoue, C.Gwa, E.R. Ayissi, C. Dong, A. Rakotonirina and S.V. Rakotonirina., 2011., Antiepileptic Medicinal Plants used in Traditional Medicine to Treat Epilepsy, Clinical and Genetic Aspects of Epilepsy, Dr. Zaid Afawi (Ed.), ISBN:978-953-307-700-0, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/clinical-and-genetic-aspects-of-epilepsy/antiepileptic-medicinal-plants-used-in-traditional-medicine-to-treat-epilepsy>
163. Nikaido, H.; Vaara, M., 1985. , Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. Microbiol. Reviews, 1, 1-32.
164. Nmila, R., Rchid, H., Gross, R., et al. ,2002. Mise en évidence d'un effet insulinostimulant de fractions de graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis* L. Schrader). Biologie & Santé vol. 2, n° 2, 2002. Maroc.
165. Nogaret-Ehrhart.A.S, 2003. La phytothérapie : se soigner par les plantes, Eyrolles, France.P.191.
166. Nuh Boyraz, Musa Ozcan, 2005. Antifungal effect of some spice hydrosols, Elsevier. Fitoterapia 76- (661-665).
167. OMS ; 2002 ; Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. Publication OMS. P : 61.
168. Organisation Mondiale de la Santé ; 2002 ; Stratégie de l'OMS pour la Médecine Traditionnelle ; Organisation Mondiale de la Santé ; Genève ; 65p.
169. Oszmianski J, Wojdylo A, Lamer-Zarawska E, Swiader K. ,2007., Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. Food Chem. ,100 (2): 579-83.
170. Özcan M., J.-C. Chalchat, 2004. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. Growing Wild in Turkey. Bulg. J. Plant Physiol. 30 (4) : 68-73.

171. Ozenda Paul, 1977. Flore et végétation du Sahara, CNRS, Edition, Paris, 2004.
172. Ozenda Paul, 2004. Flore et végétation du Sahara, CNRS 3^{ème} éditions. P : 417, 433, 434.
173. Paryen. C ; 1952 ; Les massifs carbonifères du Sahara sud-oranaise ; Thèse, fac, sci, Paris. Bull ; CNRS N°1 Géol. 2vol, 1t. Stratigraphie et tectonique, PP : 319.
174. Paul Iserin ; 2001 ; Plantes médicinales, Edition Larousse, p14
175. Pawlowska AM, De Leo M, Braca A., 2006. Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: Identification of anthocyanins and gallic acid derivatives. J. Agric. Food Chem.,54 (26): 10234-38.
176. Peterson, G; Barnes, G ; 1993; Genistein and biochanin: a inhibit the growth of human prostate cancer cells but not epidermal growth, Prostate, 22, 335-345.
177. Peyron L ; 2000 ; Aspect international du marché des plantes aromatiques et médicinales ; Actes journée Réflexion Plantes arom. ; Mèd., Casablanca, 16 Nov., 2000, P.17-25. Loit A et Goris, Pharmacie galénique ; edit. Masson 1942.
178. Pitt J.I. ,1973., An appraisal of identification methods for *Penicillium* species. Novel taxonomic criteria based on temperature and water relations. Mycology; 65: 1135-1157.
179. Pitt J.I., Hocking A.D., 1985 ; Academic Press; Sydney:. Fungi and food spoilage.
180. Polygenis-Bigendako.M .J et Lejoly. J., 1989 ; Plantes employées dans le traitement des diarrhées en médecines traditionnelle au Burundi Occidental- Bull. Soc. Roy. Bot. Belg., 122, pp87-89
181. Portes E., 2008. Synthèse et Etudes de étrahydrocurcuminoïdes : Propriétés photochimiques et antioxydantes, applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle. *Thèse de doctorat*. N° 3695. Université Bordeaux I, 244p.
182. Prakash A., 2001. Antioxidant activity. Medallion Laboratories analytical progress. Vol. 19, N° 2. 2p.
183. Psotova J., et Lasovsky J. et 2003. Metal chelating properties, electrochemical behavior, scavenging and cytoprotectives of six natural phenolic. Biomed. Papers 174- 153p.
184. Quézel P, Santa S .,1962., Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Vol. 1. Paris: CNRS

185. Rachid ch A., Qureshi M.Z., Raza S.A., William J. and Arshad M., 2010. Quantitative determination of antioxidant potential of *Artemisia persica*. *Analele Universităţii din Bucureşti – Chimie (serie nouă)*, vol. 19 N1, pp. 23-30.
186. Rageau,J.,1973.,Les Plantes Médecinales de la Nouvelle- Calédonie.Travaux et documents de l'ORSTOM 23, pp 139.
187. Ramirez, C.,1982., Manual and Atlas of *Penicillia*. New York (USA): Elsevier biomedical press.
188. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G., 1996 Structure-antioxidant activity relationships of flavonoïdes and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.* 20 : 933-956.
189. Ritchason. J; 2000. Olive Leaf Extract Potent Antibacterial, Antiviral and Antifungal Agent, Spectrum Marketing, Australia. P. 5-6-9-10.
190. Roux.D, 2005. Les nouvelles plantes qui soignent, Alpen Ed, France. P.95.
191. Roux.D, Catier O, 2007. Botanique,pharmacognosie, Porphyre Ed,Paris.P.78-141.
192. Saad, B.; Azaizeh, H.; Said, O; 2005; Tradition and perspectives of Arab herbal medicine. *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, , 2(4), 475-479
193. Sadouk ; 2009 ; la phytothérapie ; Ecole supérieure des sciences et techniques de la sante de Sousse année 2008-2009 Section : hydro-thermo-thalassothérapie 3ème Année pp.05.
194. Salhi S., Fadli M., Zidane L., Douira A., 2010. Études floristique et ethnobotaniques des plantes médicinales de la ville de Kénitra Maroc).*Lazaroa* 31 : 133-146.
195. Samaniego-Sánchez, C., González, A.M.T., García-Parrilla, M.C., Granados, J.J.Q., García de la Serrana, H.L., Martínez, M.C.L.,2007., Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. *Analytica Chimica Acta.* 593: 103-107.
196. Sarouch S, Gholamera A,Ronald M, Mohsen D; 1998; phytopharmaceutical. Part I of selected Iranian and Canadian plants ,*Pharm Biol*, p:80.
197. Sawaya. W, Gahir. N .J et Khali. K, 1986. citrillus colocynthis seed as a potential source of protien for food and feed in journal of agricultural and food chemistry''. *Journal of Food Microbiology* vol 34(2). P: 285-88.
198. Scalbert A; 1991, Antimicrobial properties of tannins, *phytochemistry*, Vol.6, pages: 135-158.

199. Scambia, G; Renilliti, P.O; Benedeti-Panici, P; Piantelli, M; Bonanno, L.M; De Vincenzo,R; Ferrandina, G; Rumi, C; Larroca, L.M; Mancuso,S; 1990; Potentiates the effect of Adriamycin in a multidrug-resistant MCF-7 human breast-cancer cell line, *Brit J Cancer*, 62, 942.
200. Scherrer, R.; Gerhardt, P. Molecular sieving by the *Bacillium megaterium* cell wall and protoplast. *J. Bacteriol.*, 1971, 107, 718-735.
201. Schilcher, H., Peters, H., Wanks, H., 1987,. Pesticide and schmerzmittel in Arzneipflanzen and Arzneipflanzen Zubereitungen. *Pharm. Ind.*, 49, 202-211.
202. Schnack. Ruth B, D. Schnack, 2005., Population structure and fecundity of the microcopepod *Oncaea bispinosa* in the Red Sea—a challenge to general concepts for the scaling of fecundity. ; *Marine ecology progress seriesmar Ecol Prog Ser.*, Vol. 302: 159–175
203. Scoules M, 2006 ; Partitioning and distribution of dissolved copper, Cadmium and organic matter in Mediterranean marine coastal areas: The case of a mucilage event, *Estuarine coastal and Shelf Sciences* 67:484-490
204. Sebbagh .N; D. Chabane Sari; S.A. Taleb; M.Benyoucef; M.Lahouel; A. Ktorza and C.Magnan; 2007; Effets of dietary Colocynthis and Sanflower fatty acids containing oils on lipid metabolism and on antioxidant parameters in Streptozotocin-Induced diabetic rats; *Research journal of applied sciences* 2(7):832-838; Medwell online.
205. Sekar. A, Paudel. S, Sivakumar S. P ., Verma. A.,2014., Methemoglobinemia and Uremia from an Unusual Poison., *J Clin Toxicol* 2014, 4:5.
206. Serghat S., A. Mouria A., Ouazzani touhami A., Badoc A., Douira A.,2004., Effet de quelques fongicides sur le développement in vitro de *pyricularia grisea* et *helminthosporium oryzae*. *Bull. Soc. Pharm.* 143: 7-18.
207. Shahidi M, Blair NP, Mori M, Zelkha R. Optical section retinal imaging and wavefront sensing in diabetes. *Optom Vis Sci.* 2004; 81(10):778–784.
208. Singh P., Kumar A., Dubey N.K., Gupta R.,2009., Essential Oil of *Aegle marmelos* as a Safe Plant-Based Antimicrobial Against Postharvest Microbial Infestations and Aflatoxin Contamination of Food Commodities. *Journal of food science*; 74 (6): 302-307.

209. Skoog D.A, Weast D.M, Hooller F.J 1999 ; Analytical Chemistry, harcourt brace javanovich college publishers, (trad. Buess-Herman et al., De Boeck Université Bruxelles).
210. Sofowora A., 2010 : «plantes médicinales et médecine traditionnelle, d'Afrique». ED. Karthala. 43p.
211. Sokol-Letowska A., Oszmiansk J., Wojdylo A., 2007. Antioxydant activity of the phenolic compounds of Hawthorn, pine and skullcap. *Food chemistry*, 103:853-859.
212. Soro S., Ouattara D., Guédé N.Z., Coffi K., 2010., Effet Inhibiteur in Vitro et in Vivo de l'extrait de Poudre et de l'huile Essentielle de *Xylopiya Aethiopica* (Dunal) A. Rich. (Annonaceae) sur *Fusarium oxysporum* f. sp *Radicis-lycopersici* (Forl), Champignon Parasite des Cultures de Tomate .*European Journal of Scientific Research* ; 39(2): .279-288.
213. Springer-Verlag. Hale A.L., 2003. Screening Potato Genotypes for Antioxydant Activity, Identification of the Responsible Compounds, and Differentiating Russet Norkotah Strain Aflp and Microsatellite Marker Analysis. Office of Graduate Studies of Texas A et M University. Genetics. 260p.
214. Sunil S. Amrith., 2008., Food and Welfare in India, c. 1900–1950., Comparative Studies in Society and History 2008;50(4):1010–1035.
215. Sylvie M., 2011., Etude phytochimique et évaluation biologique de *Derris ferruginea* Benth. (Fabaceae), Thèse de doctorat en Chimie des Biomolécules., Université d'Angers.
216. Tabuc, C. 2007. Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de doctorat. Institut national polytechnique de Toulouse, université de Bucarest, France.
217. Tahraoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z.H., Lyoussi, B., 2007. ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *Journal of Ethnopharmacology* 110, 105–117
218. Thierry Lekounougou. S ; 2008 ; Evaluation et Compréhension des Mécanismes fongiques impliqués dans la dégradation du bois ; Thèse de Doctorat de l'Université Henri Poincaré, Nancy-I.
219. Tsao, R., Coats, J.R; 1995; Starting from nature to make better insecticides. *Chemtech* 25, 23-28.

220. Tubajika K.M., 2006, Efficacy of alkyl dimethyl benzyl ammonium chlorid on supression of physalospora vaccinii in laboratory assays. *Journal of food protection*; 69 (10): 2460-2464.
221. Tuescher E, Roberteanton, Annelise Labstein , 2005. *Plantes aromatiques, Epices ; Aromates Condiments et huiles essentielles*, édition : Lavoisier, page : 522.
222. Uma. C ; K.G. Seka., 2014., Phytochemical analysis of a folklore medicinal plant *citrullus colocynthis* L (bitter apple)., *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* ;2(6): 195-202
223. Usman. M, Abdulhakeem. B, Syed Waseemuddin.A, IqbaL. A, Husan. B., 2003., antibacterial screening of *Citrullus colocynthis* ., *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* Vol. 16, No.1, pp.1-6
224. Valdés, L.J; 1994; A.J.Psycoactive Drugs.26,pp .277-283
225. Van Acker S.A.B.E., Van den Berg D.J., Tromp M.N.J.L., et al. ,1996. Structural aspect of antioxidant activity of flavonoids. *Free Rad. Biol. Med.* 20: 331-342.
226. Vaudrauil ,2012 : A propos de deux registres nécessaires au bon usage des plantes médicinales de Martinique : la Pharmacopée végétale martiniquaise et un vademécum de phytothérapie, Thèse de doctorat en pharmacie, Rouen, pp28
227. Vaudrauil ; 2012 ; A propos de deux registres nécessaires au bon usage des plantes médicinales de Martinique : la Pharmacopée végétale martiniquaise et un vademécum de phytothérapie, Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, u.f.r. de médecine et de pharmacie de Rouen, pp28.
228. Velicković, A.S., Ristić, M.S., Veliković, D.T., Ilićand, S.N., Mitić, N.D ; 2003 ; *J.Serb.Chem.Soc.*68(6), pp .435-445.
229. Walker. M ; 1997. L'extrait de feuilles d'olivier : pour renforcer le système immunitaire, *Médecis*, Paris. P. 197.
230. Wang, S.Y. Chen, P.F, et Chang,S.T, 2005.Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*cinnamomum osmophloeum*)leaves against wood decay fungi, *bioresoirce technology*, 96,p: 813-818.
231. Weniger, B., 1991. Interest and limitation of a global ethnopharmacological survey. *Journal of Ethnopharmacology* 32, 37–41
232. Wills, C. J., Petersen, M., Bryant, W. A., Reichle, M., Saucedo, G. J., Tan, S., Taylor, G., and Treiman, J., 2000. A site-conditions map for California based on geology and shear-wave velocity, *Bull. Seismol. Soc. Am.* 90(6B), S187–S208

- 233.** Xiao, K., Yi, K.-H., Wang, Z.-Z., Tang, H.-F., Li, Y.-Q., Lin, H.-W.; 1999; A cytotoxic triterpene saponin from roots of *Aralia dasycarpa*. *J. Nat. Prod.*, 62, 1030–1032.
- 234.** Yadav, D., Singh, S. C., Verma, R. K., Saxena, K., Verma, R., Murthy, P. K., Gupta, M. M., 2013. Antifilarial diaryl heptanoids from *Alnus Nepalensis* leaves growing in high altitude areas of Uttarakhand, India. *Phytomedicine*.
- 235.** Yildiz Thomas ; 2000 ; *Plantes Aromatiques et Médicinales en France : Usages, Ethique et Réglementation*.
- 236.** Zeghad ; 2009 ; Etude de contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*thymus vulgaris*, *Rosamarinus officinales*) et évaluation de leur activité antibactérienne ; Thèse pour l'obtention d'un diplôme de doctorat, université Mentouri Constantine 2008-2009 p-03.
- 237.** Ziyat, A., Legssyer, A., Mekhfi, H., Dassouli, A., Serhrouchni, M., Benjelloun, W., 1997. Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *Journal of Ethnopharmacology* 58, 45-54.

Annexes

Annexe 01**Etudes ethnobotanique de quelques plantes médicinales de Béchar****Informateur :**

- Age:
- Situation familiale : Célibataire Marie
- Sexe : Masculin Féminin
- Niveau académique: Néant Primaire Secondaire Universitaire

Matériel végétal:

- Nom vernaculaire:.....
- Nom scientifique:.....

Usage de la plante : Thérapeutique Cosmétique Autres

– Plante seule Association possible (de plantes)

– **Partie utilisées:** Tige Fleurs Fruits Graine Ecorce Rhizome Bulbe
 Feuilles Plante entière Autres combinaisons:.....

– **Forme d'emploi :** Tisane Poudre Huiles essentielles Huiles grasses Extrait (teinture, solution, gélule) :.....

– **Mode de préparation :** Infusion Décoction Bouillie Cru Cuit Autres :

– **Mode d'administration :** Oral Massage Rinçage Badigeonnage Autres :

–**Utilisation :**

Toxicité:.....

Annexe 02

Composition des milieux de culture

Milieu PDA (Potatoes Dextrose agar)

Pomme de terre (macération 500ml de filtrat)	200 g
Sucrose	10 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

Milieu CDA (CzapekDox Agar)

Sucrose	30 g
KH ₂ PO ₄	1 g
KCL	0.5 g
MgSO ₄	0.5 g
FeSO ₄	0.01 g
NaNO ₃	3 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

Milieu MEA (Malt Extract Agar)

Matière Sèche	50 g
Agar	5 g
Eau distillée	1000 ml

Milieu YES (Yeast Extract Sucrose)

Sucrose	40 g
Extrait de Levure	20 g
Eau distillée	1000 ml

Milieu CYA (Czapek Yeast Agar)

Czapek Concentre	10 ml
KH ₂ PO ₄	1 g
Extrait de levure	5 g
Sucrose	30 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

Milieu G25N (25 % Glycérol Nitrate Agar)

KH ₂ PO ₄	0.75 g
Czapek Concentre	7.5 ml
Extrait de levure	3-7 g
glycerol	250 g
Agar	12 g
Eau distillée	750 ml

Milieu AFPA (Milieu Selectif pour A.flavus et A.parasiticus)

Extrait de levure	20 g
peptone	10 g
Citrate ferrique ammoniacal	0.5 g
chloramphenicol	0.1 g
Dichloran solution ethaolique à 0.2%	1 ml
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

Photos de quelques résultats



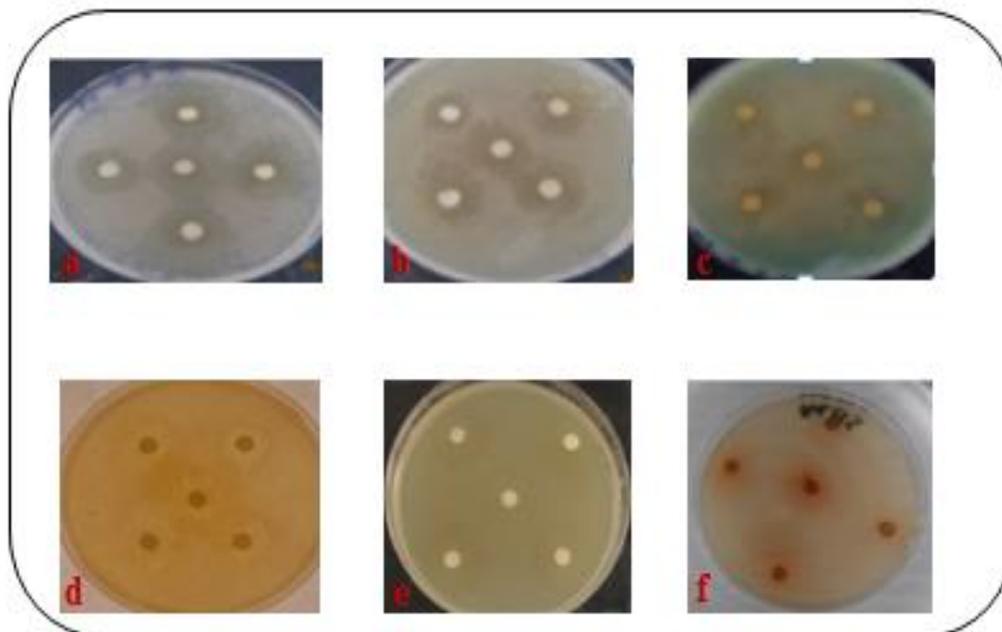
a : Feuilles de *Datura stramonium*

b : Feuilles de *Salsola vermiculata*

c : Fruits de *Citrullus colocynthis*

d : Grains de *Datura stramonium*

Planche 08 : Quelques photos des résultats du criblage phytochimiques des trois plantes étudiées



a : *Staphylococcus aureus*

b : *Bacillus sterothermophilus*

c : *Pseudomonas aeruginosa*

d : *Escherichia coli*

e : *Listeria monocytogen*

f : *Enterococcus faecalis*

Planche 11 : Photos de quelques résultats de l'activité antibactérienne par la technique des disques

Publications et communications

Publication

- Nahal Bouderba Nora, Kadi Hamid, Moghtet Snouci1, Meddah Boumediene and Moussaoui Abdellah ; 2015 ; Phytochemical and antibacterial screening of *Citrullus colocynthis* of South-west Algeria ; Journal of Chemical and Pharmaceutical Research ; 7(5):1344-1348.
 - Nahal Bouderba Nora, Kadi Hamid, Meddah Boumediene and Moussaoui Abdellah ; 2016 ; The Investigation of the phytochemical compounds and the antibacterial effect of Algerian –*Citrullus colocynthis* Schard ; *J. Appl. Environ. Biol. Sci.* 2016 6(6): 36-40
-

Communications orales

- Etude de l'activité antifongique et antioxydante de *Salsola vermiculata* de Béchar (1^{er} Séminaire international en Biologie ; 6-8 Décembre 2015, Béchar).
 - Effet antifongique et antimycotoxique de quelques plantes sahariennes utilisées en médecine traditionnelle (1^{ère} journée de la microbiologie appliquée et la biologie moléculaire avril 2016 ; Béchar).
-

Communications affichées

- Test de l'activité antifongique des flavonoïdes issu de *Datura stramonium* (1^{er} Séminaire international en Biologie ; 6-8 Décembre 2015, Béchar)
- Etude de l'activité antioxydante des flavonoïdes issus des grains de *Datura stramonium* de la région de Béchar (The 3rd international congress of plant diversity; 09-10 October 2015; Marrakech- Maroc).
- Criblage phytochimiques et étude de l'activité antifongique de *Datura stramonium* de la région de Béchar (The 3rd international congress of plant diversity; 09-10 October 2015; Marrakech- Maroc).
- Antifungal screening of *Datura stramonium* of south Algeria (Biodesert ; international conference; December 16th-19th 2012 ; Hammamat-Tunisia).
- Activité antifongique de l'extrait pur de la pulpe et de l'écorce de la coloquinte d'Algérie (The second edition of the international congress: Microbial biotechnology for development; 2nd to 04th October 2012; Marrakech).
- Effet inhibiteur de *Citrullus colocynthis* du sud-ouest Algérien vis-à-vis des moisissures productrices de mycotoxines (18^{ème} journées nationale de microbiologie ; 26-17 Novembre 2012 ; Tizi ouzou).
- Etude de l'activité antibactérienne de l'huile et de l'extrait pur de l'écorce de la coloquinte (Journée internationale de produits naturels ; 20 Mai 2009; Tlemcen; Algérie).
- Etude du criblage phytochimique et essai du pouvoir antifongique de la coloquinte de la région de Béchar (Journée d'étude sur la sécurité sanitaire des aliments ; 2009; Béchar; Algérie).



Phytochemical and antibacterial screening of *Citrullus colocynthis* of South-west Algeria

Nahal Boudierba Nora^{1*}, Kadi Hamid¹, Moghtet Snouci¹, Meddah Boumediene² and Moussaoui Abdellah¹

¹Laboratory of Plant Resource Development and food Security in Semi-Arid Areas, South West of Algeria, BP417, University of Béchar, Algeria

²Laboratory of Bioconversion, Microbiology Engineering and Sanitary Security, University of Mascara, Algeria

ABSTRACT

Resistances to current antibacterial drugs are growing global concerns. The aim of this study was to identify the phytochemicals from the fruits, root and leaves of *Citrullus colocynthis* and to study the antibacterial effect of aqueous and hydromethanolic extracts of leaves, roots and fruits. Phytochemical screening revealed the presence of some active substances including flavonoids, saponins and steroid. Aqueous and hydromethanolic extracts of fruits, leaves and roots of *C. colocynthis* Schard. were examined for their antibacterial potentials against Gram positive and Gram negative bacteria. All extracts show activity against all bacteria strains, the highest minimum inhibitory concentration (MIC) was obtained from the hydromethanolic root extract with 5.6 mg/ml against *Klebsiella pneumonia* and 6 mg/ml against *Bacillus stearothermophilus* and *Staphylococcus aureus*.

Key words: *Citrullus colocynthis* Schard, phytochemical screening, antibacterial, extract.

INTRODUCTION

Citrullus colocynthis Schard is a member of the gourd family Cucurbitaceae, originally from tropical Asia and Africa; it is now widely distributed in Saharan-Arabian phytogeographic region in Africa and the Mediterranean region [6]. It is a small scaped perennial creeping herb with prostrate or climbing stem, bearing smooth spherical fruits which are mottled green when young and some white yellow when ripe [17].

In moderate doses a drastic hydrogogue, cathartic and diuretic; in large doses emetic and gastro-intestinal irritant; in small dose it is expectorant and alterative. Physician use this drug extensively as a drastic purgative in ascites and jaundice in various uterine conditions, especially in amenorrhea. Colocynth in the form of the solid extract enters in to many of the purgative pills of modern pharmacy. It is use full in biliousness, fever, intestinal parasites, constipation, hepatic and abdominal, visceral and cerebral congestions, dropsy, etc. Juice of the fruit mixed with sugar is a house-hold remedy in dropsy [19].

C. colocynthis has very high medicinal value; the plant contains three antitumor ingredients: cucurbitacin B, Cucurbitacin E and the D-glycoside of Beta-sitosterol [15].

The purpose of the present study was to investigate phytochemical compound and the antibacterial activities of fruit (Bark and pulp), roots and leaves extracts of *C. colocynthis* against Gram-positive and Gram-negative bacteria.

The selected bacteria are antibiotic resistant or multi-resistant human pathogens.

EXPERIMENTAL SECTION

Plant material

The plants used for the present study were collected in September 2011, from Oued Béchar, Béchar, a city in West Sahara Department, Algeria. The leaves and roots were dried for 20 days in the dark at ambient laboratory temperature (20 to 28°C); the fruits were dried for three months at the same conditions, the grains were debarressed, the different part were milled to a fine powder in an electrical mill, and stored in the dark room temperature in closed containers until required.

Qualitative phytochemical screening

Each organ of plant (leaves, roots and fruits) was screened for the presence of key families of phytochemicals [16,18]. Using the following reagents and chemicals: alkaloids with Mayer's reagents, flavonoids with metallic magnesium and hydrochloridric acid, saponosids for their ability to produce suds, steroids acetic anhydride and concentrated sulphuric acid, Tanin with ferric chloride.

Extraction protocol

Aqueous extract

A total of 5 g of different powdered plant parts were added to 50 ml of distilled water, the mixture was allowed to reflux for 30 min. After cooling, it was filtered and stored to 4°C without concentration [9].

Hydromethanolic extract

A 5 g of different organs powder of plant were added to 50 ml of methanol: distilled water (v/v), the mixture was allowed to reflux for 30 min. After cooling it was filtered. The filtrate was passed in a rotary evaporator at 65°C to vapor the methanol; the crude extract was stored to 4°C prior to analysis.

Bacterial strains and media

The antibacterial activity of different part extracts of *C. colocynthis* were evaluated using the following strains of bacteria,

Gram-positive: *Listeria monocytogenes* (ATCC19115); *Bacillus stearothermophilus* (ATCC11778); *Staphylococcus aureus* (ATCC25923); *Enterococcus faecalis* (ATCC29212).

Gram-negative bacteria were: *Klebsiella pneumonia* (ATCC4352); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853); *Escherichia coli* (ATCC25922).

These bacterial strains were obtained from the Pasteur Institute, Algiers, Algeria.

All strains were identified by the use of biochemical profiles according to the recommendations of the manual of clinical microbiology [11]. All organisms were maintained in brain-heart infusion (BHI medium) containing 30% (v/v) glycerol at -20°C. Before testing, the suspensions were transferred to trypticase soy agar supplemented with 5% of sheep blood and aerobically grown overnight at 35°C. Individual colonies were isolated and suspended in 5 ml of 0.9% NaCl solution. The inoculate were prepared by adjusting the turbidity of the suspension to match the 0.5 Mcfarland standard and diluted in CAMHB (Cation -adjusted Muller Hinton broth) in order to achieve the adequate inoculum in each case.

The cell number in CAMHB was estimated using a serial dilution technique [13] for each assay.

Antibacterial activity

Disk diffusion method

Petri dishes were prepared with 20 ml of base layer of Muller Hinton gelose medium and inoculated with 100 µl of each bacterial suspension (10⁶ UFC) [20].

After drying in a sterile hood, 6 mm diameter disks soaked with different extract were placed at 35°C for 24 h. The antibacterial activity was expressed as the mean of inhibition diameters (mm) produced.

MIC determinations

The minimal inhibitory concentration (MIC) preventing visible bacterial growth measured by the different concentrations of extract of Muller Hinton agar media.

Different volume of extract were prepared and added to 20 ml of Muller Hinton Agar media; after agitation, the select solution were transferred into a Petri plates which were incubated at 35°C for 24 h[1].

RESULTS AND DISCUSSION

Qualitative phytochemical screening

Phytochemical screening is usually carried out to screen for and to characterized the constituents available in a given plant sample. All phytochemical constituents tested were identified in *C. colocynthis* fruits, leaves and roots as shown in Table 1.

Table 1: Phytochemical Screening of *Citrullus colocynthis* fruits, leaves and roots

Phytochemical constituents	Fruits	Leaves	Roots
- Alkaloid	+	+/-	+/-
- Tannins	+	+/-	+
- Saponins	+	+/-	+
- Flavonoids	+	+/-	+
- Unsaturated sterols and terpens	+	+	+
- Sterol and steroid	+	+	+

Key: +: present; -: Absent; +/-: low presence

The traditional use of plants as medicines provide the basis for indicating which essential oils and plant extract may be useful for specific medical conditions[8,10].

The present investigation has explored the use of one such plant, *C. colocynthis* Schard endemic in the south west of Algeria, for testing phytochemical compound and the antimicrobial activity of this endemic plant.

Generally in the phytochemical screening of any plant one normally identifies secondary metabolites that have accumulated to some extent at specific organ of the plant. These metabolites that are mainly used by the plant for protection against herbivores may have pharmacological activity when tested on animals [12].

Result of phytochemical screening of *C. colocynthis* Schard fruits leaves and roots of showed the presence of saponins, sterols, steroid, terpen, flavonoids, tannin and alkaloids in different proportion in the tree part of plant.

This result is in agreement with findings of Belsem et al. (2009) which proved that alkaloids were found in all extracts except the roots, flavonoids were present only in seeds; gallic tannin and coumarins only in leaves, and all of them contained steroids.

Ambi et al. (2007) confirmed that three phytochemical constituents were identified in *C. colocynthis* Schard seeds extracts as alkaloid, steroid, glycosides and flavonoids.

Extraction of secondary metabolites highly depends on using extractor techniques that depend on the chemical properties of these compounds. Water soluble compounds and proteins can be extracted in water or polar solvents whereas water insoluble compounds can be extracted with organic solvents [5].

Antibacterial activity

Disk diffusion method

The result of the disk diffusion method indicated that the inhibition diameters of aqueous and hydromethanolic extract of *C. colocynthis* roots are broadest compared to the leaves and fruit extract. Results are presented in Table 2.

MIC determination

As Table 3 shows, the MICs are more or less important depending on the type of bacteria studied. The hydromethanolic extract of root shows the best antibacterial activity screw all bacterial strains tested.

Table 2: Antibacterial Activity of the Aqueous and hydromethanolic Extract of *Citrulluscolocynthis* fruits; leaves and roots by Disc Diffusion Method

Bacterial strains	Inhibition diameters(mm)					
	Fruits		Leaves		Roots	
	Aq	Hyd	Aq	Hyd	Aq	Hyd
<i>Klebsiella pneumonia</i> (ATCC4352)	9.0	9.4	10.5	10.2	10.4	11.0
<i>Listeria monocytogen</i> (ATCC19115)	9.9	10.0	10.8	11.9	11.4	10.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)	9.8	10.4	10.2	10.7	11.0	10.8
<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	9.2	10.0	8.9	10.9	10.4	11.1
<i>Bacillus sterothermophilus</i> (ATCC11778)	9.8	9.2	9.8	9.7	10.4	11.2
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	9.6	10.0	10.6	10.3	10.6	10.6
<i>Enterococcusfaecalis</i> (ATCC29212)	9.4	8.6	10.5	9.7	10.7	10.7

Aq: Aqueous

Hyd: Hydromethanolic

Table 3: The MICs of Aqueous and hydromethanolic extract of *Citrulluscolocynthis* fruits, leaves and roots

Bacterial strains	MIC (mg/ml)					
	Fruits		Leaves		Roots	
	Aq	Hyd	Aq	Hyd	Aq	Hyd
<i>Klebsiella pneumonia</i> (ATCC4352)	9.8	13.93	17.1	10.8	18.9	5.6
<i>Listeria monocytogen</i> (ATCC19115)	9.8	10.85	17.1	10.8	18.9	5.6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)	9.8	13.93	25.2	10.8	20.92	5.6
<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	9.45	13.93	17.1	08.1	15.52	6.0
<i>Bacillus sterothermophilus</i> (ATCC11778)	9.45	10.85	25.2	10.8	21.6	6.0
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	9.8	10.85	25.2	10.8	21.6	6.0
<i>Enterococcusfaecalis</i> (ATCC29212)	9.8	12.40	25.2	10.8	15.52	6.0

Aq: Aqueous

Hyd: Hydromethanolic

This study confirmed the efficacy of aqueous and hydromethanolic extract of the fruits, leaves and roots of *C. colocynthis* Schard by the diffusion method to measure the diameters of inhibition and the method of the MIC (minimum inhibitory concentration).

Generally, the hydromethanolic extract of the tree parts are efficacy overlooked the bacteria tested contribution to aqueous extracts.

The strongest antibacterial activity with inhibition zone is remarked with hydromethanolic root extract or the MIC obtained is 5.6 mg/ml for *Klebsiella pneumonia*, *Listeria monocytogen* and *Pseudomonas aeruginosa*. These results are not in agreement with those reported by Belsem et al. 2009 who found that the plant organs with the highest antibacterial properties were immature fruits and immature seeds, and the lowest activity was observed for root extracts.

The strongest inhibitions were obtained against *E. coli* with hydromethanolic root extract which is consistent with the results of Belsem et al. (2009).

Usman et al. (2003) found that the inhibition zone of *S. aureus* with ethyl alcohol extract of root was 13.2 mm.

P. aeruginosa is the leading cause of nosocomial infection and has developed mechanisms of resistance to common antibiotic classes [4] Because of its must always seek a new anti-*Pseudomonas aeruginosa*.

These results suggest that the inhibitory effect exhibited by the extract of *C. colocynthis* Schard may be attributable to the secondary metabolites like phenolic compounds and saponins.

Activity cannot be imputed to one family of phytochemical only; alkaloids are commonly found to have antimicrobial properties [14].

Flavonoids are known to be synthesized by plants in response to microbial infection [7].

CONCLUSION

The obtained results might be considered adequate to demonstrate that *Citrulluscolocynthis* Schard extract can be considered a good antibacterial agent; it can be used to an antibacterial overcoat against the strain that a major problem of resistance in hospitals.

However, the results are only the first step of antibacterial activity; further studies on the isolation and identification of the active principal and on the evaluation of possible synergism among extract component for their antibacterial activity are needed. Investigations are in progress to determine the degree of toxicity of these extract.

Acknowledgements

The authors are highly thankful to Head, Department of Biologie, faculty of sciences of nature and life, university of Béchar, Algerian for providing necessary facilities.

We are grateful to Mr BOUGESRI Houari teacher of English, for their assistance in the redaction of this work. We thank Dr. DJELOULI Mohamed from Béchar University for their help in the achievement of the chemical work.

REFERENCES

- [1] Abdel-Massih R; Abdou E; Baydoun E; Daoud Z, *J. Bot.* Article ID 464087, **2010**,:1-8.
- [2] Ambi AA; Abdurrahman EM; Sule MI; Pateh UU; Abdurrahman YR; Ibrahim NDJ, *J. Pharm. Sci.* ,**2007**, 6(2): 7-12.
- [3] Belsem M; Marzouk Z; Décor R; Edziri H, *J. Ethnopharmacol.*, **2009**, 125: 344-349.
- [4] Carmeli Y ; Troillet N ; Eliopoulos G M ; Samore M H, *Antimicrob. Chemother. Agents*, **1999**, 43: 1397-1382.
- [5] Cseke L; Setzer W; Vogler B; Kirakosyan A; Kaufman P, Traditional, analytical and preparative separation of natural products. Natural products from plants. CRC press/ Taylor and Francis. Boca Raton. Fla. USA. **2006**, pp. 263-318.
- [6] Feinbrun-Dothan N , Flora Palaestina- Part III. Jerusalem. The Israeli. Academy of Sciences and Humanities, **2006**, p. 380.
- [7] Fogliani B; Raharivelomanana P; Bianchini JP; Bouraima-Madjébi S; Hnawia E, *Phytochemistry*, **2005**, 66: 241-247.
- [8] Hoffman DL, The herb user's guide wellingborough. UK: Thomsons publishing group, **1987**.
- [9] Kadi H; Moussaoui A; Benmahdi H; Lazouni HA; Benyahia A; Nahal BN, *J. Appl. Pharm. Sci.* ,**2011**, 01(10): 180-182.
- [10] Lawless J ,The illustrated encyclopedia of essential oils. Shaftesbury. UK. Element books Ltd, **1995**..
- [11] Murray PR; Baron EJ; Pfaller MA; Tenover FC; Tenover RH, Manual of clinical microbiology. ASM. Washington, **1999**, 6: 51-59.
- [12] Nahal BN; Kadi H; Moghte S; Meddah B; Moussaoui A , *Open Conf. Proc.*, **2012**, J. 3: 66-69.
- [13] National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) ,Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twelfth informational supplement. M100-S12 (M7). NCCLS. Wayne. Pa, **2002**.
- [14] Omulokoli E; Khan B; Chhabra S, *J. Ethnopharmacol.*, **2007**, 56: 133-137.
- [15] Rajkiran C; Urvija G; Take RK, *J. Chem.*, **2011**, 8(1): 85-90.
- [16] Sarkar M; Tanker M, Phytochemical analysis of Ankara University in the spring of *eczacicikfaeulte* 10.67. Ankar. Turkey, **1991**..
- [17] Shah C S; Qadry J S, Text book of pharmacognosy. 5th ed. B. S. Shah, Prakashan, Pankore Naka, Ahmed abed, Inndia, **1985**, p.284.
- [18] Trease GE; Evans CW, Pharmacognos. 12th ed. Balliere Tindall. London. UK. London, **1984**..
- [19] Usman M; Abdul hakeem B; Syed Waseemuddin A; Iqbal A; Husam B, *J. Pharm. Sci.* ,**2003**, 16(1):1-6.
- [20] Velickovic DT; Randjelovic NV; Ristic MS; Velickovic AS; Melcerovic AA, *J. Serb. Chem. Soc.*, **2003**, 68(1): 17-24.

The Investigation of the phytochemical compounds and the antibacterial effect of Algerian –*Citrulluscolocynthis* Schard

Nahal Boudierba Nora^{1*}, Kadi Hamid¹, Meddah Boumediene² and Moussaoui Abdellah¹

¹Laboratory of Plant Resource Development and food Security in Semi-Arid Areas, South West of Algeria, BP417, University of Béchar, Algeria.

²Laboratory of Bioconversion, Microbiology Engineering and Sanitary Security, University of Mascara, Algeria.

Received: February 29, 2016

Accepted: April 14, 2016

ABSTRACT

The Resistances of the current antibacterial drugs are growing to global concerns. This study is to identify the phytochemicals from the fruits, root and leaves of *Citrulluscolocynthis* and also for studying the antibacterial effect of aqueous and hydromethanolic extracts of the leaves, roots and fruits. The Phytochemical screening was revealed the presence of some active substances including flavonoids, the saponins and steroid. The Aqueous and hydromethanolic extracts of the fruits, leaves and roots of *Citrulluscolocynthis* Schard. That were examined for their antibacterial potentials against the Gram positive and negative bacteria. All extracts are showed an activity against all bacteria strains, the least minimum inhibitory concentration (MIC) was obtained from the hydromethanolic root extract with 5.6mg/ml against *Klebsiellapneumonia* and 6 mg/ml against *Bacillus stearothermophilus* and *Staphylococcus aureus*.

KEY WORDS: The *Citrulluscolocynthis* Schard, the phytochemical screening, the antibacterial effect, the aqueous extract, the hydromethanolic extracts.

INTRODUCTION

The Citrulluscolocynthis Schard is a member of the gourd family (Cucurbitaceae), It is originally from the tropical part of Asia and Africa; it is widely distributed now in the Saharan-Arabian phytogeographic region in Africa and the Mediterranean pool [6]. It is a small scaped perennial creeping herb with prostrate or climbing stem. The bearing smooth spherical fruits are mottled green when they are young and some white yellow when they are ripe [17].

In moderate doses a drastic hydrogogue, cathartic and diuretic; in large doses emetic and gastro-intestinal irritant; in small dose it is expectorant and alterative. The Physician is used this drug extensively as a drastic purgative in ascites and jaundice in various uterine conditions, especially in amenorrhea. The Colocynthis in its form of the solid extract is entered into many of the purgative pills of the modern pharmacy. It is used a complete form in the biliousness, the fever, the intestinal parasites, the constipation, the hepatic and abdominal, the visceral and cerebral congestions, the dropsy, etc. The fruit Juice is mixed with sugar is a house-hold remedy in the dropsy [19].

The *Citrulluscolocynthis* has a very high medicinal value; the plant contains three antitumor ingredients: cucurbitacin B, Cucurbitacin E and the D-glycoside of Beta-sitosterol [15]. In the present study, the purpose is to investigate the phytochemical compound and the antibacterial activities of the fruit (Bark and pulp), the roots and the leaves extracts of *C. The colocynthis* against Gram-positive and negative bacteria. The selected bacteria is an antibiotic resistant or a multi-resistant human pathogens.

MATERIALS AND METHODS

The Plant material

The plants that are used for the present study were collected in September 2011, from Béchar's valley, Béchar is a city in the south-western Saharian Department in Algeria. The leaves and roots were dried for 20 days in the dark at ambient laboratory temperature (20 to 28°C); they were dried for three months in the same conditions, The grains were embarrassed, The different parts of the fruits were milled to a fine powder in an electrical mill, and stored in the dark room with the temperature enclosed containers until they are required.

The Qualitative phytochemical screening

Each organ of plant (leaves, roots and fruits) was screened for the presence of the key families of the Phytochemicals [16,18]. Using the following reagents and chemicals: Alkaloids with Mayer's reagents, the

*Corresponding Author: Nahal Boudierba Nora, Laboratory of Plant Resource Development and food Security in Semi-Arid Areas, South West of Algeria, BP417, University of Béchar, Algeria.

Flavonoids with the Metallic Magnesium and Hydrochloridric Acid, the Saponosids for their ability to produce Suds, the Steroids Acetic anhydride and concentrated Sulphuric Acid, Tanin with Ferric Chloride.

The Extraction protocol

Aqueous extract

A total of 5 g of the different powdered plant parts were added to 50 ml of the distilled water, the mixture was allowed to reflux for 30 min. After cooling, it was filtered and stored to 4°C without concentration [9].

The Hydromethanolic Extract

A 5 g of the different organs powder of the plant was added to 50 ml of the methanol: using the distilled water (v/v), the mixture was allowed to reflux for 30 min. After cooling, it was filtered. The filtrate was passed in a rotary evaporator at 65°C to vapor the methanol; the crude extract was stored to 4°C prior to analysis.

The Bacterial Strains and Media

The antibacterial activity of the different part of the extracts of *C. (colocynthis)* were) was evaluated the using of the following strains of the bacteria,

Gram-positive: *Listeria monocytogenes* (ATCC19115); *Bacillus stearothermophilus* (ATCC11778); *Staphylococcus aureus* (ATCC25923); *Enterococcus faecalis* (ATCC29212).

Gram-negative bacteria are: *Klebsiella pneumonia* (ATCC4352); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853); *Escherichia coli* (ATCC25922).

These bacterial strains were obtained from the Pasteur Institute, Algiers, Algeria. All strains were identified by the using of the biochemical profiles according to the recommendations of the manual of the clinical microbiology[11]. All the organisms were maintained in brain-heart infusion (BHI medium) containing 30% (v/v) glycerol at -20°C. Before the testing, the suspensions were transferred to trypticase soy agar supplemented with 5% of the sheep blood and aerobically grown overnight at 35°C. The Individual Colonies were isolated and suspended in 5ml of 0.9% NaCl solution. The inoculate were prepared by adjusting the turbidity of the suspension to match the 0.5 Mcfarland that is standard and diluted in the CAMHB (Cation –adjusted Muller Hinton broth) in order to achieve the adequate inoculum in each case.

The cell number in CAMHB was estimated that used a serial dilution technique[13]for each assay.

The Antibacterial Activity

The Disk Diffusion Method

The Petri dishes were prepared with 20 ml of a base layer of Muller Hinton gelose medium and inoculated with 100 µl of each bacterial suspension (106 UFC) [20].

After drying in a sterile hood, 6 mm diameter disks soaked with different extracts were placed at 35°C for 24 h. The antibacterial activity was expressed as the mean of the inhibition diameters (mm) produced.

The MIC Determinations

The minimal inhibitory concentration (MIC) is preventing a visible bacterial growth that was measured by the different concentrations of the extract of the Muller Hinton agar media. The Different volume of extract was prepared and added to 20 ml of the Muller Hinton Agar media; after agitation, the select solution was transferred into a Petri plates that were incubated at 35°C for 24 h[1].

THE RESULTS AND DISCUSSION

The Qualitative Phytochemical Screening

The Phytochemical screening is usually carried out to the screen and in order to characterized the constituents that is available in a given plant sample. All the phytochemical constituents which were tested are identified in *C. colocynthis* fruits, leaves and roots as shown in Table 1.

Table 1: Phytochemical Screening of *Citrullus colocynthis* fruits, leaves and roots

Phytochemical constituents	Fruits	Leaves	Roots
– Alkaloid	+	+/-	+/-
– Tannins	+	+/-	+
– Saponins	+	+/-	+
– Flavonoids	+	+/-	+
– Unsaturated sterols and terpens	+	+	+
– Sterol and steroid	+	+	+

Key: +: present; -: Absent; +/-: low presence

The traditional use of the plants as medicines is provided the basis for indicating the essential oils and the plant extract maybe useful for the specific medical conditions [8,10].

The present investigation has explored the using of one, (*C. colocynthis* Schard endemic in the southwestern of Algeria), and for testing the phytochemical compound and the antimicrobial activity of this endemic plant.

Generally, in the phytochemical screening of any plant -there is one normally identifies as a secondary metabolites that have accumulated to some extent at the specific organ of the plant. These metabolites are mainly used by the plant for protection against herbivores which may have the pharmacological activity when they are tested on animals[12].

The Result of the phytochemical screening of the *Citrulluscolocynthis* Schard fruits leaves and roots are showed the presence of the saponins, sterols, steroid, terpen, flavonoids, tannin and alkaloids in different proportions in the xx tree part of the plant.

This result is in agreement with the findings of the Belsem et al. (2009) which proved that alkaloids were found in all extracts except the roots, the flavonoids were presented only in seeds; gallic tannin and coumarins only in the leaves, and all of them are contained steroids.

Ambi et al. (2007) confirmed that three phytochemical constituents were identified in *Citrulluscolocynthis* Schard seeds extracts as alkaloid, steroid, glycosides and flavonoids.

Extraction of the secondary metabolites in highly depends on the using of the extractor techniques that depend on the chemical properties of these compounds, the soluble water compounds and proteins can be extracted in water or polar solvents whereas water insoluble compounds can be extracted with organic solvents [5].

The Antibacterial Activity

The Disk diffusion method

The disk result diffusion method is indicated that the inhibition diameters of aqueous and hydromethanolic extract of *C. colocynthis* roots are the broadest comparing to the leaves and fruit extract. (**Results are presented in Table 2.**)

MIC determination

As Table 3 shows, the MICs are depending on the bacterial strains tested. The hydromethanolic extract of the root shows the best antibacterial activity screw all the bacterial strains tested.

Table 2: Antibacterial Activity of the Aqueous and hydromethanolic Extract of *Citrulluscolocynthis* fruits; leaves and roots by the Disc Diffusion Method.

Bacterial strains	Inhibition Diameters(mm)					
	Fruits		Leaves		Roots	
	Aq	Hyd	Aq	Hyd	Aq	Hyd
- <i>Klebsiella pneumonia</i> (ATCC4352)	9.0	9.4	10.5	10.2	10.4	11.0
- <i>Listeria monocytogen</i> (ATCC19115)	9.9	10.0	10.8	11.9	11.4	10.2
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)	9.8	10.4	10.2	10.7	11.0	10.8
- <i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	9.2	10.0	8.9	10.9	10.4	11.1
- <i>Bacillus sterothromphillus</i> (ATCC11778)	9.8	9.2	9.8	9.7	10.4	11.2
- <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	9.6	10.0	10.6	10.3	10.6	10.6
- <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC29212)	9.4	8.6	10.5	9.7	10.7	10.7

Aq: Aqueous Hyd: Hydromethanolic

Table 3: The MICs of the Aqueous and Hydromethanolic Extract of the *Citrulluscolocynthis* fruits, leaves and roots.

Bacterial strains	MIC (mg/ml)					
	Fruits		Leaves		Roots	
	Aq	Hyd	Aq	Hyd	Aq	Hyd
- <i>Klebsiella pneumonia</i> (ATCC4352)	9.8	13.93	17.1	10.8	18.9	5.6
- <i>Listeria monocytogen</i> (ATCC19115)	9.8	10.85	17.1	10.8	18.9	5.6
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)	9.8	13.93	25.2	10.8	20.92	5.6
- <i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	9.45	13.93	17.1	08.1	15.52	6.0
- <i>Bacillus sterothromphillus</i> (ATCC11778)	9.45	10.85	25.2	10.8	21.6	6.0
- <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	9.8	10.85	25.2	10.8	21.6	6.0
- <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC29212)	9.8	12.40	25.2	10.8	15.52	6.0

Aq: Aqueous Hyd: Hydromethanolic

This study is confirmed the efficacy of the aqueous and hydromethanolic extract of the fruits, leaves and the roots of *Citrulluscolocynthis*Schard by the diffusion method to measure the diameters of the inhibition and the method of the MIC (minimum inhibitory concentration).

Generally, the hydromethanolic extract of the tree parts is efficient overlooked the bacteria tested contribution to the aqueous extracts. The strongest antibacterial activity with inhibition zone is remarked with hydromethanolic root extract or the MIC obtained that is 5.6 mg/ml for *Klebsiella pneumonia*, *Listeria*

monocytogen and *Pseudomonas aeruginosa*. These results are not in the agreement with those ones that were reported by Belsem et al. 2009 who found that the plant organs with the highest antibacterial properties that were immature fruits and immature seeds, and the lowest activity was observed for the root extracts. The strongest inhibitions were obtained against *E. coli* with hydromethanolic root extract which is consisted with the results of Belsem et al. (2009).

Usman et al. (2003) found that the inhibition zone of *S. aureus* with ethyl alcohol extract of the root was 13.2mm. *Pseudomonas aeruginosa* is the leading cause of nosocomial infection and has developed mechanisms of resistance to common antibiotic classes [4], Since it must always seek a new anti-*Pseudomonas aeruginosa*, These results are suggested that the inhibitory effect exhibited by the extract of *C. colocynthis* Schard may be attributable to the secondary metabolites like phenolic compound and saponins. No activity can be imputed to one family of phytochemical only; alkaloids are commonly found to have antimicrobial properties [14]. Flavonoids are known to be synthesized by plants in response to the microbial infection [7].

CONCLUSION

The obtained results might be considered the adequate to be demonstrated that *Citrullus colocynthis* Schard extract can be considered a good antibacterial agent; it can be used to an antibacterial overcoat against the strain that a major problem of resistance in the hospitals.

However, the results are only the first steps of the antibacterial activity; further studies on the isolation and identification of the active principal and on the evaluation of the possible synergism among the extract component for their antibacterial activity that are needed. The Investigations are in progress to determine the degree of toxicity of these extracts.

Conflict of interests

None.

Financial support

This work was financially supported by the Biology Department of, the faculty of the nature and life - sciences –Béchar University - Algeria, for the providing necessary facilities

REFERENCES

- [1] Abdel-Massih R; Abdou E; Baydoun E; Daoud Z (2010) *J. Bot.* Article ID 464087, :1-8.
- [2] Ambi AA; Abdurrahman EM; Sule MI; Pateh UU; Abdurrahman YR; Ibrahim (2007) NDJ, *J. Pharm. Sci.*, 6(2):7-12.
- [3] Belsem M; Marzouk Z (2009) Décor R; Edziri H, *J. Ethnopharmacol*, 125: 344-349.
- [4] Carmeli Y; Troillet N; Eliopoulos G M; Samore M H (1999) *Antimicrob. Chemother. Agents*, 43:1379-1382.
- [5] Cseke L; Setzer W; Vogler B; Kirakosyan A; Kaufman P (2006) Traditional, analytical and preparative separation of natural products. Natural products from plants. CRC press/ Taylor and Francis. Boca Raton. Fla. USA. pp. 263-318.
- [6] Feinbrun-Dothan N (2006) Flora Palaestina- Part III. Jerusalem. The Israeli. Academy of Sciences and Humanities, p. 380.
- [7] Fogliani B; Raharivelomanana P; Bianchini JP; Bouraima-Madjébi S; Hnawia E (2005) *Photochemistry*, 66: 241-247.
- [8] Hoffman DL (1987) The herb user's guide welling borough. UK: Thomsons publishing group.
- [9] Kadi H; Moussaoui A; Benmahdi H; Lazouni HA; Benyahia A; Nahal BN (2011) *J. Appl. Pharm. Sci.*, 01(10):180-182.
- [10] Lawless J (1995) The illustrated encyclopedia of essential oils. Shaftesbury. UK. Element books Ltd.
- [11] Murray PR; Baron EJ; Pfaller MA; Tenover FC; Tenover RH (1999) Manual of clinical microbiology. ASM. Washington, 6: 51-59.
- [12] Nahal BN; Kadi H; Moghte S; Meddah B; Moussaoui A (2012) *Open Conf. Proc.*, J. 3: 66-69.
- [13] National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twelfth informational supplement. (2002) M100-S12 (M7). NCCLS. Wayne. Pa.
- [14] Omulokoli E; Khan B; Chhabra S (2007) *J. Ethnopharmacol*, 56: 133-137.
- [15] Rajkiran C; Urvija G; Take RK (2011) *J. Chem.*, 8(1): 85-90.

- [16] Sarkar M; Tanker M (1991) Phytochemical analysis of Ankara University in the spring of eczacikfaulte 10.67. Ankar. Turkey.
- [17] Shah C S; Qadry J S (1985) Text book of pharmacognosy. 5th ed. B. S. Shah, Prakashan, Pankore Naka, Ahmed abed, India, p.284.
- [18] Trease GE; Evans CW (1984) Pharmacognos. 12th ed. Balliere Tindall. London. UK. London.
- [19] Usman M; Abdul hakeem B; Syed Waseemuddin A; Iqubal A; Husam B, (2003) *J. Pharm. Sci*, 16(1):1-6.
- [20] Velickovic DT; Randjelovic NV; Ristic MS; Velickovic AS; Melcerovic AA (2003) *J. Serb. Chem. Soc*, 68(1):17-24.

المخلص: الهدف من عملنا هذا هو ابراز خواص النباتات الطبية، تكوينها الكيميائي، والأنشطة المضادة للميكروبات وللأكسدة لنبات الحنظل، الجوز المائل والغسال، و هي نباتات مستوطنة في منطقة بشار. أظهرت الدراسة أن 46.41% من السكان يستخدم نبات الحنظل كمخفض لنسبة السكر في الدم، و50% يستخدم نبات الجوز المائل كمنشط جنسي بينما يستخدم 72.2% نبات الغسال لعلاج ضربات الشمس. وأظهر الفحص الكيميائي النباتي وجود مركبات الفلافونويد، الالكالويدات، العفص والستيرول والتربين في أوراق الثلاثة نباتات وعدم وجود الستيرويدات في أوراق الجوز المائل هذا التنوع في المواد الكيميائية النباتية تؤكد في مردودية المستخلص المائي، المثانولي والفلافونيدات التي أعطت المردود 2.8%، 2.61%، و1.5% من الفلافونويد في أوراق الحنظل، الجوز مائل والغسال على التوالي. وتم تحديد النشاط البكتيري بواسطة تقنية القرص والاتصال المباشرة لسبع سلالات بكتيرية، وتقنية النمو الشعاعي والكتلة الحيوية لأربع سلالات فطرية، وسجل أفضل تركيز مثبت في القولونية مع تركيز 6مغ/مل من المستخلص المائي لجذور الحنظل وقد تم تثبيط السلالات الفطرية بنسبة 100% بكل المستخلصات النباتية بتركيزات مختلفة، حيث اظهر الاسبيرجيلوس اوكراسيوس حساسية عالية في تركيزات منخفضة من المستخلصات أو المركبات الفلافونويدية طريقة محاصرة الجذور الحرة باستخدام DPPH. تم تطبيقها لقياس النشاط المضاد للأكسدة. التراكيز الفعلية للأكسدة التي تثبط الجذور الحرة حيث تم تسجيل 5ميكروغ / مل للمركبات الفلافونويدية لأوراق الحنظل، ثم 7 ميكروغ / مل للجوز المائل و 8 ميكروغ / مل لأوراق الغسال. **الكلمات المفتاحية:** الحنظل، الجوز المائل، الغسال، النباتات الطبية، الفحص الكيميائي النباتي، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للأكسدة.

Abstract: Our work focuses on the ethnobotanical study and phytochemical, antimicrobial and antioxidant activities of *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium* and *Salsola vermiculata*, the endemic plants of Bechar area.

Ethnobotanical study showed that 46.41 % of the population use *Citrullus colocynthis* as hypoglycemic, 50 % use *Datura stramonium* as an aphrodisiac, and 72.2 % of *Salsola vermiculata* is used to treat sunburn.

The phytochemical screening showed the presence of flavonoids, alkaloids, tannins and sterols and terpenes in the leaves of the three plants and the lack of sterol and steroids in the leaves of *Datura stramonium*.

This wealth of phytochemicals is confirmed by the returns of aqueous extracts, méthanoliques extracts and flavonoids or they gave a yield of 2.8 %, 2.61 % and 1.5 % of flavonoids of leaves of *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium* and *Salsola vermiculata* respectively.

The antimicrobial activity was determined by the disk technique and direct contact with seven bacterial strains and the radial growth and biomass technic to four fungal strains, the best MICs were recorded in *Escherichia coli* with a concentration of 6mg / ml of the aqueous extract of the roots of *Citrullus colocynthis*

The tested fungal strains were inhibited 100% by all plant extracts at different concentrations, *Aspergillus ochraceus* presented a high sensitivity where he was inhibited at low concentrations of extracts or flavonoids. The tested fungal strains were inhibited at 100% by all plants at different concentrations, *Aspergillus ochraceus* presented a high sensitivity and it was inhibited at low concentrations of extract and flavonoids.

The method of capture free radicals using the DPPH. is applied to measure the antioxidant activity; actual concentrations of flavonoids which inhibit free radicals are 5µg / ml for *C.colocynthis* flavonoids leaves, 7 mg / ml for *D. stramonium* and 8µg / ml for *S.vermiculata* leaves.

Key words: *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium*, *Salsola vermiculata*, ethnobotanical, phytochemical screening, antimicrobial activity, antioxidant activity.

Résumé : L'objectif de notre travail porte sur l'étude ethnobotanique, la composition phytochimique, les activités antimicrobienne et antioxydante de *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium* et *Salsola vermiculata*, des plantes endémique de la région de Béchar.

L'étude ethnobotanique a prouvé que 46.41% de la population utilisent le *Citrullus colocynthis* comme hypoglycémiant, 50% utilisent *Datura stramonium* comme aphrodisiaque alors que *Salsola vermiculata* est utilisé à 72.2% pour traiter les coups de soleil.

Le criblage phytochimique a mis en évidence la présence des flavonoïdes, des alcaloïdes, des tanins, de stérols et des terpènes dans les feuilles des trois plantes et l'absence des stérols et stéroïdes dans les feuilles de *Datura stramonium*.

Cette richesse en substances phytochimiques est confirmé par les rendements des extraits aqueux, méthanolique et des flavonoïdes ou ils ont donné un rendement de 2.8%, 2.61% et 1.5 % des flavonoïdes pour les feuilles de *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium* et *Salsola vermiculata* respectivement.

L'activité antimicrobienne a été testée par la technique des disques et le contacte directe sur sept souches bactériennes et la technique de la croissance radiale et la biomasse pour quatre souches fongiques, les meilleurs CMI ont été enregistrés sur *Escherichia coli* avec une concentration de 6mg/ml de l'extrait aqueux des racines de *Citrullus colocynthis*.

Les souches fongiques testées ont été inhibées à 100% par tous les extraits des plantes à différentes concentrations, l'*Aspergillus ochraceus* a présenté une sensibilité importante ou il a été inhibé à des faibles concentrations des extraits ou des flavonoïdes.

La méthode du piégeage des radicaux libres à l'aide du DPPH est appliquée pour mesurer l'activité antioxydante ; les concentrations effectives en flavonoïdes qui inhibent les radicaux libres sont 5µg/ml pour les flavonoïdes des feuilles de *C.colocynthis*, puis 7 µg/ml de *D. stramonium* et 8µg/ml pour les feuilles de *S.vermiculata*.

Mots clés : *Citrullus colocynthis*, *Datura stramonium*, *Salsola vermiculata*, ethnobotanique, criblage phytochimique, activité antimicrobienne, activité antioxydante.