

UNIVERSITE MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARREIDJ

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون



UNIVERSITE MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARREIDJ

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème

Contribution à l'étude phytochimique et activité antifongique

des différents extraits des graines de la plante

Peganum harmala

Présenté par : BENADDA Asma Kenza

BOUFOURA Fatima Zohra

Devant le jury :

Président : M^m Souagui Yasmina MCB (Univ BBA)

Encadrant : M^m Guergour Hassina MAA (Univ BBA)

Examineur: M^m Fatmi Widad MCB (Univ BBA)

Année universitaire : 2017/2018

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Dieu le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce mémoire, nos parents pour tout ce qu'ils ont fait pour nous. Nous tenons à remercier notre encadreur Mme Guergour Hassina pour son appui, ses conseils et ses orientations tout au long de la réalisation de ce thème.

Nous adressons nos vifs remerciements et notre reconnaissance à tous les membres du jury de bien vouloir examiner et juger la qualité de ce document. Vos remarques nous seront d'un grand apport.

Merci à tous ceux qui nous ont aidées, soutenues et encouragées, en particulier : Mme Wassima, Mme Sabrina, Mme Sabrina, Mr Dahou, Mr Khalil, Mr Makhokh et Mr Fouad. Un grand merci à toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

Merci, merci, merci infiniment...

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*Aux deux être les plus chers au monde, qui ont souffert nuit
et jour :*

*Mon père le modèle de ma vie et la personne qui m'a
toujours soutenue*

*Ma mère ma source de bonheur qui m'a encouragé et qui
m'a donné tout son amour*

A mes frères : fateh et Islam

A ma sœur : Amani, Salima

A tous mes chères amies : Khadija, Imen

A toute la famille Boufoura et Saib

A tous mes collègues.

Sans oublier tous les professeurs que ce soit du

Primaire, du moyen, du secondaire

Dédicace

Je remercie Dieu, maître de la terre et des cieux, qui m'a permis de bien mener à terme ce travail que je dédie à mes quatre bijoux, à ma petite et formidable famille :

A mon magnifique modèle, à mon diamant, mon cher papa ABBAS

A ma perle rare, à mon étoile brillante, ma précieuse maman YASMINA

A mon bonbon, à la rose odorante de mon cœur, ma sœur ROZA

A mon petit prince, à mon bonheur, mon frère AMIR

Un immense merci en lettres d'or, gravé dans mon cœur , garni de gratitude, parfumé d'émotion. Ce grand merci serait très petit face à votre soutien, à vos sacrifices, à vos prières et à vos encouragements durant toute ma formation.

Il serait même microscopique devant vos expressions d'amour d'affection, d'attention et de compréhension qui ont fait de moi la personne que je suis aujourd'hui. Je ne vous remerciera jamais assez de m'avoir tout donné sans exiger de contrepartie. Que Dieu vous protège et vous offre une bonne santé et une longue vie heureuse autour de moi.

Je vous adore

Votre fille, sœur : BENADDA ASMA KENZA

Résumé

Peganum harmala, connue sous le nom de harmel, est une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne pour traiter une variété de troubles. Le présent travail vise à réaliser une étude phytochimique et à évaluer l'activité antifongique des différents extraits de cette plante (EBG et HFG). L'EBG a été préparé par macération dans le méthanol, tandis que l'extraction des huiles fixes a été effectuée par deux méthodes ; la première étant une macération dans l'éther de pétrole, la deuxième est une extraction par soxhlet. L'EBG et l'HFG ont été analysés par chromatographie sur couche mince (CCM) révélant la présence de plusieurs spots correspondant aux différents composants. Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu et celui des flavonoïdes par la méthode de trichlorures d'aluminium $AlCl_3$. Les résultats des deux dosages ont révélé la présence de teneurs très importantes en polyphénols et en flavonoïdes dans l'EBG (290.83 μ gEAG/mg d'extrait ; 82.83 μ gEQ/mg d'extrait) successivement. L'évaluation du pouvoir antifongique des différents extraits contre le *Fusarium oxysporum* par la méthode de diffusion dans des puits montre que l'EBG possède une modeste activité antifongique par rapport à celle de l'HFG qui s'est avérée meilleure avec des diamètres d'inhibition atteignant jusqu'à 20 mm.

Mots clés : *Peganum harmala* ; antifongique ; EBG ; HFG ; *Fusarium oxysporum*, polyphénols, flavonoïdes.

Abstract

Peganum harmala also known as harmel is a plant widely used in traditional Algerian medicine to treat a variety of disorders. The present work aims to carry out a photochemical study and to evaluate the antifungal activity of the various extracts of the seeds of this plant (raw extract and fixed oil). The crude extract was prepared by maceration in methanol while the extraction of the fixed oils was carried out by two methods the first being a maceration in ether of petrol, the second is a Soxhlet extraction. The crude extract and the fixed oil were analyzed by thin layer chromatography revealing the presence of several tasks that represent the different components. The determination of total polyphenols was carried out by the method of the Folin Ciocalteu reagent and that of flavonoids by the method of aluminum trichloride. The results of both assays revealed the presence of very high levels of polyphenols and flavonoids in the crude extract (290.83 µgEAG/mg of the extract ; 82.83 µgEQ/mg of the extract). The evaluation of the antifungal potency of the various extracts against *Fusarium oxysporum* by the well diffusion method shows that the crude extract has a modest antifungal activity compared to that of the fixed oil, which has proved to be better with inhibition diameters up to 20 mm.

Key words: *Peganum harmala*, antifungal, crude extract, fixed oil, *Fusarium oxysporum*, polyphenols, flavonoids.

المخلص

Peganum harmala المعروفة بالحرمل نبتة مستخدمة بكثرة في الطب التقليدي الجزائري لعلاج عدة اضطرابات. العمل الحالي يهدف إلى انجاز دراسة فيتو كيميائية و إلى تقييم النشاطية المضادة للفطريات لمختلف مستخلصات بذور هذه النبتة (المستخلص الخام و الزيوت الثابتة). حضر المستخلص الخام بالنقع في الميثانول في حين تم استخلاص الزيوت الثابتة بطريقتين الأولى متمثلة في النقع في ايثر البترول و الثانية عبارة عن استخلاص ب Soxhlet .

كل من المستخلص الخام و الزيوت الثابتة تم تحليلها بطريقة CCM التي تظهر وجود بقع عديدة تمثل مختلف المكونات.

التقييم الكمي للبوليفينول الكلي بطريقة Folin-Ciocalteu في حين تم التقييم الكمي للفلافونويد بطريقة ثلاثي كلوريد الألمنيوم. تبين أن المستخلص الخام للبذور غني بهذه المركبات (290.83 ميكرو غرام مكافئ لحمض الغاليك / مغ من المستخلص . و 82.83 ميكرو غرام مكافئ للكروسيبتين / مغ من المستخلص) على التوالي .

تقييم القدرة المضادة للفطريات لمختلف المستخلصات ضد *Fusarium oxysporum* بطريقة الانتشار بالحفر. تظهر أن المستخلص الخام له نشاطية مضادة للفطريات ضعيفة مقارنة بنشاطية الزيوت الثابتة التي تبين إنها أفضل بأوتار تثبيط تصل إلى 20mm.

الكلمات المفتاحية : *Peganum harmala* , *Fusarium oxysporum* , المستخلص الخام , الزيوت الثابتة , النشاط المضاد للفطريات , البوليفينول , الفلافونويد .

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Synthèse bibliographique

I.1 Présentation de la plante *Peganum harmala* 3

I.1.1 Généralités..... 3

I.1.2 Description botanique 3

I.1.3 Classification botanique 5

I.1.4 Nomenclature et appellation..... 6

I.1.5 Origine, habitat et exigences 6

I.1.6 Culture et récolte 7

I.1.7 Utilisation traditionnelle et pharmacologique 7

I.2 Caractéristiques phytochimiques 8

I.2.1 Les alcaloïdes 8

I.2.1.1 Les bêta-carbolines (β carbolines)..... 9

I.2.1.2 Les alcaloïdes Quinazolines 9

I.2.2 Les composés phénoliques 9

I.2.2.1 Les flavonoïdes 9

I.2.3 Les terpènes ou terpénoïdes 9

I.2.4. Anthraquinones 10

I.3 Activité antifongique et *Fusarium oxysporum* 10

I.3.1 Généralités..... 10

I.3.2 Le *Fusarium oxysporum*..... 11

I.3.2.1 Définition..... 11

I.3.2.2 Description..... 11

I.3.2.3 Taxonomie 11

I.3.2.4 Cycle infectieux 12

I.3.2.5 Altération 13

Partie pratique

II. Matériel et méthodes	14
II.1 Matériel	14
II.1.1. matériel végétale.....	14
II.1.2. Souches de moisissures	14
II.2 Méthodes.....	15
II.2.1 préparation des extraits	15
II.2.1.1 préparation de l'extrait méthanolique (EBG).....	15
II.2.1.2 l'extraction de l'huile fixe	16
II.2.2 Analyse qualitative (Chromatographie sur couche mince)	17
II.2.3 Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans les extraits	17
II.2.3.1 Dosage des polyphénols totaux	17
II.2.3.2 Dosage des flavonoïdes	18
II.2.4 Evaluation de l'activité antifongique	19
II.2.4.1 Préparation de milieu de culture.....	19
II.2.4.2 Préparation de moisissures	19
II.2.4.3 évaluation de l'activité antifongique	19
III. Résultat et discussion	22
III .1 Rendements des extractions.....	22
III.1.1 La macération (préparation de l'extrait brut des graines EBG)	22
III.1.2 Extraction des huiles fixes des graines de <i>Peganum harmala</i>	22
III.2 Analyse qualitative (la chromatographie sur couche mince).....	22
III.2.1 la CCM des différents extraits des graines de <i>peganum harmala</i>	23
III.3 Analyse quantitative	27
III.3.1 Teneur en polyphénols totaux	27
III.3.2 Teneur en flavonoïdes.....	28
III.4 Activité antifongique	29
III.4.1 Sensibilité des champignons aux différents extraits de <i>Peganum harmala</i>	29
Conclusion	33
Références	
Annexe	

Liste des figures

Figure 1 : Les feuilles, fleures de <i>Peganum harmala</i>	4
Figure 2 : Les fruits, graines de <i>Peganum harmala</i>	5
Figure 3 : Cycle de vie de <i>Fusarium oxysporum</i>	13
Figure 4 : La plante de <i>Peganum harmala</i> au mois de mars (photo originale)	14
Figure 5 : Protocole de préparation des extraits bruts des graines Par macération.....	15
Figure 6: Aspect macroscopique de <i>Fusarium oxysporum</i>	19
Figure 7 : Séparation par CCM de l'extrait brut et d'huile fixe des graines de <i>Peganum harmala</i> , Phase mobile 1:Hexane/ACET :20/4 sous UV 365 et 254 nm.....	24
Figure 8 : Séparation par CCM de l'extrait brut et d'huile fixe des graines De <i>Peganum harmala</i> . Phase mobile 2: CH ₃ CL ₃ /MeOH/ACET/H ₂ 20/50/30/0.2 révélation sous UV365 et 254 nm	24
Figure 9 : Spectre UV des composés d'EBG.....	26
Figure 10 : Spectre UV des composés de l' HFG	27
Figure 11 : Photo illustrant les zones d'inhibition de la croissance du <i>fusarium</i> par l'EBG (C _{400mg/ml}).....	31
Figure 12 : Photo illustrant les zones d'inhibition de la croissance du <i>fusarium</i> par L'HFG (C _{40%}).....	32

Liste des tableaux

Tableau I : Le rendement, l'aspect et la couleur de l'extrait brut.....	22
Tableau II : les rendements, les aspects et les couleurs des huiles fixes obtenues.....	23
Tableau III : Rapports frontaux des spots issus de la séparation d'EBG et de l'HFG de <i>Peganum harmala</i> avec les standards utilisés pour la phase mobile 1.....	25
Tableau IV : Rapports frontaux des spots issus de la séparation d'EBG et d'HFG de <i>Peganum harmala</i> avec les standards utilisés pour la phase mobile 2.....	26
Tableau V : Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des différentes concentrations (mg/ml) d'EBG de <i>Peganum harmala</i>	29
Tableau VI : Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des différentes concentrations (%) de l'HFG du <i>Peganum harmala</i>	30

Liste des abréviations :

DMSO	Diméthylsulfoxyde
PDA	Potato Dextrose Agar.
EBG	Extrait brut des graines
HFG	L'huile fixe des graines.
AG	Acide gallique.
Qc	Quercétine.
Bcat	Beta carottaient.
CCM	Chromatographie sur couche mince
Rdt	Rendement (en%)
Meb	Masse de l'extrait brut obtenu
Mvg	Masse végétale
µg EAG	Microgramme équivalent d'acide gallique
µg EQ	Microgramme équivalent de quercétine
R²	Coefficient de corrélation
A	Absorbance
UV	Ultraviolet
CH₃CL₃	Chloroforme
MeOH	Méthanol
ACET	Acetate diethyl

Introduction

L'histoire de la phytothérapie remonte aux origines de l'humanité. Depuis longtemps, les hommes récoltent les plantes, non seulement pour se nourrir, mais aussi pour soulager leurs maux. Aujourd'hui, et lorsqu'on commence à prendre conscience de nos corps, on rejette certains médicaments modernes à causes de leurs effets secondaires puissants et on les remplace par la médecine traditionnelle, qui est réponde partout dans le monde, non seulement chez les populations en développement, mais aussi dans pays très développés.

La recherche de nouvelles stratégies de prévention contre les infections et les maladies d'origine fongique, comporte un effet majeur, d'une part pour la sécurité sanitaire des aliments et la santé du consommateur et d'autre part pour la protection de l'économie du pays. La lutte biologique par l'utilisation des substances naturelles antifongiques peut constituer une alternative aux produits chimiques. Parmi ces substances naturelles figurent les polyphénols et les flavonoïdes extraits des plantes aromatiques médicinales (**Maihebiau, 1994**). L'Algérie est considérée parmi les pays connus pour leur diversité taxonomique vu sa position biogéographique privilégiée et son étendu entre la méditerranée et l'Afrique subsaharienne .La flore algérienne est potentiellement riche.

Le genre *Peganum* possède des propriétés thérapeutiques qui ont été mises en évidence *in vitro*, elles sont dues à des composés actifs tels que les alcaloïdes (**Ammar et al ., 2008**).

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont le but principal est de réaliser une étude phytochimique et d'évaluer l'activité antifongique de l'extrait brut (EBG) et l'huile fixe (HFG) de *Peganum harmala*.

Notre étude englobe trois chapitres, initiés par une synthèse biographique ou nous apportons une généralité sur la plante *Peganum harmala*, sa composition chimique et des généralités sur le champignon utilisé (*Fusarium oxysporum*).

Le second chapitre présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail à savoir :

- Préparation de l'extrait brut(EBG) et de l'huile fixe(HFG).
- Etude phytochimique (dosage des polyphénols et des flavonoïdes).

- Etude de l'activité antifongique des différents extraits sur la croissance de la souche *Fusarium oxysporum*.

Le troisième chapitre aborde les différents résultats et leurs discussions. Enfin une conclusion générale résume l'ensemble des résultats obtenus et donne quelques perspectives.

I.1 Présentation de la plante *Peganum harmala*

I.1.1 Généralités

Peganum harmala est un membre de la famille de Zygophyllaceae (**Hilal et Young ken, 1983**). Les *zygophyllaceae* est une petite famille de plantes dicotylédones et angiospermes qui rassemble plus ou moins 240 espèces (**Lavergne, 2013**).

Le genre *Peganum* tient son nom du grec, il est attribué aux espèces de la rue, alors que le nom de l'espèce *harmala* dérive de celui de la ville Libanaise Hermel (**Mars, 2009**). Il comprend des espèces annuelles, bisannuelles ou vivaces (**Tahri et al., 2004**).

Les plantes appartenant à ce genre sont connues pour leurs richesses en alcaloïdes indoliques tels que : *Peganum mexicanum* Gray., *Peganumnigellastrum* Bge., *Peganum multisectum* Maxim et *Peganum harmala* (**Lavergne, 2013**).

I.1.2 Description botanique

Peganum harmala est une plante pluriannuelle (**Bruneton, 2001**), herbacée, vivace, glabre, buissonnante, d'une hauteur de 30 à 100 cm, à rhizome épais. Son odeur forte, désagréable rappelant celle de la Rue (**Chopra et al., 1960**). Elle est souvent d'une apparence touffue (**Preedy et al., 2011**), caractérisée par des tiges très rameuses et des feuilles alternées, découpées en lanières étroites qui restent vertes pendant une partie de la saison sèche. Elle est formée de petites fleurs blanches à l'aisselle des rameaux et d'un fruit globuleux contenant plusieurs graines aplaties.

- ✚ **La racine** est oblongue, dure et garnie de fibres. Elle peut atteindre plus de 3 m de profondeur (**Quézel et Santa, 1963**). De nouvelles pousses peuvent se développer à partir des racines latérales (**Roché, 1991 ; Parsons et Cuthbertson, 1992**).
- ✚ **La tige** est dressée, très rameuse, qui disparaît durant l'hiver (**Chopra et al., 1960**). Elle possède des entrenœuds assez courts, densément feuillés (**Bouziane, 2012**). Chez les plantes adultes, la tige est rigide, droite, ramifiée et glabre (**Watson et al., 2011**).
- ✚ **Les feuilles** sont alternes, charnues d'un vert vif, mesurant de 2 à 5 cm de long (**Parsons et Cuthbertson, 1992 ; Roche, 1991**). Les feuilles supérieures ne

dépassent pas 1,5 mm de largeur (**Bouziane, 2012**). Elles ont une odeur très dissuasive lorsqu'elles sont froissées (**figure1**) (**Mahmoudian et al., 2002**).

- ✚ **Les fleurs** sont actinomorphes, hermaphrodites et dialypétales (**Boullard, 1997**). La corolle est formée de 5 pétales elliptiques, oblongs, sub-symétriques et de couleur rose-orangée à nervures jaunes. Le calice est à cinq sépales verts, linéaires, persistants qui dépassent la corolle. L'androcée porte 10 à 15 étamines, à filet très élargi dans leur partie inférieure (**Chopra et al., 1960; Quézel et Santa, 1963**). Les anthères sont jaunes de 8mm de longueur. Le gynécée est de 8 à 9 mm de longueur, à ovaire supère (une fleur hypogyne) et globuleux, surmonté d'un style cylindrique. Il est composé de trois à quatre loges et de stigmates à trois carènes (**figure1**) (**Bouziane, 2012**).



Figure 1 : Les feuilles, fleurs de *Peganum harmala*.

- ✚ **Le fruit** est en forme de capsule sphérique et trilobulaire, de couleur verte lorsqu'il est mûr (**Preedy et al., 2011**) et brun orangé à maturité coriace (**Parsons et Cuthbertson, 1992**). Il est de 6 à 8 mm déprimé au sommet et entouré des sépales persistants (**figure2**) (**Ozenda, 1977 ; Hammiche et Merad, 1997**).
- ✚ **Les graines** sont d'une couleur marron foncée, petites, anguleuses, subtriangulaires et ont un diamètre de 3 à 4 mm x 2mm. Elles sont d'une saveur amère, le tégument externe est réticulé (**figure2**) (**Chopra et al., 1960**).



Figure 2 : Les fruits, graines de *Peganum harmala*.

I.1.3 Classification botanique

Bien qu'il appartienne à la famille des Zygophyllaceae mais sa position taxonomique est encore discutable et on a proposé une famille séparée Nitrariaceae pour ce genre (**Shehan et chase, 1996**).

Embranchement Spermatophytes

Sous embranchement Angiospermes

Classe Dicotylédones

Sous classe Rosidae

Ordre Sapindales

Famille Zygophyllaceae

Genre *Peganum*

Espèce *Peganum harmala* L (**Ozenda, 1991**).

I.1.4 Nomenclature et appellation

Nom latin: *Peganum harmala*.

Nom commun: Rue sauvage; Rue verte; Pégane (**Lamchouri et al., 2000**).

Nom vernaculaire :

- Harmel; Armel; L'harmel (L'Afrique du Nord) (**Mahmoudian., et al 2002**).
- Pégane et Rue sauvage (en France) (**Asgarpanah et Ramezanloo, 2012**).
- Harmel Sahari (en Algérie).
- Bender tiffin (en Maroc) (**Achour et al., 2012**).
- Bizr el harmel (en Egypte) (**Arab, 2000**).
- Espand, Espand (Iran) (**Mina et al., 2015**).
- African Rue, Mexican Rue ou Turkish Rue (Etats-Unis) (**Mahmoudian et al., 2002**).
- yüzerlik or üzerli (en Turquie) (**Frison et al ., 2008**).

I.1.5 Origine, habitat et exigences

Peganum harmala est originaire d'Afrique, du Moyen-Orient et d'Asie du Sud. C'est une espèce endémique des zones semi- arides, qui se développe dans les zones sahariennes du Nord du continent africain et se prolonge jusqu'au Nord de l'Inde et au Nord de la Chine.

Elle pousse en Europe australe et austro-orientale et en Asie mineure, au Sahara septentrional et méridional et aux montagnes du Sahara central (**Abbassi et al., 2003**). Elle se retrouve de façon abondante dans les zones subdésertiques (Tunisie, Algérie, Libye, Egypte et au Maroc), dans certaines régions de l'Europe méditerranéenne et en Russie méridionale, elle a été introduite en Amérique et en Australie (**Chopra et al., 1960**).

En Algérie, *Peganum harmala* est commune aux hauts plateaux, au Sahara septentrional et méridional et aux montagnes du Sahara central. Elle est réputée dans les terrains sableux, les lits d'oued, à l'intérieur des agglomérations (**Maire, 1933 ; Bouziane, 2012**), les champs incultes secs, les décombres et les steppes terreuses (**Jahandiez et Maire, 1932 ; Idrissi Hassani et Hermas, 2008**).

Peganum harmala exige des lieux ouverts, ensoleillés, des endroits secs et sols pierreux, elle résiste très bien aux sécheresses et se développe lorsque le taux de nitrate dans le sol est important celui qui se trouve, surtout, au niveau des stationnements d'animaux (Aimé, 1988 ; Aboura, 2006). Donc l'apparition de cette espèce est un indicateur des milieux naturels dégradés et des sols caillouteux (Nedjimi et Guit, 2012). A cet effet, on l'appelle une plante rudérale, c'est à dire qu'elle préfère les sols enrichis en déchets azotés (Le Bourgeois et Merlier, 1995).

I.1.6 Culture et récolte

En raison de l'importance économique et médicinale de *Peganum harmala*, la culture de cette espèce devient de plus en plus nécessaire. Elle exige des endroits ensoleillés, une terre légère et riche. Les graines doivent être bien mélangées avec un sol moitié sable, moitié terreau, légèrement humide et bien drainé durant les mois Avril et Mai. Les graines sont mises à une profondeur de 5 à 10 mm sous le sol, et germent ensuite en quelques jours, parfois quelques semaines. La première année, la culture est réalisée dans des pots, en évitant l'exposition directe au soleil et les gelés de l'hiver. La croissance de ces plantes est rapide dans les climats chauds (Psychonaut, 2006).

Une grande partie d'efficacité de l'Harmal, dépend du stade de développement et de la période de récolte. Les graines sont récoltées lorsque les capsules des fruits mûrissent. Les racines peuvent être récoltées en automne, puis sont coupées en morceaux et séchées au soleil. Après le séchage, l'herbe doit être stockée dans un endroit sec et frais pour une meilleure exploitation (Psychonaut, 2006).

I.1.7 Utilisation traditionnelle et pharmacologique

Depuis un temps reculé, le *Peganum harmala* semble avoir été utilisé par les populations de l'ancien monde et particulièrement de l'Orient comme une plante médicinale ayant des propriétés emménagogues, anthelminthiques, antiparkinsoniennes, et enivrantes (Claude, 1967).

Peganum harmala est très utilisée en médecine traditionnelle algérienne et maghrébine dans le traitement de plusieurs troubles tels que : la stérilité féminine, les maladies de l'utérus, les dermatoses (eczémas), les conjonctivites purulentes, les blépharites, l'alopecie, le tétanos néonatal et les oreillons. Cette espèce peut traiter aussi les hémorroïdes,

l'hypertension artérielle, les troubles digestifs et l'empoisonnement par le venin des serpents. Elle possède des propriétés hypnotiques, antipaludiques, antipyrétiques, antitussives, sudorifiques, antiseptiques, cicatrisantes et dépuratives (**Hammiche et Merad, 1997**).

Dans la médecine traditionnelle marocaine, les graines de *Peganum harmala* sont utilisées sur plusieurs formes (poudre, décoction, macération ou infusion) dans le traitement des diarrhées, des tumeurs et de l'avortement. Elle est utilisée comme un remède pour les événements douloureux (rhumatismaux, intestinaux et articulation douloureuse) (**Bellakhdar, 1997 ; Farouk et al., 2007**). Il faut enfin signaler que l'inhalation par fumigation du harmel est une pratique courante, soit dans un but thérapeutique, soit en prophylaxie magique (**Bellakhdar, 1997**).

Les graines de *Peganum harmala* sont riches en alcaloïdes (β -carbolines) qui ont un large spectre d'actions pharmacologiques dans divers domaines. Ceux-ci incluent antispasmodique, (**Kirtikar et Basu, 1935; Chopra et al., 1958**), anticancéreux (**Bellakhdar, 1997**), les effets sur le système nerveux central (**Bruinvels et Sourkes, 1968**), hallucinogène (**O'Hearn et Molliver, 1993**), liaison à divers récepteurs, y compris la 5-HT et les récepteurs de liaison aux benzodiazépines (**McCormick et Tunnicliff, 1998**), l'inhibition de l'agrégation plaquettaire (**Saeed et al., 1993**) et les effets immunomodulateurs (**Li, 1996**). Elle est aussi utilisée pour dissiper les troubles de l'anxiété et les convulsions des enfants, en pommade pour leurs frictions et en tant que sédatif nerveux pour le traitement de l'insomnie et la dépression nerveuse (**Davood et Nazanin, 2005**).

I.2 Caractéristiques phytochimiques

Des études phytochimiques réalisées sur la plante *Peganum harmala* ont permis d'isoler plusieurs types de composés chimiques tels que les alcaloïdes, stéroïdes, flavonoïdes, anthraquinones, acides aminés et les polysaccharides à partir des graines, feuilles, fleurs, tiges et des racines (**Hua et al., 2013**).

I.2.1 Les alcaloïdes

La plupart de ses alcaloïdes sont des alcaloïdes indoliques simples à β carbolines tels que, harmine, harmaline, harmalol, harmol, harman, tetrahydroharmine et harmalidine et des alcaloïdes **Quinazolines** comme : Peganine (vasicine), vasicinone (**Mahmoudian et al., 2002 ; Lamchouri et al., 2013**) et déoxyvasicinone.

I.2.1.1 Les bêta-carbolines (β carbolines)

L'harmaline, l'harmine, l'harmalol, l'harmol et le tétrahydroharmine sont identifiés et quantifiés comme étant les principaux alcaloïdes bêta-carbolines de *Peganum harmala*. Les graines et les racines contiennent un taux plus élevé des alcaloïdes avec un taux faible dans les tiges et les feuilles, et sont absent dans les fleurs. L'harmine et l'harmaline s'accumulent dans les graines sèches à **4,3** et **5,6%**, respectivement, d'harmalol à **0,6%** et le tétrahydroharmine à **0,1%**. Les racines contiennent l'harmine et l'harmol avec **2** et **1,4%** respectivement (**Herraiz et al., 2010**).

I.2.1.2 Les alcaloïdes Quinazolines

Les graines de *Peganum harmala* contiennent également une autre classe des alcaloïdes, les quinazolines, dont le précurseur est l'acide anthranilique (**Qurat, 2013**).

Les alcaloïdes quinazolines isolés à partir des différentes parties de la plante *Peganum harmala* sont représentés par la Péganine, le Vascinone (**Zharekeev et al., 1974**) et la Déoxyvasicinone. **Astullah et al., (2008)** ont isolé deux autres alcaloïdes Dipeganine et Dipeganol à partir de l'extrait méthanolique des graines de *Peganum harmala*.

I.2.2 Les composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires. (**Lebham, 2005**). L'élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre) (**Bruneton, 1993**).

I.2.2.1 Les flavonoïdes

L'analyse de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *Peganum harmala* a permis d'isoler quatre flavonoïdes glycosides, acacétin 7-O - rhamnoside, 7-O -6"-O-glucosyl-2"-O-(3"-O-(3"-O-glucoside d'acetylramnosyl), 7-O-(2"-O-rhamnosyl-2"-O-glucosylglucoside) et glycoflavone 2"-O rhamnosyl-2"-O-glucosylcytisoside (**Sharef et al., 1997**).

I.2.3 Les terpènes ou terpénoïdes

Du point de vue structural, les terpènes constituent une grande famille de composés prénologues, c'est-à-dire d'homologues à enchaînement isoprénique. Le terme de terpénoïdes est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un

monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale (Malecky, 2005). Jusqu'à présent, dix triterpénoïdes ont été identifiés à partir du genre *Peganum*. Quatre triterpénoïdes : l'ester méthylique de l'acide 3, 27-dihydroxyl-20 (29) -en-28-oïque, ester méthylique de l'acide 3 -acétoxy-27-hydroxylup-20 (29) -en-28-oïque et acide 3 -acétoxyolean-12-ène-27,28-dioïque 28-méthylester ont été isolés de l'extrait éthanolique des racines de *Peganum nigellastrum* (Ma et al., 2007).

I.2.4. Anthraquinones

Une étude réalisée sur les graines de *Peganum harmala* a permis d'isoler trois anthraquinones, la peganone I, la peganone II et l'anthraquinone glucoside. Les structures ont été déterminées par comparaison de leurs RMN, SM, données physiques avec ceux décrits dans les littératures (Fan et Yao, 1992 ; Li, 2005).

I.3 Activité antifongique et *Fusarium oxysporum*

I.3.1 Généralités

Les antifongiques tirent leur nom du latin *Fungus* qui signifie champignons. Ce sont des préparations médicamenteuses soignant les infections dues aux champignons de façon générale. Parmi eux, certains sont modernes et d'autres traditionnels. Les champignons Ce sont des organismes hétérotrophes par rapport au carbone : ils se nourrissent en extrayant de leur environnement des composés organiques déjà constitués. Ils ne possèdent pas de racine ni de feuille, et leur appareil végétatif appelé mycélium peut être unicellulaire dans le cas des levures, ou pluricellulaire dans le cas de champignon filamenteux (Blackwell, 2011).

Se sont des microorganismes filamenteux, l'élément structural est l'hyphe, plusieurs hyphes formant le mycélium ou thalle. Le règne des champignons est composé de quatre phylas : Chytridiomycota, zygomycota, ascomycota et basidiomycota (Delarras, 2007).

Les champignons microscopiques ou mycètes comprennent :

- ✚ Les levures, champignons unicellulaires.
- ✚ Les moisissures, champignons filamenteux, ils sont ubiquistes, se rencontrent également sur les végétaux, les produits d'origine végétale, les viandes et les produits d'origine animale, les cadavres d'animaux et les déjections des animaux herbivores (Delarras, 2007).

I.3.2 *Le Fusarium oxysporum*

L'espèce *Fusarium oxysporum* est bien représentée parmi les communautés des champignons du sol, dans tous les types de sols dans le monde entier (**Burgess, 1981**). Cette espèce est également considérée comme un constituant normal des communautés fongiques dans la rhizosphère des plantes (**Gordon et Martyn, 1997**).

I.3.2.1 Définition

Le nom *Fusarium* est donné aux champignons dits « imparfaits ». Dans le genre *Fusarium*, les formes asexuées (anamorphes) sont les plus connues. Cependant, il existe quelques souches de *Fusarium* qui possèdent une forme parfaite (téléomorphe). Ces formes appartiennent à la classe des Ascomycètes, à l'ordre des Hypocreales, à la famille des Nectriaceae et aux genres *Gibberella*, *Nectria* et *Plectosphaerella* (**Rakotonirainy, 2014**).

Toutes les souches de *Fusarium oxysporum* sont saprophytes et capables de grandir et de survivre pendant de longues périodes sur la matière organique dans le sol et dans la rhizosphère de nombreuses espèces végétales (**Garrett, 1970**).

I.3.2.2 Description

Les colonies du *Fusarium* apparaissent rapidement, avec ou sans mycélium aérien cotonneux. Elles sont pales ou de couleur vive (selon les espèces). La couleur du thalle varie de blanchâtre à tons jaunes, roses, rouges ou pourpres. Les espèces de *Fusarium* produisent généralement à la fois des macros et micros conidies de phialides minces. Les macros conidies sont hyalines, deux à plusieurs unicellulaires, fusiforme à forme de faucille, la plupart du temps avec une cellule apicale allongée et pédicellée basocellulaire (**brillowska et al., 2013**).

Les micros conidies sont un ou deux unicellulaires, hyalines, plus petites que macroconidies, piriformes, fusiformes à ovoïde, droites ou courbes. Les Chlamydospores peuvent être présents ou absents (**brillowska et al., 2013**).

I.3.2.3 Taxonomie

La taxonomie de *Fusarium* a été basée sur les caractéristiques morphologiques de l'anamorphe, y compris la taille et la forme des macroconidies, la présence ou l'absence de

macroconidies et des chlamydozspores, la couleur des colonies et la structure des conidiophores (Windels, 1992 ; Bekkar, 2016).

Règne : fungi

Division : ascomycota

Classe : deutéromycètes

Ordre : moniliales

Famille : tuberculariaceae

Genre : *fusarium*

Espèce : *fusarium oxysporum ciceris* (Bekkar, 2016).

I.3.2.4 Cycle infectieux

Fusarium oxysporum est un habitant du sol ou il croit sur des débris de plantes ou survit en forme de chlamydozspores. Ces dernières restent dormantes et immobiles jusqu'à la stimulation de la germination par des substrats organiques ou exsudats racinaires. Suite à la germination, il y a formation d'un mycélium. Si les conditions sont favorables, le thalle produit des conidies (Agrios, 2005).

En présence d'une plante hôte, le mycélium envahit les racines suite à la pénétration de l'épiderme, et on observe le développement des symptômes de la maladie chez la plante (figure3) (Abed, 2017).

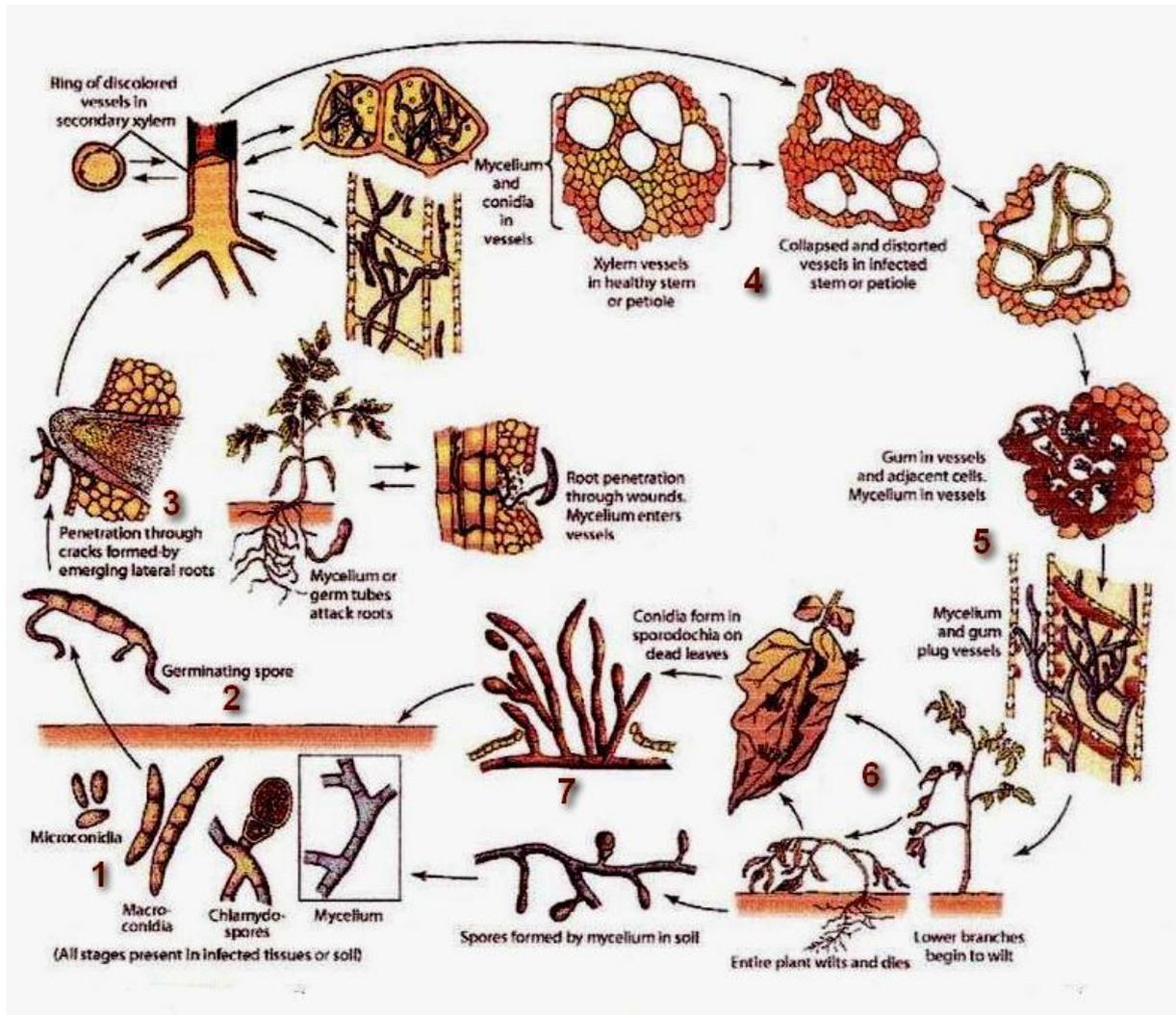


Figure 3 : Cycle de vie de *Fusarium oxysporum* (Abed, 2017).

I.3.2.5 Altération

Les pathogènes de la fusariose montrent un haut niveau de spécificité de l'hôte et, en fonction de l'espèce végétale et de la plante cultivars qu'ils peuvent infecter (Armstrong et Armstrong, 1981). Les espèces de *Fusarium* provoquent des maladies qui entraînent des pertes économiquement importantes chez les plantes cultivées aux champs et en serre (Fravel et al., 2003). Le *Fusarium oxysporum* comporte des formes phytopathogènes les plus fréquentes et les plus importantes de la microflore fongique des sols cultivés (Baayen et al., 2000). Ils pénètrent dans les racines induisant soit des pourritures ou trachéomyose quand ils envahissent le système vasculaire. Beaucoup d'autres souches peuvent pénétrer dans les racines, mais ne pas envahir le système vasculaire ou provoquer une maladie (Olivain et Alabouvette, 1997).

II. Matériel et méthodes

II.1 Matériel

II.1.1. matériel végétale

Les graines de *Peganum harmala* ont été achetées chez un herboriste à la wilaya de Bordj Bou Arreridj, au mois de mars 2018 (**figure 4**), elles ont été ensuite nettoyées des impuretés, lavées avec de l'eau de robinet et séchées à l'abri de la lumière pendant quelques jours, ensuite broyées à l'aide d'un mortier en poudre moyennement fine, à partir de laquelle l'extrait méthanolique et l'huile fixe ont été préparés.

La plante utilisée dans notre étude est identifiée selon les données descriptives de ses caractéristiques morphologiques (**Bruneton., 1999 ; Couplan et styner, 2000**).



Figure 4 : La plante de *Peganum harmala* au mois de Mars (Photo originale).

II.1.2. Souches de moisissures

La moisissure *Fusarium oxysporum* a été obtenue auprès du laboratoire de phytopathologie de l'université de Mohammed El Bachir El Ibrahimi-Bordj Bou Arreridj. L'identification s'est effectuée par M^r Dahou.

II.2 Méthodes

II.2.1 préparation des extraits

II.2.1.1 préparation de l'extrait méthanolique (EBG)

La macération consiste à laisser reposer la ou les plantes dans un liquide, de l'eau, de l'alcool, de l'huile ou même du vinaigre, afin d'en extraire les principes actifs. 50g de poudre de graines sont agités dans 250ml de méthanol pendant 1h 30min (300RPM).Le mélange est macéré pendant 48h à l'abri de la lumière, à une température ambiante. La filtration est effectuée sous vide à l'aide d'un entonnoir et d'un coton puis avec papier wattman (n°3), le solvant est évaporé au rota vapeur pour obtenir l'extrait brut (**figure5**).

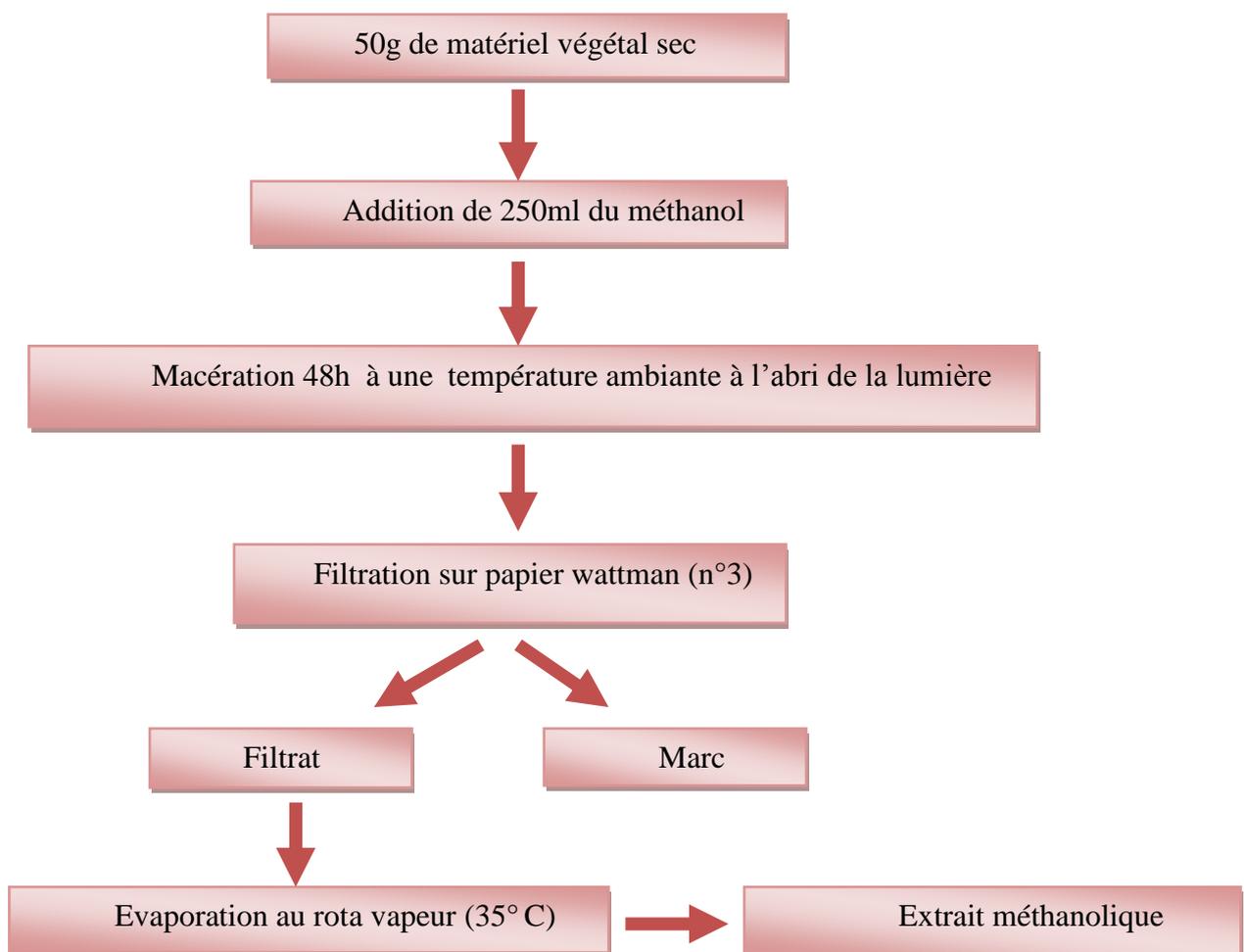


Figure 5 : Protocole de préparation des extraits bruts des graines par macération (Benbott *et al.*, 2013).

L'extrait brut est par la suite séché dans l'étuve à 35°C pendant 48h puis gratté et conservé à 4 °C jusqu'à son utilisation.

Le rendement calculé par rapport au poids de la poudre est exprimé par l'équation ci-dessus

$$Rdt = \frac{Meb}{Mvg} \times 100$$

Rdt : rendement (en%).

Meb : masse de l'extrait brut obtenu.

Mvg : masse végétale.

II.2.1.2 Extraction de l'huile fixe

Deux méthodes sont utilisées dans le but d'extraire l'huile fixe à partir des graines de *Peganum harmala*.

Par macération

50g des graines finement broyées sont agitées avec 250 ml d'éther de pétrole pendant 3 à 4h à une température ambiante et à l'abri de la lumière. Le mélange est filtré une première fois à l'aide d'un entonnoir et d'un coton et une deuxième fois à l'aide d'un papier wattman (n°3). Afin d'obtenir l'huile fixe, le filtrat est déposé sous la hôte pendant 3 jours durant lesquels le solvant s'évapore.

Extraction par soxhlet

Un ballon contenant 300 ml d'hexane est surmonté d'une cartouche en cellulose contenant 50g de poudre des graines. L'huile des graines de *Peganum harmala* est extraite à chaud sous reflux pendant 3 heures (au moins 8 cycles sont nécessaires pour un épuisement total du contenu des graines). L'hexane mélangé avec l'huile issue de cette opération est évaporé en utilisant le rotavapeur (Akpan et Jimoh, 2006 ; Garba, 2006).

II.2.2 Analyse qualitative (Chromatographie sur couche mince) (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une technique de séparation des constituants d'un mélange complexe par entraînement à l'aide d'une phase mobile (solvant) le long d'une phase stationnaire (gel de silice), en se basant sur les phénomènes d'adsorption et de partage.

Pour analyser les différents extraits de la plante de *Peganum harmala*, une CCM a été réalisée sur plaques de gel de silice (20×20 cm, 60 F254) de marque MACHEREY-NAGEL(Germany). Pour une bonne séparation 2 éluants (phases mobiles) sont utilisés :

- Phase mobile 1 : Hexane/ACET : 20/4 qui permet une meilleure séparation de l'huile fixe (HFG).
- Phase mobile 2 : CH₃CL₃/MeOH/ACET/H₂O : 20/50/30/0.2 qui permet une meilleure séparation de l'extrait brut (EBG).

Les plaques sont activées dans l'étuve pendant 3 min. Après dissolution de l'EBG dans le méthanol et de l' HFG dans l'hexane, nous déposons environ 5µl d'EBG (100 mg/ml) et de l'HFG à 40% avec 5µl de standard sur la plaque qui est ensuite séchée dans l'étuve puis introduite dans la chambre de migration préalablement saturée par les vapeurs de la phase mobile. Quand le front du solvant atteint 1cm du bord supérieur, le chromatogramme est retiré, séché puis visualisé séparément par deux systèmes de révélation :

- Révélation physique sous lampe UV à 254 nm.
- Révélation physique sous lampe UV à 365 nm.

Les standards utilisés sont : Vit E ; AG ; Qc ; Bcat. Les rapports frontaux des spots issus de la séparation sont calculés et comparés à ceux des standards permettant ainsi l'identification des constituants d'EBG et d'HFG.

II.2.3 Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans les extraits

II.2.3.1 Dosage des polyphénols totaux

La quantification de ses métabolites est effectuée selon plusieurs méthodes analytiques. La méthode la plus utilisée est celle de Folin-Ciocalteu.

➤ Principe

Le réactif Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀). L'oxydation en milieu

alcalin du réactif Folin-Ciocalteu par les groupements oxydables des composés phénoliques conduit à la formation d'un mélange d'oxyde bleu. L'intensité de la coloration produite, qui a une absorbance maximale à 765nm, est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait analysé (**Georgé et al., 2005**).

➤ **Protocole**

la quantité des polyphénols a été déterminée, en suivant le protocole réalisé par **Li et ses collaborateurs (2007)**. Brièvement 1 ml de réactif de Folin (10 fois dilué) est ajouté à 200 µl d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) avec des dilutions convenables, Après 4 min, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 765nm par spectrophotométrie. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-120 µg/ml) et est exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

II.2.3.2 Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes, dans les extraits de *Peganum harmala*, a été effectuée par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl₃), en suivant le protocole de **Bahorun et ses collaborateurs (1996)**.

➤ **Principe**

La formation d'une liaison covalente entre le trichlorure d'aluminium et les groupements hydroxyles (OH) des flavonoïdes produise un complexe de couleur jaune ayant une absorbance maximale à 430nm (**Ababsa, 2009**).

➤ **Protocole**

À 1ml d'échantillon, 1ml de la solution d'AlCl₃ (2% dans de l'méthanol) est ajouté. Après 10min d'incubation, à température ambiante et à l'abri de la lumière, les absorbances sont mesurées par le spectrophotomètre à 430nm. Toutes les manipulations sont répétées 3 fois. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-60 µg/ml) et est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait) (**Ababsa, 2009**).

II.2.4 Evaluation de l'activité antifongique

II.2.4.1 Préparation de milieu de culture

Le milieu de culture utilisé dans cet essai est le PDA (Potato dextrose agar) :

200g de pomme de terre, 20g de glucose, 20g d'agar –agar, 1000ml d'eau distillée. Le PDA est incliné et conservé à une température de 4 °C

II.2.4.2 Préparation de moisissures

La culture de la souche fongique *Fusarium oxysporum* maintenue dans le milieu PDA est incubée dans l'étuve à 25°C pendant 3 jours. Avant L'utilisation, des fragments de *Fusarium* sont agités dans 10 ml d'eau physiologique stérilisée préalablement dans l'autoclave puis conservés pendant 24h à 4 C° pour une meilleure libération des spores (figure 6).

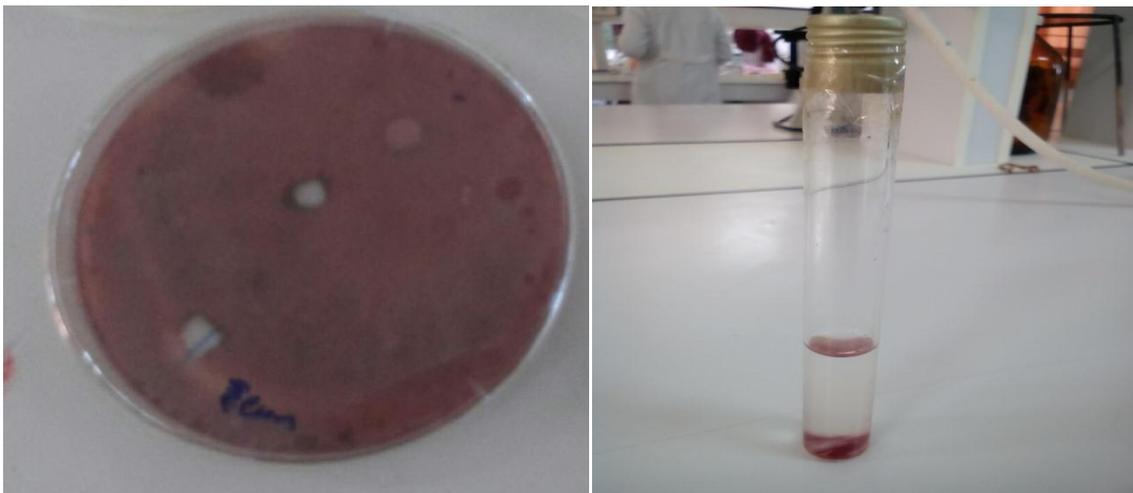


Figure 6 : Aspect macroscopique de *Fusarium oxysporum*.

II.2.4.3 évaluation de l'activité antifongique

Le test antifongique est réalisé selon la méthode décrite par **Srifi (2011)** avec quelques modifications. Pour cela une gamme de 5 concentrations de l'extrait méthanolique et de l'huile fixe des graines de *Peganum harmala* a été préparée comme suit :

- 25mg/ml
- 50 mg/ml

- 100 mg/ml
- 200 mg/ml
- 400 mg/ml

Les différentes concentrations de l'extrait brut sont diluées dans le DMSO.

Dans du tween 80% dilué (3ml de tween sont dilués dans 97ml de l'eau distillé), les concentrations suivantes de l'huile fixe ont été préparées :

- 5% (5µl/100 µl de Tween dilué).
- 10% (10µl/100µl de tween dilué)
- 20% (20µl/100µl de tween dilué)
- 40% (40µl/100µl de tween dilué)
- 60% (60µl/100µl de tween dilué)

▪ Préparation des boîtes

Après fluidification du milieu PDA au bain-marie à 50°C, on coule dans la zone stérile un volume de 20 ml de ce milieu dans les boîtes de pétrie et on laisse refroidir à température ambiante pendant 2h (pour une meilleure solidification du milieu dans les boîtes de pétri).

L'ensemencement est fait à partir des suspensions de champignons *Fusarium oxysporum* préparées dans 10 ml d'eau physiologique autoclavée.

À l'aide d'une pipette pasteur, on creuse trois puits (5mm de diamètre) sur le milieu de culture dans chaque boîte semi ouverte. Nous avons préparé 5 boîtes pour l'EBG, 5 pour l'HFG et 2 pour le témoin (l'une pour l'EBG et l'autre pour l'HFG).

Chacun des 3 puits est rempli avec un volume de **5µl** de gélose molle pour éviter la diffusion de nos extraits sous PDA. Après 15 min (durant lesquelles la gélose molle sèche), on pose environ **20µl** d'extrait ou d'huile fixe dans chaque puits.

- La boîte témoin de l'EBG : les 3 puits contenant chacun **20µl** de solvant DMSO.
- La boîte témoin de l'HFG : les 3 puits contenant chacun **20µl** de Tween dilué.

On laisse pré-diffuser les produits (l'EBG et l'HFG) pendant 30 min à température ambiante. Les boîtes sont bien fermées avec du para film dans la zone stérile, puis placées dans l'étuve à **25°C**. Le suivi s'effectue quotidiennement.

NB : La manipulation de l'activité antifongique est effectuée entre les becs benzène (zone stérile) pour éviter la contamination.

III. Résultat et discussion

III.1 Rendements des extractions

III.1.1 La macération (préparation de l'extrait brut des graines EBG)

L'extrait brut des graines de *Peganum harmala* est préparé selon la méthode de macération dans le méthanol. Après l'extraction et l'élimination de toute trace de solvant, le rendement calculé par rapport au poids de la poudre est le suivant. **Le tableau I** exprime le résultat.

Tableau I : Le rendement, l'aspect et la couleur de l'extrait brut.

Extrait	Aspect physique	Couleur	Rendement
EBG	Poudre	Brune	12.08%

Les résultats obtenus de l'extraction à partir des graines de *Peganum harmala* indiquent que cette plante contient une teneur remarquable de composés extractibles (**Kar, 2007**). Dans une autre étude réalisée par **Rezzagui (2012)** sur la même espèce, un rendement de 20.18% à été trouvé. Ce dernier est **proche** à nos résultats.

Il est important de souligner que la méthode utilisée (le choix des solvants), ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (à chaud ou à froid), affectent le contenu total en phénols et en flavonoïdes, par conséquent, les activités biologiques médiées par ces métabolites (**Lee et al., 2003**).

III.1.2 Extraction des huiles fixes des graines de *Peganum harmala*

L'extraction des huiles fixes à partir des graines de *Peganum harmala* est réalisée par deux méthodes ; la première est une macération dans l'éther de pétrole et la deuxième est une extraction par soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant, les rendements sont calculés et les résultats sont exprimés dans le **tableau II**.

Tableau II : les rendements, les aspects et les couleurs des huiles fixes obtenues.

Méthode d'extraction	Aspect physique	Couleur	Rendement
Par macération	Poudre	Brune	5.08%
Par soxhlet	Poudre	Brune	2.2%

Le tableau II montre des rendements différents obtenus par deux méthodes différentes en utilisant des solvants différents. En plus, la méthode de macération dans l'éther de pétrole donne un rendement deux fois plus élevé en comparaison avec celui de la méthode d'extraction par soxhlet. Selon **Su et ses collaborateurs (2006)**, le rendement de la méthode d'extraction dépend de plusieurs facteurs à savoir : le temps de macération, la température, le solvant utilisé et la nature chimique de l'échantillon

III.2 Analyse qualitative (la chromatographie sur couche mince)

III.2.1 la CCM des différents extraits des graines de *Peganum harmala*

Pour ses faibles contraintes techniques, son emploi simple et son coût modeste, la CCM est un outil de choix pour l'analyse phytochimique. De ce fait, nous avons opté pour cette technique dans le but d'analyser qualitativement les différents constituants qui peuvent être probablement trouvés dans nos extraits (l'EBG ; l'HFG) de *Peganum harmala*. Deux phases mobiles sont utilisées :

- ✓ Phase mobile 1 : Hexane/ACET 20/4
- ✓ Phase mobile 2 : CH₂Cl₂/MeOH/ACET/H₂O 20/50/30/0.2

La révélation est réalisée par l'observation sous lumière ultraviolet (254 - 365nm) (**figure 7 et 8**). Selon **Hassani et Miloud (2013)**, l'examen par CCM de l'extrait et de l'huile fixe des graines de *Peganum harmala* montre que, par le procédé d'extraction utilisé (par soxhlet), l'huile fixe de *Peganum harmala* contient une teneur importante d'alcaloïdes ou dominant l'harmaline et l'harmine. Cette teneur en alcaloïdes et le faible rendement d'extraction de l'huile à partir des graines en font évidemment une huile impropre à la

consommation, contrairement a ce qui a été proposé par certains auteurs (Siddiqui et Afza, 1978).

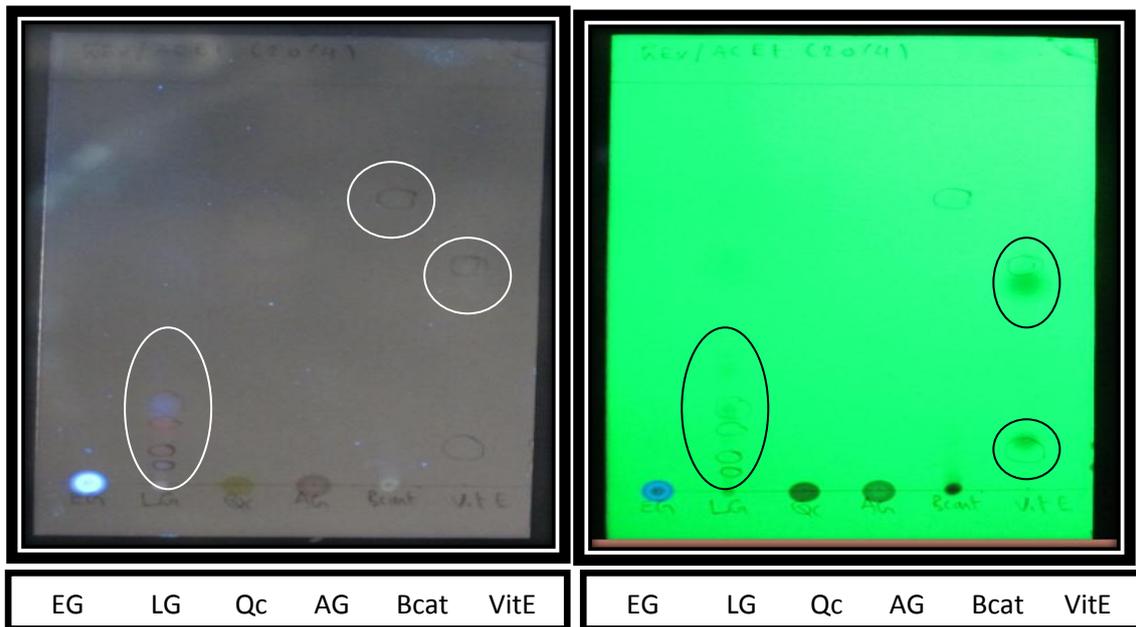


Figure 7: Séparation par CCM de l'extrait brut et d'huile fixe des graines de *Peganum harmala*. Phase mobile 1 : Hexane/ACET : 20/4 sous UV 365 et 254nm.

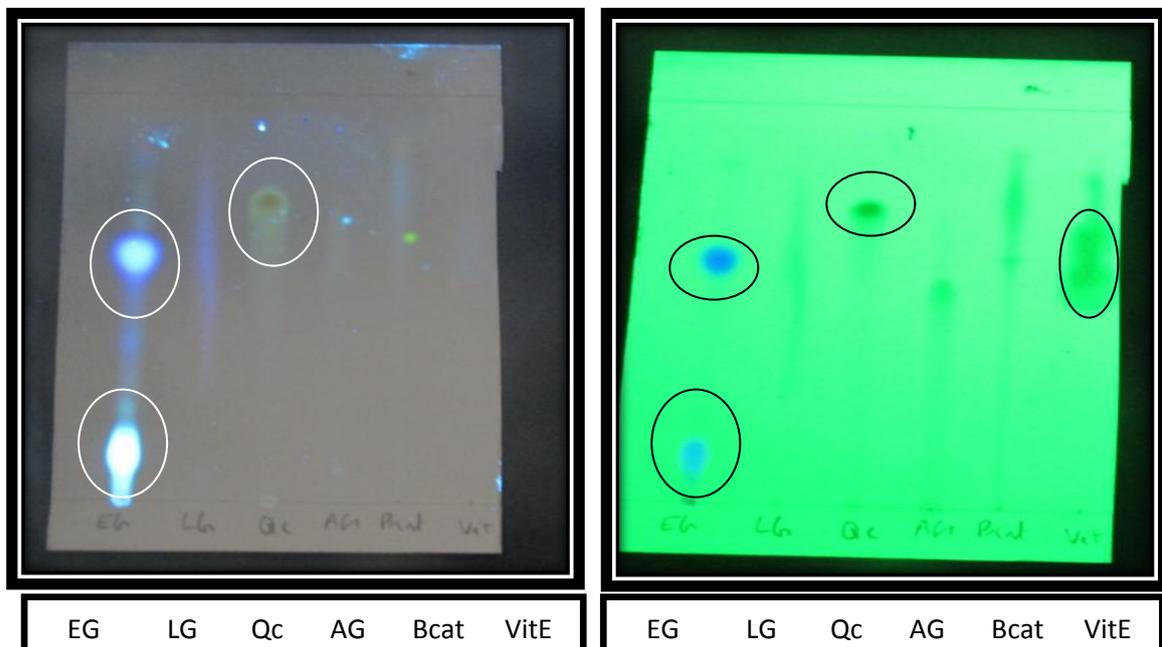


Figure 8: Séparation par CCM de l'extrait brut et d'huile fixe des graines de *Peganum harmala*. Phase mobile 2 : $\text{CH}_3\text{CL}_3/\text{MeOH}/\text{ACET}/\text{H}_2\text{O}$ 20/50/30/0.2 Révélation : sous UV 365 et 254nm.

La chromatographie sur couche mince de l'extrait brut et de l'huile fixe des graines de *Peganum harmala* nous a permis de séparer plusieurs substances qui sont apparues sous formes des spots colorés sous l'UV à 254 et 365nm.

Suite à l'observation sous la lampe UV (254 et 365nm), la comparaison des Rfs des spots issus de la séparation de l'EBG et de l' HFG avec ceux des témoins utilisés permet d'avoir une idée sur les composés présents dans les graines de *Peganum harmala* les résultats sont présenté dans les **tableaux III et IV**.

Le rapport frontal (Rf) définit par la formule :

$$Rf = \frac{\text{Distance parcourue par la substance}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

Tableau III: Rapports frontaux des spots issus de la séparation d'EBG et de l'HFG de *Peganum harmala* avec les standards utilisés pour la phase mobile 1.

Extrait / standards	Révélation à 254nm	Révélation à 365nm
EBG	-	-
HFG	0,03. 0,07. 0,13 . 0,17 .0, 27 .0, 5	0,03. 0,07. 0,13 . 0,17 .0, 27 .0, 5
Qc	-	-
AG	-	-
Bcat	-	0,68
VitE	-	0,13 .0, 5

🚦 phase mobile 1 Hexane/ACET

Suite à l'observation sous la lampe UV (365 nm) de la VitE (Rf : 0,13 et 0, 5) est probablement présente dans l'HFG. Cependant les Rfs des spots issus de l'HFG sous la lampe UV (254 nm) ne correspondent à aucun Rf des standards utilisés.

Tableau IV : Rapports frontaux des spots issus de la séparation d'EBG et d'HFG de *Peganum harmala* avec les standards utilisés pour la phase mobile 2.

Extrait / standards	Révélation à 254nm	Révélation à 365nm
EBG	0,08. 0,45 .0, 57. 0,75	0,08. 0,75
HFG	0,5	-
Qc	0,75	0,75
AG	0,48	0,48
Bcat	0,45	-
VitE	-	0,75

🚩 phase mobile 2 $\text{CH}_3\text{Cl}_3/\text{MeOH}/\text{ACET}/\text{H}_2\text{O}$

L'observation sous la lampe UV (365 nm) a montré que la quercétine et la VitE avec des Rfs : 0,75 ; 0,75 respectivement sont probablement présents dans l'EBG tandis que la révélation à 254 nm montre que la quercétine et la Bcat avec des Rfs : 0,75 ; 0,45 respectivement peuvent également être présents dans l'EBG. Cependant le Rf du spot unique issu de l'HFG ne correspond à aucun Rf des standards utilisés.

Le spectre d'UV des différents composés présentés dans l'EBG est présenté dans la **figure(9)** qui montre la présence des absorbances différentes correspondant à des pics différents pour les longueurs d'ondes suivantes : λ_{max} : 663.40, 426.20, 415.00, 409.4, 404.4

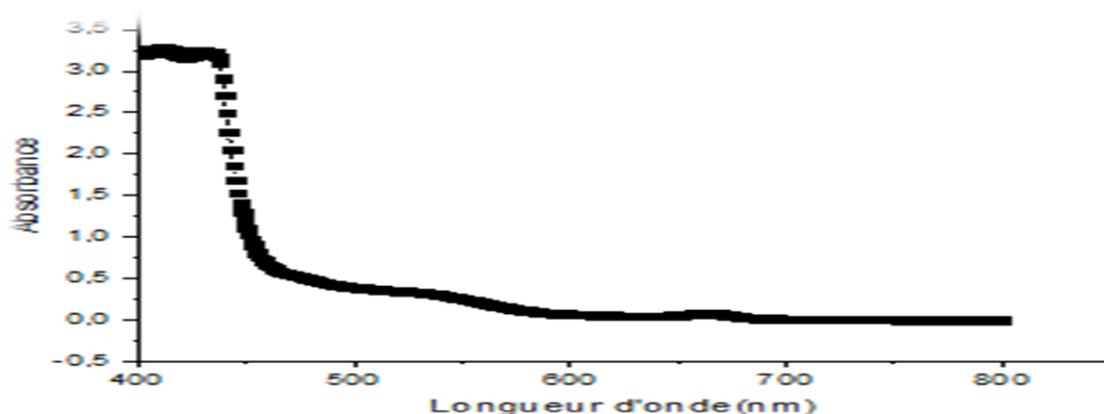


Figure 9 : Spectre UV des composés d'EBG

Le spectre d'UV des différents composés présents dans l'HFG est présenté dans la **figure (10)** qui montre la présence des absorbances différentes correspondant à des pics différents pour les longueurs d'ondes suivantes λ max : 669.00, 533.40, 471.80, 443.20, 412.2, 304.6, 294.80, 284.00

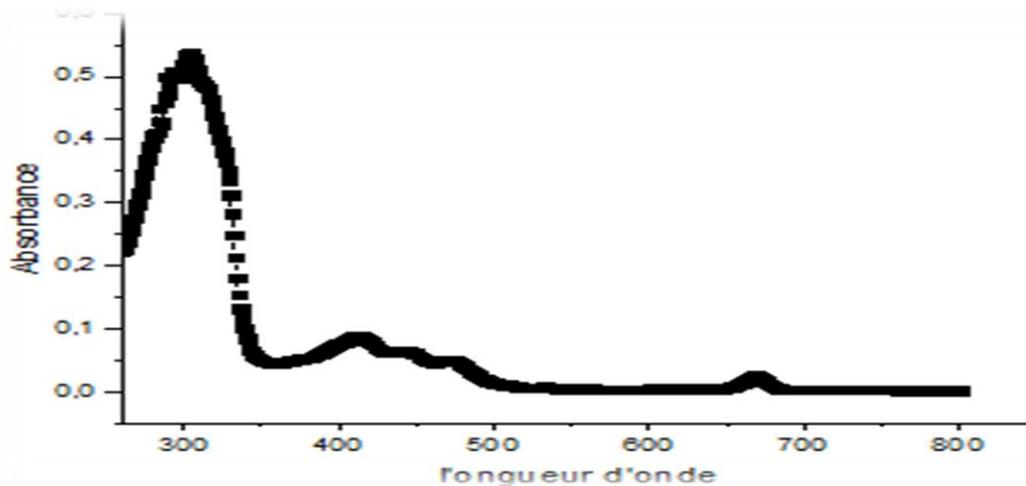


Figure10 : Spectre UV des composés de l' HFG

III.3 Analyse quantitative

III.3.1 Teneur en polyphénols totaux

Un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué dans le but d'estimer leur teneur dans l'EBG de *peganum harmala*

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait brut des graines de *Peganum harmala* a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu (**Li et al., 2007**) qui a été choisie pour les raisons suivantes :C'est une méthode qui satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité, elle est bien standardisée, la grande longueur d'ondes (765nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent colorée et c'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche à travers le monde (**Huang et al ., 2005**) l'acide gallique a été utilisé comme standard.

La quantité des polyphénols totaux a été rapportée en microgramme d'équivalent de l'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG}/\text{mg}$ d'extrait). Les résultats obtenus sont représentés par une courbe d'étalonnage (**Annex**), ayant comme l'équation: $Y= 0.006x + 0.026$ $R^2 = 0.990$

À partir de la courbe d'étalonnage, la teneur en polyphénols totaux d'extrait méthanolique des graines de *Peganum harmala* l'EBG est de 290.83 µg EAG/mg d'extrait.

La comparaison de nos résultats avec ceux trouvés par **Baghiani et ses collaborateurs (2012)** à montré une faible teneur (27.91) par rapport à ceux trouvés dans la présente étude. De même, **Rezzagui (2012)** a également trouvé que la teneur de l'extrait méthanolique des graines de *Peganum harmala* en polyphénols est plus faible que la notre 79,73 µg EAG/mg. Cette différence dans les teneurs peut être expliquée par les conditions environnementales, climatiques, la période de collecte ainsi que par les facteurs génétiques et les conditions expérimentales (**Boudjouref, 2011**).

III.3.2 Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été révélée par la méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorun et al ., 1996**) c'est une méthode simple, peu couteuse offrant une sensibilité, raisons pour lesquelles elle est plus pratique aux laboratoires d'analyses et pour le contrôle de qualité. En outre, cette méthode permet de déterminer la teneur totale en flavonoïdes même en présence d'autres composés polyphénoliques qui ne forment pas des complexes avec $AlCl_3$ (**Matyushchenko et stepanova, 2003**). Elle utilise comme standard la quercétine.

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en microgramme d'équivalent de la quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait). Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (**Annexe**), ayant l'équation: $Y = 0.041x + 0.066$
 $R^2 = 0.0997$.

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium dans le présent travail a révélé que l'extrait brut des graines est très riche en flavonoïde avec une teneur de 82.83 µg EAG/mg par rapport aux résultats obtenus par **Rezzagui (2012)** (4.03 ± 0.29) sur la même espèce.

III.4 Activité antifongique

III.4.1 Sensibilité des champignons aux différents extraits de *Peganum harmala*

Les champignons et les levures causent de graves pathologies qui touchent l'homme, parmi lesquelles on peut citer les mycotoxicoses (causés par *Aspergillus* et *Fusarium*). Dans notre étude, nous avons testés l'activité antifongique des différents extraits des graines de *Peganum harmala* vis-à-vis la souche fongique *Fusarium oxysporum* par la méthode de diffusion en milieu solide (les puits).

Les diamètres des zones d'inhibition par l'EBG et de HFG de *Peganum harmala* après 7 jours d'incubation sont présentés dans les **tableaux V et VI**. L'EBG a montré des zones d'inhibition variant entre 10 à 13.3 mm (y compris le diamètre de puits) pour les concentrations de 100 à 400 mg/ml, les petites concentrations de 25 à 50 mg/ml n'ont montré aucune zone d'inhibition pour toute la durée d'incubation. En plus les, résultats montrent que l'inhibition débute après le premier jour d'incubation pour les concentrations les plus élevés de (200-400 mg/ml) (**figure 11**).

Tableau V : Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des différentes concentrations (mg/ml) d'EBG de *Peganum harmala*.

Incubation	Concentration mg/ml				
	25	50	100	200	400
1 jour	-	-	-	10 mm	11.6mm
2 jours	-	-	10mm	10.2mm	11.6mm
3 jours	-	-	11mm	13.1mm	12.3 mm
4 jours	-	-	11mm	13.1mm	12.3 mm
5 jours	-	-	11mm	13.1mm	13.3mm
6 jours	-	-	11.3mm	13.1mm	13.3mm
7 jours	-	-	11.7mm	13.1mm	13.3mm

En se basant sur les résultats des zones d'inhibition obtenus au cours de l'évaluation de l'activité antifongique par la méthode de diffusion dans des puits contre la souche mycélienne *Fusarium oxysporum*, on peut déduire les points suivants :

L'EBG s'est montré inefficace sur le *Fusarium oxysporum* à de faibles concentrations de 50 mg/ml et 25 mg/ml. L'effet inhibiteur exercé par cet extrait est apparu à partir des concentrations de 100 mg/ml ; 200 mg/ml ; 400 mg/ml avec des zones d'inhibition de 11,7, 13,5 et 13,3 mm respectivement après 7 jours d'incubation. D'après **Asgarpanah et Ramezanloo (2012)** les composés actifs les plus importants rapportés dans les graines de *Peganum harmala* responsables de ses effets pharmacologiques y compris l'effet antifongique sont des alcaloïdes β -carboline.

La plupart de ces alcaloïdes sont des alcaloïdes indoliques simples à **β carbolines** tels que, harmine, harmaline, harmalol, harmol, harman, tetrahydroharmine et harmalidine et des alcaloïdes **quinazolines** comme : Peganine (vasicine), vasicinone (**Mahmoudian et al., 2002 ; Lamchouri et al., 2013**) et déoxyvasicinone.

Les résultats obtenus pour l'HFG montrent que les diamètres des zones d'inhibition varient de 8 mm à 20 mm. L'inhibition débute à partir de 2^{ème} jours d'incubation pour toutes les concentrations de l'HFG testées (**figure 12**).

Tableau VI : Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des différentes concentrations (%) de l'HFG du *Peganum harmala*.

Incubation	Concentrations (%)				
	5%	10%	20%	40%	60%
1 jour	-	-	-	-	-
2 jours	8mm	10mm	10.6mm	10.6mm	11mm
3 jours	8.3mm	10.2mm	10.6mm	10.6mm	11mm
4 jours	13.3mm	14mm	17.3mm	17.1mm	19.3mm
5 jours	13.3mm	14mm	17.3mm	17.1mm	19.3mm
6 jours	13.3mm	14mm	17.3mm	17.1mm	20mm
7 jours	13.3mm	14mm	17.3mm	17.1mm	20mm

On remarque que le diamètre d'inhibition de la concentration minimale de l'HFG est égale à celui de la concentration maximale de l'EBG ce qui implique que l'HFG s'est avérée d'une activité antifongique plus efficace que l'EBG.

De plus, la présence de ces alcaloïdes pourrait impliquer des activités intéressantes, notamment antibactérienne (**Darabpour et al., 2011**), antiparasitaire (**Rahimi-Moghaddam et al., 2011**) et antifongique (**Nenaah, 2010**).

D'ailleurs **Aboualigalehdari et al. (2016)** a démontré que *Peganum harmala* a inhibé la formation de biofilm de la souche *Candida albicans*. Ainsi, plusieurs auteurs ont déjà montré que les métabolites secondaires les plus abondants dans les graines de *Peganum harmala* sont les alcaloïdes β -carboliniques et quinazoliniques avec un pourcentage d'environ 10% (**Khashimov et al., 1969 ; Zharekeev et al., 1974 ; Kartal et al., 2003 ; Frison et al., 2008**).

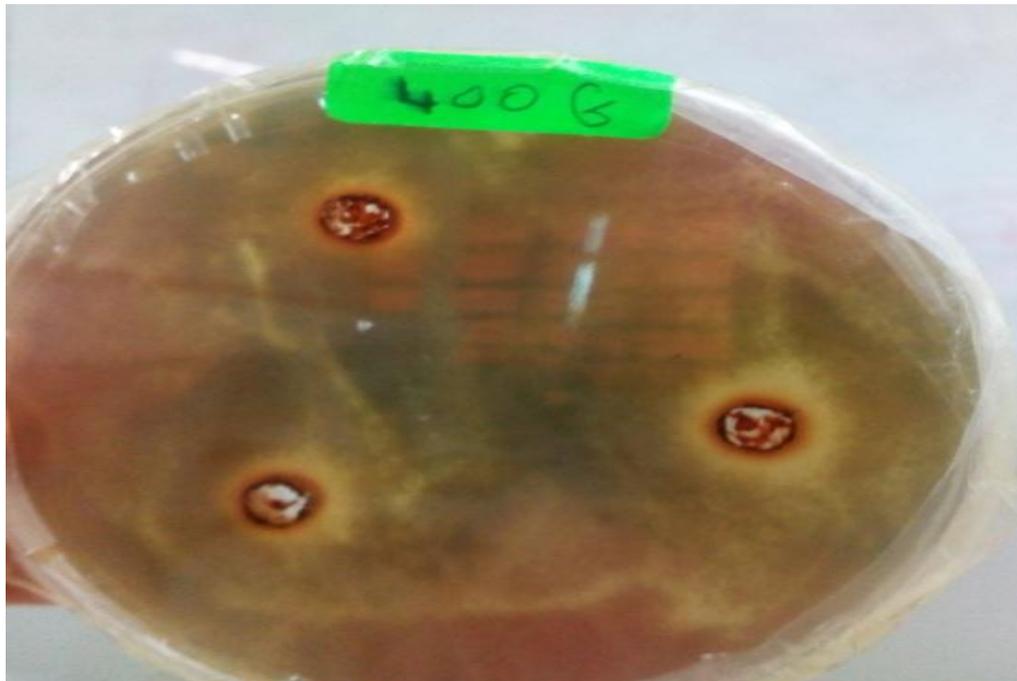


Figure 11 : Photo illustrant les zones d'inhibition de la croissance du *fusarium* par l'EBG
(C_{400mg/ml})



Figure 12 : Photo illustrant les zones d'inhibition de la croissance du *fusarium* par L'HFG
(C_{40%})

Conclusion

La flore Africaine en générale, et Algérienne en particulier, regorge d'une importante réserve de plantes à caractère aromatique et médicinal. Ainsi, l'utilisation des plantes médicinales occupe une place importante dans la médecine traditionnelle algérienne.

Ce travail a été mené dans le cadre de réaliser une étude phytochimique et de la valorisation de l'activité antifongique des différents extraits (EBG ; HFG) de la plante *Peganum harmala* qui appartient à la famille des Zygophyllaceae récoltée dans la région de BBA vis-à-vis la souche fongique *Fusarium oxysporum*.

La macération dans le méthanol dans le but de préparer l'EBG a permis d'obtenir un rendement de 12.08%, de plus, l'extraction des huiles fixes par macération et par soxhlet a permis d'obtenir des rendements de (5.08%) et de (2.2%) successivement .

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin –Ciocalteu a révélé la présence d'une teneur importante en polyphénols (290.83 µg EAG/mg d'extrait). Les flavonoïdes ont été évalués par la méthode de trichlorure d'aluminium AlCl₃, la teneur est de 82.83 µg EQ/mg d'extrait.

Les résultats obtenus de l'activité antifongique montrent que l'extrait méthanolique des graines de *Peganum harmala* à la concentration de C_{400mg/ml} est doté d'une activité antifongique importante sur le *Fusarium oxysporum* avec un diamètre d'inhibition de 13.3 mm. Cependant une meilleure inhibition a été marquée par l'HFG avec un diamètre d'inhibition très élevé qui atteint jusqu'à 20 mm.

Le présent travail pourrait être une porte qui s'ouvre encourageant le test de l'activité antifongique d'autres extraits des graines de *Peganum harmala* sur d'autres moisissures.

Références bibliographiques

Ababsa Z, 2009 :Caracterisation Pharmacotoxicologique et Etude Phytochimique De *Centaurea Dimorpha*. Thèse de Magistère, Université Mentouri, Constantine, Algérie.

Abbassi K., Mergaoui L., Atay Z., Stambouli A & Ghaout S, 2003 : Effets des extraits de *Peganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*) sur le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria*. Forskål, 1775). *Zool. Baetica* **13/14**, 203-217.

Abed H, 2017 : Dépistage et utilisation des rhizobactéries antagonistes (*Pseudomonas* et *Bacillus*) dans la lutte biologique contre la fusariose du pois chiche induite par *Fusarium oxysporum* F,S,P Ciceris. Leblham.(2005)Mémoire du Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM), Université de Bretagne Occidentale (UBO), 65p.

Aboura R, 2006 : Comparaison phytoécologiques des atriplexaies situées au Nord et au sud de Tlemcen. Thèse de Magister en Ecologie Végétale, Université Abou Baker Belkaid, Tlemcen, Algérie, 157p.

Achour S., Aadi H., Turent A., Banani A., Mokhtari A., Soulaymani A & Soulaymani Bencheikh R, 2012 : Intoxication au *Peganum harmala* L. et grossesse : deux observations marocaines. *Peganum harmala* L. poisoning and pregnancy: two cases in Morocco. *Med. Sante. Trop* **22**, 84-86.

Agedilova M., Turmukhambetov A., Schultz E., Shakirov M & Adekenov S, 2006 : Components of the aerial part of *Peganum harmala*. *Chemistry of Natural Compounds* **42**, 226-227.

Agrios G.N, 2005: plant pathology. 5 th ed., elsevier academic press, USA UK.

Aimé S, 1988 : Aspects écologiques de la présence de quelques espèces steppiques (*Stipa tenacissima*, *Lygeum spartum*, *Artemisia herba-alba*, *Noaea mucronata*) en Oranie littorale. *Biocénoses. Bull. Ecol. Terr* **3(12)**, 16-24.

Akpan U. G., Jimoh A & Mohammed A. D, 2006: Extraction, Characterization and Modification of Castor Seed Oil. *Leonardo J. Sci* **8**, 43-52.

Ammar R., Sghaier M.B., Boubaker J., Bhouri W., Naffeti A., Skandrani I., Bouhlel I., Kilani S., Ghedira K & Chekir-Ghedira L, 2008 : Antioxydant activity and inhibition of aflatoxin B1, nifuroxazide, and sodium acide-induced mutagenicity by extracts from *rhamnus alaternus* L. *Chem-biol inter* **174**, 1-10.

Arab R, 2000 : Effet insecticide des plantes *Melia azedarach* L et *Peganum Harmala* L sur l'insecticide des céréales stochées *tribolium castaneum* herbst (coleoptera, tenebrionidae). Mémoire option de valorisation des ressources végétales, université Ferhat Abbas, Sétif, pp. 20-22, 33-37.

Armstrong GM., Armstrong JK, 1981: Formaespeciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In: *Fusarium: disease, biology, and taxonomy*. Nelson PE., Toussoun TA & Cook RJ.eds., University Park, PA, USA: State University Press, pp. 391-399.

Asgarpanah J., Ramezanloo F, 2012: Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L. *Afr. J. Pharm. Pharmacol* **6**, 1573-1580.

Astulla A., Zaima K., Matsuno Y., Hirasawa Y., Ekasari W., Widyawaruyanti A et al, 2008 : Alkaloids from the seeds of *Peganum harmala* showing antiplasmodial and vasorelaxant activities. *J. Nat. Med* **62**,470–2.

Baayen R.P,2000 :Van den boogert P.H.J.F.,waalwijkc.

Baghiani A., Djarmouni M., Boumerfeg S., Trabsa H., Charef N., Khenouf S & Arrar L,2012 :Xanthine Oxidase Inhibition and Antioxidant Effects of *Peganum harmala* Seed Extracts. *European Journal of Medicinal Plants* **1**, 42-56.

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunete C., Dine T., GazinJ. C., Pinkas M., Luycky M & Gazin M, 1996: Oxigen species scavenging activity of phenolic extract from hawthorn fresh plant organs and pharmaceuticalpreparation.*Arzneimittel-forschung* **46**, 1086-1094.

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunete C., Dine T., Vasseur J., Gazin JC., Pinkas M., Luycky M & Gazin M, 1996: Oxygen species scavenging activity of phenolic extractfrom Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Drug Research*,1-6.

Bekkar A, 2016 : Pouvoire antagoniste et mode d'action de trichoderma vis à vis quelques chapignonsphytopathogènes.

Bellakhdar J, 1997 :La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press, Saint Etienne, 764 p.

Benbott L., Bahri L., Boubendir A & Yahia A, 2013: study of the chemical components of *peganum harmala* and évaluation of acute toxicity of alkaloids extracted in the wistar albinomice **4**,588-565.

BlackwellM,2011. The fungi:1,2,3...5.1million species. *American Journal of Botany*, 98(3):426–438

Boudjouref M, 2011: Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. thèse de magistère, université de sétif. 97pp

Boullard B, 1997 : Plantes and champignons: dictionnaire De Boeck Secundair, 875p.

Bouziane N, 2012 :Toxicité comparée des extraits d'*Euphorbia guyoniana* Boiss. &Reut. (*Euphorbiaceae*) et de *Peganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*) récoltés au SaharaSeptentrional Est algérien sur les larves et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). Thèse Magister en Sciences Agronomiques, Ouargla, 72p.

Bruinvels J., Sourkes T.L, 1968: Influence of drugs on the temperature lowering effect of harmaline. *European Journal of Pharmacology* **4**, 31–39.

Bruneton J, 1993 : Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes médicinales.2^{ème}Ed. Lavoisier, paris.

Bruneton J, 1999 : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.3^{ème} Ed., Tec et Doc, Lavoisier, paris, 1120p.

Bruneton J, 2001 : Plantes toxiques. Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Ed., Technique et documentation et EM1, Paris.

Burgess LW, 1981:General Ecology of the Fusaria. In: Fusarium: diseases, biology and taxonomy. Nelson PE., ToussounTA&CookRJ.eds., University Park, PA, USA: The Pennsylvania State University Press,pp. 225–235.

Chopra IC., Abral BK & Handa KL, 1960 : Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue botanique. UNESCO, 97p.

Chopra R.N., Chopra I.C., Handa K.L & Kapur L.D, 1958: Chopra's Indigenous Drugs of India. 2nd ed., UN Dhur and Sons Pvt. Ltd, Calcutta, India, 370p.

Claude L, 1967 : Contribution à l'étude du *Peganum harmala* L. (Hermel). Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Saint-Joseph, Beyrouth, 74p.

Couplan F., Styner E, 2000 : Guides des plantes sauvages comestibles et toxiques .Ed., delachaux et neistlé, Paris, pp.378-379.

Darabpour E., Bavi AP., Motamedi H & Seyyed-Nejad SM, 2011: Antibacterial activity of different parts of *Peganum harmala* L. growing in Iran against multi-drug resistant bacteria. *EXCLI J* **10**, 252-263.

Davood F., Nazanin M, 2005: Antidepressant-like effect of harmaline and other β-carbolines in the mouse forced swim test. *European Neuropsychopharmacology* **16**, 324-328.

Delarras C, 2007 : Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire .Ed., TEC et DOC. lavoisier.

Djedioui A, 2009 : Evaluation de l'activité hypoglycémisante et antihyperglycémisante de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* ; une plante de l'Est Algérien chez le rat avec un diabète induit. Thèse magister, Université d'Annaba, 55p.

Fan ZR., Yao XS, 1992: Studies on the constituents and pharmacological effects of *Peganum*. *J. Shenyang Coll. Pharm* **9**, 144-151.

Farouk L., Laroubi A., Aboufatima R., Benharref A & Chait A, 2007: Evaluation of the analgesic effect of alkaloid extract of *Peganum harmala* L. Possible mechanisms involved. *Journal of Ethnopharmacology* **115**, 449-454.

Farouk L., Laroubi A., Ouachrif A., Aboufatima R., Benharref A & Chait A, 2009: Study on Antinociceptive Activity of Different Extracts of *Peganum Harmala* and Possible Mechanism of Action. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics* **8**, 29-35.

Fravel D., Olivain C & Alabouvette C, 2003: *Fusarium oxysporum* its biocontrol.

Frison G., Favretto D., Zancanaro F., Fazzin G & Ferrara SD, 2008: A case of β-carboline alkaloid intoxication following ingestion of *Peganum harmala* seed extract. *Forensic Sci. Int* **179**, e37-e43.

Garba A, I, 2006: Production of Detergent from Castor Oil. *Pract. Technol* **9**, 153-160.

Garrett SD, 1970: *Pathogenic root-infection fungi*. London, UK: Cambridge University Press.

Georgé S., Brat P., Alter P & Amiot JM, 2005: Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 1370-1373.

Gordon TR., Martyn RD, 1997: The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annual Review of Phytopathology* **35**, 111-128.

Hammiche V., Merad R (page consultée en 1997) *Peganum harmala* L.
<http://www.inchem.org/documents/pims/plant/pim402fr.htm>

Herraiz T., González D., Ancín-Azpilicueta C., Arán V.J & Guillén H,2010 : Beta-Carboline alkaloids in *Peganum harmala* and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). *Food.Chem. Toxicol* **48(3)**, 839-45.

Hilal H.S., Young ken H.W, 1983: Certain poisonous plants of Egypt. In: Pharmaceutical Society of Egypt. The National Information and Documentation Centre. Ed., Dokki, Cairo, Egypt, pp. 88–90.

Hua S., Xiaoli H., Yuanming Z&Chi Z, 2013: Main Alkaloids of *Peganum harmala* L and Their Different Effects on Dicot and Monocot Crops. *Molecules* **18**, 2623-2634.

Huang D., Ou B &Prior R.L, 2005: The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 1841-1856.

Idrissi Hassani LM., Hermas J, 2008 : Effets de l'alimentation en *Peganum harmala* L (*Zygophyllaceae*) sur le tube digestif du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* Forsk (*Orthoptera, Acrididae*). *Zool. Baetica***19**, 71-84.

Idrissi LMH & Miloud EH, 2013 : Analyse de la composition de l'huile de *Peganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*). *Acta Bot. Gallica*, **146 (4)**. 353-359.

Jahandiez E., Maire R, 1932 : Catalogues des plantes du Maroc: Vol. II Minerva, Alger. 557 p.

Kar A., 2007: Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology.2nd Ed.,*New AgeInternational (P) Limited*,Daryaganj, New Delhi, pp.122-777.

Kartal M., Altun ML & Kurucu S, 2003: HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L. *Journal ofPharmacological and Biomedical Analysis* **31**,263-269.

Khashimov K., Telezhenetskaya M& Yunusov S, 1969: Desoxypeganine: A newalkaloid from *Peganum harmala*. *Chemistry of Natural Compounds* **5**,381-382.

Kirtikar K.R., Basu B.D, 1935: Indian Medicinal Plants.Vol 1.2nd ed., Lalit Mohan Basu, Allahabad, 457p.

Kurachko K., Umarov A& Markman A, 1969: The oil of the seeds of *Peganumharmala*. *Chemistry of Natural Compounds* **5**,358-359.

Lamchouri F., Settaf A., Cherrah Y., Hassar M., Zemzami M., Atif N., Nadori EB., Zaid A & Lyoussi B,2000 : *In vitro* cell-toxicity of *Peganum harmala* alkaloids on cancerous cell-lines. *Fitoterapia***71**, 50-54.

Lamchouri F., Zemzami M., Jossang A., Abdellatif A., Israili ZH&Lyoussi B,2013 : Cytotoxicity of alkaloidsisolatedfrom*Peganum harmalaseeds*. *Pak. J. Pharm. Sci* **26 (4)**, 699-706.

Lavergne (page consultée en 2013) *Zygophyllacées*.<http://www.universalis.fr/encyclopedie/zygophyllacees>

Le Bourgeois T., Merlier H, 1995 : Adventrop: les adventicés d'Afrique soudanosahélienne. Montpellier, CIRAD-CA, 640 p.

Lebham,2005 : Mémoire du Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM) ,Université de Bretagne Occidentale (UBO),65p.

- Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J & Lee C.Y, 2003:** Cocoa Has More phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 7292-7295.
- Li H B .,Cheng K W., Wong CC., Fan K W.,Chen F & Jiang Y, 2007:**Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae.*Food Chemistry* **102**,771-776.
- Li W.K, 1996:** Extraction of alkaloids from *Peganum harmala* L and study on their antihydatic chemical composition. *Journal of Lanzhou Medical College* **22**, 16–18.
- Li YK., 2005:** Study on the chemical constituents of above ground of *Peganum harmala* L. Master Dissertation, Northwest Agriculture Forestry University, Shanxi.
- Ma ZZ., Hano Y & Qiu F, 2007:** Triterpenoids from *Peganum nigellastrum*. *J. Asian. Nat. Prod. Res***9**, 575-578.
- Mahmoudian M., Jalilpour H & Salehian P, 2002:** Toxicity of *Peganum harmala*:Review and a Case Report. *Iranian Journal Of Pharmacology & Therapeutics***1(1)**, 1-4.
- Maihebiau, 1994 :** La nouvelle aromathérapie : biochimie aromatique et influence psychosensorielle est des odeurs .lausanne,635p.
- Maire R, 1933 :** Etudes sur la flore et la végétation du Sahara central, Vol 1 et 2 Impr. La Typo-litho, 272p.
- Malecky M.(2005)** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins.Doctorat de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech, 9- 13-19, 20, 27p.
- Mars B, 2009:**The Desktop Guide to Herbal Medicine. Publisher,ReadHowYouWant, 492 p.
- Matyushchenko N.V.,Stepanova T.A , 2003 :** quantitative determination of the total content of flavonoids in the new phytopreparation Elima.*pharmaceutical chemistry journal* **37**, 261-263.
- McCormick S.J., Tunnicliff G, 1998:** Inhibitors of synaptosomal gammahydroxybutyrate transport. *Pharmacology* **57**, 124–131.
- Mina CN., Mohammad H F & Gholamreza, 2015:** Medicinal properties of *Peganum harmala* L.In : traditional Iranian medicine and modern phytotherapy: a review. *J. Tradit. Chin. Med* **35(1)**, 104-109.
- Nedjimi B., Guit B, 2012 :** Les steppes algériennes : causes de déséquilibre. *Revue* **2(2)** ,50–61.
- Nenaah G, 2010:** Antibacterial and antifungal activities of (beta)-carboline alkaloids of *Peganum harmala* (L) seeds and their combination effects. *Fitoterapia* **81**,779–82.
- O'Hearn E., Molliver M.E, 1993:** Degeneration of Purkinje cells in parasagittal zones of the cerebellar vermis after treatment with ibogaine or harmaline. *Neuroscience* **55**, 303–310.
- Olivain C., Alabouvette C, 1997:**Colonization of tomato root by a nonpathogenic strain of *Fusarium oxysporum*. *New Phytologist* **137**,481–494

Ozanda P., 1991 : Flore et végétation du Sahara. In : mémoire de master Université des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers AboubakrBelkaïd-Tlemcen.3ème édition. Ed., CNRS, Paris,pp.662.

Ozenda P, 1977:Flore du Sahara. CNRS, 322p.

Parsons WT., Cuthbertson EG, 1992: Noxious Weeds of Australia. InkataPress,Melbourne, 692p.

Preedy VR., Watson RR & Patel VB, 2011: Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention. Academic Press, 1226 p.

Psychonaut, page consultée en 2006 : Conseil culture *Peganum harmala* L.<http://www.psychonaut.com/salon-annonces-generales/23382-conseilculture.html>

Quezel P., Santa S, 1963 : Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales du CNRS, 600p

Qurat UA, 2013:Isolation, Characterization and Pharmacological screening of major ingredients from a medicinally important plant, *Peganum harmala*.Master of philosophy in chemistry, University of Kashmir Srinagar, India, 36 p.

Rahimi-Moghaddam P., Ebrahimi SA., Ourmazdi H., Selseleh M., Karjalian M., HajHassani G., Alimohammadian MH., Mahmoudian M & Shafiei M, 2011:*In vitro* and *in vivo* activities of *Peganum harmala* extract against *Leishmania major*. *Journal of Research and Medical Science***16**, 1032-1039.

Rezzagui A, 2012 : Evaluation de l'effet toxique de l'extrait brut et de l'activité antioxydante des différents extraits des graines de *Peganum harmala*. Magister, universitéFerhat Abbas, Sétif, 78p.

Roché C, 1991: African rue (*Peganum harmala* L.). In : Weeds, A Pacific Northwest Extension Publication, Washington State University Cooperative Extension, Oregon State University Extension Service, University of Idaho Cooperative Extension System, USDA, PNW369.

Saeed S.A., Farnaz S., Simjee R.U & Malik A, 1993 :Triterpenes and Bsitosterol from piper betel: isolation, antiplatelet and anti-inflammatory effects. *Biochemical Society Transactions***21**, 462S.

Sharaf M., El-ansari MA., Stephen A M & Nabil AMS, 1997 : Four flavonoid glycosides from *Peganum harmala*.*Phytochemistry* **44(3)**, 533-536.

Sheahan MC, Chase M, 1996: A phylogenetic analysis of Zygophyllaceae R. Br. based on morphological anatomical and rbcL DNA sequence data. *Bot. J. Linn. Soc* **122**: 279-300.

Siddiqui S, Khan OY, Faizi S, Siddiqui B S, 1978: Studies in the chemical constituents of the seeds of *Peganum harmala*: Isolation and structure elucidation of two β -carboline lactams, harmalanine and harmalacidine. *Heterocycles* **27**: 1401-1410.

SRIFI A, 2011 :Etude phytochimique et évaluation de l'activitéantifongique *in vitro* des huiles essentielles de quartes espèces du genre *nepeta* du Maroc. Doctorat en Pharmacie, université Ibn Sina, Rabat, Maroc, 79p.

Su X., Duan J., Jian Y., Shi J & Kakuda Y, 2006: Effect of soaking conditions on the antioxidant potenials of oolong tea. *J. Food. Compos.Anal* **19**,348-353.

Tahri N., Rhalem N & Soulaymani R, 2004 : L'intoxication au Harmel, *Peganum harmala*. *Esperance Med* **10(5)** ,1-6.

Watson RR., Patel VB & Preedy VR., 2011: Nuts and seeds in health and disease prevention. Elsevier, Burlington, 597p.

Windels CE, 1992: Fusarium. In: Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. Singleton LL.,Mihail JD & Rush CM.ed.s., St Paul, MN, USA: American Phytopathological Society, pp.115–128.

Zharekeev B., Khashimov K., Telezhenetskaya M & Yunusov S, 1974: New alkaloids from *Peganum harmala*. *Chem Nat Compd***10**,282-283.

Annexes

Annexe 1 : Appareils et produits chimiques

Réactifs chimique

- + Méthanol
- + Ether de pétrole
- + Quercétine
- + Acide gallique
- + Folin Ciocalteu
- + DMSO
- + Tween80%
- + Carbonate de sodium
- + $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ (trichlorure d'aluminium hydraté)
- + L'hexane
- + le milieu de culture Potato Dextrose Agar (PDA) est préparé au niveau du laboratoire de phytopathologie.

Appareillage

- + Rota-vapeur (Germany, BUCHI461).
- + Bain marie (Memmert)
- + Agitateur magnétique (GP SELECTAS ACE)
- + Etuve(Memmert)
- + Autoclave
- + Spectrophotomètre visible
- + Bec benzène
- + Balance à précision(Kern)
- + L'hôte (EQUIPLABO)
- + Vortex (Top Mix)
- + Soxhlet.
- + Plaque chauffante
- + Ampoule à décanter de 250ml pour l'étape de la séparation de deux phases lors d'extraction de l'huile fixe

Annexe2 : les differentes préparation

1. Préparation de PDA



La préparation de PDA.

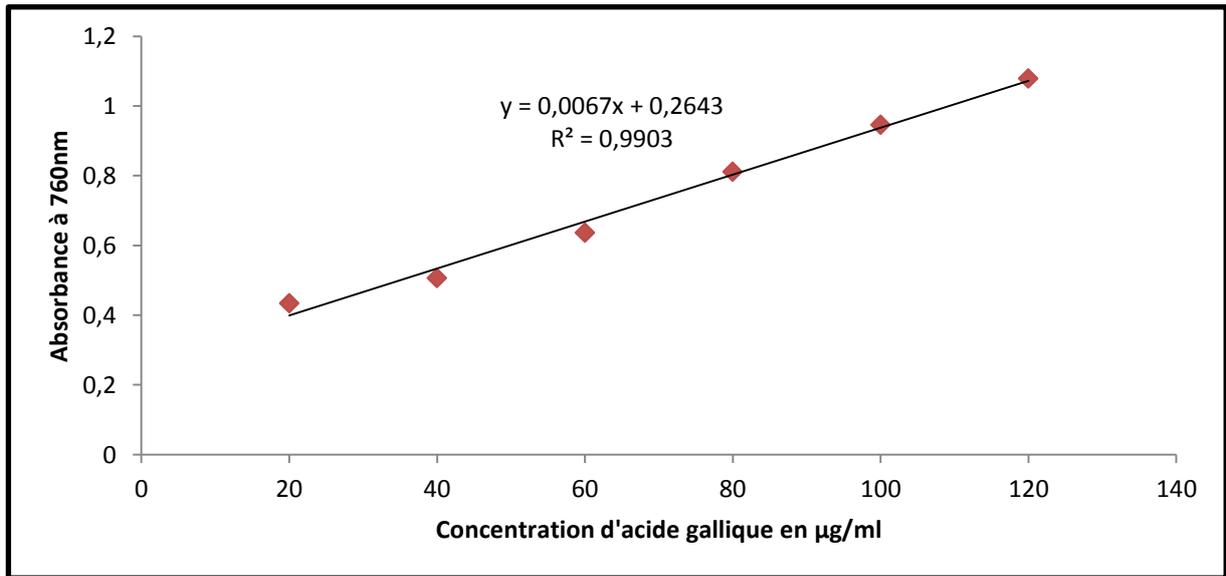
2. Préparation de gélose molle

0.4 g d'agar-agar sont agités dans 60ml d'eau distillée sur une plaque chauffante jusqu'à l'ébullition de cette préparation.

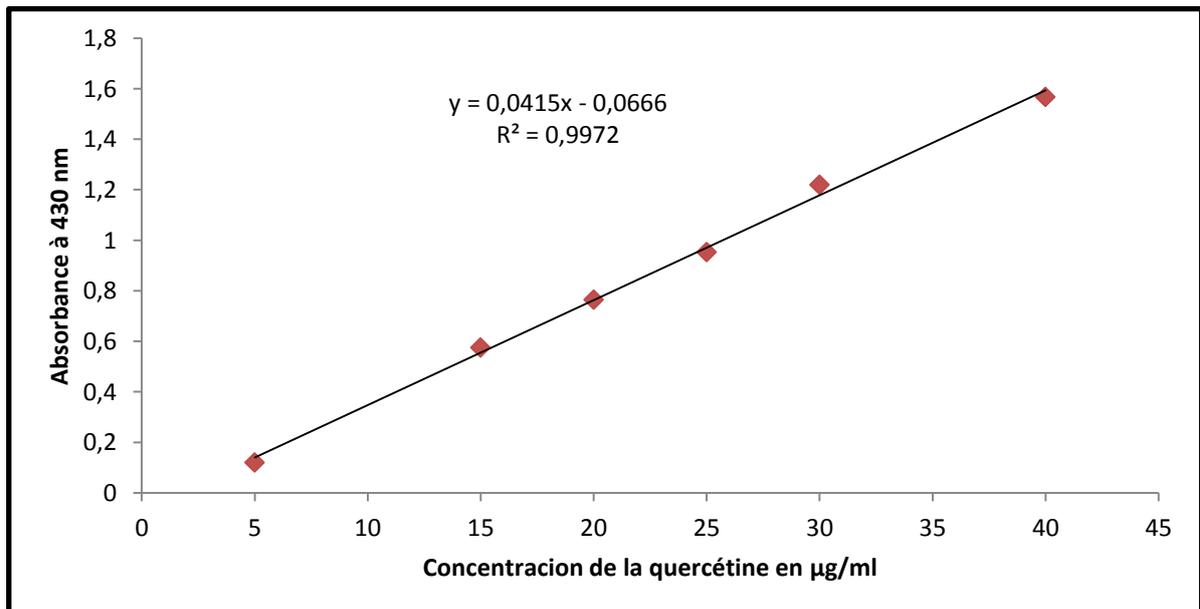
3. Stérilisation du matériel

L'eau distillée, le milieu de culture (PDA), la gélose mole, les tubes à essai, les embouts enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Annexe 3 : le dosage des polyphénols et flavonoïdes



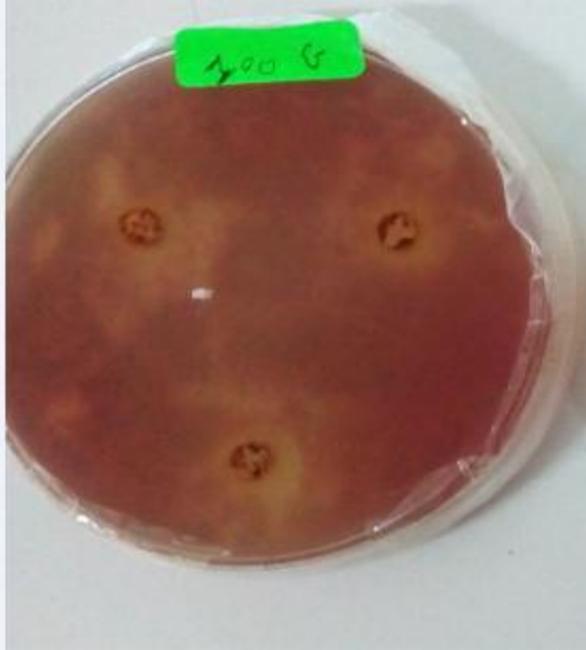
Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux



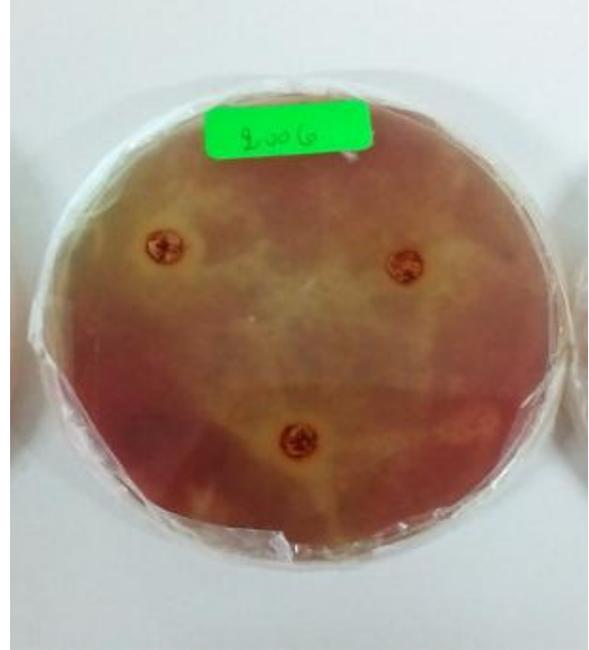
Courbe d'étalonnage de la quercitrine pour le dosage des flavonoïdes.

Annexe 4 : l'activité antifongique

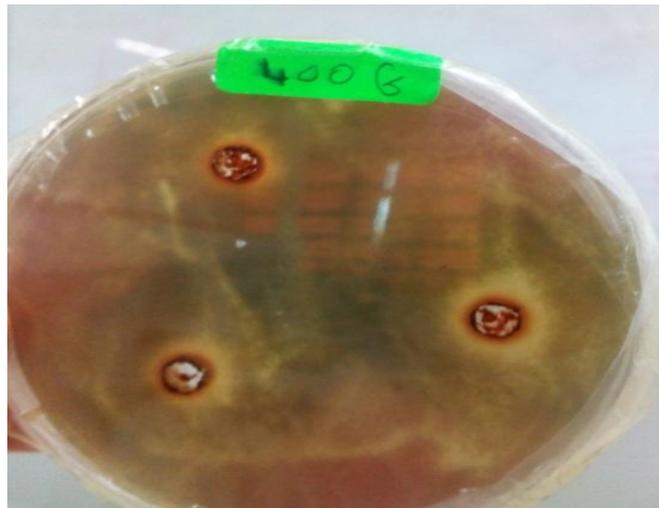
Photos illustrant les boîtes pétris dans lesquelles l'EBG et l'HFG ont donné une inhibition



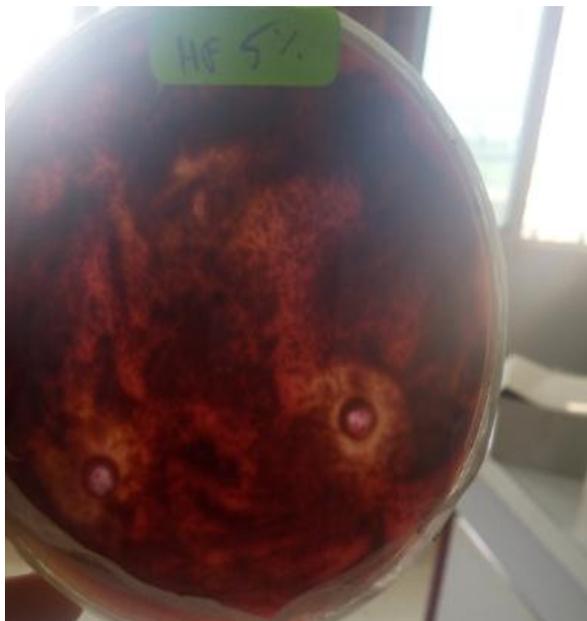
Diamètres d'inhibitions après 4 jours
 $C_{100\text{mg/ml}}$



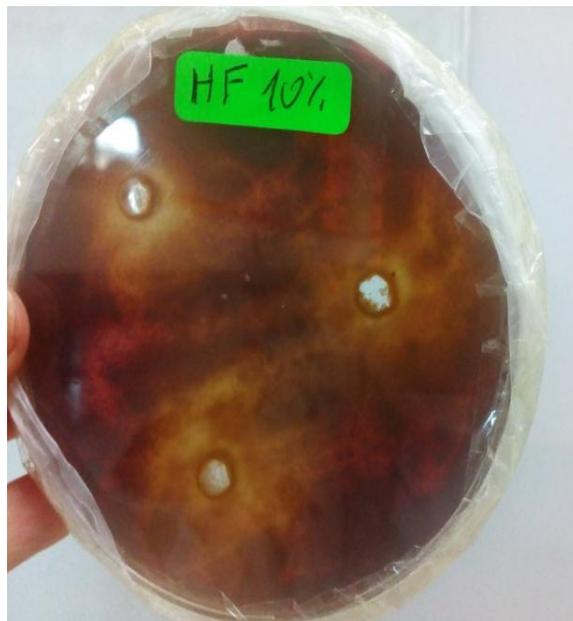
Diamètres d'inhibitions après 4 jours
 $C_{200\text{mg/ml}}$



Diamètres d'inhibitions après 4 jours $C_{400\text{mg/ml}}$



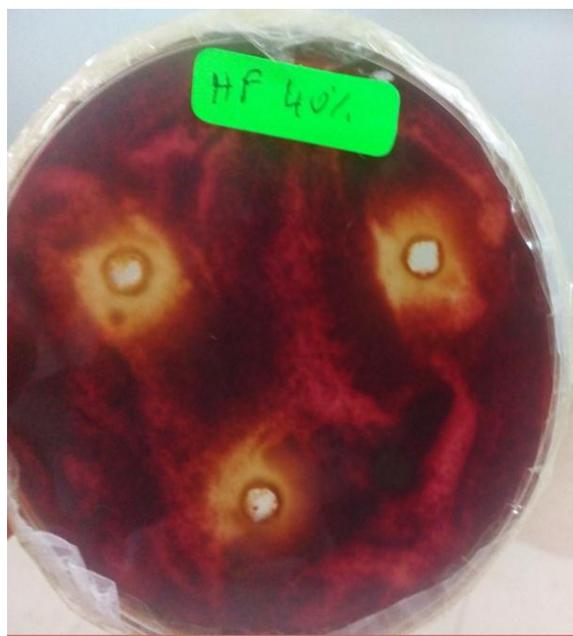
Diamètres d'inhibitions après 4 jours C_{5%}



Diamètres d'inhibitions après 4 jours C_{10%}



Diamètres d'inhibitions après 4 jours C_{20%}



Diamètres d'inhibitions après 4 jours C_{40%}



Diamètres d'inhibitions après 4 jours C_{60%}
