



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie

## MÉMOIRE DE MASTER MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie  
Filière : Biotechnologie  
Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des plantes  
Réf: ..... / 2020

---

Présenté et soutenu par :  
**Aya Aicha Habenda et Khaoula Merouani**

Le : mardi 29 septembre 2020

### **Thème**

# **Etude de quelques activités biologiques de trois plantes médicinales de la région Biskra**

---

Jury :

M.	Nasser Beloucif	MAA	Université de Biskra	Président
Mme	. Soulef Kriker	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
M.	Tarek Benmeddour	MCA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2019/2020

## Remerciements

*Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu qui nous a donné force et patience pour faire cet humble travail.*

*Nous adresse tout d'abord mes remerciements à l'ensemble du corps professoral de l'Université Mohamed Kfider à Biskra, notamment du Département des Sciences de la Nature et de la Vie, pour ces deux années de Master qui ont été riches en connaissances et en expériences.*

*Nous remercions sincèrement Mme KRIKER soulaf, la superviseure de ce travail, qui nous a soutenus et guidés dans notre travail et nous a aidés à avancer.*

*Nous remercions respectivement les techniciens de laboratoire à l'aide, laboratoire de L'institut nationale physiologie végétale (INPV), Biskra, laboratoire de bio systématique Centre de Recherche Scientifique et Techniques sur les Régions Arides (CRSTRA), Biskra.*

*et le temps qu'ils ont eu la gentillesse de nous consacrer. nous exprimons également notre gratitude à qui leurs innombrables efforts nous ont permis de mener à la fin de nos études grâce à ce travail.*

*Nous n'oublie pas mes collègues de la promotion 2019/2020 du Master 2 et mes amies.*

## Dédicace

*Dédiez le fruit de nos efforts*

*Au symbole du dévouement et de la dévotion,*

*chère mère*

*À la racine de la bienveillance, du sacrifice et de l'altruisme*

*Mon cher père*

*À l'exemple du don, de la fierté et du sacrifice*

*ma famille*

*Vers un endroit formidable avec une biographie parfumée*

*Ma chère grand-mère*

*À mon oncle Abu Bakr*

*À l'ingénieur Fadlaoui.H et Mme Karima celles qui m'ont*

*aidé et encouragé de près ou dans la réalisation de ce travail*

*À tous ceux qui m'aiment sincèrement et sincèrement mes amis*

*Sara et Chaima*

*À mes amies de la promotion de master À tous qui me connaissent de près*

*ou de loin*

*Aya Aicha*

# Table des matières

Remerciements.....	
Dédicace .....	
Liste des Tableaux.....	I
Liste des Figures .....	II
Liste des abréviations .....	III
Introduction.....	1
Première partie: Synthèse bibliographique.....	3
Chapitre 1: Généralités sur les plantes médicinales .....	3
1. Les plantes étudiées.....	3
La plante <i>Rubia tinctorum</i> L .....	3
1.1.2 Historique de <i>Rubia tinctorum</i> .....	3
Caractéristique de la plante de Garance.....	4
Classification botanique.....	4
Description botanique. ....	4
A. Les feuilles.....	4
B. Les fleurs .....	4
C. Le rhizome .....	4
Principaux constituants de plante .....	4
Usage traditionnelle de plante.....	4
<i>Pergularia tomentosa</i> L.....	5
Distribution géographique.....	5
Caractéristique de la plante .....	5
Classification botanique.....	5
1.2.2.2. Description botanique .....	6
Usage traditionnel.....	6
<i>Utrica dioica</i> L.....	7
Caractéristique de la plante <i>Utrica dioica</i> L.....	7
Classification botanique.....	7
Description botanique .....	7
Composition chimique .....	8
Usage traditionnel.....	8
Chapitre 2: les activités biologiques .....	9

---

Stress oxydant .....	9
Radicaux libres.....	9
Rôles des radicaux libres .....	9
Activité antioxydants.....	9
Principaux antioxydants.....	10
Les antioxydants endogènes.....	10
Les Antioxydants exogènes .....	10
A.Médicaments .....	10
B.Antioxydants naturels .....	10
-Les flavonoïdes .....	10
-Les tanins.....	10
-Les phénols.....	10
Deuxième partie: Etude expérimentale .....	11
Chapitre 3 : Matériel et Méthode.....	11
1. Matériel végétal.....	11
Lieux et dates de récolte des espèces étudiées.....	11
Séchage et conservation.....	11
2. Méthodes d'extraction.....	11
Préparation des extraits bruts .....	11
2.1.2. Détermination du rendement des extraits secs (Djabou et Nigra, 2006) .....	12
Dosage des quelque composants de plantes médicinales .....	12
Dosage des polyphénols totaux.....	12
a) Mode opératoire .....	12
Dosage des flavonoïdes .....	13
Dosage des tannins condensés.....	13
Evaluation de l'activité fongiques .....	13
Généralité sur les champignons.....	13
Les champignons études .....	14
a) <i>Alternaria alternata</i> .....	14
b) <i>Fusarium Oxysporum</i> .....	14
Préparation des milieux de cultures.....	14
Milieux PDA (Potato Dextrose Agar) .....	14
Etape d'isolement des souches fongiques.....	15
A. Désinfection et séchage .....	15
B.Ensemencement des fragments de tige des tomates malades .....	15

---

C.Ensemencement direct de fruit de tomates malades .....	16
D.Purification de la souche .....	16
Identification de l'agent phytopathogène.....	17
A-Caractères macroscopiques.....	17
B-Caractères microscopiques.....	17
Préparation des disques.....	18
a)Protocole expérimental.....	18
b) Expression des résultats.....	18
Evaluation in vitro de l'activité antioxydant .....	19
Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil) .....	19
A. Principe.....	19
B. Protocole expérimentale .....	19
C. Expression des résultats .....	19
Chapitre 4: Résultats et discussions .....	20
1.Résultats du test du pouvoir antioxydant.....	20
A) <i>Urtica dioica</i> .....	20
B) <i>Rubia tinctorum</i> .....	20
C) <i>Pergularia tomentosa</i> L.....	21
2.Résultats du test du pouvoir antifongique .....	21
A) <i>Urtica dioica</i> .....	21
B) <i>Rubia tinctorum</i> .....	22
C) <i>Pergularia tomentosa</i> L.....	22
Conclusion .....	23
Références.....	
Annexes .....	
Résumé: .....	

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1.</b> Lieu et date de récolte des espèces.....	11
<b>Tableau 2.</b> Les souches fongiques utilisées et leur provenance .....	14

---

## Liste des Figures

<b>Figure 1.</b> <i>Rubia tinctorum</i> (Kohler 1897) .....	3
<b>Figure 2.</b> <i>Pergularia tomentosa</i> (Tlili,2015).....	5
<b>Figure 3.</b> <i>Utrica dioica</i> (Lindman (1922.1926)) .....	7
<b>Figure 4.</b> étapes de préparation des extraits bruts .....	12
<b>Figure 5.</b> Désinfection et séchages des fragments de tiges.....	15
<b>Figure 6.</b> Ensemencement des fragments sur PDA .....	16
<b>Figure 7.</b> Ensemencement direct sur PDA.....	16
<b>Figure 8.</b> Aspect macroscopique d' <i>Alternaria alternata</i> .....	17
<b>Figure 9.</b> <i>Alternaria alternata</i> au microscopique (G× 40) .....	18

## Liste des abréviations

**OMS** : organisation mondiale de la santé

**ERO** : espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène

**AC** : Acétone

**Na<sub>2</sub> CO<sub>3</sub>** : carbonate de sodium

**NaNO<sub>2</sub>** : de nitrite de sodium

**AlCl<sub>3</sub>** : trichlorure d'aluminium

**NaOH** : hydroxyde de sodium

**HCl** : acide chlorhydrique

**PDA** :Potato Dextrose Agar

**DPPH** : radical libre (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil)

**IC<sub>50</sub>**:concentration inhibitrice médiane

# Introduction

---

# Introduction

A l'état naturel, la végétation recouvre la quasi- totalité de la zone émergée de planète. Grace à les rapports entre la plante et l'homme sont aussi vieux que l'humanité elle – même, les végétaux furent d'ailleurs la première colonisation globe (Gantet, Tandret et Verger, 1998).

Actuellement, la botanique bénéficie des progrès de la recherche fondamentale en écologie, physiologie, génétique, et biologie moléculaire. C'est une discipline largement tournée vers ces domaines appliqués sont l'agronomie, l'horticulture, la sylviculture et la pharmacie (Jean-Claude Roland, 2002).

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières et substances actives à l'intérieur de leurs organes bénéfiques pour la santé humaine. En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur (Dutertre, 2011).

Depuis des milliers d'années, l'homme utilisé les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt auprès du public, selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) , environ 65-80 % de la population mondiale à recours au médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (M A et al,1997)

D'après Hordé (2014), les plantes médicinales sont utilisées par l'homme depuis préside 7 000 ans et que certains animaux les consomment aussi dans un but thérapeutique. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées à l'échelle mondiale à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains.

L'évaluation des propriétés antioxydant et antifongiques demeure une tâche très intéressante et utile pour l'utilisation plus au moins fréquente dans les traditions locales médicinales et culinaires. Ces plantes représentent une nouvelle source des composés bioactifs. Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est de quantifier les composés phénoliques contenus dans les trois plantes médicinales *Rubia tinctorum* L. famille Rubiacées, *Urtica dioica* L. de la famille Urticaceae, et *Pergularia tomentosa* L. de la famille Asclépiadacées, et d'évaluer l'activité antioxydant et antifongique des extraits de ces plantes.

Ce manuscrit est divisé en deux parties: La partie bibliographique est structurée autour de deux chapitres, le premier chapitre porte sur les plantes médicinales incluant la description (les caractères botaniques et la systématique) des espèces végétales étudiées, et quelques utilisations en pharmacopée traditionnelle. Et le deuxième chapitre présente les métabolites secondaires et activité étudiée.

Une seconde partie sur l'étude expérimentale comprenant les méthodes et les techniques utilisées dans le chapitre trois puis la présentation des résultats et discussion dans le chapitre quatre. Enfin, une conclusion.

Première partie  
Synthèse bibliographique

# Chapitre 1 : Généralité sur les plantes médicinales.

## 1. Les plantes étudiées

### La plante *Rubia tinctorum* L.

La garance (*Rubia tinctorum*) est une plante grimpante vivace par ses rhizomes, à tiges couchées ou grimpantes mesurant jusqu'à 1,5 m de long et munies sur les angles d'aiguillons crochus.



**Figure 1.** *Rubia tinctorum* (Kohler 1897).

#### 1.1.2 Historique de *Rubia tinctorum*.

La garance est l'une des plantes tinctoriales dont les utilisations comptent parmi les plus anciennes que ce soit sur des étoffes de coton retrouvées à Mohenjo-Daro, en Inde (3250 à 2750 av. J.-C.), ou sur du lin dans des tombes de la vallée du Nil (1350 av. J.-C.). On la retrouva également mentionnée dans les premiers écrits sumériens ainsi que dans la Bible. Sa culture était très répandue en Syrie ainsi qu'en Mésopotamie mais les deux principales régions exportatrices étaient l'Arménie et l'Asie centrale. Jusqu'au début du XVIII<sup>ème</sup> siècle, l'Inde détient la suprématie dans le domaine de la teinture sur coton. En Europe, c'est la Hollande qui a détenu le monopole de la culture de la garance durant de nombreuses décennies.

La culture de la garance, qui présentait un grand intérêt économique, avait été encouragée sous le règne de Louis XIV. Un édit exonérait de l'impôt toute personne qui la cultiverait dans les anciens marais asséchés. Malheureusement, toutes les tentatives de culture de la plante tinctoriale restaient vaines et à la fin du XVII<sup>ème</sup> siècle plus aucune garancière

N'était présente en France. La Hollande gardait donc le monopole de cette culture. (Cardon, 2003).

## Caractéristique de la plante de Garance.

### Classification botanique.

- **Règne :** Plantae
- **Classe :** Dicotylédones
- **Sous classe :** Astéridés
- **Ordre :** Rubiales
- **Famille :** Rubiacées
- **Genre :** *Rubia*
- **Espèce :** *Rubia tinctorum* linné

### Description botanique.

**A. Les feuilles.** sont assez grandes, lancéolées, annuelles, minces, caduques, à bords minces, avec un réseau de nervures secondaires très saillant en dessous. Apparemment verticillées, munies sur les bords et sur la nervure principale de petits aiguillons qui permettent à la plante de se soutenir en s'appuyant sur les autres plantes (mais aussi de s'accrocher aux vêtements, ce qui permet de la reconnaître.

**B. Les fleurs.** sont jaune-vif en cymes axillaires et terminales. Elles s'épanouissent en début d'été (juin-juillet) et portent 4 à 5 pétales soudées à leur base. La corolle est à lobes ovales-lancéolés, non aristés. Les anthères sont linéaires-oblongues et les stigmates ovales en massue. Le fruit est charnu, c'est une baie de la taille d'un pois, noir à maturité.

**C. Le rhizome.** peut atteindre 80 cm de long et les racines sont rampantes et contiennent une matière colorante rouge : l'alizarine, les anthraquinones à effet laxatif et la purpurine.

### Principaux constituants de plante.

La richesse de *Rubia tinctorum*, parties aérienne et souterraine, en dérivés anthracéniques qu'ioniques essentiellement des anthraquinones.

### Usage traditionnelle de plante.

*Rubia tinctorum* est une plante utilisée depuis des milliers d'années. Ses usages sont donc très divers et varient selon les régions et les peuples qui les utilisent.

A celles-ci s'ajoutent des actions diverses telles, celles citées par Pierre Joseph Garidel<sup>2</sup>: la garance "comme débouchant les obstructions du foie, de la rate et de la matrice".

***Pergularia tomentosa* L.**

*Pergularia* vient du latin "*Pergula*" qui signifie « vigne » en raison de la capacité de la plante à s'accrocher. *Tomentosa* signifie poilu: la plante est couverte de petits poils qui lui donnent sa couleur verdâtre. *Pergularia tomentosa*L. Cette espèce est également connue sous une dénomination synonyme: *Daemia cordata*. Et possède de nombreux noms folkloriques:

En Algérie *Pergularia tomentosa* L. est connue sous le nom de Tellakh (Maiza et al, 1993), en Egypte et en Arabie Saoudite elle est connue sous le nom Ghalaka (Al-Said et al, 1988.), et Ghoulga, Demya, leben el Hamir et Kalga (Chehma, 2006).



**Figure 2.** *Pergularia tomentosa* (Tlili,2015)

**Distribution géographique.**

*Pergularia tomentosa* est largement réparti dans le désert du Sahara jusqu'aux déserts du sud et de l'est de l'Iran, à l'Afghanistan et au Pakistan, en passant par la Corne de l'Afrique, le Sinaï (Egypte), la Jordanie et la péninsule Arabique. *Pergularia tomentosa* est une plante vivace des pays secs. Elle pousse sur les sols généralement sableux et couvre de vastes régions allant du sud Algérien jusqu'en Afrique du Nord (Schmelzer et Gurib-Fakim, 2013).

**Caractéristique de la plante.****Classification botanique.**

- Embranchement:** Spermaphytes.
- Sous Embranchement:** Angiospermes.
- Classe:** Dicotylédones.

-**Sous classe:** Rosidae.

-**Ordre:** Gentianales.

-**Famille:** Asclépiadacées.

-**Genre:** *Pergularia*.

-**Espèce:** *Pergularia tomentosa* L. (Bouhamdi, 2012).

#### 1.2.2.2. Description botanique.

*Pergularia tomentosa* L. est une plante herbacée ou semi-ligneuse, à tige grimpante ou volubile. Les feuilles sont simples, pétiolées, ovales, orbiculaires, cordées à la base et apicules. Elles sont tomenteuses sur les deux faces au stade jeune et glabres au stade adulte. Elles mesurent environ 5 cm de diamètre mais souvent plus petites. Les fleurs sont souvent blanc pourpre et odoriférantes avec une corolle tubulaire blanche ou pourpre qui mesure 8 mm de long. Les fruits, qui sont des follicules groupés par paire, sont fusiformes, divergents et couverts de rugosités. Ils sont pubescents et crochus à leur sommet. Ils mesurent 7 cm de long et s'ouvrent par une fente longitudinale par où s'échappent les graines. (AMANI et BARMO, 2010).

#### Usage traditionnel.

Cette plante est utilisée pour le tannage, écrasée et étalée sur la peau. Elle fait tomber les poils rapidement. A cet effet on pile la plante et on étend la pâte ainsi obtenue sur lapeau: après quelques heures de contact un simple grattage fait tomber très facilement les poils.

Plante également utilisée contre les morsures de serpent.

La plante est aussi utilisée contre les bronchites et les hémoptysies et la tuberculose, à cet effet on récolte la racine et on la conserve fraîche à l'abri de l'air.

A l'état sec elle est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les douleurs dentaires et la fatigue générale.(Bouhamdi, 2012)

***Urtica dioica* L.**

La Grande ortie est une plante herbacée, vivace mesurant de 0,6 à 1,2 m de haut (Draghi, 2005).



**Figure 3.** *Urtica dioica* (Lindman (1922.1926)).

**Caractéristique de la plante *Urtica dioica* L.****Classification botanique.**

- Règne** : Plantae
- Classe** : Eudicots
- Sous classe** : Rosidées
- Super ordre** : Eurosidées
- Ordre** : Rosales
- Famille** : Urticaceae
- Genre** : *Urtica*

-**Espèce** : *Urtica dioica* L. (Spichiger et al. 2002; Botineau 2010; Langlade 2010; Lerbet 2011; Mor 2014).

**Description botanique.**

(Testai, et al., 2002) Les tiges robustes sont dressées (peuvent atteindre jusqu'à 1,5m de hauteur) et portent des feuilles opposées, ovoïdes et acuminées, recouvertes de poils urticants et hérissés. La face inférieure des feuilles présente des nervures très proéminentes. Le bord de

la feuille est pourvu de dents aigues. Les poils urticants sont la principale caractéristique des Urticaceae.

Ils sont riches en substances urticantes (acétylcholine, sérotonine, histamine, acide formique, formiate de sodium et leucotriène) responsables de leur pouvoir urticant. (Testai *et al*, 2002 ; Kavalali *et al*, 2003).

La fleur dépourvue de pétales comprend quatre sépales, quatre étamines ou un pistil presque réduit à l'ovaire ovoïde et surmonté d'un stigmate en pinceau. Le fruit est un akène (Ghedira *et al*, 2009). Les racines de la Grande ortie sont des rhizomes-tiges souterraines-jaunâtres, traçants et abondamment ramifiés. Elles fixent l'azote de l'air grâce à l'action des micro-organismes *Rhizobium frankia* (Langlade, 2010 ; Delahaye, 2015).

### **Composition chimique.**

D'après les résultats de l'analyse photochimiques effectuée par Manga Safanah *et al*. (2014), les feuilles d'*U.dioica* L. du Congo sont riches en alcaloïdes, flavonoïdes, polyphénols, saponines, trapézoïdes et anthocyanes. D'autres études menées par Guil-Guerrero *et al*. (2003), ont montrées une richesse des feuilles en acide aminé essentiel et en acide ascorbique.

### **Usage traditionnel.**

Les propriétés médicinales de l'Ortie sont nombreuses et connues, et sont vantées depuis l'Antiquité. La plupart des indications de cette médecine empirique sont aujourd'hui vérifiées et trouvent des explications scientifiques. Dioscoride (1ER siècle), qui en distinguait deux espèces, considérait les graines comme aphrodisiaques et expectorantes, et les feuilles comme diurétiques, laxatives, emménagogues. Une décoction d'ortie et de raisins secs dans du vin donnait, selon lui, d'excellents résultats. Mélangées dans du miel, les mêmes graines sont pectorales. Il conseillait aussi les cataplasmes de feuilles écrasées contre les « morsures rabiques », les plaies gangréneuses, les ulcères, les suppurations, l'aménorrhée. Il utilisait déjà son suc contre les saignements de nez.

# Chapitre 2: Les activités biologiques

**Stress oxydant.**

L'organisme doit confronter et contrôler la présence des antioxydants et des pro-oxydants continuellement, ces derniers sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Le stress oxydant est le terme se rapportant au déséquilibre entre la génération des oxydants et l'activité des défenses anti-oxydantes, qui pourrait mener aux dommages oxydants. C'est une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des espèces radicalaire toxiques (Ríos-Arrabal *et al.* 2013).

**Radicaux libres.**

Un radical libre (RL) est une espèce chimique possédant, sur sa couche externe, un ou plusieurs électrons célibataires, cet électron lui confère une certaine instabilité et haute réactivité (demi-vie courte) (Ortiz *et al.*, 2013). Les espèces radicalaires vont tenter de rattraper leurs électrons célibataires en agressant toute molécule susceptible de se faire arracher un électron (Afanas'ev, 2009). A des concentrations physiologiques, les RLs jouent des rôles dans la signalisation, la migration et la différenciation cellulaire (Ziech *et al.*, 2010), mais à des concentrations plus élevées, ils induisent la mort cellulaire et l'apoptose (Salido et Rosado, 2009).

**Rôles des radicaux libres.**

Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apposition des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, à la production énergétique, au règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire (Ardestani et Yazdanparast, 2007).

**Activité antioxydants.**

Les antioxydants sont des substances qui inhibent ou ralentissent l'oxydation d'un substrat. Ils sont présents sous de nombreuses formes et peuvent intervenir en prévention de la formation des radicaux libres, aussi bien que pour participer à leur élimination (antioxydants primaires et secondaires) (GUILLOUTY, 2016).

Il existe deux classes d'antioxydants : les endogènes et les exogènes. Les antioxydants endogènes sont principalement les enzymes super oxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase dont les mécanismes sont développés plus haut. La deuxième partie permet

d'appréhender les antioxydants exogènes qui sont, par définition, apportés de l'extérieur par exemple par l'alimentation (GUILLOUTY, 2016).

### **Principaux antioxydants.**

#### **Les antioxydants endogènes.**

La production physiologique d'ERO, est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes (hème oxygénase, peroxyrédoxine..), de molécules antioxydants de petite taille (glutathion, acide urique, bilirubine, ubiquinone,..) et de protéines (transferrine, ferritine...) Enfin, un système secondaire de défense composé de phospholipases, d'ADN endonucléases, de ligases et de macroxyprotéinases empêche l'accumulation dans la cellule de lipides, d'ADN et de protéines oxydés et participe à l'élimination de leurs fragments toxiques (Pince mail, 2002).

#### **Les Antioxydants exogènes.**

Toutes ces défenses peuvent être renforcées par des apports exogènes en :

#### **A.Médicaments.**

Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antihyperlipoprotéïnémiques, les bêtabloquants et autres antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes.

#### **B.Antioxydants naturels.**

##### **-Les flavonoïdes.**

Les relations structurent-activités anti-oxydantes des flavonoïdes et des composés phénoliques ont montré que l'activité anti-oxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation.

##### **-Les tanins.**

Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation.

##### **-Les phénols.**

Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés Antivirales.

Deuxième partie  
Etude expérimentale

# Chapitre 3: Matériel et méthode.

Le présent travail a pour objectif la valorisation de l'espèce (*Rubia tinctorum* L., *Utrica dioica* L., et *Pergularia tomentosa* L.) qui pousse à l'état spontané dans les régions steppiques algériennes. Les expérimentations ont été réalisées comme suit :

-L'extraction des plantes a été effectuée au niveau du laboratoire de département biologie , Biskra.

## 1. Matériel végétal.

### Lieux et dates de récolte des espèces étudiées.

Le tableau ci-dessous présente le lieu et la date de récolte des trois espèces (*Rubia tinctorum* L., *Utrica dioica* L. et *Pergularia tomentosa* L.).

**Tableau 1.** Lieu et date de récolte des espèces.

Espèce	Région	Commune	Date de récolte
<i>Rubia tinctorum</i> L.	Biskra	Fowa	09/03/2020
<i>Utrica dioica</i> L.	Biskra	Horayga	06/03/2020
<i>Pergularia tomentosa</i> L.	Biskra	Ghalaka	20/02/2020

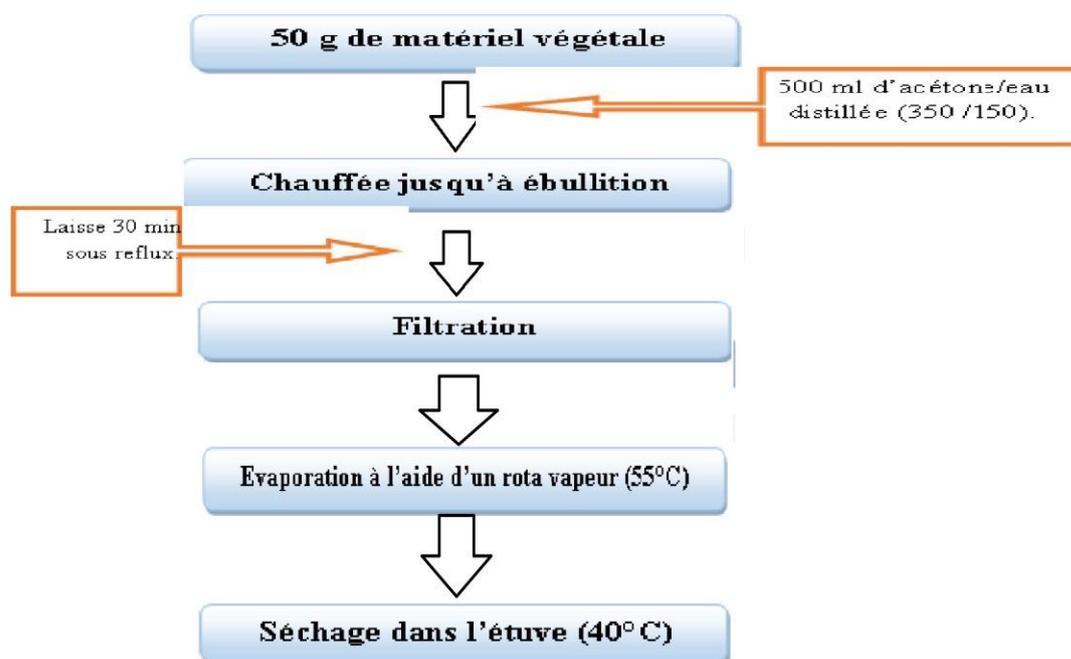
### Séchage et conservation.

Les plantes fraîchement récoltées, ont été mises à sécher, dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la lumière pour éviter toute réaction d'oxydation pouvant détériorer les principes actifs de la plante. Après séchage, nous avons séparé les feuilles et les fleurs récupérées dans des sacs propres en papier kraft à raison de 100g pour chaque répétition.

## 2. Méthodes d'extraction.

### Préparation des extraits bruts.

50g de chaque plante broyée, additionné au 500 ml d'acétone/eau distillée (350 /150). Portés à l'ébullition .on laisse 30 min sous reflux .Et on filtre puis on renouvelle l'opération deux fois. Après filtration les extraits organiques subissent une évaporation (55°C) à l'aide d'un rota-vapeur (Heidolph) pour éliminer l'acétone, puis séché dans l'étuve (40°C). L'extrait est gardée dans le réfrigérateur à une température de 4°C jusqu'à l'analyse. (Himour, 2016)



**Figure 4.**étapes de préparation des extraits bruts.

### 2.1.2. Détermination du rendement des extraits secs (Djabou et Nigra, 2006).

Le rendement est déterminé par le rapport du poids de l'extrait sec après évaporation sur le poids de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction, multiplié par 100.

$$\text{Rd \%} = (m1 \times 100) / m0$$

Où

:**m1** : masse en gramme de l'extrait sec.

**m0** : masse en gramme de la matière végétale sèche.

**Rd%** : Rendement.

**Dosage des quelque composants de plantes médicinales.**

**Dosage des polyphénols totaux.**

#### a) Mode opératoire.

La concentration des composés phénolique totaux a été déterminée par réactif de Folin-Ciocalteu décrit en 1965 par Singleton et Rossi. Une quantité de 200 µl des extraits de chaque plante est mélangé avec 1ml du réactif de Folin–Ciocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué). Le milieu est agité à l'aide d'un vortex, puis nous avons ajouté 0,8ml de carbonate de sodium

à 7,5% ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 30 minutes et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm.

En se référant à une courbe d'étalonnage préparée avec l'acide gallique.

#### **Dosage des flavonoïdes.**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode colorimétrique adaptée par Zhishen et al. (1999). Une quantité de 500  $\mu\text{l}$  de l'extrait méthanolique ou aqueux dilués est ajoutée à 1500  $\mu\text{l}$  de l'eau distillée. Au temps zéro, 150  $\mu\text{l}$  de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) à 5 % est ajouté au mélange. Après 5 min, 150  $\mu\text{l}$  de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 10 % (m/v) est rajouté. Après l'incubation de 6 min à la température ambiante, 500  $\mu\text{l}$  d'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ) (1 M) est additionné. Immédiatement, le mélange est complètement agité. L'absorbance de la solution de couleur rosâtre est mesurée à 510 nm contre le blanc. En se référant à une courbe étalonnage.

#### **Dosage des tannins condensés.**

Les quantités des tannins condensés sont estimées en utilisant la méthode à vanilline en milieu acide (Julkunen-Titto, 1985). Un volume de 50  $\mu\text{l}$  de l'extrait méthanolique ou aqueux est ajouté à 1500  $\mu\text{l}$  de la solution vanilline/méthanol (4 %, m/v) et puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750  $\mu\text{l}$  de l'acide chlorhydrique concentré ( $\text{HCl}$ ) est additionné et laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min. L'absorbance de la solution est mesurée à 550 nm contre un blanc. En se référant à une courbe étalonnage préparée avec l'acide Tanique.

#### **Evaluation de l'activité fongiques.**

Toutes les étapes de cette partie ont été effectuées au niveau de laboratoire de de L'institut nationale physiologie végétale (INPV).

#### **Généralité sur les champignons.**

Les champignons phytopathogènes sont des organismes eucaryotes hétérotrophes généralement plus complexes que les bactéries (Lot et Maisonneuve, 2003). Il constitue un groupe autonome au sein du monde vivant, il est uni- ou pluricellulaire, dépourvu de chlorophylle, ce qui le distingue nettement du règne végétal. Sa structure est constituée d'un thalle unicellulaire ou pluricellulaire (mycélium) comme la plupart des micromycètes (appelés parfois moisissures) ou des macro- mycètes. C'est le thalle ou filament mycélien qui assure l'alimentation, celle-ci se fait par absorption et non par phagocytose comme les composants du règne animal ou par photosynthèse comme chez les végétaux. (Chabasse, 2001).

## Les champignons études

### a) *Alternaria alternata*

Les *Alternarias* sont des champignons fréquente dans notre l'environnement. Ils appartiennent aux moisissures atmosphériques. Il comprend près 275 espèces. Si certaines espèces vivent à l'état saprophyte et phytopathogènes qui peuvent affecter les cultures sur champ et l'homme, d'autres sont responsables de maladies atteignant les plantes et les insectes. Elle appartient à la classe des Deutéromycètes et à la famille des Pléosporacées. (Dutron, 2012).

### b) *Fusarium Oxysporum*

Le genre *Fusarium* comporte une 40 d'espèces dont certaines sont connues pour engendrer des pathologies. Dans le complexe d'espèces *F. oxysporum*, les noms attribués aux différentes formes spéciales sont directement dérivés de l'hôte sur lequel le champignon a été isolé. *F. sambucinum* est un pathogène reconnu des solanacées. Lynch *et al* (2003), la plupart vivent dans le sol ; ils parasitent de nombreuses variétés de plantes, en particulier des céréales. Certaines espèces sont productrices de toxines potentiellement pathogènes pour l'homme et les animaux (Hennequin et Lavarde, 2006).

**Tableau 2.** Les souches fongiques utilisées et leur provenance.

Souche	Isolé à partir de	Lieu	Date
<i>Alternaria alternata</i>	Fruit de Tomate	Legrouis	2020
<i>Fusarium Oxysporum</i>	Tige de Tomate	INPV	2020

## Préparation des milieux de cultures

### Milieux PDA (Potato Dextrose Agar)

Le milieu utilisé pour l'incubation, l'entretien et la réalisation de l'antifongigramme pour les moisissures est le PDA (Potato Dextrose Agar).

- Peser 200 g de pommes de terre lavées coupées en tranches fines.
- Faire cuire dans 1L d'eau distillée pendant 1h.
- Filtrer sur plusieurs couches d'étamine.

- Ajouter 20 g d'agar agar et 20 g de glucose et compléter à 1L si nécessaire.
- Placer le milieu sous agitation magnétique avec chauffage pendant 30 minutes.
- Ajuste le pH à 5,5.
- Autoclave 121°C /15 minutes.

### Etape d'isolement des souches fongiques

Pour cet isolement, nous avons utilisé technique directe.

#### A. Désinfection et séchage

- Découpés les tiges de tomates en petites fragments.
- Désinfectés à l'Hypochlorite de Sodium (eau de javel) (2%) pendant 3 minutes (pour d'éliminera flore saprophyte).
- Les fragments sont ensuite rincés deux fois à l'eau distillée.
- Sèches sur un papier filtre stérile à côté de Bec bunsen (Figure2).



**Figure 5.**Désinfection et séchages des fragments de tiges.

#### B.Ensemencement des fragments de tige des tomates malades

- les fragments obtenus de la tige malade, sont ensemencés aseptiquement dans le milieu gélosé PDA placés en boite Pétri, à raison de 5 fragements par boite (figure3).
- les boites sont ensuite fermées hermétiquement à l'aide d'un parafilum.
- l'incubation dans l'étuve à une température de 28°C, pendant 7jours, afin de favoriser la croissance de champignon.



**Figure 6.**Ensemencement des fragments sur PDA.

### C.Ensemencement direct de fruit de tomates malades

- Les fruits malades, sont ensemencés directement aseptiquement dans le milieu gélosé PDA placés en boîte Pétri.
- les boîtes sont ensuite fermées hermétiquement à l'aide d'un parafilum.
- l'incubation dans l'étuve à une température de 28°C, pendant 7jours, afin de favoriser la croissance de champignon.



**Figure 7.**Ensemencement direct sur PDA.

### D.Purification de la souche

La purification a pour but de faciliter l'identification. En fait, les colonies développées autour des fragments du végétal ne sont jamais pures et dans la plupart des cas sont associées à d'autres champignons ou bactéries, ce qui nécessite une opération de purification avant toute manipulation. Pour cela, nous avons réalisé des repiquages successifs de manière aseptique à l'aide d'une acné de platine. Des explants de culture ne présentant aucune contamination sont choisis dans la zone périphérique de croissance des colonies et redéposés soigneusement dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA.

### Identification de l'agent phytopathogène.

L'identification des champignons fait essentiellement appel aux critères morphologiques.

#### A-Caractères macroscopiques.

- L'observation des colonies se fait à l'œil nu. Elle permet de noter:
- Les caractères culturels morphologiques.
- la pigmentation et la forme des colonies (poudreuse, duveteuse, cotonneuse .....)



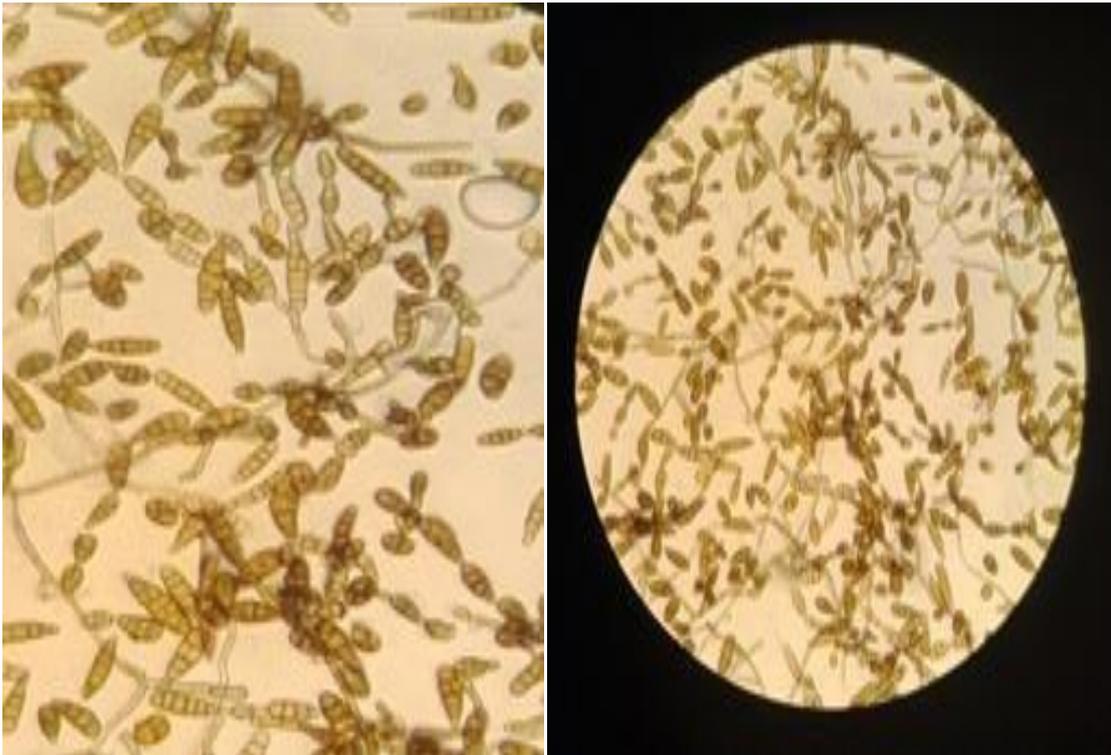
**Figure 8.**Aspect macroscopique d'*Alternaria alternata*..

#### B-Caractères microscopiques.

L'observation se fait par la technique du ruban adhésif (scotch). Un morceau de ruban adhésif est appliqué sur la surface de la culture à étudier, il est ensuite déposé sur une lame et observé au grossissement ( $G \times 40$ ).

L'aspect microscopique est basé sur :

- La taille, la morphologie, la coloration et la segmentation des spores.
- La forme du mycélium, la présence ou l'absence de cloisons ainsi que le mode de ramification.
- La taille, la morphologie, la coloration et la segmentation des spores, présence ou absence des sclérotés (Botton et al. 1990).



**Figure 9.** *Alternaria alternata* au microscopique (G× 40).

### **Préparation des disques**

Les disques sont préparés à partir du papier Wattman № 3 à l'aide d'un perforateur de papier, avec un diamètre de 6 mm, ces disques sont mis dans un tube à essai, puis autoclaves à 121°C pendant 15 minutes.

#### **a) Protocole expérimental**

Pour l'étude de l'activité antifongique des extraits en vers les moisissures, on a opté pour la méthode de confrontation directe (Bouaoud et al, (2017). Cette méthode consiste à placer au centre d'une boîte de Pétri contenant la gélose PDA un disque mycélien (6 mm de diamètre) du champignon cible obtenu d'une culture de 4 jours de chaque champignon, Sur la même boîte, 4 disques imprégnés des extraits (20µL) à étudier sont prélevés et chacun est placé à une distance de 2,5 cm du disque de pathogène. Une boîte contenant le pathogène seul est préparée, elle est utilisée comme témoin et incubée en même temps avec les autres boîtes.

#### **b) Expression des résultats**

Pour évaluer l'activité antifongique des extraits le pourcentage d'inhibition mycélien a été calculé selon la formule de (Whipps ,1987) :

$$\text{PGI}\% = ((R1 - R2)/R1) \times 100$$

- **PGI (%)**: pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne.
- **R1**: Rayon de la croissance mycélienne du champignon en absence des extraits (témoin). La distance est calculée entre le centre du disque de pathogène et le front du mycélium.
- **R2**: Rayon de la croissance mycélienne du pathogène en présence des extraits (distance calculée entre le centre du disque du champignon et le front du mycélium sur la ligne entre le disque du pathogène et celui de l'extrait).

### Evaluation in vitro de l'activité antioxydant

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydants in vitro de nos extraits a été réalisée par trois techniques chimiques à savoir : la réduction du fer, le piégeage du radical libre DPPH.

#### Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)

##### A. Principe

Le test DPPH mesure l'activité donneuse d'un atome d'hydrogène (ou d'un électron) et fournit donc une mesure de l'activité antioxydant de piégeage des radicaux libres. DPPH est un radical libre stable de couleur pourpre; il devient réduit à la couleur jaune.

##### B. Protocole expérimental

50 µl de différentes dilutions de chaque extrait ou étalon ont été mélangés avec 1250 µl d'une solution méthanolique à 0,004% de DPPH. Après une période d'incubation de 30 minutes à l'obscurité à température ambiante, l'absorbance des échantillons a été lue à 517 nm. Acide ascorbique. Ont été utilisés comme normes. Une absorbance plus faible du mélange réactionnel indiquait une plus grande activité de piégeage des radicaux libres. (Brand et al, 1995).

##### C. Expression des résultats

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Abs\ c - Abs\ e) / Abs\ c] \times 100$$

**Abs c** : Absorbance du contrôle

**Abs e** : Absorbance de l'échantillon testé.

# **Chapitre 4: Résultats et discussions**

## 1. Résultats du test du pouvoir antioxydant

### A) *Urtica dioica* L.

Le résultat de Maneesha et Bhawna (2019) déduiraient La teneur totale en phénol de l'échantillon d'*Urtica dioica* varie de  $0,44 \pm 0,03$  à  $0,64 \pm 0,015$ , la teneur en flavonoïdes varient de  $0,83 \pm 0,23$  à  $0,68 \pm 0,009$ , la concentration d'antioxydant des extraits éthanoliques de différents échantillons de plante varie entre 227,191 et 389,066  $\mu\text{g/ml}$ , grâce a Les composés phénoliques sont une classe d'agents antioxydants qui agissent comme des terminateurs de radicaux libres; aussi Zoran Z. Kukrić *et.al*( 2012) sont confirmés que l'extrait d'éthanol de feuilles d'ortie avait une activité antioxydant nettement plus élevée ( $31,38 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) que certains des extraits de méthanol allant de  $1,45 \text{ mg ml}^{-1}$ , et  $105,16 \mu\text{g ml}^{-1}$ , à  $175 \mu\text{g ml}^{-1}$  ; avec une teneur totale en phénols de l'extrait de feuilles à l'éthanol est élevée ( $208,37 \text{ mg EAG/gDW}$ ), et la teneur totale en flavonoïdes et en flavonols ( $20,29$  et  $22,83 \text{ mg QE/gDW}$ , respectivement) puisque les phénols sont une partie importante du métabolisme des antioxydants ; alors que Aytaç et Halil (2012) concluait une activité à différentes parties d'extraits hydro-alcoolique à ( $250 \mu\text{g/mL}$ )  $60.5$ ,  $54.2$ ,  $48.7$  et  $46.2\%$ , respectivement ; tel que Gulcin I *et.al*(2004), à  $50$ ,  $100$  et  $250 \mu\text{g/ml}$  de l'extrait aqueux ont montrés une inhibition de  $39$ ,  $66$  et  $98\%$  respectivement sur la peroxydation de l'émulsion d'acide linoléique, en raison d'une relation très positive entre les phénols totaux et l'activité antioxydant a été trouvée dans de nombreuses espèces végétales.

### B) *Rubia tinctorum*

*Rubia tinctorum* ont été trouvés, Ismahen *et.al* (2017) sont inscrits que les teneurs totales en phénol et en flavonoïdes d'environ  $38,84 \pm 0,6 \text{ mg EGA.g}^{-1}$  et  $13,41 \pm 0,34 \text{ mg QE.g}^{-1}$ , respectivement pour l'extrait non hydrolysé ; et à l'extrait hydrolysé était le double de celle de l'extrait de non hydrolysé, tandis que les pigments lacustres de garance sont un bon exemple d'un tel système de colorants organiques qui a le potentiel pour l'activité anti/pro oxydante à la concentration de  $0,8 \text{ mg/ml}$ , l'inhibition a atteint  $82$  et  $93 \%$  respectivement pour les extraits non hydrolysés et hydrolysés ; aussi Woo Nam *et.al*(2017) attendraient La pigment Purpurin de garance a montré un taux d'inhibition élevé de  $92,5\%$  à la concentration de  $250 \mu\text{M}$ , à grâce de leurs propriétés antioxydants sont le résultat de sa capacité à détruire les radicaux libres ; aussi que Ramamoorthy *et. Al* (2011) ont montrés à  $250,500 \mu\text{g}$  zone d'inhibition  $100(\text{mm})$ .

### C) *Pergularia tomentosa* L.

*Pergularia tomentosa* L.d'après Al-Mekhlafi et Masoud(2017) ont découvert l'activité antioxydant la plus puissante dans les extraits de feuilles et de fruits de *P. tomentosa* L. ; et ont montré à méthanol et l'extrait aqueux chaud une inhibition 10,5% à 50 µg / ml et 4,8% à 50 µg / ml, respectivement, par rapport à la référence standard (acide ascorbique) (99,1% à la même concentration) à grâce a la richesse de plante des composés phénolique. Alor que Lahmar *et.al*(2017) ont trouvé l'extrait des feuilles la plus puissante ; et une diminution de la puissance des extraits méthanoliques de 10 à 80 g / ml tel que les composés phénoliques très élevé ; aussi que Suliman, Yasser ( 2017) sont inscrits que différents extraits d'acétate d'éthyle une inhibition à 50,48% ; cela est dû à la teneur élevée en alcaloïdes, anthraquinones, flavonoïdes et tanins ;tel que Abu-Rayyan *et.al* (2018) ont atteindraient dans l'extraits de plante à 0,10 à 2,0 mg / ml une inhibition 50% ; D'après Tlili *et.al* (2018) concluent 50% d'inhibition, alors que l'extrait butanolique à concentration 3,84 mg /ml est le plus actif suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle à concentration 5,74 mg /ml à grâce la présence de composés phénoliques.

## 2. Résultats du test du pouvoir antifongique

### A) *Urtica dioica*

Hadizadeh, ,Peivastegan et Kolahi(2009) sont montrés dans le cas de *A. alternata* une inhibition complète avec concentration de 0,9% d'extraits éthanoliques d'ortie et a une grande réduction de la croissance du mycélium à 0.3, 0.5 et 0.7 % avec un pourcentage de réduction de 30.5, 39. 4 et 58.1 %, respectivement ; malgré que *F. oxysporum* à coté de *A. alternata* a montré une inhibition complète de 0.9% mais a faible pourcentage de réduction de 29.1, 40.7, 47.7% respectivement; pendant que Hadizadeh, Peivastegan et zarghani(2009) sont inscrits l'Huile d'ortie à 1500 ppm un inhibition complète de croissance radicale de *A. alternate* et 93% d'inhibition de germination des spores, apparemment L'activité antifongique semble être liée à la substance chimique composition des huiles essentielles ;ces composants et extraits d'huiles essentielles agirait sur les hyphes du mycélium, provoquant la sortie de composants du cytoplasme, la perte de rigidité et d'intégrité de la paroi cellulaire des hyphes, entraînant son effondrement et la mort du mycélium. ; Alors que Feliziani *et.al*(2013) ont montrés à 0,2 % à matière sèche d'ortie, le développement de *Monilia laxa*, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* et *A. alternata* est réduit de 66 % à 85 % selon l'espèce.

**B) *Rubia tinctorum***

On ont attient ces résultats à *Rubia tinctorum* Manojlovic *et.al*(2004) ont montrés un pourcentage d'inhibition 18% dans le cas de *A. alternata* d'extrait éthanolique de plante; et à le cas de *F.oxysporum* ,Kalyoncu *et.al*( 2006) concluent à la concentration de 100 µg/ml d'éthanol et de méthanol extraits de racines et de tiges inhibées les champignons filamenteux et les actinomycètes se développent complètement, en raison que l'effet des extraits de plante sur les micro-organismes utilisés devraient varier en fonction les propriétés antimicrobiennes des matériaux contenus dans ces extraits. ; alors que KAI KANG *et.al*(2010) ont atteindraient la purpurine présentait une puissante activité antifongique contre les espèces de *Candida* antre 1.28 et 5.12 MIC (µg/ml) et il y a eu une inhibition de 80% de la croissance visible, comme l'indiquent les valeurs d'absorbance ; aussi Scorzoni *et.al*(2007) sont inscrits à *candida albicans* 66.6 et 50 % respectivement dans l'extrait brut et la fraction de l'extrait à partir de 250 µg / mL ; le pouvoir antifongique affecté par la volatilisation de substances antimicrobiennes, taille du disque, quantité de composé ajoutée au disque, adsorption par le disque, type de gélose, force de la gélose, pH, volume de la gélose et souches microbiennes utilisées.

**C) *Pergularia tomentosa* L.**

le pouvoir antifongique de *P. tomentosa* L. d'après Al-Mekhlafi et Masoud (2017) indique que l'extrait d'acétate d'éthyle de fruits de *Pergularia tomentosa* L à était efficace contre *Fusarium oxysporum*.F avec une inhibition de 75% à 2 mg/ml ; aussi que Lahmar *et.al* (2017) ont trouvé les mêmes résultats et une inhibition totale à supérieure 2 mg / ml. Le *Fusarium* peut se développer à concentration de 1 mg / mL d'extrait. L'activité antifongique est influencée par le type de solvant dans l'extrait ; alors que Suliman, Yasser (2017) ont montrés que *P. tomentosa*.L à l'extrait d'acétate d'éthyle inhibé la croissance de d'*Aspergillus fumigatus* et *C.albicans* ; à l'extrait d'acétone a inhibé la croissance d'*Aspergillus niger* et à l'extrait d'alcool méthylique a inhibé la croissance de tous champignons pathogènes.l'extrait d'alcool méthylique de *P. tomentosa* L. , suivis de l'acétate d'éthyle (56%), extraits d'acétone et de chlorure de méthylène (34% chacun) ;la variation des pourcentages à couse de la teneur des alcaloïdes, anthraquinones, flavonoïdes dans la plante.

# Conclusion

## Conclusion

La plupart des plantes possèdent des propriétés curatives en raison de leurs substances actives dans leurs différentes parties. D'après nos analyses des résultats des articles, le *Rubia tinctorum*, l' *Urtica dioica* et *Pergularia tomentosa* contiennent des proportions remarquables de composés phénoliques ainsi que des flavonoïdes, des tanins et divers métabolites secondaires qui jouent un rôle dans les activités biologiques.

Les résultats des articles montrent que les trois plantes ont une efficacité antioxydant, notamment chez *Rubia tinctorum*, l' *Urtica dioica*, avec un taux d'inhibition significatif de 98%.

Quant à l'activité antifongique, il a été constaté que les trois plantes avaient une activité d'inhibition remarquable dans les champignons étudiés (*Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*) ainsi que d'autres champignons.

Cette étude reste préliminaire et plus superficielle, donc, elle nécessite d'autres études approfondies pour mieux se concentrer sur les effets révélés. Nous suggérons la réalisation d'autres méthodes telles que l'Analyses qualitatives par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) pour connait les molécules actifs précis des plantes.

Essayez in vivo comme engrais pour protéger les plantes contre les champignons pathogènes.

# Références

---

## Références

- al-mekhlafi, n. A., & masoud, a. (2017). Phytochemical and pharmacological activities of *pergularia tomentosa* L.-a review. *Indo american journal of pharmaceutical sciences*, 4(11), 4558-4565
- Alghanem, S. M., & El-Amier, Y. A. (2017). Phytochemical and biological evaluation of *Pergularia tomentosa* L.(Solanaceae) naturally growing in arid ecosystem. *International Journal of Plant Science and Ecology*, 3, 7-15.
- Amandine, G. (2016, décembre 9). Plantes médicinales et antioxydants. 102. UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES.
- Amani, & Barmo. (2010). Contribution à letat des connaissances de quelque plantes envahissantes au Niger république. p 19-21. Niger.
- Ardestani, A., & Yazdanparast, R. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem* , 104, 21-29.
- Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gautier, S., Guy, P., Larpent, J., et al. (1990). Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle. p 275. Paris: Masson.
- Bouaoud, Y., Foughalia, A., Troulet, C., Berge, O., Aissat, K., & Bardin, M. (2017). A multi-criteria approach for the selection of efficient biocontrol agents against *Botrytis cinerea* on tomato. *Biological* , p:9851-9857.
- Bouhamdi, A. (2012). Contribution à létude phytochimique et activité antioxydante des feuilles de *Pergularia tomentosa* L.de la région dAdrar. p3-5-6.
- Brand, W., Cuvilier, M., & Erset, C. (1995). Use of free radical method evaluate antioxidant activity. *Lebensm.Wiss Technol* , 28, 25-30.
- Chabasse, D. (2001). Classification des champignons dintérêt médical. *Ency.Med.Chir* , 8, 10-15.
- Chehma, A. (2006). Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional Algérien. p137. Ain Mlila: Dar Elhouda.
- Cuoco, G. (2009, novembre 27). Étude chimique et caractérisation de principes colorants historiquement employés dans l'impression des indiennes en provence. P293. Université d'avignon et des pays de vaucluse.
- D, C. (2003). Le monde des teintures naturelles. Belin, Paris.
- Draghi, F. (2005). L'Ortie dioïque (*Urtica dioica* L.) : étude bibliographique. p89. Université Henri Poincare Nancy.
- Dutertre, J. M. J. (2011).Thèse. Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion: à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste (Doctoral dissertation).
- Essaidi, . I., Snoussi, . A., Koubaier, H. ., Casabianca, . H., & Bouzouita, . N. (2017, July 23). Effect of acid hydrolysis on alizarin content, antioxidant and antimicrobial activities of *Rubia tinctorum* extracts. *Pigment & Resin Technology* .

- Feliziani, E., Santini, M., Landi, L., & Romanazzi, G. (2013). Pre-and postharvest treatment with alternatives to synthetic fungicides to control postharvest decay of sweet cherry. *Postharvest Biology and Technology*, 78, 133-138.
- Flora, O. K. (2011, Avril 27). Rubia tinctorum L., (El foua), plante médicinale potentiellement dangereuse : mise à jour bibliographique et analyse phytochimique d'échantillons marocains. p150. UNIVERSITE MOHAMMED V.
- Gantet, Tandret et Verger, 1998 ; Didacticiel de biologie végétal
- Güder, .. A., & Korkmaz, .. H. (2012). Evaluation of in-vitro antioxidant properties of hydroalcoholic solution extracts *Urtica dioica* L., *Malva neglecta* Wallr. and their mixture. *Iranian journal of pharmaceutical research*, *IJPR*, 11(3), 913-923.
- Gülçin, I., Küfrevioğlu, I. O., Oktay, M., & Büyükköroğlu, M. E. (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Ethnopharmacology*, 90, 205–215.
- Hadizadeh, I., Peivastegan, B., & Hamzehzarghani, H. (2009). Antifungal activity of essential oils from some medicinal plants of Iran against *Alternaria alternata*. *American Journal of Applied Sciences*, 6(5), 857-861.
- Hadizadeh, I., Peivastegan, B., & Kolahi, M. (2009). Antifungal activity of nettle (*Urtica dioica* L.), colocynth (*Citrullus colocynthis* L. Schrad), oleander (*Nerium oleander* L.) and konar (*Ziziphus spina-christi* L.) extracts on plants pathogenic fungi. *Pakistan journal of biological sciences*, 12(1), 58-63.
- Hayat, T. (2015). Activité antioxydante et anti-inflammatoire des fractions des plantes médicinales : *Sedum sediforme* et *Lycium arabicum*. 147. Université Ferhat Abbas Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- Hennequin, C., & Lavarde, V. (2006). Infection *Fusarium*. *Méd Chir*, 8-580.
- HORDÉ, P. Acétylcholine–Définition. 2014. *Santé medecine. net*.
- Kalyoncu, F., Cetin, B., & Saglam, H. (2006). Antimicrobial activity of common madder (*Rubia tinctorum* L.). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(6), 490-492.
- Kang, K., Fong, W. P., & Tsang, P. W. (2010). Novel antifungal activity of purpurin against *Candida* species in vitro. *Medical mycology*, 48(7), 904-911.
- Lahmar, I., Belghith, H., Ben Abdallah, F., & Belghith, K. (2017). Nutritional composition and phytochemical, antioxidative, and antifungal activities of *Pergularia tomentosa* L. *BioMed research international*, 2017.
- Manojlovic, N. T., Solujic, S., Sukdolak, S., & Milosev, M. (2005). Antifungal activity of *Rubia tinctorum*, *Rhamnus frangula* and *Caloplaca cerina*. *Fitoterapia*, 76(2), 244-246.
- M AW. G.Tanr.X., Fuzzati N., Liq.S., Wolfender.J.L., Hostettmannk.,1997.Naturel occurring and synthetic polygne glucosides, *Phytochemistry*, 45(2) :411-415.
- Nam, .. W., Kim, .. S., Nam, S. H., & Friedman, .. M. (2017). Structure-Antioxidative and Anti-Inflammatory Activity Relationships of Purpurin and Related Anthraquinones in Chemical and Cell Assays . *Molecules*, 22(2), 265.

- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense anti-oxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme* , 16, 233-239.
- R. Lotfi, D. Z. (2017, March 31). L'éco-efficacité du recyclage d'un rejet de teinture végétale à la garance (*Rubia tinctorum*). *Applied Biosciences* , 10877-10881.
- Rayyan, W. A., Alshammari, S. A., ALSammary, A. M., AL-Shammari, M. S., Seder, N., & Abu-Qatouseh, L. F. (2018). The Phytochemical Analysis and Antimicrobial Activity of *Pergularia Tomentosa* in North East Kingdom of Saudi Arabia KSA. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 11(4), 1763-1771.
- Roland, J. C. (2002). *Des plantes et des hommes*. Vuibert.
- Schmelzer, G., & Gurib-Fakim, A. (2013). Ressources végétales de l'Afrique tropicale 11(2) plante médicinales 2. *Fondation PROTA. Wageningen. Pays-Bas.* , 224-226.
- Scorzoni, L., Benaducci, T., Almeida, A., Silva, D. H., Bolzani, V. D., & Mendes-Giannini, M. J. (2007). Comparative study of disk diffusion and microdilution methods for evaluation of antifungal activity of natural compounds against medical yeasts *Candida* spp and *Cryptococcus* sp. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada* , 25-34.
- Singh, M., & Sengar, B. (2019). Study On Phytochemical And Antioxidative Potential Of Leaf Extract Of Stinging Nettle, *Urtica Dioica* L In Uttarakhand, India. 6.
- Siva, ., R., Palackan, .. ,., Maimoon, ., L., Geetha, T., Bhakta, D., Balamurugan, P., et al. (2011). Evaluation of antibacterial, antifungal, and antioxidant properties of some food dyes. *Food Science and Biotechnology* , 20(1), 7-13.
- Souheyla, T. (2018). Caractérisation de la relation chémotypes de l'Ortie- bactéries vectorisées associées et évaluation de leurs activité sur *Culex* sp. 166. UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA- BOUMERDES.
- Testai, L., Chericoni, S., Calderone, V., Nencioni, G., Nieri, P., Morelli, I., et al. (2002). Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) roots extracts: in vitro and in vivo pharmacological studies. *Elsevier, Journal of* , 81, 105- 109.
- Tlili, M. L., Hadj-Mahammed, M., Hammoudi, R., & Dehak, K. Evaluation De L'activité Antioxydante Des Extraits De Feuilles De *Pergularia Tomentosa* Issue De Méguibra (El-Oued).
- Zoran, Z. K., Ljiljana N, T. T., Biljana, M. K., Snježana, B. M., Svetlana, S. P., Mirela, M. B., et al. (2012). Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.). *Acta periodica technologica* , 43, 257-272.

# **Annexes**

## Annexes

- al-Mekhlafi, N. A., & Masoud, A. (2017). Phytochemical And Pharmacological Activities Of Pergularia Tomentosa L.-A Review. *Indo American Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 4(11), 4558-4565
- Alghanem, S. M., & El-Amier, Y. A. (2017). Phytochemical and biological evaluation of Pergularia tomentosa L.(Solanaceae) naturally growing in arid ecosystem. *International Journal of Plant Science and Ecology*, 3, 7-15.
- Essaidi, . I., Snoussi, . A., Koubaier, H. ., Casabianca, . H., & Bouzouita, . N. (2017, July 23). Effect of acid hydrolysis on alizarin content, antioxidant and antimicrobial activities of Rubia tinctorum extracts. *Pigment & Resin Technology* .
- Feliziani, E., Santini, M., Landi, L., & Romanazzi, G. (2013). Pre-and postharvest treatment with alternatives to synthetic fungicides to control postharvest decay of sweet cherry. *Postharvest Biology and Technology* , 78, 133-138.
- Güder, . A., & Korkmaz, . H. (2012). Evaluation of in-vitro antioxidant properties of hydroalcoholic solution extracts Urtica dioica L., Malva neglecta Wallr. and their mixture. *Iranian journal of pharmaceutical research , IJPR*, 11(3), 913-923.
- Gülçin, I., Küfrevioğlu, I. O., Oktay, M., & Büyükkuroğlu, M. E. (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (Urtica dioica L.). *Ethnopharmacology* , 90, 205–215.
- Hadizadeh, I., Peivastegan, B., & Hamzehzarghani, H. (2009). Antifungal activity of essential oils from some medicinal plants of Iran against Alternaria alternate. *American Journal of Applied Sciences* , 6(5), 857-861.
- Hadizadeh, I., Peivastegan, B., & Kolahi, M. (2009). Antifungal activity of nettle (Urtica dioica L.), colocynth (Citrullus colocynthis L. Schrad), oleander (Nerium oleander L.) and konar (Ziziphus spina-christi L.) extracts on plants pathogenic fungi. *Pakistan journal of biological sciences* , 12(1), 58-63.
- Kalyoncu, F., Cetin, B., & Saglam, H. (2006). Antimicrobial activity of common madder (Rubia tinctorum L.). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* , 20(6), 490-492.
- Kang, K., Fong, W. P., & Tsang, P. W. (2010). Novel antifungal activity of purpurin against Candida species in vitro. *Medical mycology* , 48(7), 904-911.
- Lahmar, I., Belghith, H., Ben Abdallah, F., & Belghith, K. (2017). Nutritional composition and phytochemical, antioxidative, and antifungal activities of Pergularia tomentosa L. *BioMed research international*, 2017.
- Manojlovic, N. T., Solujic, S., Sukdolak, S., & Milosev, M. (2005). Antifungal activity of Rubia tinctorum, Rhamnus frangula and Caloplaca cerina. *Fitoterapia* , 76(2), 244-246.

Nam, W., Kim, S., Nam, S. H., & Friedman, M. (2017). Structure-Antioxidative and Anti-Inflammatory Activity Relationships of Purpurin and Related Anthraquinones in Chemical and Cell Assays. *Molecules*, 22(2), 265..

Rayyan, W. A., Alshammari, S. A., ALSammary, A. M., AL-Shammari, M. S., Seder, N., & Abu-Qatouseh, L. F. (2018). The Phytochemical Analysis and Antimicrobial Activity of Pergularia Tomentosa in North East Kingdom of Saudi Arabia KSA. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 11(4), 1763-1771.

Scorzoni, L., Benaducci, T., Almeida, A., Silva, D. H., Bolzani, V. D., & Mendes-Giannini, M. J. (2007). Comparative study of disk diffusion and microdilution methods for evaluation of antifungal activity of natural compounds against medical yeasts *Candida* spp and *Cryptococcus* sp. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 25-34.

Singh, M., & Sengar, B. (2019). Study On Phytochemical And Antioxidative Potential Of Leaf Extract Of Stinging Nettle, *Urtica Dioica* L In Uttarakhand, India. 6.

Siva, R., Palackan, S., Maimoon, L., Geetha, T., Bhakta, D., Balamurugan, P., et al. (2011). Evaluation of antibacterial, antifungal, and antioxidant properties of some food dyes. *Food Science and Biotechnology*, 20(1), 7-13.

Tlili, M. L., Hadj-Mahammed, M., Hammoudi, R., & Dehak, K. Evaluation De L'activité Antioxydante Des Extraits De Feuilles De Pergularia Tomentosa Issue De Méguibra (El-Oued).

Zoran, Z. K., Ljiljana N, T. T., Biljana, M. K., Snježana, B. M., Svetlana, S. P., Mirela, M. B., et al. (2012). Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.). *Acta periodica technologica*, 43, 257-272.

#### ▪ ملخص:

تعتبر النباتات الثالث *Rubia tinctorum* L. من عائلة Rubiacées و *Urtica dioica* L. من Urticacées و *Pergularia tomentosa* L. من عائلة Asclépiadacées نباتات طبية تستخدم منذ القدم في العلاج بالنباتات.

من خلال النتائج التحليلية للمقالات للنباتات، نلاحظ احتوائها على المركبات الفينولية و النالينويدات وكذا النانينات وغيرها. يُؤمّ معبّرة حيث تكسبها النشاط المضاد للفطريات خاصة الحريضة و الفوية بزيادة تصل إلى 98%. كما نجد من نشاط الفطريات (*Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*) بزيادة تثبيط معبّرة.

الكلمات المفتاحية: نباتات طبية، مضاد أكسدة، مضاد فطريات، *Fusarium oxysporum*، *Alternaria alternata*.

#### ▪ Résumé:

Les trois plantes *Rubia tinctorum* L. de la famille des Rubiacées, *Urtica dioica* L. des Urticacées et *Pergularia tomentosa* L. de la famille des Asclépiadacées sont des plantes médicinales utilisées depuis l'Antiquité en phytothérapie.

Au travers de résultats analytiques des articles des plantes, il est montré qu'ils contiennent des composés phénoliques et des flavonoïdes, ainsi que des tanins et autres, avec des valeurs significatives, car ils acquièrent une activité antioxydante. Surtout l'ortie et le garance jusqu'à 98%. Il réduit également l'activité des champignons (*Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*) avec un taux d'inhibition significatif.

Mots clés: plantes médicinales, antioxydant, antifongique, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*

#### ▪ Summary:

The three plants *Rubia tinctorum* L. of the Rubiaceae family, *Urtica dioica* L. of the Urticaceae family and *Pergularia tomentosa* L. of the Asclepiadaceae family are medicinal plants used since ancient times in phytotherapy.

Through these results analytical results of the articles of the plants, it is shown that they contain phenolic compounds and flavonoids, as well as tannins and others, with significant values, because they acquire antioxidant activity. Especially the nettle and the madder up to 98%. It also reduces the activity of fungi (*Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*) with a significant inhibition rate.

Keywords: medicinal plants, antioxidant, antifungal, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*.