



République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la Recherche Scientifique Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers



Département de Biologie

Laboratoire valorisation des ressources végétales et sécurité alimentaire de l'université Bechar

Thèse

Présenté pour l'obtention du Diplôme de

Doctorat en Biologie

Option

Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments

Thème :

Etude de la composition chimique et de l'activité biologique de trois plantes médicinales *Vitex agnus castus* , *Panicum turgidum* et *Warionia saharea* de la région de Bechar sud ouest Algérien.

Présentée par : M^{ame} BOUNEGTA Madiha

Membres de Jury:

Pr LAZOUNI Hamadi Abderrahmane	Président	Université Tlemcen
Pr AZZI Rachid	Examineur	Université Tlemcen
Dr BEN LARBI Larbi	Examineur	Université Bechar.
Dr ZIANE Mohamed	Examineur	Université Ain timouchent.
Pr ABDELOUAHID Djamel. Edine	Directeur de thèse	Université Tlemcen
Pr MAKHLOUFI Ahmed	Co -Directeur de thèse	Université Bechar

Année Universitaire : 2021-2022

Remerciement

Ce travail a été réalisé au laboratoire de biologie à l'université Tahri mohamed de Bechar dirigé par le Professeur **Makhloufi Ahmed**. Je tiens à lui exprimer toute ma reconnaissance et mes sincères remerciements pour son accueil bienveillant, pour sa rigueur scientifique et ses encouragements ainsi pour la confiance qu'il m'a constamment témoignée.

Je remercie infiniment le Professeur **ABDELOUAHID Djamel Eddine** à la faculté de biologie université Abou bakr bekaid de Tlemcen pour sa précieuse collaboration dans ce travail

Qu'il me soit permis de lui exprimer dans ces lignes toute ma reconnaissance et mon profond respect.

Mes remerciements s'inscrivent et respectueux vont également à monsieur **LAZOUNI Hamadi Abderrahmane** Professeur à l'université Abou bakr bekaid de Tlemcen, pour avoir accepté de consacrer du temps, examiner et juger mon travail comme rapporteur, et pour siéger dans ce jury en y apportant sa compétence et son expertise.

Je remercie monsieur **AZZI Rachid** Professeur en biologie et enseignant au département de biologie à l'université Abou bakr bekaid de Tlemcen pour son aide à la réalisation de ce travail pour avoir accepté de consacrer du temps, examiner et juger mon travail comme rapporteur.

Mes remerciements s'inscrivent et respectueux vont également à monsieur **BEN LARBI Larbi** Docteur et enseignant chercheur à l'université Tahri mohamed de Bechar, pour avoir accepté de consacrer du temps, examiner et juger mon travail comme rapporteur, et pour siéger dans ce jury en y apportant sa compétence et son expertise.

Je remercie monsieur **ziane Mohamed** Docteur en biologie et enseignant au département de biologie à centre universitaire Ain Timouchent pour avoir accepté de consacrer du temps, examiner et juger mon travail comme rapporteur.

Je Remercie aussi les doctorantes **ABOU Faiza**, **BENMOULOUK Khadra**, et **BELAGUIDE Soumia** pour leur aide sur le plan pratique au laboratoire et le personnel du laboratoire pédagogique de l'université Tahri mohamed de Bechar pour leur aide, leurs encouragements et l'ambiance amicale qu'ils ont su créer.

Je dédie ce modeste travail à :

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; OUMI que j'adore.

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à ABI.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, mes chères sœurs, mes chers frères, mon mari, mes deux enfants Ibrahim et Khadidja, à mes chères Marwa, Safa et Ishaq, et tous les membres de ma belle famille, à ma aimable ami Bourri habiba.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études, amis, collègues d'étude, chacun à son nom.

يندرج هذا العمل في اطار تثمين ثلاثة نباتات طبية تنمو بشكل طبيعي في منطقة بشار. *Vitex* و *Warionia saharae* و *Panicum turgidum* و *agnus castus* وذلك بدراسة تركيبها الكيميائي وأنشطتها البيولوجية ، والمتمثلة في التأثير المضاد للميكروبات مضادات الأكسدة ومضادات السكري.

كشف الفحص الفيتوكيميائي للنباتات المدروسة عن وجود صابونوزيدات وعفص وقلويدات وأنثوسيانوسيدات وستيرولوترايبتيريين تم الحصول على أفضل مردود بنسبة: 16.08% للمستخلص المائي لنبات *Panicum turgidum* ، و 21.81% للمستخلص المائي *Warionia saharae* و 19.13% للمستخلص الميثانولي من *Vitex agnus castus*.

تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات على ستة سلالات بكتيرية (جرام + و جرام-) وأربع فطريات بطريقة الانتشار القرصي وطريقة التخفيف الدقيق. اظهر المستخلص الإيثانولي من *Warionia saharae* و *Vitex agnus castus* فعالية كبيرة على جميع السلالات البكتيرية باستثناء *Streptococcus agalactiae*. كما قدر الحد الأدنى للتراكيز المثبطة (MIC) لـ *Escherichia coli* و *Enterococcus faecalis* و *Staphylococcus aureus* بحوالي 6.25 مجم / مل و 3.125 مجم / مل لـ *Acinetobacter baumannii* ، وقد أظهر المستخلص الإيثانولي من *Warionia saharae* تأثيرًا قويًا على جميع السلالات الفطرية التي تم اختبارها. تعمل المستخلصات الإيثانولية والميثانولية من *Panicum turgidum* و *Vitex agnus castus* على إبطاء نمو السلالات الفطرية التي تم اختبارها.

أظهرت نتائج نشاط مضادات الأكسدة بطريقتي إرجاع الحديد (FRAP) وبحصر الجذور الحرة DPPH للمستخلصات الميثانولية والإيثانولية لـ *Vitex agnus castus* و *Warionia saharae* وجود قدرة كبيرة كمضاد للأكسدة. علاوة على ذلك ، قدم المستخلص الإيثانولي من *Panicum turgidum* نشاطًا منخفضًا جدًا ضد الجذور الحرة DPPH.

كما قدر الحد الأقصى للنشاط المضاد للسكري بالنسبة للمستخلص الإيثانولي للنبتين *Vitex agnus castus* و *Warionia saharae* ب 4 مجم / مل ، وان القوة المثبطة لـ α amylase تساوي 72.05% و 58.82% ، لـ α glucosidase ، 86.06% و 88.19% بتركيز 2 ملغ / مل على التوالي.

الكلمات المفتاحية: المستخلص ، *Warionia saharae* ، *Vitex agnus castus* ، *Panicum turgidum* ، النشاط المضاد للميكروبات ، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للسكري.

Ce travail s'inscrit dans le cadre de valorisation de trois plantes médicinales poussant spontanément dans la région de Béchar ; *Warionia saharae*, *Vitex agnus castus* ,et *Panicum turgidum* afin d'étudier in vitro leurs composition chimique et ses activités biologiques à savoir l'effet antimicrobien, antioxydant et antidiabétique.

Le criblage phytochimiques des trois plantes étudiées révèle la présence des saponosides , des tanins, des alcaloïdes, des anthocyanosides, stérols et tri-tèrènes..... Les meilleurs rendements sont obtenus avec : 16.08% pour l'extrait aqueux de *Panicum turgidum*, 21.81 % pour l'extrait aqueux de *Warionia saharae*, et 19.13 % pour l'extrait méthanolique de *Vitex agnus castus*.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur six souches bactériennes (Gram+ et Gram-) et quatre champignons selon la méthode de diffusion de disque et la méthode de microdilution. L'extrait éthanolique de *Warionia saharae* et *Vitex agnus castus* est le seul extrait actif sur toutes les souches bactériennes sauf *Streptococcus agalactiae*. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour *Escherichia coli* , *Enterococcus faecalis* ,*Staphylococcus aureus* sont de l'ordre de 6,25 mg/ml et 3.125 mg/ml pour *Acinetobacter baumannii* ,l'extrait éthanolique de *Warionia saharae* a montré un effet puissant sur toutes les souches fongiques testées .Par ailleurs les extraits éthanolique et methanolique de *Panicum turgidum* et *Vitex agnus castus* ralentissent la croissance des souches fongiques testées.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de réduction de fer (FRAP) et celle du piégeage de radical libre DPPH des extraits méthanolique et éthanolique de *Vitex agnus castus* et *Warionia saharae* ont montré l'existence d'un pouvoir antioxydant important. Par ailleurs l'extrait éthanolique de *Panicum turgidum* a présenté une très faible activité vis-à-vis le radical libre DPPH.

L'activité antidiabétique est maximale pour l'extrait éthanolique des deux plantes *Vitex agnus castus* et *Warionia saharae* à la concentration 4mg/ml , le pouvoir inhibiteur de l' α amylase est égale à 72.05% et 58.82% , pour α glucosidase, il est de 86.06% et 88.19% à la concentration 2mg/ml respectivement.

Mots clés: Extrait, *Warionia saharae*, *Vitex agnus castus* , *Panicum turgidum*, activité antimicrobienne, activité antioxydante, activité antidiabétique.

The present study aims to valorize three medicinal plants (*Warionia saharae*, *Vitex agnus castus*, and *Panicum turgidum*) growing spontaneously in Béchar region, by evaluating their chemical composition and biological activities, namely the antimicrobial, antioxidant, and antidiabetic effects.

The phytochemical screening of the studied plants revealed the presence of saponosides, tannins, alkaloids, anthocyanosides, sterols, and tri-terpenes. The highest yield was about 16.08% for the aqueous extract of *Panicum turgidum*, 21.81% for the aqueous extract of *Warionia saharae*, and 19.13% for the methanolic extract of *Vitex agnus castus*.

The antimicrobial activity was assessed against six bacterial strains (Gram+ and Gram-) and four fungi, using disk diffusion and microdilution assays. The ethanolic extract of *Warionia saharae* was the only active extract against all bacterial strains, except *Streptococcus agalactiae*. The minimum inhibitory concentrations (MIC) against *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* were around 6.25 mg/mL and 3.125 mg/mL against *Acinetobacter baumannii*. The ethanolic extract of *Warionia saharae* showed a powerful effect against all tested fungal strains. Furthermore, the ethanolic and methanolic extracts of *Panicum turgidum* and *Vitex agnus castus* slowed the growth rate of the fungal strains.

The evaluation of the antioxidant activity using the reduction of iron (FRAP) and DPPH free radical scavenging assays of methanolic and ethanolic extracts of *Vitex agnus castus* and *Warionia saharae* showed significant antioxidant potentials. Unlike, the ethanolic extract of *Panicum turgidum*, which showed a very weak activity against DPPH.

The maximal of antidiabetic activity of the ethanolic extract of *Vitex agnus castus* and *Warionia saharae* was about 4 mg/mL. Their inhibitory potentials against α amylase and α glucosidase were 72.05% and 58.82% respectively, and 86.06% and 88.19% at 2 mg/mL.

Keywords: Extract, *Warionia saharae*, *Vitex agnus castus*, *Panicum turgidum*, antimicrobial activity, antioxidant activity, antidiabetic activity.

Liste des abréviations

% pourcentage

cm centimètre

H.E Huile essentielle

µg microgramme

mg Milligramme

ml millilitre

CCM Chromatographie sur couche mince

CMI Concentration minimale inhibitrice

PDA Potatoes Dextrose Agar

UV Ultraviolet

IC50% Concentration efficace à 50%

v/v Volume à volume

Rf Rapport frontal

Liste des figures

Figure n° 01: Structure de base d'un flavonoïde	05
Figure n° 02: Tanins hydrolysables	08
Figure n° 03: Structure chimique des tanins condensées	08
Figure n° 04: Structure de base des coumarines.	09
Figure n° 05: Structure des anthocyanosides	09
Figure n° 06: Quelques structures de molécules composantes des huiles essentielles.	12
Figure n° 07: <i>Warionia saharae</i> Benth & Coss	13
Figure n° 08 : Carte géographique de répartition de <i>Warionia saharae</i> .	14
Figure n° 09 : <i>Panicum turgidum</i>	15
Figure n° 10 : distribution géographique de <i>Panicum turgidum</i>	16
Figure n° 11 : <i>Vitex agnus castus</i>	17
Figure n° 12: Structure tridimensionnelle de l' α - amylase	22
Figure n° 13 : Schéma de la région de collecte des échantillons	24
Figure n°14: <i>Vitex agnus castus</i> de la région Djedida	25
Figure n°15: <i>Warionia saharae</i> Benth & Coss de la région Djedida	25
Figure n°16: <i>Panicum turgidum</i> de la région Ouledkhoudir	25
Figure n°17: Etapes du screening phytochimique	27
Figure n°18 : Colonne de fractionnement.	34
Figure n°19: Réduction du radical libre DPPH	36
Figure n°20: Rendement en % des extraits pour <i>Warionia saharae</i> .	43
Figure n°21 : Rendement en % des extraits pour <i>Vitex agnus castus</i> .	43
Figure n°22 : Rendement en % des extraits pour <i>Panicum turgidum</i>	43
Figure n°23 : Présentation des zones d'inhibition des antibiotiques sur boîtes Pétri vis avis les souches de références.	45
Figure n°24: Activité antifongique de l'extrait éthanolique en mesurant la croissance radiale en cm.	48
Figure n°25 : Diminution de la croissance en fonction de l'augmentation de la concentration en extrait éthanolique.	49

Figure n°26 : Activité antifongique de l'extrait hexanique en mesurant la croissance radiale en cm.	49
Figure n°27 : Activité antifongique de l'extrait d'acétate d'éthyle en mesurant la croissance radiale en cm.	50
Figure n°28 : Les différentes fractions obtenues par chromatographie sur colonne de l'extrait éthanolique de <i>Warionia saharae</i> .	50
Figure n°29 : Séparation des fractions sur plaques CCM et leurs révélations sous lampe UV.	51
Figure n°30 : Activité antifongique des fractions (1, 2, 3) de l'extrait éthanolique en mesurant la croissance radiale en cm.	51
Figure n°31 : Indice antifongique des différents extraits sur la croissance des souches testées	53
Figure n°32 : Les quatre fractions obtenues de l'extrait éthanolique de <i>Vitex agnus castus</i> par chromatographie sur colonne.	54
Figure n°33 : Indice antifongique de différentes fractions sur la croissance des souches testées.	55
Figure n°34 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH de l'Acide Ascorbique	56
Figure n°35 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH des extraits bruts de <i>Warionia saharae</i> .	56
Figure n°36 : Concentration efficace à 50 % pour les extraits et celui de l'acide ascorbique.	58
Figure n°37 : % de réduction du radical libre DPPH des extraits bruts de <i>Vitex agnus castus</i> .	59
Figure n°38 : Absorbance de l'acide ascorbique en mg/ml.	61
Figure n° 39 : Absorbance des extraits bruts de <i>Vitex agnus castus</i> , <i>Warionia saharae</i> en mg/ml .	62
Figure n°40 : Activité inhibitrice de l'acarbose et les extraits éthanolique de <i>Warionia saharae</i> et <i>Vitex agnus castus</i> sur l'enzyme α amylase	
Figure n°41 : Activité inhibitrice de l'acarbose et les extraits éthanolique de <i>Warionia saharae</i> et <i>Vitex agnus castus</i> sur l'enzyme α glucosidase.	63

Liste des tableaux

Tableau n° 01 : Classification des composés phénoliques.	05
Tableau n° 02 : Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe	06
Tableau n° 03 : Classification selon Bentham & Cosson (1866)	13
Tableau n° 04 : Classification de <i>Panicum turgidum</i>	15
Tableau n° 05 : Classification systématique de <i>Vitex agnus castus</i>	18
Tableau n°06 : Souches bactériennes testées	28
Tableau n°07 : Screening phytochimique des parties aériennes des trois plantes	41
Tableau 08 : Antibiogramme	44
Tableau n°09 : Activité antibactérienne des extraits éthanoliques des trois plantes étudiées par la méthode de disque et la méthode de microdilution en mg/ml.	46
Tableau n°10 : Activité antifongique de l'extrait éthanolique de <i>Vitex agnus castus</i>	52
Tableau n° 11 : Activité anti-radicalaire en % des extraits et celle de l'acide ascorbique	56
Tableau n°12 : Valeurs des IC50 (en µg/ml) des extraits de <i>Warionia saharae</i> et celui de l'acide ascorbique.	57
Tableau n°13 : Valeurs des IC50 en ug/ml et le pouvoir antiradicalaire (ARP) des différents extraits de <i>Vitex agnus castus</i> .	60
Tableau n°14 : IC50 de l'extrait éthanolique de <i>Warionia saharae</i> et <i>Vitex agnus castus</i> de α amylase et α glucosidase.	64

Tables des matières

Remerciement	
Dédicace	
ملخص	I
Résumé.....	II
Abstract.....	III
Liste des abréviations et symboles.....	IV
Liste des figures.....	V
Liste des tableaux.....	VI
Tables des matières	
Introduction générale.....	1
Chapitre I : Généralité sur les plantes étudiées.....	03
Chapitre II Matériel et méthodes.....	23
II.1 Introduction.....	23
II.2 Criblage phyto-chimique des trois plantes.....	23
II.2.1 Origine géographique et période de récolte des plantes étudiées.....	23
II.2.2 Matériel végétal.....	24
II.2.3 Screening phytochimique.....	26
II.2.3.1 Préparation des extraits.....	26
II.2.3.2 Calcule du rendement	28
II.3 Etude des activités biologiques.....	28
II.3.1 Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne.....	28
II.3.1.1 Etude du comportement des souches vis-à-vis des antibiotiques(Antibiogramme)...	29
II.3.1.2 Etude du comportement des bactéries vis-à-vis les extraits.....	30
II.3.1.3 Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne par la méthode de micro dilution en milieu liquide.....	31
II.3.1.4 Expression des résultats.....	32

II.3.1.5 Détermination de la concentration minimale bactéricide CMB	32
II.3.2 Evaluation in vitro de l'activité antifongique.....	32
II.3.3 Evaluation de l'activité antioxydante	35
II.3.3.1 Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode du Piégeage du radical libre	35
II.3.3.2 Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode de FRAP.....	37
II.3.4 Evaluation in vitro de l'activité antidiabétique.....	38
II.3.4.1 Recherche d'effet inhibiteur vis-à-vis l'enzyme α amylase	38
II.3.4.2 Recherche d'effet inhibiteur vis-à-vis l'enzyme α glucosidase.....	39
II.3.4.3 Expression des résultats	40
II.3.4.4 Analyse statistique	40
Chapitre III Résultats et discussion.....	41
III.1 Screening phytochimique.....	41
III.2 Rendement des extraits des trois plantes étudiées.....	42
III.3 Activités biologiques étudiées.....	44
III.3.1 Activité antibactérienne.....	44
III.3.1.1 Antibiogramme.....	44
III.3.1.2 Activité antibactérienne des extraits.....	45
III.3.2 Activité antifongique	48
III.3.3 Activité antioxydante.....	55
III.3.3.1 Piégeage du radical libre DPPH.....	55
III.3.3.2 Méthode de FRAP.....	61
III.3.4 Activité antidiabétique.....	62
Conclusion et perspective.....	66
Références bibliographiques.....	68
Annexes.....	85

Introduction générale

En Afrique, jusqu'à 80% de la population utilise la médecine traditionnelle pour répondre à ses besoins de soins de santé (OMS, 2002). Précisément, dans certains pays d'Afrique, les plantes médicinales représentent la seule source de médicaments pour près de 90% de la population (Anne, 2002) par ce que le continent africain est doté d'une biodiversité parmi les plus riches dans le monde (Farombi, 2003)

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale : Méditerranéenne et Saharienne, la région saharienne du sud-ouest Algérie est dotée d'une biodiversité très riche, avec une avalanche de beaucoup de plantes aromatiques utilisées comme herbes, aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable (Kheyar et al., 2013 ; Djellouli, 2017)

Un grand nombre des plantes possèdent des propriétés biologiques très intéressantes qui trouvent des applications dans divers domaines, à savoir en médecine, pharmacie, et cosmétologie. Cependant, l'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques; antioxydants, antimicrobiennes et antidiabétique demeure une tâche très intéressante et utile, ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs (Teixeira da Silva, 2004).

Actuellement, la phytothérapie revient en force, de plus en plus de personnes y recourent pour se soigner, et ceci, à cause du moindre cout, mais aussi pour éviter les effets secondaires des médicaments (Binlin, 1997) par ce que la fréquence infections microbiennes a augmenté de façon considérable au cours des dernières années en raison de l'usage extensif des agents antibactériens et antifongiques qui conduisent à la sélection de souches résistances.

En effet, les plantes possèdent des milliers de substances actives à l'intérieur de leurs organes (feuilles, fleurs, racines,...) et peuvent, selon des techniques (extraction, distillation,...), permettre l'isolation du principe actif pour l'utiliser en pharmacie. Ces remèdes naturels sont bien souvent très efficaces avec moins d'effets secondaires reconnus que beaucoup de médicaments de synthèse, mais peuvent néanmoins être mortels ou toxiques pour l'organisme lorsqu'ils sont mal utilisés (Duraffourd et al., 1997),

Toutefois, l'évaluation des propriétés phyto-thérapeutiques comme l'activité anti-oxydantes et antimicrobiennes demeure une tâche très intéressante et utile en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connues dans la médecine. De ce fait nous nous sommes intéressés à étudier trois plantes du sud ouest algérien dont le but est d'exploiter de nouveaux composés comme alternatives aux produits chimiques.

La présente étude, vise à évaluer les activités antimicrobienne, antioxydante et antidiabétique

des extraits bruts issus des parties aériennes de *Warionia saharae* , *Vitex agnus castus* et *Panicum turgidum* récoltées dans la région de Bechar .

Dans la première partie de ce travail, nous présenterons un rappel bibliographique sur les plantes étudiées, les substances bioactives et leurs relations avec certaines activités biologiques.

La deuxième partie présente les différents matériels et méthodes d'analyses à savoir :

- Un criblage phyto-chimique extraits de *Warionia saharae* , *Vitex agnus castus* et *Panicum turgidum* ;
- L'étude des activités antibactérienne antidiabétique et antifongique,
- L'évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits par le test de DPPH et la méthode de FRAP ;
- La dernière partie synthétise l'illustration et la discussion des résultats obtenus. Finalement, le travail est clôturé par une conclusion générale.

I.1 Introduction

Dans toutes les parties du globe, les civilisations ont montrées l'intérêt des plantes aromatiques en médecine, en cuisine et en parfumerie. On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Certaines plantes contenant toute une gamme de matières efficaces, peuvent avoir des actions très différentes suivant leur mode de préparation (**Baba arbi, 2010**).

Les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées comme tous les végétaux en médecine, en parfumerie, en cosmétique et pour l'aromatisation culinaire. Elles font partie de notre quotidien sans que nous le sachions. Il reste difficile de définir les molécules responsables de l'action, bien que certains effets pharmacologiques prouvés sur l'animal aient été attribués à des composés tels que les alcaloïdes des terpènes, stéroïdes et des composés polyphénoliques (**Makhloufi, 2012**).

Certaines plantes sont toxiques et ne sont utilisées que sous des formes bien contrôlées, exclusivement commercialisées en pharmacie. L'emploi aléatoire des plantes recueillies dans la nature peut aboutir à des intoxications graves, voir mortelles (**Benarous, 2009**).

La phytothérapie est le traitement par les plantes ; c'est-à-dire par la consommation ou l'utilisation en voie externe de produits préparés à partir de plantes sans passer par une étape de sélection des molécules, on ne consomme donc pas que le principe actif, mais tout ce que contient la plante (**Bruneton, 1999**). Par ailleurs, la phytothérapie requiert une connaissance parfaite des composants chimiques contenus dans un organe végétal et une bonne connaissance des modes d'emploi et ceci afin de bien cibler et corriger soit les carences soit le déséquilibre qui est lui-même dû à plusieurs facteurs. Pour mieux saisir l'utilisation des plantes, il faut connaître les différentes propriétés biochimiques des différentes familles phytochimiques (screening chimique). Pour cela certaines plantes agissent en synergie avec leur composant en association avec d'autres plantes afin de compléter leur activité. (**Roux, 2008**).

I.2 Eléments actifs des plantes médicinales

Les plantes produisent un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures, ces composés sont appelés métabolites secondaires (**Mohammedi, 2013**).

Les métabolites secondaires sont un groupe de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions

plantes-animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (**Judd et al. , 2002**).

Comme ces composés ont des effets toxiques, leur incorporation dans l'alimentation humaine peut être utilisés en médecine moderne et une majorité de ceux-ci sont selon leur usage traditionnel pour la prévention contre plusieurs maladies (cancer, maladies circulatoires, les infections viral...), car la différence entre toxicité et effet bénéfique est généralement soit dose ou structure- dépendant (**Makkar, 2007**).

I.2.1 Polyphénols

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, antiradicalaires, et antimicrobiens (**Hollman, 2001, Diallo, 2005, Hartmann, 2007**).

Les polyphénols sont des groupes de molécules de structures variées. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié à des groupements hydroxyles (**Bruneton, 1999, Macheix et al., 2005**),

Ces molécules représentent une famille de plus 8000 composés (**Dacosta, 2003**). Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits. Le terme de composés phénoliques couvre un groupe très vaste et diversifié de produits chimiques, (**Hopkins, 2003; Georgé et al., 2005**). ont classés ces composés dans les groupes en fonction du nombre d'atomes de carbone dans la molécule.

Parmi les principales classes des composants phénoliques on retrouve les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide ferulique, acide chlorogénique...), les coumarines et on retrouve dans une grande mesure les flavonoïdes et les tanins (**Djelaila, 2007**).Le tableau ci dessous présente les principales classes.

Tableau n° 01 : Classification des composés phénoliques. (**Harborne, 1980; Macheix et al., 1990**)

Structure	Classe
C ₆	Phénols simple
C ₆ -C ₁	Acides phénoliques et composés dérivés
C ₆ -C ₂	Acétophénone et acides phénylacétiques
C ₆ -C ₃	Acides cinnamiques, coumarines, isocoumarines, chromones
C ₁₅	Flavanols, flavonones, anthocyanines et anthocyanidines
C ₃₀	Biflavonyles
C ₆ - C ₁ - C ₆ , C ₆ - C ₁ - C ₆	Benzophénones, xanthones et stilbéne
C ₆ , C ₁₀ , C ₁₄	Quinones
C ₁₈	Bétacyanines
Lignanes ,neolignanes	Dimères ou oligomères
Lignine	Polymères
Tanins	Condensé et hydrolysable

I.2.1.1 Flavonoïdes

Les flavonoïdes (Figure n°01) sont des pigments quasiment universels végétaux (**Kandaswami et al., 2005**). De nos jours, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés et isolés à partir des milliers d' espèces végétales (**Forkmann et Martens,2001,Yanez et al.,2007**) et possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones constitué de deux cycles en C₆ (A et B) reliés par une chaîne en C₃, Presque toujours hydrosoluble (**Bruneton,1999**), ils sont responsables de la coloration des fleurs, fruits et parfois des feuilles (**Ghestem et al., 2001 , Bruneton, 2003 , Pierre et Gallouin, 2003**).

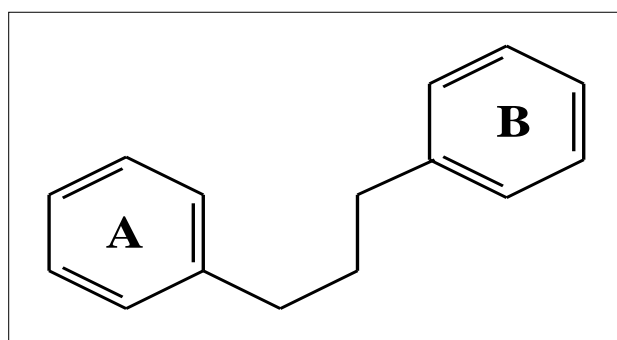


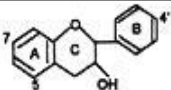
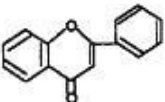
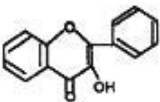
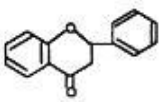
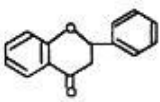
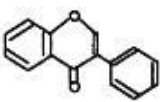
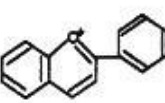
Figure n° 01:Structure de base d'un flavonoïde (**Bruneton, 1999**).

Chapitre I Généralité sur les plantes étudiées

Selon **Hadi (2004)**, les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal dont ils sont largement abondants dans les légumes à feuilles (salade, choux, épinards etc.) ainsi que dans les téguments externes des fruits.

Les flavonoïdes ont été aussi reportés en tomates, cacahouète et certaines herbes comme le menthe, le thym (**Yanez et al., 2007**) où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles (**Marfak, 2003 , Hadi, 2004**) . La classe des flavonoïdes comporte à elle seule plus de 4000 substances qui ont été isolées et identifiées à partir des milliers des plantes (**Forkmann et Martens, 2001**), qu'on divise en plusieurs catégories représentées dans le tableau suivants :

Tableau n° 02 : Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe (Heim et al., 2002).

Classe	structure générale	flavonoïdes typiques	Substituants
Flavanol		(+)-catechin (-)-epicatechin Epigallocatechin gallate	3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 3,5,7,3',4',5'-OH,3-gallate
Flavone		chrysin apigenin rutin luteolin luteolin glucosides	5,7-OH 5,7,4'-OH 5,7,3',4'-OH, 3-rutinoses 5,7,3',4'-OH 5,7,3'-OH, 4'-glucose 5,4'-OH, 4',7-glucose
Flavonol		kaempferol quercetin	3,5,7,4'-OH 3,5,7,3',4'-OH
Flavanone (dihydroflavon)		myricetin tamarixetin	3,5,7,3',4',5'-OH 3,5,7,3'-OH,4'-OMe
Flavanone (dihydroflavon)		naringin naringenin taxifolin eriodictyol hesperidin	5,4'-OH,7-rhamnoglucose 5,7,4'-OH 3,5,7,3',4'-OH 5,7,3',4'-OH 3,5,3'-OH,4'-OMe, 7-rutinoses
Isoflavone		genistin genistein daidzin daidzein	5,4'-OH, 7-glucose 5,7,4'-OH 4'-OH, 7-glucose 7,4'-OH
Anthocyanidin		apigenidin cyanidin	5,7,4'-OH 3,5,7,4'-OH,3,5-OMe

Les flavonoïdes sont utilisés comme antiallergique et anti convulsions comme les flavonoïdes de Thym qui sont diurétique, antibactériens et antiviraux (**Jassbi, 2002, Cuyckens et Claeys, 2005**). Ils jouent un rôle d'inhibiteurs d'enzymes (élastase) (**Pietta, 2000 , Hamidi, 2006**). En plus ils ont un effet vaste comme anti-inflammatoires (**Mehdi et al., 2007**), et la capacité de diminuer la perméabilité des vaisseaux sanguins et de renforcer leurs résistances en raison de leur principale propriété qui est d'être « veinoactifs » (**Pietta, 2000 ,Hamidi, 2006**).

I.2.1.2 Tanins

Ce sont des substances d'origine végétale de nature biochimique non azotée. Ce sont des composés polyphénoliques de structures variées ayant en commun la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines. La masse moléculaire des tanins est comprise entre 500 et 3000 (PM) (**Ghestem et al., 2001 ,Atefeibu , 2002**). Les tanins sont des substances constituées par un mélange de glucosides et d'acide gallique. Ils sont solubles dans l'eau, l'alcool et dans l'acétone mais peu soluble dans l'éther, de saveur astringente et ayant la propriété commune de tanner la peau en la rendant imputrescible et imperméable en se fixant sur les protéines (**Barka et Ben attallah, 2010**).

Les tanins sont particulièrement abondants dans de nombreuses plantes utilisées dans l'alimentation, notamment les céréales et les légumineuses (orge, haricots secs, petits pois, caroube, sorgho) (**Peronny ,2005**). Parmi les fruits riches en tanins sont le cassis, la myrtille, le raisin, la canneberge et la fraise ayant des teneurs maximales observées entre 1,2% et 0,2% du poids frais (**Bravo, 1998 ; Ghestem et al., 2001**).

Les tanins sont surtout connus pour leur propriété astringente mise à profit pour stopper les hémorragies. Ils permettent par ailleurs de lutter contre les infections du fait de leur capacité à complexer les macromolécules, en particulier les fongiques ou virales (**Benzeggouta et semra, 2013**). Les tanins également pourraient avoir une activité contre les champignons (**Chludil et al., 2002 ; Brou kouassi, 2010**). Ils favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse. Les tanins agissant en captant des radicaux libres produits lors de l'oxydation lipidique (**Mibindzou, 2004**). On distingue habituellement deux groupes de tanins différents par leur structures aussi bien que par leur origine biogénétiques (**Bruneton, 1999**)

✓ **Tanins hydrolysables**

Les Tanins hydrolysables sont des polyesters d'oses et d'acides phénoliques, ces tanins sont de deux types qui sont les tanins galliques et les tanins ellagiques (**Bruneton, 1999 ;Atefeibu, 2002**). Dans les deux cas, la fraction osidique est estérifiée par plusieurs molécules d'acide

ellagique (Ghestem *et al.*, 2001 ; Kolman et Meinich, 2008).

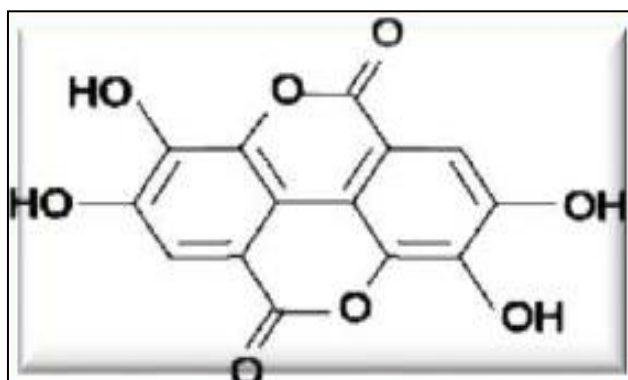


Figure n° 02: Tanins hydrolysables (Chaabi *et al.*, 2002).

✓ Tanins non hydrolysables ou tanins condensées

Les tanins non hydrolysables (Figure n° 03) ont une structure plus complexe, on les appelle également pro-anthocyanidines (Peronny, 2005). Ils ne sont hydrolysés par les acides mais en présence d'acide forts ou d'agents d'oxydation, ils se transforment en substances rouges : les phlobaphènes (exemple : rouge de cola) (Atefeibu, 2002 ; Belboukhari, 2007).

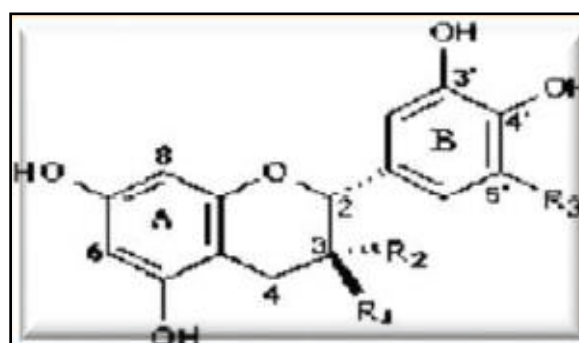


Figure n° 03: Structure chimique des tanins condensées (Adigun *et al.*, 2001).

I.2.1.3 Coumarines

Le squelette de base des coumarines (Figure 04) est constitué de deux cycles accolés de types (C6 –C3) avec neuf atomes de carbones (Bahaz et Rachdi, 2010). Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (Cowan, 1999). Les coumarines isolées la première fois de *Coumarouna odorata* par Vogel en (1820). Aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les micro-organismes (Smyth *et al.*, 2004). Les coumarines sont utilisées pour leurs propriétés vasculo-protectrices, neurosédatives, diurétiques, stomachiques et carminatives (Hennebelle *et al.*, 2004). Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires (Anderson *et al.*, 1996).

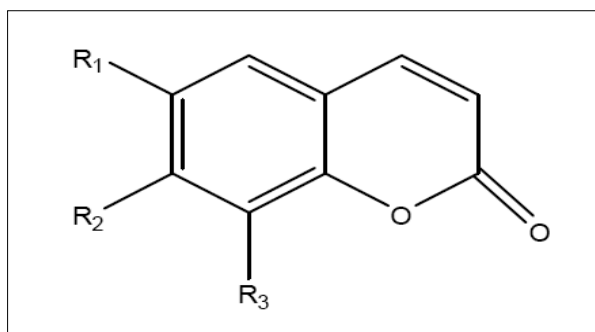


Figure n° 04 : Structure de base des coumarines.

I.2.1.4 Anthocyanosides

Les anthocyanes sont des pigments vacuolaires rouges, roses, mauves, pourpres, bleus ou violets de la plupart des fleurs et des fruits (**Bruneton, 1993**). Ils sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique (Figure n° 05). Ces pigments représentent des signaux visuels qui attirent les animaux pollinisateurs (insectes, oiseaux) (**Brouillard et al., 1997 in Bahorum, 1997**).

Ce sont également utilisés dans les troubles de la fragilité capillaire (vigne rouge, *Vitis vinifera* L.), mais aussi leur propriété d'améliorer la vision nocturne en facilitant la régénération du pourpre rétinien (myrtille, *Vaccinium myrtillus* L. ; cassis, *Ribes nigrum* L.) (**Hennebelle et al., 2004**). Présente comme des couleurs brillant dans les fruits et les légumes, les anthocyanidines ont montrés leur effet inhibiteur de la croissance des lignées cellulaires humaines (**Zhang et al., 2005**).

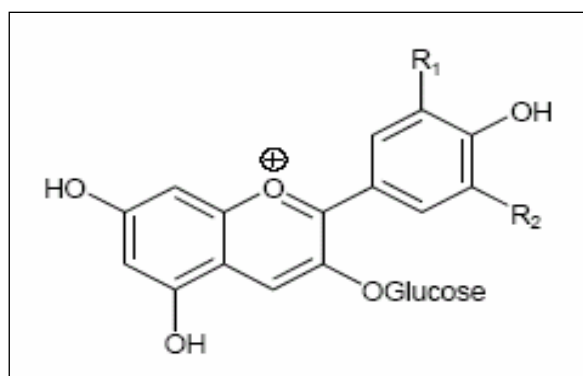


Figure n° 05 : Structure des anthocyanosides (**Brouillard et al., 1997**).

I.2.1.5 Lignanes

Le terme lignane à l'origine présenté par Haworthen 1936, sont les dimères des unités de phenylpropane (C₆C₄). Les lignanes constituent une classe importante de métabolites secondaire dans le règne végétal. La distribution botanique des lignanes est large : plusieurs

centaine des composés ont été isolés dans environ soixante–dix familles .Chez les gymnospermes, Ils sont surtout rencontrés dans les bois alors que chez les Angiospermes, ils ont été identifiés dans tous les tissus, Ils ont été découvert dans toutes les parties des plantes : les racines, les feuilles, les fruites est les graines (**Bahaz et Rachdi, 2010**). Chez les plantes, lignanes et néolignanes jouent sans doute un rôle important pour leur défense : des propriétés antibactériennes et antifongiques. D'autres part, lignanes et néolignanes, offrent des potentialités intéressantes dans divers domaines (**Bruneton, 1999**).

I.2.1.6 Quinones

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisés par un motif 1,4-dicéto cyclohexa- 2,5-diéniq (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5- diéniq (ortho-quinones) (**Bruneton, 1993**). Elles sont ubiquitaire dans la nature mais inégalement réparties chez les végétaux supérieurs (**Cowan, 1999**). Nombre entre elles sont antiappétantes et toxiques. La naphtoquinonejuglone de l'écorce de *Carya ovata* inhibe la croissance de différents champignons et bactéries et est répulsive pour *Scolytus multistriatus*(**Gilbert et Norris, 1968**).

Certaines quinones, dérivant de l'antraquinone, sont des laxatifs stimulants. Elles sont rencontrées dans la bourdaine (*Rhamnus frangula* L.), les sénés (*Cassia* spp.) et les aloès (*Aloespp.*). D'autres activités antidépressives (hypericin), anti-protazoaires, antivirales, antibactériennes, fongicides et anti-allergiques ont été décrites et plusieurs molécules du groupe ont une toxicité non négligeable. (**Bruneton, 1993 ; Hennebelle et al., 2004**).

I.2.1.7 Stilbènes

Les Stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par un double liaison, formant un système conjugué. Cette particularité leur confère une grande réactivité due à la résonance des électrons sur la totalité de la molécule. Ils abondent dans les fruits sont le trans-resvératrol et son dérivé glycolyse : le picidé, ainsi que les dimères (**Bahaz et Rachdi, 2010**).

I.2.2 Alcaloïdes

Selon Pelletier en 1983, les alcaloïdes sont des composés organiques, cycliques contenant un ou plusieurs atomes d'azote (**Roberts et Wink, 1998 ; Wichtl et Antone, 2003**), de structure moléculaire complexe plus ou moins basique. Ce sont des composés azotés naturels et dont le gout est amer. Leur synthèse a lieu au niveau du réticulum endoplasmique. (**Bruneton,**

1999 ;Zenk et Juenger, 2007).

Avant quelques années, la majeure source des alcaloïdes était les plantes à fleurs, les angiospermes, où 20% des espèces y contiennent (**Walton et Brown, 1999**). Actuellement, plusieurs alcaloïdes proviennent des animaux, insectes, organismes marins, microorganismes et les plantes inférieures, (**Roberts et Wink, 1998**).

Depuis leur découverte et jusqu'à maintenant plus de 10.000 alcaloïdes ont été isolés, leur classification est basée sur plusieurs critères : l'origine biologique, la voie de biosynthèse, la structure et les propriétés spectroscopiques/spectrométriques (chromophores dans la spectroscopie UV) (**Hesse, 2002**).

I.2.3 Terpènes

Les terpénoïdes sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux, ils résultent de l'enchaînement de plusieurs unités isoprénique (**Gershenzon 1994 ;Bhat et al., 2005 ; Nait, 2007**), Ils sont subdivisés en:

- ✓ **Monoterpènes (C₁₀)** permettant de protéger la plante contre les prédateurs (**Saxena et Basit, 1982**).
- ✓ **Diterpènes (C₂₀)** sont présents chez certains insectes, chez divers organismes marins et surtout chez les végétaux (**Chaaib, 2004**) ;
- ✓ **Triterpènes (C₃₀)** tels que les stérols qui sont les constituants importants des membranes végétales (**Hopkins et al., 2003**) ;
- ✓ **Tetraterpènes (C₄₀)**: les caroténoïdes sont des composés biologiques importants présents dans les règnes végétaux, les champignons et les bactéries. (**Louis, 2004**) ;
- ✓ **Polyterpènes**: ils sont des grandes molécules, le plus gros terpénoïdes connu est le caoutchouc présent dans environ 2000 espèces végétales (**Louis, 2004**).

I.2.4 Saponines

Le nom saponine dérive du mot latin « sapo », qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau (propriété tensio-active). Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou à plusieurs sucres. (**Bruneton, 2003**). On distingue fondamentalement, les saponines stéroïdiques et les saponines triterpéniques.

Ils manifestent des propriétés hémolytiques, antimicrobiennes, insecticides, (**Vincken et al., 2007**), anti-inflammatoires et antalgiques (**Ben Mahdi, 2000; Ma et al.,2005; Speroni et al., 2005**).

I.2.5 Stéroïdes

Les stéroïdes sont des composants essentiels des membranes. Leur squelette est un carbure tétracyclique: la stéarine, résultat de la condensation du cyclohexane sur le phénanthrène réduit. Les stéroïdes diffèrent les uns des autres par la nature et la position des différents groupements portés par ce noyau, par la présence éventuelle de doubles liaisons et leur nombre. Les stéroïdes naturels sont répartis en quatre séries : les stérols, les acides et sels biliaires, les stéroïdes hormonaux et les vitamines D et autres dérivés (**Bahaz et Rachdi, 2010**).

I.2.6 Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des produits odorants, généralement de composition complexe, obtenus à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. (**Clarke, 2008**).

Elles peuvent renfermer jusqu'à plusieurs centaines de substances chimiques différentes (Figure n°06) et peut à l'extrême en comprendre jusqu'à 300 travaillant en synergie pour donner à l'huile essentielle ses propriétés (**Lahlou, 2004**), les plus fréquemment rencontrés sont les alcools, les cétones, les aldéhydes terpéniques, les esters, les éthers, les terpènes et les oxydes (**Ablajan et al., 2006**).

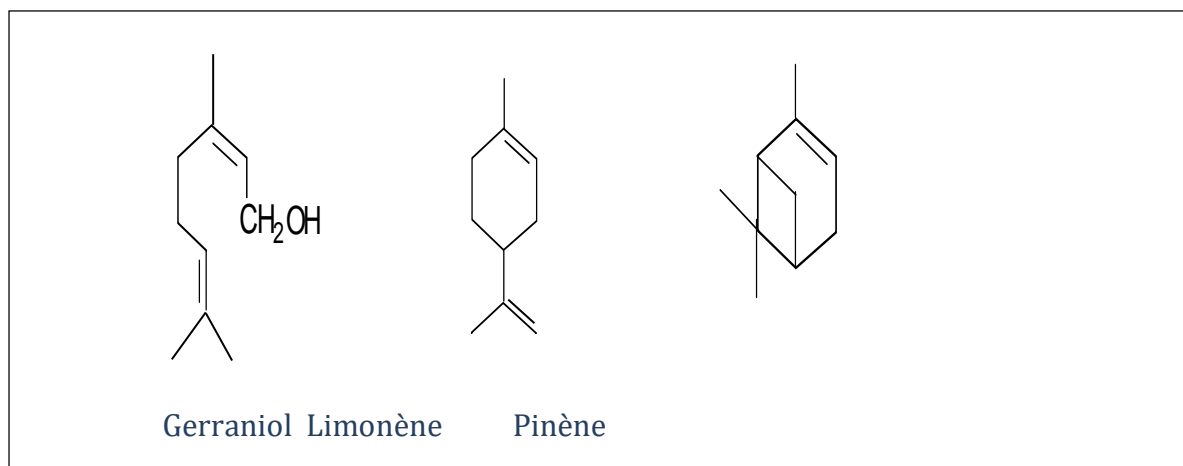


Figure n° 06: Quelques structures de molécules composantes des huiles essentielles. (**Lamarti et al., 1994**).

I.3 Notions sur les plantes étudiées

I.3.1 *Warionia saharae*

I.3.1.1 Description botanique et systématique de *Warionia saharae*

La famille des *Asteraceae* est répandue dans le monde entier, mais principalement dans les

Chapitre I Généralité sur les plantes étudiées

régions tempérées. Le mot aster, nom grec et latin de diverses fleurs en étoile, du grec aster, astre. Elle regroupe plus de 25000 espèces (**Bremer, 1994**).

Le genre *Warionia* (figure n°07) est un genre monotypique des *Asteraceae* (tableau n°03) endémique à la limite nord-ouest du désert du Sahara africain (**Bentham, 1872**). Cette plante est reconnue sous le nom de *Warionia saharae* par Bentham et Cosson (1872). *Warionia* est un arbuste de 1 à 3 m, avec un tronc ligneux couvert d'une épaisse écorce grise portant des bouquets de feuilles terminales très ondulées et des capitules de fleurs jaunes. C'est une plante à latex qui s'écoule des blessures de l'écorce ou au moment de la cueillette des tiges, odeur pénétrante et agréable (**Katinas et al., 1994**). La plante perdant ses feuilles en Automne, et les faits repoussés dès les premières pluies, elle colonise les rochers gréseux et schisteux, délités, presque dépourvus de sols. (**Audissou, 1999 ; Gómez,2001**)



Figure n°07: *Warionia saharae* Benth & Coss (**Sellam,2012**).

Tableau n°03 : Classification selon Bentham & Cosson (1866) (**Audissou, 1999**).

Règne	Plantes
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	Warionia
Espèce	saharae
Noms Vernaculaire	KabbarLemaize

I.3.1.2 Répartition géographique de *Warionia saharae*

Warionia saharae est répartie au Nord Ouest Africain, au Maroc et en ouest Algérien. Sa répartition géographique est indiquée dans la figure ci-dessous.

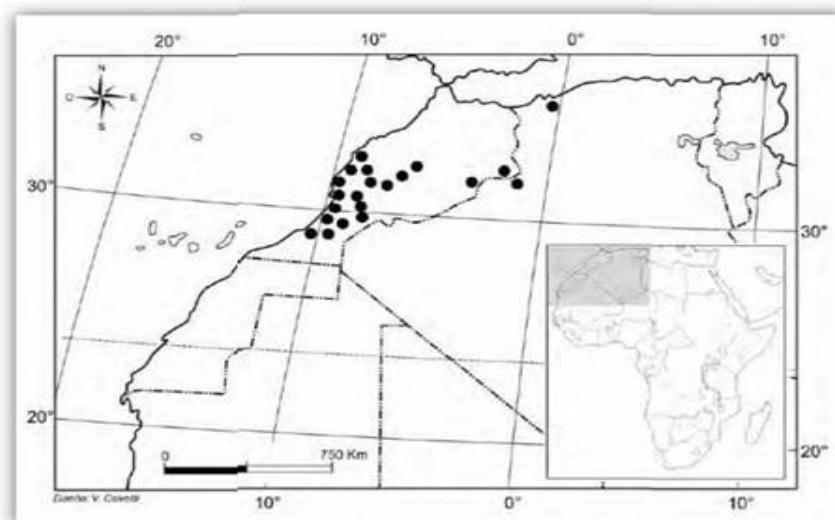


Figure n°08: Carte géographique de répartition de *Warionia saharae*. (Katinas et al., 2008)

I.3.1.3 Utilisation traditionnel de la plante

Warionia saharae est utilisée dans la pharmacopée traditionnelle pour le traitement des rhumatismes et le traitement des douleurs de reins, et on peut l'utiliser comme calmant ou drogue (Essaoui, Benaissa, 2013). Dans la médecine traditionnelle marocaine, les feuilles de la plante sont utilisées pour traiter les maladies inflammatoires, telles que le rhumatisme et l'arthrite et de troubles gastro-intestinaux (Essaoui et al., 2007). Dans le cas de l'arthrite les feuilles sont pulvérisées dans l'huile d'olive en onguent ; pour les gastro-entérites et les douleurs cardiaques les tiges et les feuilles de *Warionia saharae* sont utilisées en décoction. Des extraits bruts de cette plante ont montré des activités antibactériennes et cytotoxiques contre une lignée cellulaire de cancer (Amezouar et al., 2012).

I.3.2 *Panicum turgidum*

I.3.2.1 Description botanique et systématique de *Panicum turgidum*

La famille des Poacées, anciennement appelées Graminées, famille de graminées de plantes à fleurs monocotylédones, une division de l'ordre des Poales. Les Poaceae sont la source de nourriture la plus importante au monde. Ils se classent parmi les cinq premières familles de plantes à fleurs en termes de nombre d'espèces, mais ils sont clairement la famille la plus abondante et la plus importante de la flore de la terre (Rahman, 1988) (Clayton, 2016).

Panicum turgidum (Figure n°09) se présente en grosses touffes buissonnantes vert jaunâtre,

Chapitre I Généralité sur les plantes étudiées

dépassant 1 mètre de haut, Tiges se ramifiant à partir de gros nœuds où se développent des feuilles glauques portant à la base de larges gaines foliaires blanc jaunâtre. Inflorescence en panicules rameuses et aérées. Les épillets sont ovoïdes, à long mm 03/05 à 04/05. Le fruit est une caryopse, 2 mm de long, de couleur rougeâtre (Brink, 2006 ; Quattrocchi, 2006). Il y a environ 10 000 espèces de graminées, la plupart d'entre elles étant confinées à un seul continent. Une exception, l'espèce cosmopolite *Phragmites Australis*, l'herbe de roseau géante, a la plus large gamme géographique de toute plante à fleurs.



Figure n° 09: *Panicum turgidum* (Tafraout,2019)

Tableau n°04: Classification de *Panicum turgidum* (APG III, 2009)

Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Sous Classe	Commelinidees
Ordre	Poales
Famille	Poaceae
Genre	<i>Panicum</i>
Espèce	<i>turgidum</i>
Nom vernaculaire	Oumroukba, Bourakba, Tammam

I.3.2.2 Répartition géographique de *Panicum turgidum*

Panicum turgidum se trouve dans l'hémisphère Nord entre 4 et 38 ° N. Il se produit en Afrique du Nord et le nord -est, de la Mauritanie à l'ouest de la Somalie à l'Est. Il pousse également en Arabie Saoudite, l'Iran et le Pakistan (**Quattrocchi, 2006**).

Les petits cercles représentent des emplacements précis, les plus grands domaines mentionnés dans la littérature. L'isohyète 500 mm (20 *) est indiquée par une ligne en pointillés, le 250 mm (10 *) une ligne pointillée. Les zones principales du désert sont représentées par des zones en pointillé et les montagnes par des zones hachurées

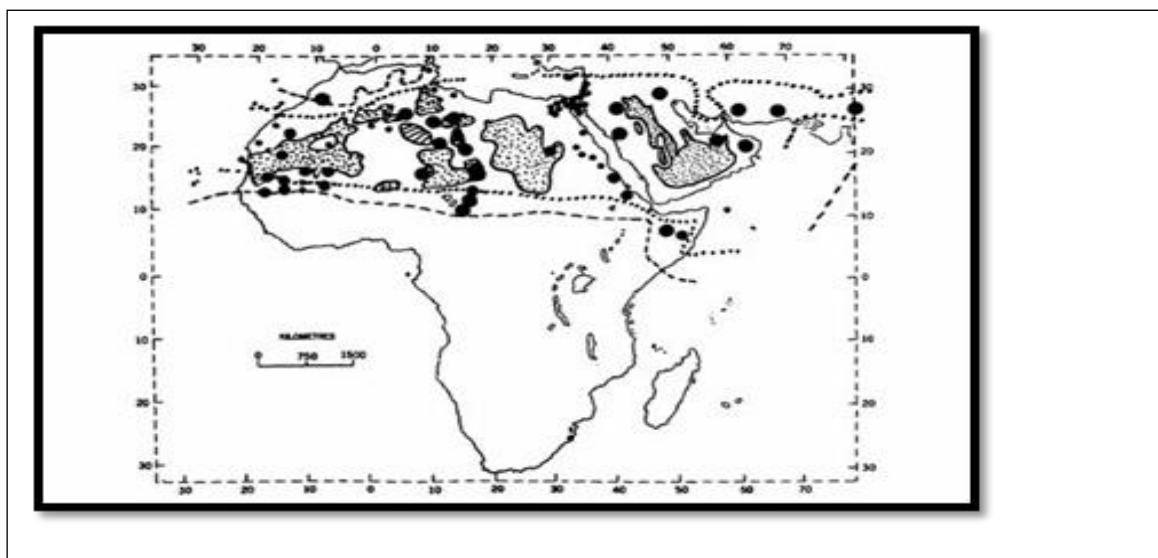


Figure n°10:Distribution géographique de *Panicum turgidum*

I.3.2.3 Usages traditionnels de *Panicum turgidum*

Panicum turgidum est économiquement important, à cause de son utilisation :

- a) Comme éliant de sable ;
- b) Comme plante fourragère dans les zones arides ;
- c) Comme source de céréales.

I.3.3 *Vitex agnus castus*

Vitex agnus castus appartient à la famille Verbenaceae, se sont des plantes dicotylédones, comprend environ 90 genres et près de 2000 espèces d'herbacées, de buissons et d'arbres. On distingue très communément des tiges à section quadrangulaire et un caractère aromatique dû à la présence d'huile essentielle. Les feuilles sont presque toujours opposées ou verticillées et simples, il n'y a pas de stipules. Les fleurs sont presque toujours bisexuées et zygomorphes

Chapitre I Généralité sur les plantes étudiées

elles sont de couleur bleue, lilas, rose ou blanchâtre. Le calice est synsépale et majoritairement pentamère. La corolle est sympétale et présente généralement cinq lobes inégaux. L'androcée consiste en quatre étamines didynames soudées au tube de la corolle ou à la zone périgyne et alternant avec les lobes. Le gynécée consiste en un seul pistil, presque toujours composé de deux carpelles, un seul style terminal ou subterminal, comprenant généralement quatre locules (séparés par une fausse cloison), avec chacun un seul ovule axillaire. Un disque nectarifère peu développé, hypogyne et symétrique est présent chez de nombreuses espèces. Le fruit est une drupe composée de plusieurs nucules (**Aissaoui, 2010**).

Arbuste ou petit arbre, à tige dressé, à feuilles composées de 5 à 7 folioles lancéolées, à bords entier d'un vert sombre en dessous et blanche en dessus, fleurs bleues ou violettes en grappe de cymes réunies par 3 à 5 au sommet des rameaux et fruits globuleux un peu charnu (**Ozanda, 1991**).



Figure n° 11: *Vitex agnus castus*.(**Jesus,2017**)

I.3.3.1 Classification botanique et noms vernaculaires de *Vitex agnus castus*

L'espèce *Vitex agnus-castus* possède plusieurs noms communs tels que : Gattilier, agneau chaste, petit poivre, poivre sauvage, herbe aux poivre, arbre de poivre Agnolyt, l'*agnus-castus*, Berry chaste, baie de l'arbre chaste, chastetree, chanvre arbre, le poivre de moine, les épices indiennes (**Grieve, 1973**).

Tableau n° 05: Classification systématique de *Vitex agnus castus* (Aissaoui, 2010).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Verbenaceae
Genre	<i>Vitex</i>
Espèce	<i>agnus castus</i>

I.3.3.2 Répartition géographique

Originnaire d'Asie occidentale et du bassin méditerranéen, le gattilier est cultivé dans les zones subtropicales et pousse désormais dans de nombreuses régions. On le multiplie par semis au printemps ou en automne. On cueillent ses baies mûres en automne (Iserin, 2001).

En Algérie, cette espèce est largement ré pondue au Sahara (Gattilier ou « kherouaa »), au sud oranais et les vallées de Zouzfana (Ozanda, 1991).

I.3.3.3 Usage traditionnel de *Vitex agnus castus*

Le gattilier est l'une des principales plantes qui régularisent la production d'hormones féminines. En stimulant l'activité progestative, il équilibre la production de progestérone et d'œstrogènes durant le cycle menstruel (Travlos et Karamanos, 2007). En Occident, on prescrit le gattilier pour traiter divers troubles féminins, qu'il s'agisse du syndrome prémenstruel, de règles irrégulières ou absentes. En cas de syndrome prémenstruel, cette plante doit être administrée durant plusieurs mois pour s'avérer efficace et faire disparaître les gonflements douloureux des seins, l'irritabilité et les états dépressifs. Il favoriserait la conception en cas de stérilité due à un taux de progestérone insuffisant (Iserin, 2001).

Des travaux in vitro suggèrent que *Vitex agnus castus* peut inhiber la croissance des cancers du sein, des ovaires, col de l'utérus, de l'estomac, du colon et des cellules de cancer du poumon (Ohyama, 2003).

I.4. Activités biologiques étudiées

I.4.1 Activité antimicrobienne

I.4.1.1 Généralités

Les plantes contiennent des produits chimiques naturels, nommés phytochimiques, lesquels sont reconnus pour démontrer des activités antimicrobiennes. Les phytochimiques ont des propriétés protectrices et préventives contre des maladies. Les végétaux ont longtemps été une source importante de produits naturels utilisés pour la santé. Des scientifiques, tels que Jones et coll (2000) ont basé la sélection de plantes pour leur recherche à l'aide d'informations ethnobotaniques, ainsi que leur utilisation par le peuple indigène. Il s'ensuit que les produits naturels dérivés des végétaux devraient être étudiés davantage pour découvrir leur potentiel antimicrobien. **(Janique et al., 2015)**

I.4.1.2 Aperçu des méthodes d'étude de l'activité antimicrobienne

L'examen des données bibliographiques fait apparaître la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne.

- **Aromatogramme:** La technique consiste à utiliser des disques de papiers imprégnés de différentes substances à tester, puis déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelées zones d'inhibition. Le diamètre de ces zones d'inhibition est proportionnel à l'activité bactériostatique des extraits à tester sur le germe étudié. **(Guerin Fauble et Carret, 1999).**
- **Méthode de diffusion en puits:** méthode proposée par Cooper & Woodman en 1946 et, reprise par Shroeder et Messing en (1949). Elle assure une diffusion radiale de l'H.E à partir d'un puit en donnant une zone d'inhibition claire facilement mesurable. La méthode consiste à découper un trou circulaire dans la gélose et y verser une solution de concentration connue. L'H.E diffuse radialement en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablementensemencée avec la suspension microbienne **(Eymard, 2003).**
- **Méthode de dilution :** les extraits à tester peuvent également être directement mélangés en concentration connue au milieu de culture, qu'il soit solide liquide. Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de microorganismes. Après incubation, on note la

présence ou l'absence de culture, le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu (**Robert et Demuet, 1995**).

- **Méthode de miro-atmosphère:** cette technique consiste à cultiver les microorganismes à tester dans les boîtes de Pétri sur milieu de culture approprié. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné d'H.E qui est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée après fixation de l'H.E sur le disque. Celui-ci n'est donc pas en contact avec le milieu gélosé. L'huile s'évapore dans l'atmosphère de la boîte, et peut exercer son effet inhibiteur sur les microorganismes testés (**Sanchez-Moreno, Larrauti, 1998 ; Pibiri, 2006**).

I.4.2 Activité antioxydante

I.4.2.1 Généralités

Les antioxydants naturels sont présents dans plusieurs plantes supérieures et dans toutes les parties de la plante. Ce sont pour la plupart des composés phénoliques Parmi ces composés on trouve les flavonoïdes qui représentent la classe de substances la plus étudiée (**Bors et Saran, 1990, Favier, 2003, Lahouel et al., 2006**). N'oublions cependant pas de mentionner d'autres classes de substances telles que les xanthones, les coumarines, les caroténoïdes, les dérivés de l'acide hydroxycinnamique et les lignanes pour lesquelles on a également pu établir des activités antioxydantes. (**Miller et al., 1996, Marc et al., 2004, Diallo, 2005**).

I.4.2.2 Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes in vitro

Plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité antioxydante des aliments et les systèmes biologiques (**Ali et al., 2008, Scherer et Godoy, 2009**). Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes : soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron (**Sanchez-Moreno, 2002 ; Huang et al., 2005**). Parmi ces techniques, nous citons :

✓ La méthode d'ORAC (Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène) (**Cao et al., 1993**).

✓ La méthode d'ABTS (2,2-azinobis 3-éthyle-benzothiazoline-6-sulphonate) ou TEAC (Capacité antioxydante équivalente de Trolox) (**Miller et al., 1996**).

✓ La méthode FRAP (Capacités réductrices ferriques d'antioxydants) (**Benzie et Strain, 1996**).

✓ La méthode du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) (**Brand-Williams et al., 1995**)

✓ La méthode de DMPD (Balayage du radical cation N,N-diméthyl-p-

phenylenediamine) (**Li et al., 1994**);

- ✓ La méthode TOSC (Capacité du piégeage des oxy-radicaux totaux) (**Winston et al., 1998**).
- ✓ La méthode TRAP (Paramètre du piégeage du radical total) (**Wayner et al., 1985**);
- ✓ La méthode photochimiluminescence (PCL) (**Popov et al., 1987**);
- ✓ La méthode d'hémolyse (**Charfi, 1995**).

I.4.3 Activité antidiabétique

I.4.3.1 Généralités sur α amylase et α glucosidase

Il existe plusieurs types d'enzymes intervenant dans le métabolisme des oses surtout celles agissant dans le catabolisme de ces derniers pendant la digestion. L' α -amylase et l' α -glucosidase interviennent dans l'hydrolyse des glucides. Elles offrent de nombreuses possibilités d'applications dans différents domaines, en industries agroalimentaires (industries laitières, biscuiteries, charcuterie, pâtisserie...), en industries chimiques (détergents et textiles), en clinique (enzymes réactifs, enzymothérapies par des protéines recombinantes), dans la recherche (protéomique et en génomique) et autres (**Gupta et al., 2003**).

I.4.3.1.1 Alpha-amylase

-Définition et nomenclature

L' α -amylase comme toutes les enzymes est une macromolécule appartenant à la classe des protéines globulaires (**Dakhmouche et al., 2021**). Elle est une enzyme ubiquitaire, synthétisée chez tous les êtres vivants (**Merabti, 2006**), appartenant à la classe des hydrolases qui catalyse l'étape initiale d'hydrolyse des liaisons α -1,4-glycosidiques dans l'amidon, le glycogène, et d'autres oligo et polysaccharides (**Kato et al., 2017**). Les α -amylases pouvant être divisées en deux catégories endomylasses et exomylasses.

Les endomylasses catalysent l'hydrolyse à l'intérieur de la molécule d'amidon d'une manière aléatoire, cette action provoque la formation d'oligosaccharides linéaires et ramifiés de divers longueurs de chaîne. Les exomylasses hydrolysent l'extrémité non réductrice, pour donner successivement des produits finaux plus courts (**Gupta et al., 2003**).

Nom systématique α -1,4-glucan-4-glucanohydrolase

Nom codifié EC 3.2.1.1

Nom recommandé α -amylase

Autres noms endoamylase, thermolase, amylotherm, amylopsin, ptyalin. (**Kato et al., 2017**).

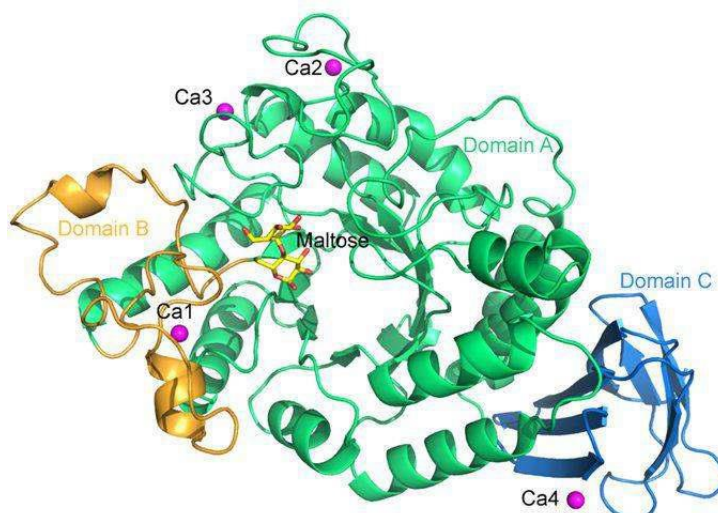


Figure n° 12: Structure tridimensionnelle de l' α -amylase (Payan, 2004)

I.4.3.1.2 Alpha-glucosidase

-Définition et nomenclature

Les α -glucosidases (EC 3.2.1.20, α -D-glucoside glucohydrolase) sont définies comme des exo-glycosidases catalysant majoritairement l'hydrolyse des liaisons α -1,4-glycosidiques d'un substrat pour libérer un α -D-glucose.

Elles peuvent également catalyser des réactions de transglycosylation pour synthétiser des composés α -D-glucosylés (Dejob, 2013). Le rôle principal de ces enzymes qui sont présentes dans la bordure en brosse de l'intestin grêle est la digestion des oligosaccharides en monosaccharides (Wu *et al.*, 2018). Ces enzymes sont retrouvées dans six familles différentes de glycoside à savoir glucoside hydrolase 4, 13, 31, 63, 97 et 122 (Dejob, 2013).

Selon la nomenclature établie par l'Union Internationale de Biochimie et de Biologie Moléculaire (IUBMB) est basée sur la spécificité de substrat, les glycosidases font partie de la famille EC 3.2.1., dans laquelle le chiffre 3 correspond aux hydrolases, le chiffre 2 aux glycosylases et le chiffre 1 aux O- et S-glycosidases (David *et al.*, 2017).

II.1 Introduction

Ce travail s'intéresse à la valorisation de trois plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Béchar (*Panicum turgidum* , *Warionia saharae* et *Vitex agnus castus*) par l'étude de leurs activités antimicrobiennes , antioxydantes et antidiabétiques.

Les plantes fraîchement récoltées sont laissées sécher a l'ombre dans un endroit aéré pendant 7 a15 jours, puis broyer au mortier, les poudres ainsi obtenus sont ensuite conservées dans des flacons hermétiquement fermés jusqu'à l'utilisation.

Ce travail est réalisé au niveau de laboratoire pédagogique de l'université Tahri Mohamed Bechar, le laboratoire de recherche VRVSA valorisation des ressources végétale et sécurité alimentaire, et le laboratoire d'Antibiotique, antifongique, physico-chimie, synthèse et activités biologiques, université de Tlemcen.

II.2 Criblage phyto-chimique des trois plantes

II.2.1 Origine géographique et période de récolte des plantes étudiées

La Wilaya de Béchar se situe au sud-ouest du territoire national (figure n° 13). Elle est limitée à l'Ouest par le Royaume du Maroc, au Nord par les Wilayas de Naâma, à l'Est la Wilaya d'El Bayadh et au Sud par les Wilayas de Béni Abbès. Avec une superficie de 61.000 Km² (**Rezzoug et al.,2016**).La Wilaya de Béchar est caractérisée par un climat de type désertique continental, sec et chaud en été et froid en hiver. Les vents de sable sont fréquents et souvent violents. En général, le climat de la zone est délimitée par Béni Ounif au nord et le parallèle d'Igli au sud; très chaude en été et froid rude en hiver. Les précipitations sont un peu plus de 100 mm/an. (**Oubadi et al.,2020**) .



Figure n° 13 : Carte de la région de collecte des échantillons (google maps, 2022)

II.2.2 Matériel végétal

Les espèces sélectionnées ont été récoltées en pleine floraison. La récolte des *Vitex agnus castus* (Figure n° 14) et *Warionia saharae* (Figure n° 15) est effectuée durant la période allant de mois de Février jusqu' à l'Avril 2014 dans la région de Djedida environ 70 km au Nord-Est de la Wilaya et à Djebel Béchar (Longitude 2° 13' 00" ouest ; Latitude 31° 37' 00" nord) respectivement. La récolte de *Panicum turgidum* (Figure n°16) est effectuée durant le mois de Février 2014 au niveau de la Hamada de Ouledkhoudir à 400 km Sud de la Wilaya de Bechar.



Figure n°14: *Vitex agnus castus* de la région Djedida (Photo originale, 2014)



Figure n°15: *Warionia saharae* Benth & Coss à Djebel Bechar (Photo originale, 2014).



Figure n°16: *Panicum turgidum* de la région Ouledkhoudir (Photo originale, 2018)

II.2.3 Screening phytochimique

➤ Principe

Le screening phytochimique est l'ensemble des méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante. Il s'agit d'une analyse qualitative de quelques groupes chimiques ou métabolites secondaires basée sur les réactions de coloration et/ ou de précipitation. Les tests phytochimiques sont réalisés selon le protocole décrit par Haddouchi et al (2007) et sont présentés dans l'annexe.

II.2.3.1 Préparation des extraits

Les extraits des trois plantes étudiées (tiges et feuilles) ont été préparés comme suit :

➤ Préparation de l'extrait aqueux

Cinquante grammes de poudre de la plante est portée à l'ébullition pendant 20 min à reflux dans 1000 ml d'eau distillée (Sqalli et al., 2007). Après filtration ; l'extrait est ensuite évaporé à sec et récupéré dans de l'eau distillée stérile.

➤ Préparation de l'extrait éthanolique et méthanolique

Quinze grammes de poudre de la plante est macérée dans 100 ml de l'éthanol à 95 % pendant 24 h à l'ombre de la lumière (Sqalli et al., 2007). L'extrait est filtré et séché à 65°C à poids constant.

➤ Préparation de l'extrait hexanique

La cartouche contenant la prise d'essai (15 g de la poudre de la plante) est placée dans l'appareil Soxhlet, le ballon d'extraction (250 ml) est rempli avec 180 ml d'hexane. On règle ensuite la température de chauffe-ballon du Soxhlet à 69 °C. Après 2 h d'extraction, le produit est séparé du solvant à l'aide d'un Rotavapor (NF V 03-905) (Amezouar et al., 2012). Ensuite, le résidu est dissout dans l'hexane.

➤ Préparation de l'extrait d'acétate d'éthyle

Cinquante grammes de poudre de la plante sont macérés pendant 4 heures à 90°C dans 200 ml Ethanol/Eau (v/v). Puis le filtrat est concentré à 45°C pour éliminer la phase éthanolique. Le résidu est extrait trois fois par l'acétate d'éthyle. La phase d'acétate obtenue par décantation et elle est évaporée à sec (Amezouar et al., 2012) ; et le résidu est récupéré dans l'eau distillée

stérile. La figure n°17, illustre les étapes d'extraction des différentes familles de composés chimiques nécessite l'utilisation des solvants de polarités différentes (eau, éthanol et éther diéthylique).

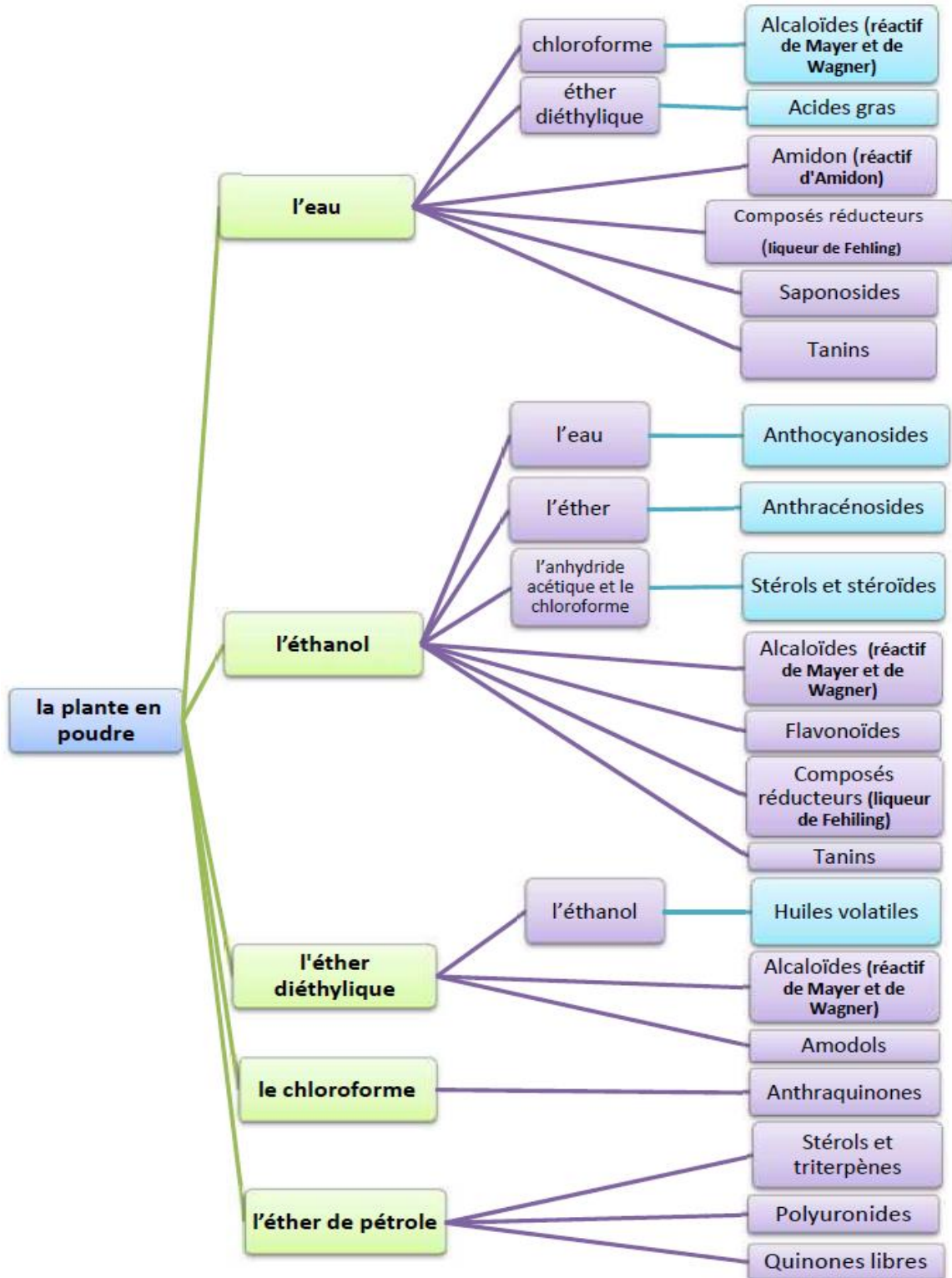


Figure n°17:Étapes du screening phytochimique (Makhloufi, 2012)

II.2.3.2 Calcule du rendement

Le pourcentage en extrait des plantes est calculé par la formule suivante :

$$R\% = (P/P_0) \times 100$$

R (%) : Rendement exprimé en %.

P: Poids en gramme de l'extrait sec résultant

P₀: Masse en gramme du matériel végétal à traiter

II.3 Etude des activités biologiques

II.3.1 Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne

Le test de sensibilité des extraits des trois plantes étudiées est effectué selon deux méthodes ; la méthode de diffusion sur disque en milieu Mueller-Hinton, comme un test préliminaire, et la méthode de microdilution pour déterminer la concentration inhibitrice CMI à partir d'une gamme de concentration dans le bouillon convenable.

➤ Souches bactériennes testées

Pour mettre en évidence la capacité antibactérienne des fractions des extraits, un total de six souches bactérienne (Tableau n° 06) ont été utilisé (3bactéries à Gram+ et 3 à Gram-).Les souches ont été fournies par l'institut Pasteur d'Alger.

Tableau n°06 : Souches bactériennes testées

Type	Espèce	code	Famille
Bactéries à Gram négatif	<i>Pseudomonas aerigenosa</i>	ATCC10145	<i>Pseudomonadaceae</i>
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	<i>Enterobacteriaceae</i>
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC19605	<i>Moraxellaceae</i>
Bactéries à Gram positif	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC51299	<i>Enterococcaceae</i>
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	ATCC12386	<i>Streptococcaceae</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	NTC12493	<i>Staphylococcaceae</i>

II.3.1.1 Etude du comportement des souches vis-à-vis des antibiotiques (Antibiogramme)

➤ Principe

La sensibilité bactérienne aux antibiotiques peut être quantifiée par un antibiogramme. Le but de la réalisation d'un antibiogramme est de définir la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans un contexte thérapeutique.

La sensibilité à l'antibiotique est étudiée par la méthode de diffusion sur milieu solide selon la recommandation du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CASFM 2012).

➤ Mise en œuvre pratique

➤ Milieu de culture

Le milieu qui permet la croissance de la majorité des espèces bactériennes est celui de Mueller-Hinton et ne contient pas d'inhibiteurs des antibiotiques.

➤ Préparation de l'inoculum

On prépare une suspension bactérienne d'une culture jeune et pure âgée de 18 à 24 H dans l'eau physiologique stérile (9% NaCl) de façon à obtenir un inoculum d'une opacité équivalente à une DO de 0.08 à 0.1 lue à 625 nm

➤ Ensemencement

Un écouvillon stérile est introduit dans l'inoculum, puis rejeter l'excès par pression sur les parois du tube, ensemer la gélose de façon à faire passer l'écouvillon 2 à 3 fois sur toute la surface en tournant la boîte 3 fois de 60° afin d'assurer une bonne dispersion, laisser sécher les boîtes avant le dépôt des disques.

➤ Dépôt des disques et incubation

Poser les disques en appuyant légèrement pour qu'ils adhèrent bien à la gélose, les disposer à 15 mm de la périphérie de la boîte, pour que les zones d'inhibition ne chevauchent pas.

➤ Lecture

Mesurer la zone d'inhibition en millimètre se rapporter aux tableaux d'interprétation des zones d'inhibition, fournis par les fabricants de disques d'antibiotique pour établir la corrélation entre la zone d'inhibition et la concentration minimale inhibitrice (CMI)

➤ **Choix des antibiotiques utilisés**

Selon la recommandation du CNSFM (2012) le choix des antibiotiques testés sur les souches bactériennes utilisées repose sur l'identification du genre et le spectre d'activité de chaque antibiotique.

Dans notre travail les disques d'antibiotiques utilisés sont l'Ampicilline (10 ug) Gentamicine (120ug), Pristinamycine (15ug), Ofloxacin (5 ug), Fosfomycine (200ug), Rifampicine (30ug), ils ont été sélectionnés selon leurs disponibilités.

II.3.1.2 Etude du comportement des bactéries vis-à-vis les extraits

Evaluation qualitative de l'activité antibactérienne par la méthode d'antibiogramme permet de déterminer l'activité inhibitrice des extraits par la mesure du diamètre d'inhibition au tour d'un disque imprégné de celle-ci (Vincent, 1991)

➤ **Principe**

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé à effet anti bactérien en milieu solide dans une boîte de Pétri après un contact entre le micro-organisme et le produit, l'effet de ce dernier sur la cible est en fonction du diamètre d'inhibition (Cavallo et al., 2007)

➤ **Mise en œuvre pratique**

➤ **Milieu de culture**

Le bouillon nutritif est utilisé pour la vérification de la vitalité des bactéries. La gélose nutritive est utilisée pour la conservation des souches, la gélose Mueller Hinton est utilisée dans les tests de sensibilité.

➤ **Préparation des disques**

Des disques préparés en papier Watman n°3 de 6 mm de diamètre sont stérilisés à 120°C pendant 20 min dans des tubes en verre hermétiques jusqu'à l'utilisation.

➤ **Préparation des précultures**

Les souches à tester ont été suspendues dans du bouillon nutritif puis incubées à 37°C afin de vérifier leur viabilité, après 24h des gouttelettes de la suspension ont été ensemencées sur gélose nutritive puis incubées pendant 18 à 24 h à 37°C.

➤ Préparation de l'inoculum

Après incubation les colonies sont mises en suspension dans l'eau physiologique jusqu'à une densité optique de 0.08 à 0.1 à 625 nm (Gulluce et al., 2006).

➤ Mode opératoire

Les extraits secs des plantes étudiées en été solubilisés dans DMSO (le diméthylsulfoxyde noté aussi DMSO est un solvant de formule C_2H_6OS). 15 ml des géloses Mueller Hinton en surfusion sont coulés dans des boîtes de pétrie. Après solidification un volume de 100 μ l de chaque suspension bactérienne est étalée à la surface du milieu gélosé à l'aide d'un râteau, puis les disques stériles sont prélevés et imprégnés avec 15 μ l de l'extrait et ensuite sont déposés sur la gélose (Murray et al., 1995 ; Gulluce et al., 2006), elles sont mises à l'étuve à température 37°C pendant 24h, chaque essai est réalisé en triplica.

➤ Lecture

La lecture est faite par la mesure du diamètre d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le centre du disque,

II.3.1.3 Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne par la méthode de micro dilution en milieu liquide

➤ Principe

C'est une méthode quantitative permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice CMI. La méthode utilisée est celle de Koneman et al (1997) et rapportée par Oke et al (2009). La CMI est étudiée seulement pour les micro-organismes sensibles aux extraits.

➤ Mise en œuvre pratique

Les extraits sont solubilisés dans le DMSO pour avoir la solution mère, une série de dilutions de raison géométrique 2 est réalisée extemporanément dans le bouillon Mueller Hinton à partir de la solution mère pour avoir la gamme de concentration de 50 à 0.4 mg/ml

La CMI est effectuée dans les plaques de 96 puits selon la méthode de microdilution, chaque puits est inoculé avec 95 μ l de BMH, 100 μ l de l'extrait et 5 μ l de la suspension bactérienne contenant 10^8 CFU/ml. Le volume final dans chaque puits est de 200 μ l, le contrôle positif est préparé en mélangeant 195 μ l MHB et 5 μ l inoculum, quant au négatif 100 μ l de l'extrait et 100

µl BMH sans inoculum. Les microplaques sont ensuite recouvertes et incubées à 37°C pendant 24h,

Pour déterminer les concentrations minimales bactéricide CMB, 10 µl sont prélevés des puits dont aucun changement de couleur n'est observé, puis sontensemencés sur milieu gélosé est incubés à 37°C pendant 24h.

II.3.1.4 Expression des résultats

En utilise l'indicateur coloré : Nitro Blue Tetrazolium (NBT sigma aldritch) a une concentration de 2mg /ml

A la lecture, l'obtention d'une couleur bleu indique une multiplication bactérienne, la persistance de la couleur jaune initiale indique l'absence de la croissance, la CMI est égale a la plus petite concentration qui n'a pas montré un changement de couleur (**Peskin et Winterbourn, 2000, Sharma et al., 2012**).

II.3.1.5 Détermination de la concentration minimale bactéricide CMB

A la surface de la gélose GN coulée en boîte de pétri s'effectue l'ensemencement de 10 µl de suspension prélevés à partir des puits sans croissance visible, la même chose pour les témoins positif et négatif, les extraits sont incubées a 37°C pendant 24h, à la lecture la CMB de chaque extrait est déduite à partir de la 1^{er} boîte dépourvue de bactérie. Chaque expérience est réalisée 3 fois (**Licina et al., 2013**)

➤ Caractères bactéricides et bactériostatique

Pour définir les caractères bactéricides ou bactériostatiques il faut calculer le rapport CMB/CMI, si le rapport est inférieur à 4 l'extrait est considéré bactéricide (**Guinoiseau, 2010**),

Pour d'autre critère si les valeurs de CMB sont équivalentes aux valeurs de CMI cela implique l'effet bactéricide, si les valeurs CMB sont supérieures aux valeurs CMI cela signifie l'effet bactériostatique (**Randrianari-velo, 2010**)

II.3.2 Evaluation in vitro de l'activité antifongique

Cette partie est consacrée à étudier l'activité antifongique de quatre extraits de *Warionia saharae* Benth et Coss, *Vitex agnus castus* et *Panicum turgidum* sur quatre souches fongiques ont été isolées du blé et sont fournies par le laboratoire de recherche VRVSA de l'université de Béchar : *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium sp* et *Fusarium sp*,

➤ **Vérification de la pureté des souches**

L'identification des genres de moisissures (annexe) repose sur :

-Des caractères cultureux (macroscopique) : vitesse de croissance, couleur et texture des thalles...

-Des observations microscopiques : Technique de micro culture

➤ **Conservation des souches**

Les souches pures sont conservées à +4°C sur milieu PDAac incliné.

➤ **Milieus de culture**

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

➤ **Méthode de diffusion en disque**

L'activité antimicrobienne qualitative a été réalisée par la méthode de diffusion de disque (**Makhloufi et al. , 2012**). La méthode de diffusion sur disque d'agar a été employée pour déterminer les activités antifongiques des extraits. En bref, les cultures fongiques ont été cultivées sur PDA. Le tapis mycélien de la culture de 7 jours a été lavé et suspendu dans une solution saline normale. Les unités formant colonies (UFC/ml) de la suspension fongique testée ont été déterminées, et l'inoculum testé a été ajusté à 10^6 UFC/ml. Ces conidies ont été utilisées pour les tests antifongiques (**Terfaya et al., 2019**). Les inocula (0,1 ml) ont été appliqués sur la surface de la plaque PDA et étalés à l'aide d'un étaleur en verre stérile (**Bansod et Rai, 2008 ; Bendjima et al., 2020**). Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètres. Des disques de test témoins ont également été utilisés ; tous les tests ont été réalisés en triplicata (**Akermi et al., 2018 ; Mezouari et al., 2019**).

➤ **Concentration minimale inhibitrice des extraits**

Des dilutions croissantes des extraits ont été réalisées dans le milieu PDA ac, inoculé avec un inoculum calibré de la souche à tester. Les tests antifongiques ont été réalisés selon la méthode rapportée par Terfaya et al., (2019). L'activité antifongique évaluée par la méthode du contact direct a été réalisée dans des boîtes de Pétri contenant du PDA. Les extraits et les milieux de culture ont été mélangés à différentes concentrations. Puis, ils ont été inoculés avec une suspension de champignon obtenue à partir d'une culture pure et incubés à 25 °C pendant 7 jours. Le diamètre de la colonie fongique a été obtenu en faisant la moyenne de

deux diamètres perpendiculaires par rapport aux boîtes de Pétri témoins (**Makhloufi et al., 2012, Terfaya et al., 2019**). Après incubation, la concentration la plus faible dans la gamme produisant l'inhibition de la culture mycélienne est appelée la CMI (**Abdel Massih et al., 2010**).

➤ **Fractionnement de l'extrait éthanolique**

➤ **Principe**

La chromatographie de manière générale est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe et l'autre mobile (**Edith et al., 1988, Audigié et al., 1995**).

Selon la technique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leur adsorption et de leur désorption successive sur la phase stationnaire, soit de leur différentes solubilité dans chaque phase (**Edith et al., 1988**).

La CCM est une chromatographie d'adsorption. Les substances les plus solubles dans la phase mobile se déplacent plus facilement que celles qui le sont moins (**Audigié et al., 1995**).

➤ **Mode opératoire**

Un extrait brut a été fractionné sur une colonne contenant le gel de silice en utilisant trois solvants de différentes polarités (figure n°18). Les fractions sont éluées en gradient de polarité dont les solvants utilisés sont : l'éthanol, l'acétate d'éthyle et l'hexane pour obtenir des fractions en fonction de couleur.



Figure n°18: Colonne de fractionnement.

Les fractions résultantes ont été ensuite séparées par chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant une phase de migration (éthanol / acétate d'éthyle / hexane :v/v/v) et révélés sous la lampe UV. Les molécules exposées sont identifiées par calcul de Rf. Les fractions semblables ont été arrangées et évaporées à sec pour tester leurs activités sur les souches fongiques.

➤ **Ensemencement et lecture**

A l'aide d'une pipette pasteur, les boîtes ont été inoculées par dépôt au centre d'une goutte à partir de suspension sporale. Des témoins négatifs sont effectués en parallèle.

L'incubation est effectuée à 27°C pendant 7 jours et la lecture est réalisée par mesure de croissance radiale en centimètre.

II.3.3 Evaluation de l'activité antioxydante

II.3.3.1 Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode du Piégeage du radical libre

L'étude de l'activité antioxydante des différents extraits est faite par la méthode qui utilise le DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) comme un radical libre selon le Protocole décrit par Licina *et al* (2013) pour cela nous avons deux approches : la détermination du pourcentage d'inhibition, et la détermination de la réduction relative du radical DPPH à un temps de référence, ou la détermination de la qualité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50% de DPPH.

➤ **Principe**

Cette méthode est basée sur la réduction d'un radical libre très stable : le 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) en présence d'un antioxydant donneur, ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène.

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant est suivie par spectrophotométrie, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence d'un donneur d'hydrogène (**Burits et Bucar, 2000**)

Le DPPH (figure n° 19) est initialement violet et il se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration représente la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatique ce test permet d'avoir des

information sur le pouvoir antiradicalaire des différentes substances phénolique de nos extraits (Molyneux, 2004)

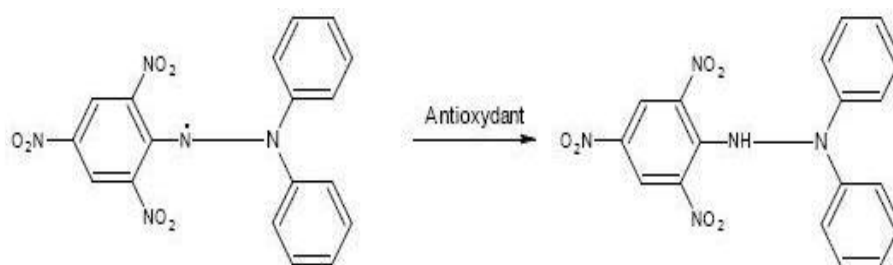


Figure n°19:Réduction du radical libre DPPH (Molyneux, 2004).

➤ **Mise en œuvre pratique**

Selon le protocole décrit par Mansouri et *al* (2005), la solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol absolu. 50 µl des solutions d’extraits ou standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 950 µl DPPH, le mélange est laissé à l’obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant la solution de DPPH et du méthanol est mesurée à 517 nm. L’activité anti-radicalaire est estimée selon l’équation ci-dessous :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Abs Control} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs Control}} \times 100$$

Abs control : Absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d’essai).

Abs échantillon : Absorbance du composé d’essai.

Les résultats sont la moyenne de deux mesures séparées \pm écart type.

➤ **Calcul des IC50**

IC50 (concentration inhibitrice de 50 %), est la concentration de l’échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement par des pourcentages d’inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées (Torres et *al.*, 2006).

N.B: L’acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif pour la méthode de l’évaluation de l’activité antioxydante et aux mêmes conditions expérimentales.

II.3.3.2 Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode de FRAP

➤ Principe

Le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu (1986) basée sur la réaction chimique de réduction du Fe^{+3} présent dans le complexe Ferrocyanure de potassium en Fe^{+2} . L'absorbance du milieu réactionnel est déterminé à une longueur d'onde 1700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

➤ Mise en œuvre pratique

Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations (de 0,1 à 0,6 mg/ml) est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%.

L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 2,5ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction et les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Un aliquote (2,5ml) de surnageant est combinée avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 0,1%.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Singleton et Rossi, 1965).

➤ Expression des résultats

Les résultats obtenus sous forme de courbe de régression linéaire permettent de calculer CE50 qui correspond à une absorbance égale à 0,5.

CE50 est la concentration efficace de l'extrait ou standard qui donne une réponse demi-maximale.

La concentration efficace de 50% de la réduction ferrique (CI50) est exprimée en mg/ml

II.3.4 Evaluation in vitro de l'activité antidiabétique

L'évaluation in vitro de l'activité antidiabétique a été réalisée au niveau de laboratoire Antibiotics Antifungal Laboratory, Physical-Chemistry, Synthesis and Biological Activity (LAPSAB) de l'université Aboubakr Belkaid Tlemcen.

Les extraits ethanoliques de la partie aérienne des deux plantes *Warionia saharae* et *Vitex agnus castus* ont été évalués pour leur activité antidiabétique in vitro par les tests d'inhibition enzymatique α amylase et α glucosidase a une concentration de 8mg/ml. L'acarbose « LARIMEL®50 » est un antidiabétique oral commercialisé utilisé comme control positif dans les tests enzymatique afin de comparer son activité inhibitrice pour α amylase et α glucosidase par rapport a celle des extraits, il joue le rôle d'un faux substrat qui retard l'hydrolyse des glucides complexes ce qui conduit a une absorption plus lente avec une réduction de la glycémie postprandiale. (Lebovitz, 1997, Defronzo1999).

II.3.4.1 Recherche d'effet inhibiteur vis-à-vis l'enzyme α amylase

Nous avons utilisé l'enzyme α amylase d'origine porcine E.C3.2.1.1 (de Sigma-Aldrich Chemical, A3176) sous forme lyophilisée, avec un poids moléculaire de 13000 Da et une activité spécifique de 13 UI/mg. Le substrat est l'amidon de pomme de terre soluble et les produits sont : les oligosaccharides, dextrines et maltose (Worthington, 1988).

➤ Principe

Nous avons testé l'effet inhibiteur des extraits de *Warionia saharae* et *Vitex agnus castus* sur l'activité α amylase selon le protocole Thalapaneni et al (2008) qui prend en compte le caractère réducteur des groupements aldéhyde et cétones libres des sucres en milieu alcalin chaud. L'oxydation de ces fonctions provoque la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) de couleur jaune orange en acide 3-amino 5-nitrosalicylique de couleur rouge orange qui absorbe à 540nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel.

➤ Mode opératoire

➤ Préparer la solution α amylase

Mettre 3mg d'enzyme α amylase dans 13 ml solution tampon phosphate (20mM, pH 6.9).

➤ **Préparer le réactif Chromogène 3.5 dinitrosalicylique (DNSA)**

Solubiliser 1g de l'acide 3,5-dinitrosalicylique dans 40ml d'eau distillée ; préparer la solution de NaOH (2N) dans 20ml d'eau distillée dans la quelle dissoudre 30g de tartrate double de sodium et de potassium sous agitation ; mélanger les deux solutions sous agitation et ajuster le volume final a 100ml avec l'eau distillée ; conserver le réactif a labri de a lumière a 4°C.

➤ **Préparer la solution de substrat**

Dissoudre 1g d'amidon dans 100ml de solution tampon phosphate (20mM,pH6.9).

Préparer la solution d'acarbose a différente concentration (0.5-4mg/ml) dans tampon phosphate (20mM, pH6.9).

Préparer une gamme de dilutions des différents extraits (4-0.125mg/ml) dans la solution tampon phosphate (20mM, pH6.9), puis on a procéder comme suit :

Enzyme	Extrait	Amidon	DNSA
200ul	200ul		
Incuber 10min /37°C			
		200ul	
Incuber 15min /37°C			
			400ul
Ebullition dans un bain marie pendant 5 min			
refroidissement			
lire les absorbances a 540nm.			

Préparer en parallèle un contrôle négatif dans les même conditions opératoire : 200ul de la solution enzymatique α amylase+200ul solution tampon+200ul d'amidon.

II.3.4.2Recherche d'effet inhibiteur vis-à-vis l'enzyme α glucosidase

Nous avons utilisé l'enzyme α glucosidase de la levure *Saccharomyces cerevisiae* E.C.3.2.1.20 (1U/ml) auprès Sigma Aldrich Chemical, A5003.Le substrat est le PNPG (4nitrophenyl- α -D glucopyranoside) et le produit est le glucose.

➤ **Principe**

Le test d'activité inhibitrice de l' α glucosidase a été réalisé selon **Shibano et al (1997)**. le principe consiste a mettre en contact les différents extraits de *Warionia saharae* et *Vitex agnus castus* avec α glucosidase et son substrat est mesurer l'intensité de l'absorbance a 405nm afin d'évaluer le degré d'inhibition de l'activité enzymatique par les échantillons étudiés

➤ **Mode opératoire**

➤ **Préparer la solution α glucosidase**

- Mettre 1mg d'enzyme α glucosidase dans 10 ml solution tampon phosphate (50mM, pH 6.8), puis fractionner ce volume en 10 fractions de 1 ml, puis aliquoter chaque ml dans 9.8ml de solution tampon phosphate.

-Le substrat utilisé est le p-Nitrophenyl α -D-Glucoside avec une concentration de 10mM.

-Préparer la solution d'acarbose à différente concentration (0.5-4mg/ml) dans tampon phosphate (20mM, pH6.9).

-Dans une microplaque, préparer une gamme de dilutions des différents extraits (4-0.125mg/ml) dans la solution tampon phosphate (50mM, pH6.8) , puis on a procéder comme suit :

Enzyme	Extrait	PNPG	DNSA
100ul	50ul		
Incuber 10min /37°C			
		50ul	
Incuber 30min /37°C			
			100ul
Lire les absorbance à l'aide d'un lecteur microplaque a 405nm.			

Préparer un contrôle négatif dans les mêmes conditions opératoire :100ul de la solution enzymatique α glucosidase +50ul solution tampon+50ul PNPG.

II.3.4.3 Expression des résultats

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition de l'enzyme α glucosidase des différents échantillons et d'acarbose .Le pourcentage d'inhibition a été calculé par la formule suivante :

$$I\% = [(A \text{ control négatif} - A \text{ extrait}) / A \text{ control négatif}] \times 100.$$

Les valeurs CI50 (concentration inhibitrice a 50%) ont été déterminées à partir des équations des courbes de régression logarithmique.

II.3.4.4 Analyse statistique

Toutes les expériences ont été répétées trois fois. Les résultats ont été exprimés par le calcul de la moyenne \pm ESM (erreur standard de la moyenne. Les courbes ont été tracées par la logiciel micro soft office Excel 2007.

III.1 Screening phytochimique

Le screening phytochimiques réalisé par des réactions classiques sur les différents extraits bruts (éthériques, éthanolique, chloroformique et aqueux) de la partie aérienne des trois plantes étudiées a permis de caractériser de nombreuses familles de molécules bioactives qui sont illustrés dans le tableau n°07.

Tableau n°07: Screening phytochimique des parties aériennes des trois plantes étudiées

Composés recherchés	<i>Warionia saharae</i>	<i>Panicum turgidum</i>	<i>Vitex agnus castus</i>
Amidon	-	-	-
Composés réducteurs	+	+	+
Saponosides	+I mousse=120	+	+
Tanins	+	+	+
Alcaloïdes	+	+	+
Acides gras	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	+
Anthracénoïdes	-	-	-
Anthocynosides	+	-	-
Stérols	+	+	+
Stéroïdes	+	+	+
Huiles volatiles	+	-	+
Stérols et triterpènes	+	+	+
Polyuronides	-	-	-
Quinones libres	+	-	-

Présence + Absence -

Le criblage phytochimique des trois plantes a révélé la présence de certains groupes à activité antimicrobienne comme les flavonoïdes, des saponines, des tannins. (**Bashige et al., 2020**)

Pour *Warionia saharae* les résultats révèlent la présence de plusieurs familles des composés actifs dans la plante , Il s'agit des composés réducteurs, des saponosides avec un indice de mousse de 120, des tanins, des alcaloïdes, des anthocyanosides, stérols et tritèrpènes, des acides gras, des huiles volatiles et des quinones libres. En outre, *Warionia saharae* est dépourvue de plusieurs familles des composés tel que : l'amidon, les anthracénosides, les emodols , les polyuronides et les anthraquinones.

Nos résultats son analogue à celle d'**Amezouar et al (2012)** qui révèle une présence abondante de polyphénols et de tanins, présence modérée de saponines, coumarines et mucilages et une faible concentration de flavonoïdes et de stérols. Le test était négatif pour alcaloïdes.

Le screening phytochimique de *Vitex agnus castusa* révélé que cette plante renferme un certain nombre de groupes chimiques recherches, a savoir, composés réducteurs, saponosides, tanins, alcaloïdes, acides gras. Par ailleurs il est dépourvu de flavonoides, anthracénoides ,anthocynosides, et les quinones libres. Selon **Berrani et al (2015)**, *Vitex agnus castus* renferme des tanins, des saponines, des o-heterosides, des mucilages, des polyphenols, des quinones, des alcaloides, des composes réducteurs, des flavonoïdes, des coumarines, des protéines, des carotenoides, des glycosides cardiaques, des composes cyanogenetiques, des stérols et des tri-terpenes.

Le screening phytochimique de *Panicum turgidum* a montré la présence de certain groupes chimiques qui sont :des composés réducteurs, saponosides, alcaloïdes, tanins, composée réducteur, terpènes et stéroïdes. Selon **El-Desoukey (2019)** les composés de *Panicum turgidum* qui sont testé par criblage phytochimique sont : alcaloïdes, flavonoïdes, tanins et des composés de saponine. Pour ce qui est de **Haddouchi et al (2016)** ; les tests phytochimiques de *Panicum turgidum* ont montrés l'existence de quelques groupes chimiques qui sont : flavonoïdes, tanins cathéchiqque, alcaloïdes, et les saponoside.

III.2 Rendement des extraits des trois plantes étudiées

Les parties aériennes des trois plantes étudiées sont soumises à une extraction. Après évaporation à sec sous pression réduite, on a obtenu un extrait verdâtre, d'un aspect pâteux et d'une odeur caractéristique de chaque plante. Le rendement est déterminé par rapport à 100 g de matériel végétal sec. Il est exprimé en pourcentage. Les résultats du rendement des différents extraits pour les plantes étudiées sont présentés dans les trois figures suivantes :

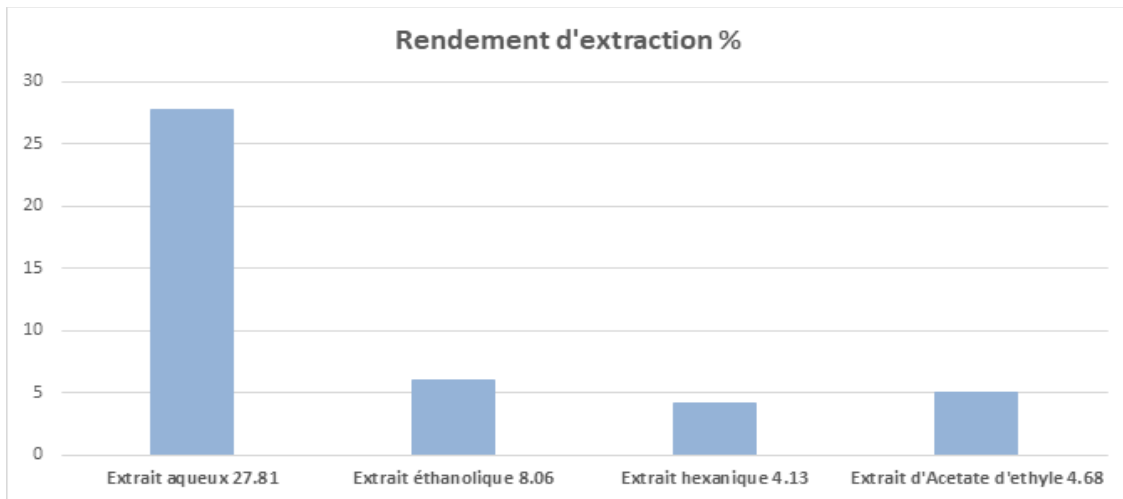


Figure n°20: Rendement en % des extraits pour *Warionia saharae*.

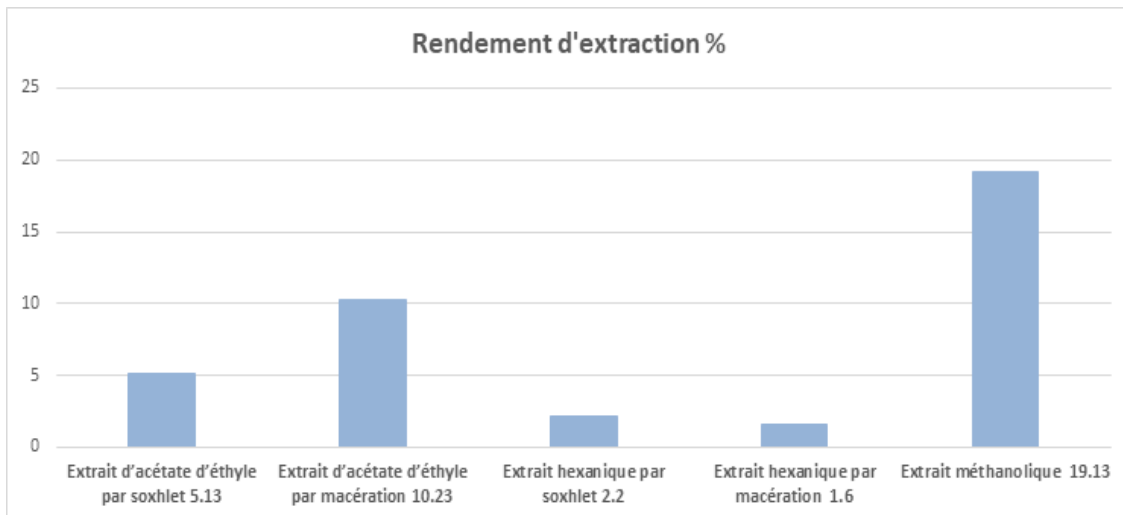


Figure n°21: Rendement en % des extraits pour *Vitex agnus castus*.

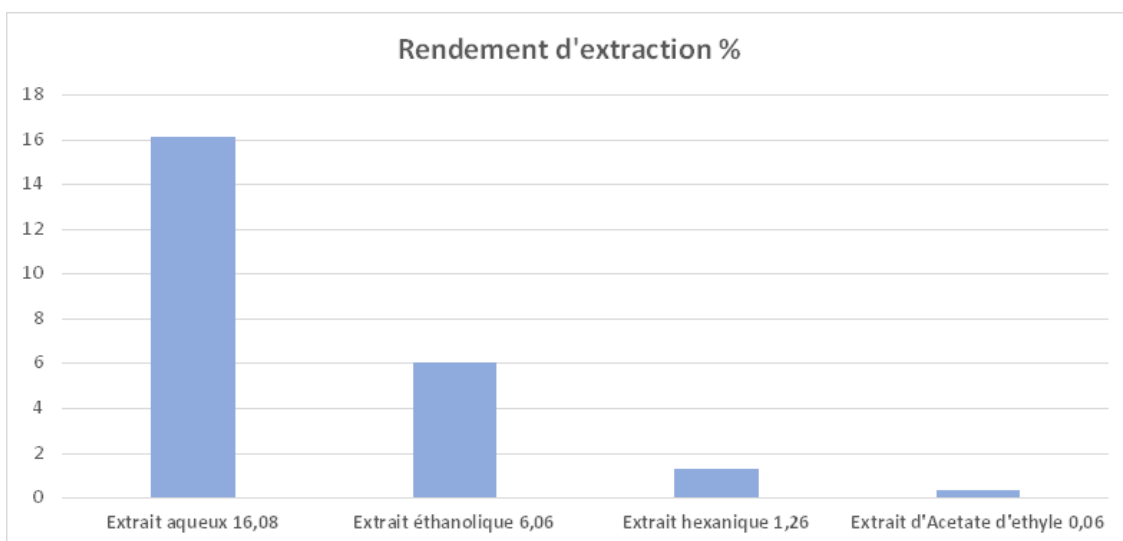


Figure n°22: Rendement en % des extraits pour *Panicum turgidum*

D'après les figures suscitées, le rendement des extraits des trois plantes varie d'un solvant à un autre :

Pour *Warionia saharae* nos résultats sont analogues au ceux d'**Amezouar et al (2012)** qui ont exposé des rendements de 8.90% pour l'extrait éthanolique et de 4.04% pour l'extrait d'acétate d'éthyle. Pour *Panicum turgidum* on remarque que l'extrait aqueux possède la meilleure valeur de rendement (16,08%) par rapport aux autres extraits. Pour *Vitex agnus castus* on remarque que l'extrait acétate d'éthyle possède la meilleure valeur de rendement (19 %) par rapport aux autres extraits qui ont présentés de faible rendement.

En effet, Ces différences de rendement peut être attribuées à plusieurs facteurs, saisonniers, et environnementaux, la nature du sol, la zone géographique, la période de récolte (**Bertini et al., 2005 ;Colombo et al., 2013 ; Gende et al., 2014**). Ainsi que la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été faite essentiellement la température et la durée de cette opération, cela affectent ainsi le taux total en phénols et flavonoïdes (**Lee et al., 2003**).

III.3 Activités biologiques étudiées

III.3.1 Activité antibactérienne

III.3.1.1Antibiogramme

On a effectué un antibiogramme afin de connaitre les comportements des souches de références vis-à-vis des antibiotiques. Dans le cadre de cette recherche, nous avons utilisé comme antibiotiques: l'ampicilline, gentamicine , pristinamycine , ofloxacin , fosfomycine, et rifampicine. Les résultats de l'antibiogramme effectué sur les six souches sont consignés dans le tableau n° 08.

Tableau n°08 : Antibiogramme

Especes	GEN120ug	AMP10ug	R 30ug	OFX 5ug	PT 15ug	F 200ug
<i>Pseudomonas aerigenosa</i>	-	20	16	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	13	34	-	-
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	-	13	20	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	17	16	-	-	-
<i>Streptococcus agalactiae</i>	20	12	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	43

Quatre souches se sont révélées sensibles à la rifampicine avec des diamètres variés. *Enterococcus faecalis* et *Pseudomonas aerigenosa* sont les plus sensibles avec une zone d'inhibition de 16 mm, et le plus petit est de 13 mm enregistré sur *Escherichia coli* et *Acinetobacter baumannii*. L'ampicilline a exercé un effet inhibiteur, *Pseudomonas aerigenosa* est la plus sensible avec un diamètre d'inhibition autour de 20 mm, quant au *Enterococcus faecalis*, le diamètre est de 17mm. D'après des travaux antérieurs sur le comportement des entérobactéries vis-à-vis des antibiotiques, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* et *Enterobacter cloacea*, montrent une résistance à l'ampicilline (Barhouchi, 2015), ce qui est en concordance avec nos résultats.

La fosfomycine, et la gentamicine ont réagi positivement uniquement sur *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus agalactiae* avec un diamètre de 43mm et 20mm respectivement. Pour l'ofloxacine, *Escherichia coli* est la plus sensible avec un diamètre de 34 mm.

Les boîtes Pétri présentées dans la figure n°23 montrent les zones d'inhibition des antibiotiques testés vis à vis les souches de références.

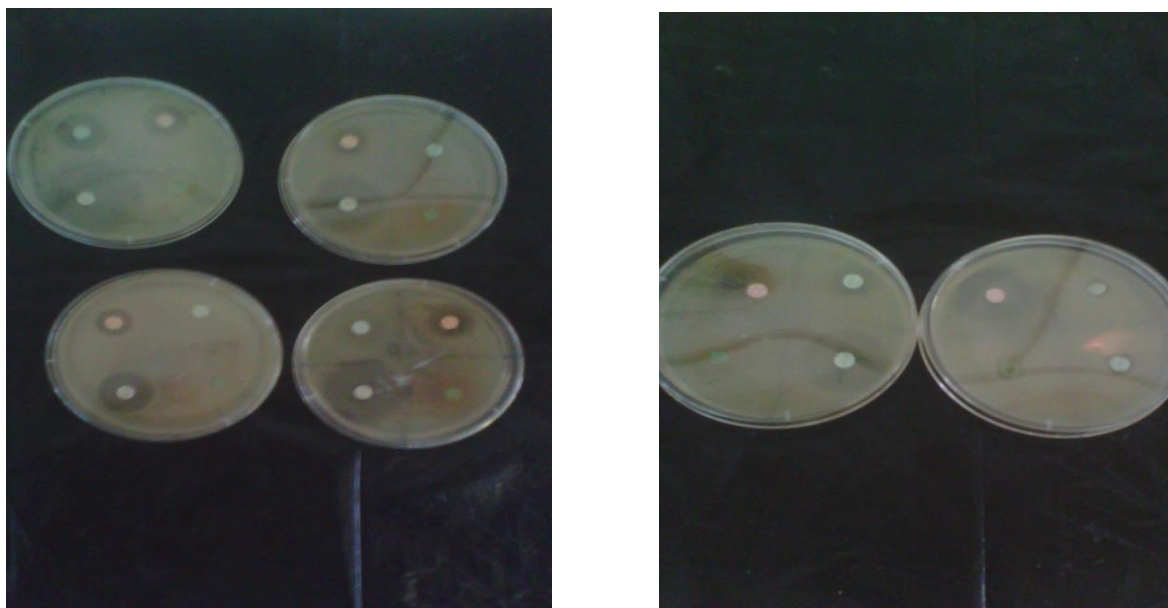


Figure n°23 : Présentation des zones d'inhibition des antibiotiques sur boîtes Pétri vis à vis les souches de références.

III.3.1.2 Activité antibactérienne des extraits

Suivant le diamètre de la zone d'inhibition exprimé en (mm) autour de chaque disque, la lecture des résultats est faite comme suit :

Résistante (-) : diamètre \leq 8mm

Modérément sensible (+) : diamètre compris entre 8 et 14mm.

Sensible (++) : diamètre compris entre 14 et 20mm.

Extrêmement sensible (+++) : diamètre $>$ 20 mm .(Djabou et al.,2013)

Le tableau n°09 présente les résultats de l'activité antibactérienne des extraits des trois plantes étudiées. Les paramètres d'inhibition (CMI et CMB) permettent non seulement de confirmer, et quantifier les activités, mais aussi de déterminer et caractériser la nature de l'effet révélé par un extrait sur un micro-organisme donné.

Tableau n°09: Activité antibactérienne des extraits éthanoliques des trois plantes étudiées par la méthode de disque et la méthode de microdilution en mg/ml.

Plantes		<i>E. coli</i>	<i>P. Aerigenosa</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Warionia saharae</i>	D	23	19	27.5	17	-	13
	CMI	6.25	25	12.5	6.25	-	12.5
	CMB	12.5	25	12.5	12.5	-	12.5
	R/S	+++	++	+++	++	-	+
<i>Vitex agnus castus</i>	D	16	15	12	17	13.5	12.5
	CMI	12.5	12.5	3.125	12.5	12.5	6.25
	CMB	12.5	12.5	3.125	12.5	25	12.5
	R/S	++	++	+	++	+	+
<i>Panicum turgidum</i>	D	-	-	-	-	-	-
	CMI	-	-	-	-	-	-
	CMB	-	-	-	-	-	-
	R/S	-	-	-	-	-	-

D : Diamètre; CMI :Concentration Minimale Inhibitrice; CMB :Concentration Minimale Bactéricide ; R/S :Résistante/Sensible.

L'examen des zones d'inhibition de croissance des bactéries a montré que l'extrait éthanolique présente les meilleurs résultats, pour *Warionia saharae* l'extrait présente une

activité antibactérienne que sur deux souches Gram positif testées, avec un taux d'inhibition de 66.66%, et un taux d'inhibition de 100%.sur les souches Gram négatif.

La CMI obtenue varie de 6.25 à 25 mg/ml pour les bactéries Gram négatif et de 6.25 a 12.5 mg/ml pour les Gram positif. Toutefois la CMB montre que l'extrait ethanologique est bactéricide sur 65% des souches bactériennes et bactériostatique sur *Escherichia coli* et *Enterococcus faecalis*.

Selon **Sellam et al (2012)** La comparaison entre l'activité bactériostatique in vitro de l'huile essentielle de *Warionia saharae*, et la zone d'inhibition formée par un disque d'antibiotique standard ampicilline (A10) et Nystatine (N10)) ont montrés que les huiles essentielles étaient plus actives contre les micro-organismes testés.

Ces résultats suggèrent que l'huile volatile de *Warionia saharae* serait probablement un bon agent thérapeutique contre ces bactéries et les champignons. **Belboukhari et Cheriti (2016)** ont montrés que l'extrait MeOH de *Launaea nudicaulis* et *Warionia saharae* présent une activité antibactérienne importance contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*.

Les propriétés bactériostatiques de l'huile sont soupçonnées d'être associées à la haute teneur en eudesmol et en nérolidol, qui ont été tester précédemment et s'est avérée d'avoir une activité antibiotique importante (**Noriega et al ., 2020**).

Pour *Vitex agnus castus*, l'extrait ethanologique a montré une activité sur toutes les souches testées, avec un taux d'inhibition 100%, La CMI obtenue varie de 3.125 à 12.5 mg/ml pour les bactéries Gram négatif et les bactéries gram positif. Toutefois la CMB indique dans l'ensemble que l'extrait ethanologique est totalement bactéricide sur les souches testées sauf pour *Streptococcus agalactiae* et *Staphylococcus aureus*.

Selon **Habbab et al (2015)** Les huiles essentielles de graines et de feuilles de *Vitex agnus castus* récolté au Sud-ouest algérienont montrés un pouvoir antibactérien contre *Klebsiella pneumonea*, *E. coli* et *Pseudomonas aeriginosa*, respectivement. Selon **Zhelev et al (2022)** Les huiles essentielles de *Vitex agnus castus* récolté au nord-est de la Bulgarie ont démontré une activité antimicrobienne contre les espèces pathogènes *Salmonella abony*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, mais les bactéries à Gram négatif *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeriginosa* ont montrés une résistance à l'huile. Selon **Eryigit et al (2015)** l'activité antimicrobienne a été testée en utilisant la méthode de diffusion sur disque. Selon les zones d'inhibition, les huiles essentielles étaient actives contre tous les microorganismes testés. Les huiles essentielles ont montrés des zones d'inhibition sensibles, mais elles étaient moins efficaces contre les souches bactériennes que l'ampicilline et l'ofloxacin. Les organismes les

plus sensibles à ces huiles essentielles étaient *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Cependant, d'autres études doivent être réalisées pour confirmer l'innocuité de ces huiles en tant qu'agent antimicrobien.

Pour *Panicum turgidum*, l'extrait éthanolique n'a aucun effet vis-à-vis les souches testées. Contrairement aux travaux réalisés par **El-Desoukey (2019)** qui révèlent que cette plante possède une activité antifongique remarquable contre *Candida albicans* et un effet antibactérien significatif contre *Streptococcus pyogens*.

III.3.2 Activité antifongique

L'interprétation des résultats est faite par la mesure de la pousse fongique, et la cinétique de croissance, cette lecture est réalisée par comparaison avec des boîtes témoins réalisées en même temps dans les mêmes conditions que les boîtes à tester. Les valeurs moyennes des mesures journalières de diamètre de croissance des germes nous a permis de réaliser les figures de la croissance mycélienne en fonction de la concentration en extrait. L'étude des diamètres de la zone d'inhibition a révélé que les extraits organiques présentent une activité antifongique.

Pour *Warionia saharae* l'extrait éthanolique a montré une activité importante contre les souches fongiques testées. Les résultats affichés dans la figure n°24 montrent une diminution de la croissance radiale en fonction de l'augmentation de la concentration jusqu'à l'inhibition totale.

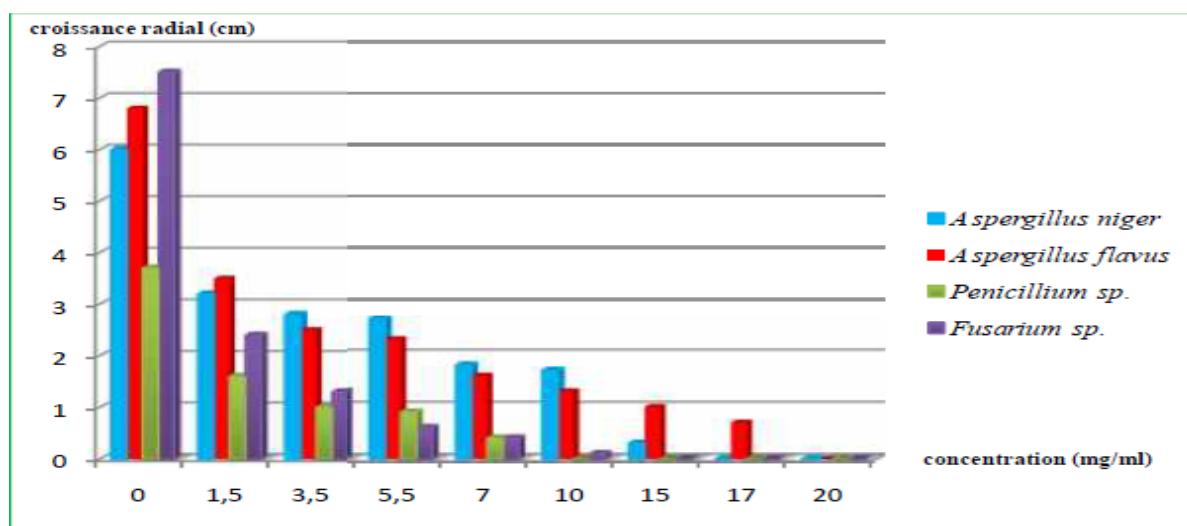


Figure n°24: Activité antifongique de l'extrait éthanolique en mesurant la croissance radiale en cm.

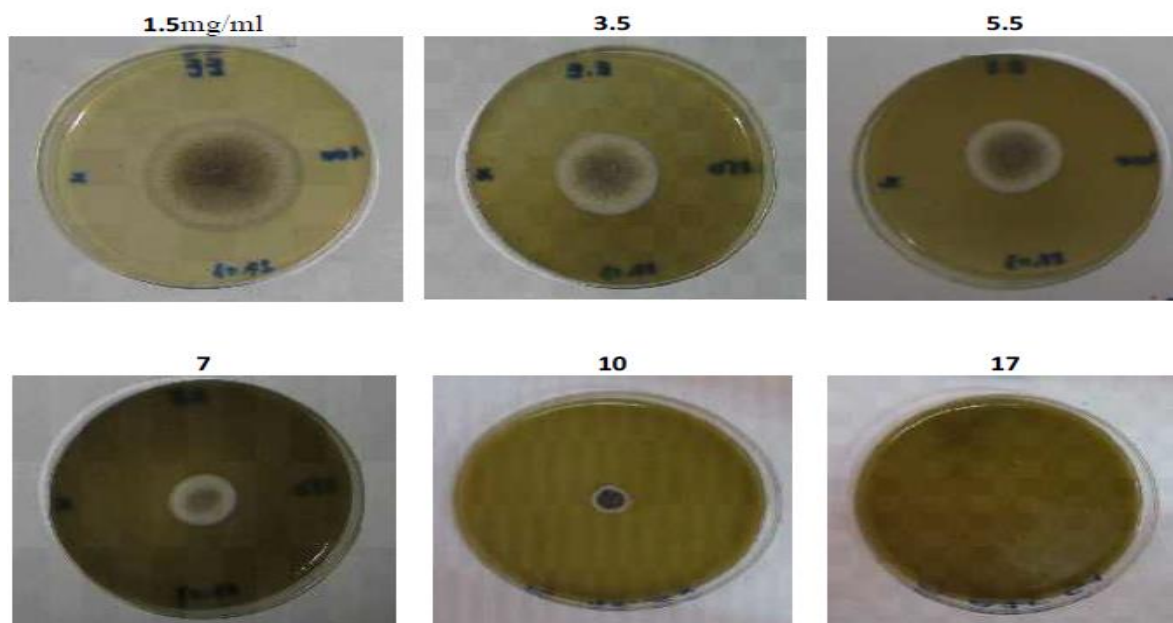


Figure n°25 : Diminution de la croissance radiale en fonction de l'augmentation de la concentration en extrait éthanolique.

Pour l'extrait hexanique ,la figure n°26 prouve que ce dernier a un effet puissant sur les souches fongiques en inhibant la croissance de *Penicillium sp* à une concentration de 2.42 mg/ml et *Fusarium sp* à une concentration de 3.5 mg/ml ,tenant compte la diminution de croissance radiale en fonction de concentration pour *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*.

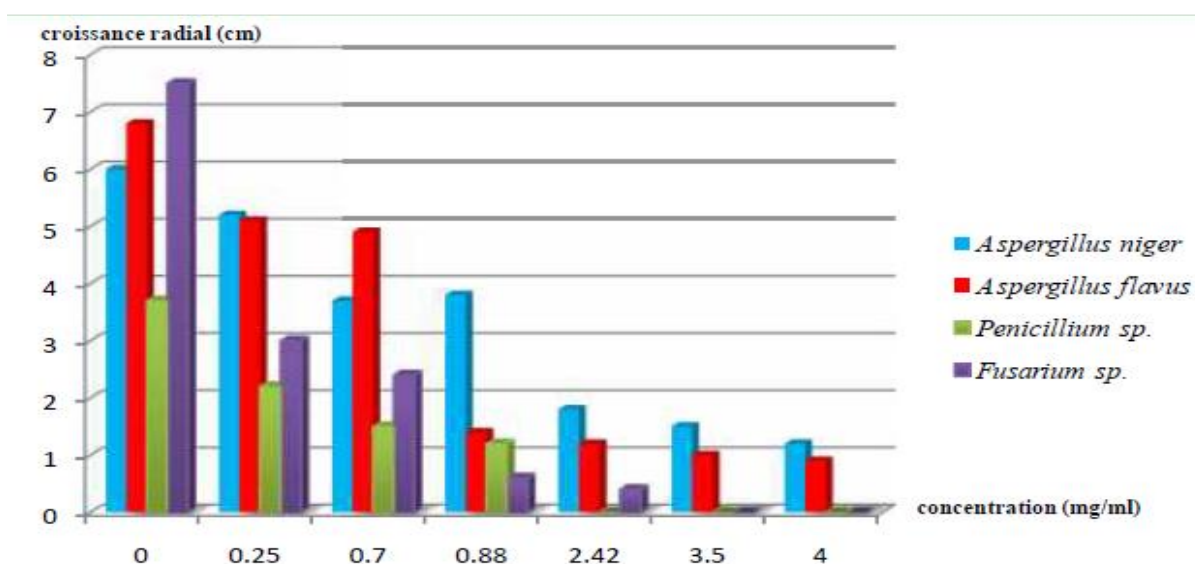


Figure n°26 : Activité antifongique de l'extrait hexanique en mesurant la croissance radiale en cm.

L'extrait acétate d'éthyle a un effet modéré sur les souches fongiques en exerçant une décroissance radiale avec l'augmentation des concentrations pour *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* et *Fusarium sp.* En revanche, l'extrait a abouti à une inhibition totale contre *Penicillium sp.* à une concentration de 20 mg/ml.

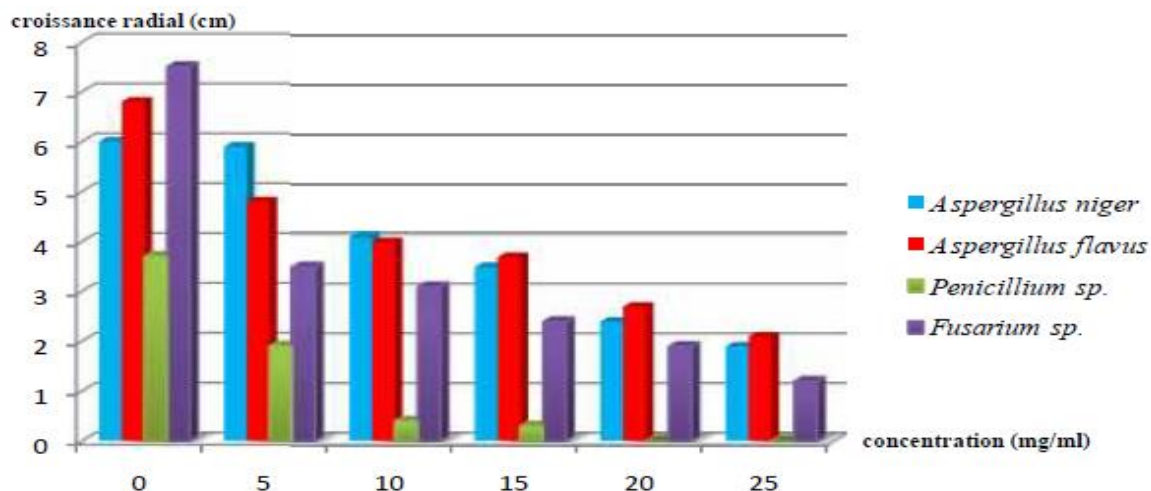


Figure n°27 : Activité antifongique de l'extrait d'acétate d'éthyle en mesurant la croissance radiale en cm.

➤ **Fractionnement de l'extrait éthanolique :**

Les fractions obtenues (figure n°28) par chromatographie sur colonne sont séparées ultérieurement sur CCM et révélées sous la lampe UV (figure n°29). Après le calcul des Rf, on a constaté que les fractions (2, 3, 4) ; (5,6) et (7) sont arrangés en nouvelles fractions : F1, F2 et F3 successivement.



Figure n°28 : Les différentes fractions obtenues par chromatographie sur colonne de l'extrait éthanolique de *Warionia saharae*.

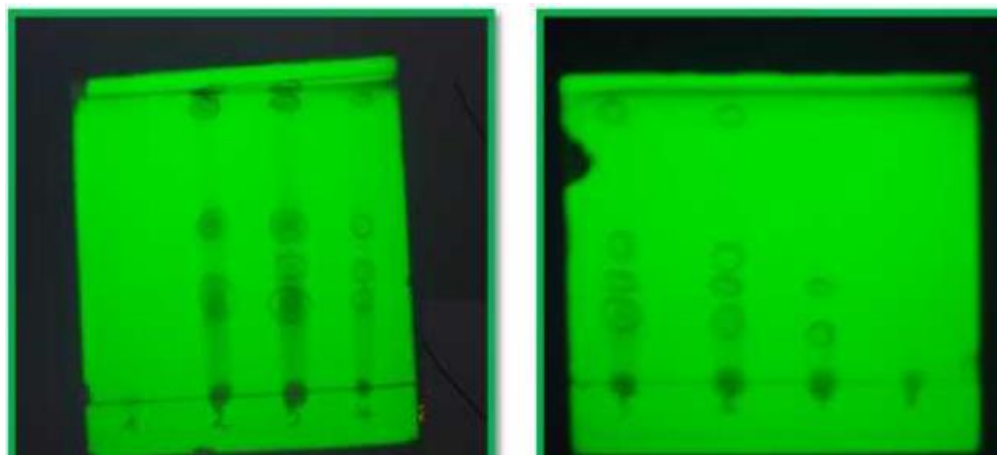


Figure n°29 : Séparation des fractions sur plaques CCM et leurs révélations sous lampe UV.

➤ **Rendement des fractions**

Chaque fraction est évaporée à sec. Le rendement par rapport au brut pour les fractions F1, F2 et F3, est de l'ordre de 77.61%, 6.19% et 7.17% respectivement.

➤ **Activité antifongique des fractions de *Warionia saharae***

Les fractions F1, F2 et F3 préparées à des concentrations de 200, 65 et 75 mg/ml successivement sont utilisées pour l'activité antifongique. Leurs effets sont démontrés dans la figure ci-dessous.

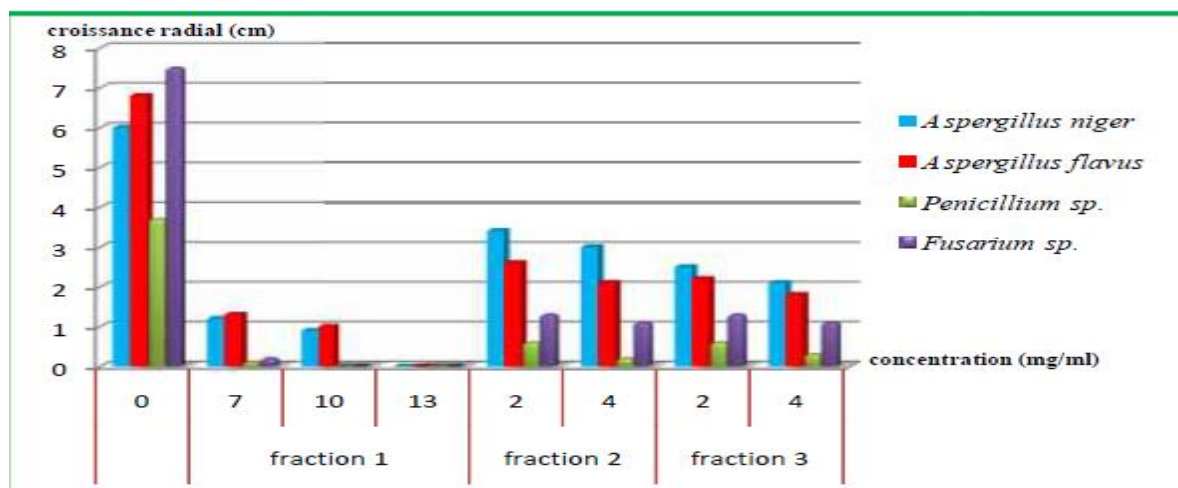


Figure n°30 : Activité antifongique des fractions (1, 2, 3) de l'extrait éthanolique en mesurant la croissance radiale en cm.

Les résultats exposent que les fractions exercent des effets différentiels ; avec un effet significatif de la fraction 1 vis-à-vis toutes les souches testées. Ce qui explique son fort rendement noté. En parallèle, cette fraction (F1) enregistre un effet antifongique plus meilleur

que celui de brut cela montre l'effet antagoniste entre les molécules dans l'extrait brut. **Gherib et al (2014)** ont prouvé que l'huile essentielle a montré une faible activité antifongique contre les champignons filamenteux, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus* avec des valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) comprises entre 4 et 8 µl/ml.

Pour *Vitex agnus castus*, les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau n° 10: Activité antifongique de l'extrait éthanolique de *Vitex agnus castus*

souches	Les concentrations (g/l) x 10 ⁻³									
	T	12	14	16	18	20	24	26	28	30
<i>Aspergillus niger</i>	9,5	5	5	5	5	5	4	4	4	4
<i>Aspergillus flavus</i>	6,5	4	4	4	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
<i>Fusarium oxysporum</i>	7	4	3,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

Selon **Sqalli et al (2007)** l'extraction des rameaux feuillés de l'espèce *Vitex agnus castus* a été testée pour leur activité des différents extraits aqueux ou éthanolique contre la croissance des cinq espèces de *Mycobactéries aurum*, *Myeobacterium smegmalis*, *Myeobacterium kansasii*, *Myeobacterium bovis*, et *Myeobacterium vaccae*. L'activité se traduit par l'inhibition totale de la croissance des mycobactéries sur les milieux de culture contenant 160 mg/ml de l'extrait. La méthode de diffusion en milieu gélosé confirme ces résultats, les extraits des espèces actives ont abouti à l'apparition d'un halo d'inhibition qui traduit par l'inhibition totale de la croissance des cinq mycobactéries testées.

Selon **Asdadi et al(2015)** confirment que les huiles essentielles de graines de *Vitex agnus castus* ont révélées une zone d'inhibition de 35 à 58 mm (moyenne : 49 mm) contre les 30 isolats testés. Dans la méthode de macro dilution en bouillon, toutes les espèces de *Candida* testées étaient sensibles aux huiles essentielles et cette activité était dépendante de la concentration. Les valeurs de CMI variaient de 0,13 à 2,13 mg/ml d'huiles essentielles de graines de *Vitex agnus castus* ; Alors **Habbab et al (2015)** ont montrées que l'huile de feuilles et de fleurs de *Vitex agnus castus* a montré une activité antifongique élevée contre *Penicillium escpansum*, *Aspergillus flavus*, respectivement.

Pour *Panicum turgidum* nous avons évalué l'activité antifongique des différents extraits sur les quatre souches fongique (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporium* et *Penicillium sp*). Les résultats ont montrés que l'extrait éthanolique présente un pouvoir antifongique plus important que ceux des autres extraits.

Les résultats obtenus par la méthode de l'évaluation de la croissance radiale révèlent que l'extrait éthanolique a exercé un effet inhibiteur sur la croissance des souches, la sensibilité des souches a été respectivement considérée des moins sensibles vers les plus sensibles respectivement : *Aspergillus niger* en premier lieu, *Aspergillus flavus* , *Fusarium oxysporium* et *Penicillium sp*. L'extrait éthanolique de *Panicum turgidum* présente respectivement un indice antifongique 22.03 % vis-à-vis *Aspergillus niger* 25% vis-à-vis *Aspergillus flavus* 40% vis-à-vis *Fusarium oxysporium* et 50 % vis-à-vis *Penicillium Sp*.

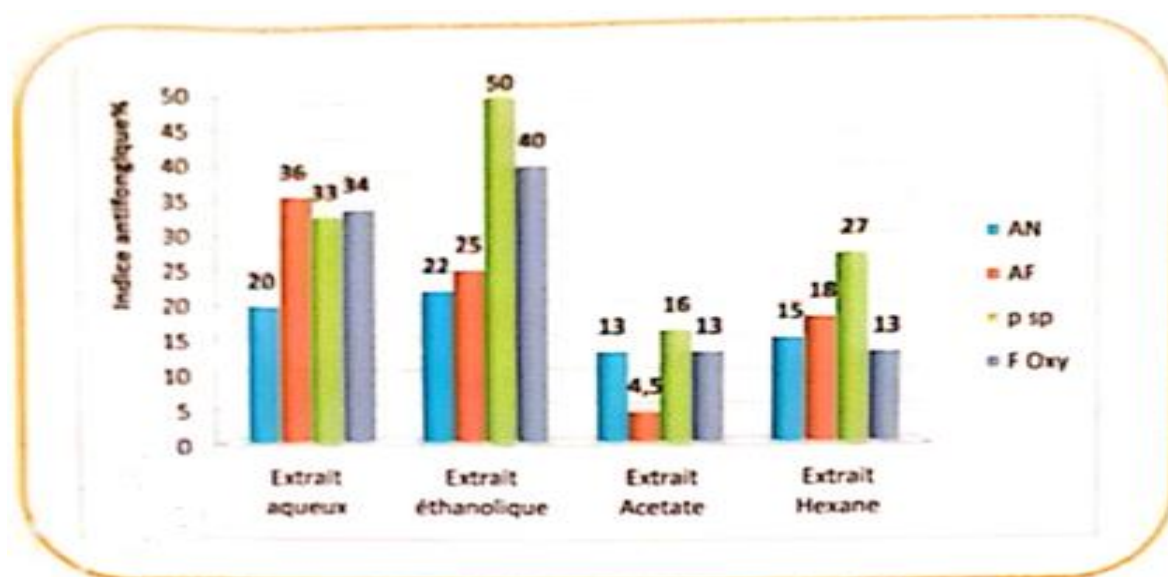


Figure n°31 : Indice antifongique des différents extraits sur la croissance des souches testées

La richesse de cette plante on substances chimiques lui donne des activités biologiques très variables , par exemple l'effet antimicrobien par la présence de tanins, terpènes , stéroïdes et d'alcaloïdes révélés par les tests photochimiques, lors de cette étude, le pouvoir antifongique d'extrait éthanolique a été étudié vis-à-vis de quatre souches fongiques. Ce pouvoir a été évalué par la détermination du diamètre de zone d'inhibition et la détermination de la CM1.

Les CMI obtenues varient suivant les souches fongiques. Elles sont comprises entre 0,25 et 1mg/ml. De façon générale, l'extrait éthanolique est le plus actif sur les souches testées.

Le type d'activité a été évaluée pour les extraits ayant présentés une inhibition totale des germes dans la gamme de concentrations testées. On remarque que l'extrait éthanolique a montré une activité fongicide pour les quatre souches qu'il inhibe avec des concentrations de 0,75 mg/ml.

➤ **Fractionnement de l'extrait éthanolique** : Pour mieux caractériser l'activité antifongique des fractions sur les souches (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporium* et *Penicillium sp*) on a procédé à la chromatographie sur colonne ouvert qui nous a permis de fractionner l'extrait éthanolique sur gel de silice qui est utilisé comme support. La purification de ces fractions est ensuite vérifiée par chromatographie sur couche mince qui nous a donné des spots uniques.

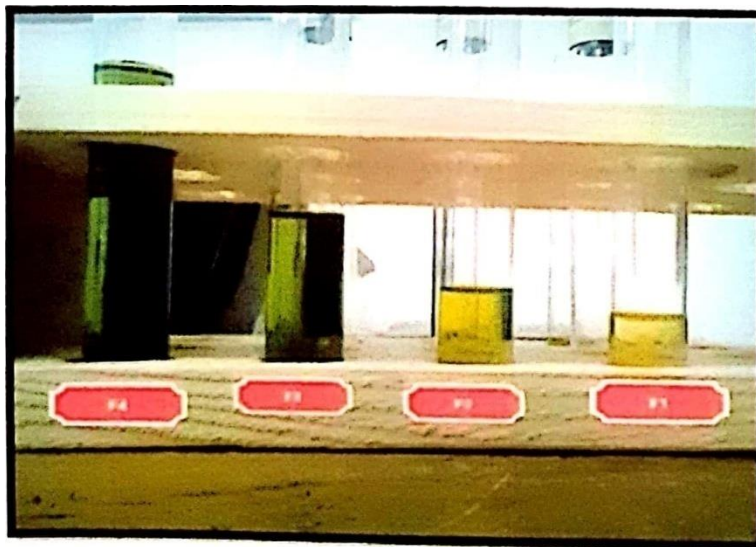


Figure n°32 : Les quatre fractions obtenues de l'extrait éthanolique de *Vitex agnus castus* par chromatographie sur colonne.

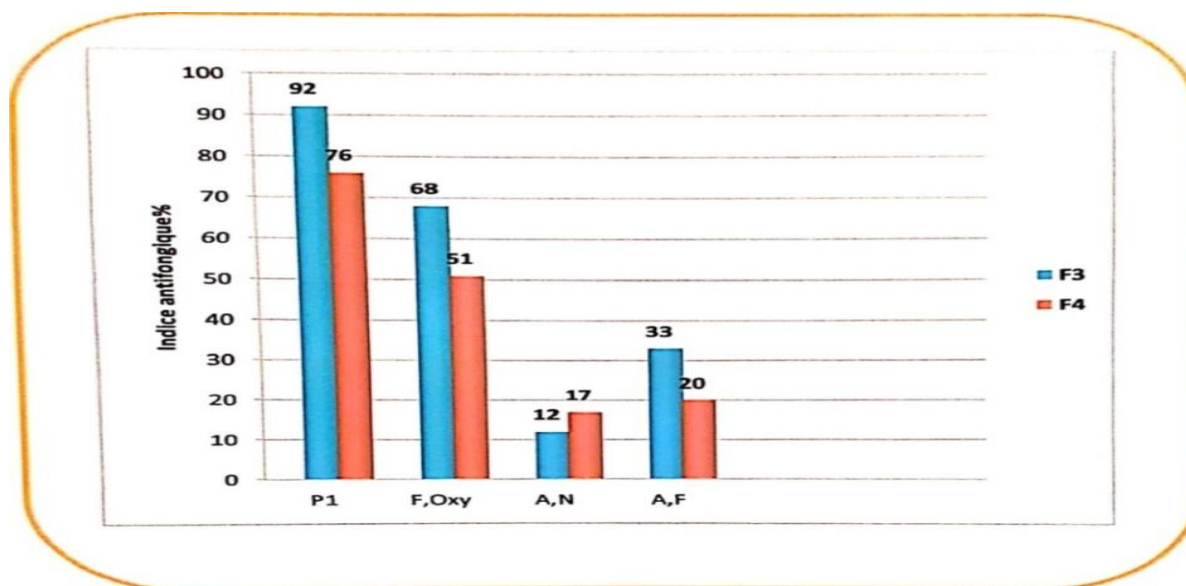


Figure n°33 : Indice antifongique de différentes fractions sur la croissance des souches testées.

L'analyse de l'activité antifongique des fractions montre que F3 plus inhibitrice que la F4 la fraction F4 est la moins active contre toutes les souches testées.

En conclusion nous pouvons dire que l'activité antifongique d'extraits éthanolique se justifier principalement après fractionnement.

III.3.3 Activité antioxydante

III.3.3.1 Piégeage du radical libre DPPH

Pour l'évaluation de cette activité, on a préparé une gamme de dilutions allant de 0.1 à 0.5mg/ml pour l'acide ascorbique et tous les extraits (aqueux, éthanolique, hexanique et d'acétate d'éthyle) de la partie aérienne des trois plantes étudiées.

Les différentes densités optiques ont permis de tracer pour chaque extrait, une courbe d'allure exponentielle, ce qui signifie l'existence d'une relation proportionnelle entre le pourcentage de réduction du radical libre et la concentration de l'extrait dans le milieu réactionnel. A partir de ces courbes nous pouvons déterminer les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées ainsi que la valeur de l'IC50 (EC50) pour chaque extrait. Plus la valeur de l'IC50 est petite, plus l'extrait possède une bonne activité antioxydante.

L'activité est considérée comme une diminution de l'absorbance de l'échantillon par rapport à la solution standard de DPPH. Les résultats de mesure des pourcentages d'inhibition des extraits de *Warionia saharae* et ceux de l'acide ascorbique sont illustrés dans le tableau n°11.

Tableau n°11:Activité anti-radicalaire en % des extraits et celle de l'acide ascorbique

Concentration en µg/ml	100	200	300	400	500
Extrait aqueux	16,98	22,64	25,83	39,04	47,6
Extrait éthanolique	60,81	68,5	70,97	79,82	96,51
Extrait hexanique	0,05	2,03	3,91	5,51	6,82
Extrait d'acétate d'éthyle	13,64	26,27	37,15	48,18	58,05
Acide ascorbique	42,96	62,26	91,58	94,04	95,91

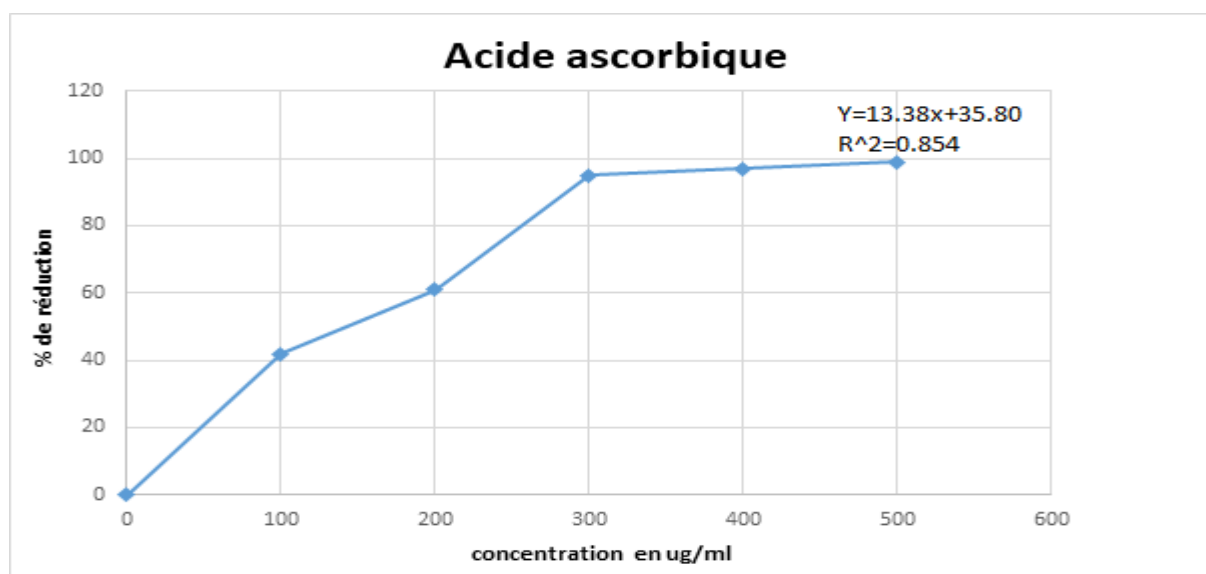


Figure n°34:Pourcentages de réduction du radical libre DPPH de l'Acide ascorbique

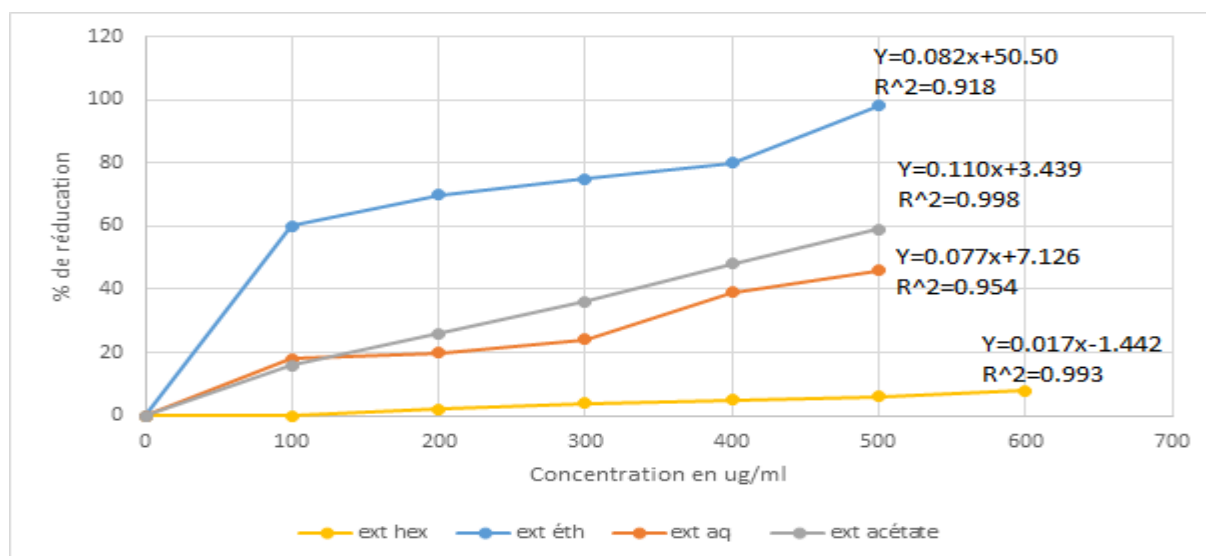


Figure n°35:Pourcentages de réduction du radical libre DPPH des extraits bruts de *Warionia saharae*.

Par comparaison au travail d'**Amezouar et al (2012)** qui sont postulés un pourcentage de réduction de 80.93% pour l'extrait éthanolique et 88.10 % l'extrait d'acétate d'éthyle à une concentration de 1000 µg/ml, nos extraits ont montré un pouvoir de piégeage du radical DPPH étendu à 96.51% pour l'extrait éthanolique et de 58.05% pour l'extrait d'acétate à une concentration de 500 µg/ml. Cette divergence de résultat peut être due au mode de préparation des extraits, zone de plantation, période de récolte, tandis que l'extrait aqueux et l'extrait hexanique ont montrés des pouvoirs de piégeage du radical DPPH faibles.

Mezhoud et al (2012) ont prouvés la capacité antiradicalaire de l'extrait éthanolique jusqu'à 93% à une concentration de 150µg/ml, avec une IC50 de 6.98µg/ml.

Pour l'acide ascorbique, on remarque augmentation du pourcentage d'inhibition et cette augmentation est proportionnelle à la concentration de la solution jusqu'à la fin de l'expérimentation ou le pourcentage d'inhibition arrive à se stabiliser.

Calcul des IC 50% :

La capacité antioxydante de nos différents extraits a été déterminée à partir des IC50. C'est la concentration en extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. L'IC50 et l'activité antioxydante de l'extrait testé sont inversement proportionnels (**Prakash et al., 2007**).

Nous avons calculé les IC50 (**annexe**) pour chaque extrait à partir de l'équation logarithmique de la courbe tracée, ont été estimées en utilisant la courbe de régression linéaire

Les valeurs sont représentées dans le tableau n°12.

Tableau n°12: Valeurs des IC50 (en µg/ml) des extraits de *Warionia saharae* et celui de l'acide ascorbique.

Extraits	IC 50% en µg/ml
Acide ascorbique	1.023
Extrait aqueux	556.80
Ethanolique	6.09
Hexanique	3026
Acétate d'éthyle	423.28

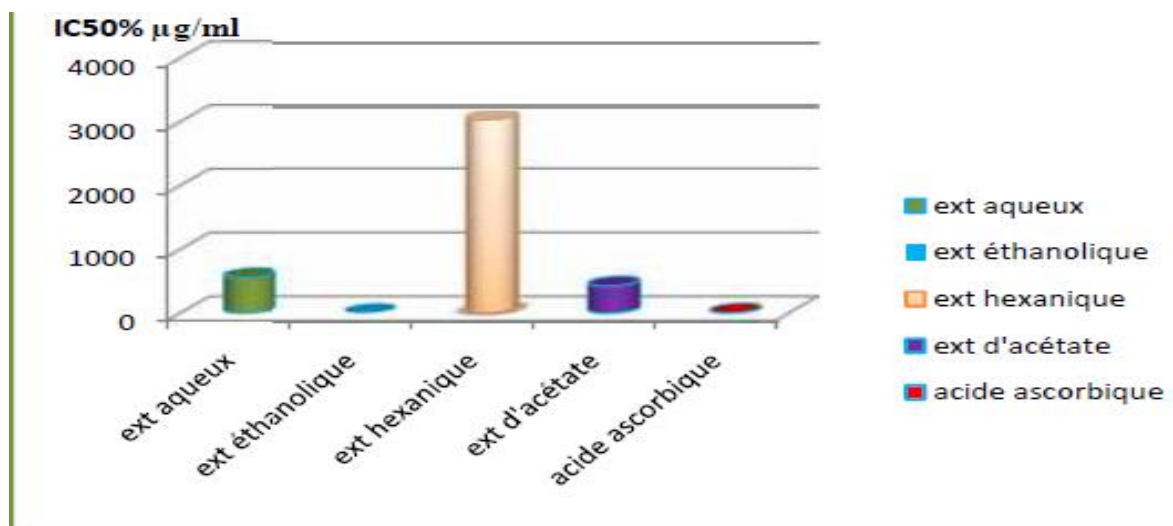


Figure n°36: Concentration efficace à 50 % pour les extraits et celui de l'acide ascorbique.

D'après ces résultats, nous remarquons en premier lieu que tous nos extraits ont des activités moins importantes que la substance de référence (l'acide ascorbique).

Au sein des extraits bruts on peut les classer selon l'ordre décroissant d'activité antioxydante comme suit : acide ascorbique > extrait éthanologique > extrait d'acétate d'éthyle > extrait aqueux > extrait hexanique.

Donc La capacité antioxydante des extraits de la plante sont largement dépendant de la composition de ces extraits ainsi que les conditions de manipulation des tests in vitro.

Les activités antioxydantes de *Warionia saharae* ont été comparées aux normes vitamine c, DPPH piégeage des radicaux libres l'activité (% IP) était évidente pour tous les extraits testés, comme le montre le tableau n°12.

Selon **Amezouar et al (2012)**, une valeur IC50 inférieure indique une plus grande activité antioxydante. L'IC50 de *Warionia saharae* de l'extrait de saponines était faible (IC50 = 74,14g/ml), car son activité antioxydante était supérieure à celle de l'extrait éthanologique (CI50 = 182 µg/ml) et extrait d'acétate d'éthyle (CI50 = 197,4 µg/ml).

Des travaux similaires qui sont réalisés par **Ajebli et al (2019)** sur les tannins de cette plante ont montrés l'existence d'une activité antioxydante intéressante. Selon **Belboukhari et cheriti (2016)**, l'activité antioxydante in vitro a été étudiée avec deux méthodes différentes : test sur CCM à la β-carotène et technique de réduction du radical libre DPPH, le criblage préliminaire des extraits sur CCM a permis de cibler l'activité antioxydant dans les extrait BuOH, MeOH et ACOET ce qui révèle la richesse des extraits en composés phénolique, de même l'évaluation quantitative du pouvoir piégeur des extraits vis-à-vis du DPPH confirme que les extraits BuOH, MeOH et ACOET sont les plus actifs.

Il a été suggéré que la teneur en composés phénoliques de la matière végétale est corrélée à leurs activités antioxydante et antibactérienne. Il est considéré que l'activité antioxydante des composés phénoliques est due à leur potentiel d'oxydo-réduction élevé, ce qui leur permet d'agir comme des agents réducteurs, donateurs d'hydrogène, et des désactivateurs d'oxygène singulier (Miguel, 2010).

Pour *Vitex agnus castus* la figure n°37 rapporte les résultats du pouvoir antioxydant des extraits de *Vitex agnus castus* par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. D'une manière générale, tous les extraits testés (méthanolique et d'acétate d'éthyle) ont provoqué une diminution plus ou moins importante de l'absorbance à 515nm selon leurs concentrations.

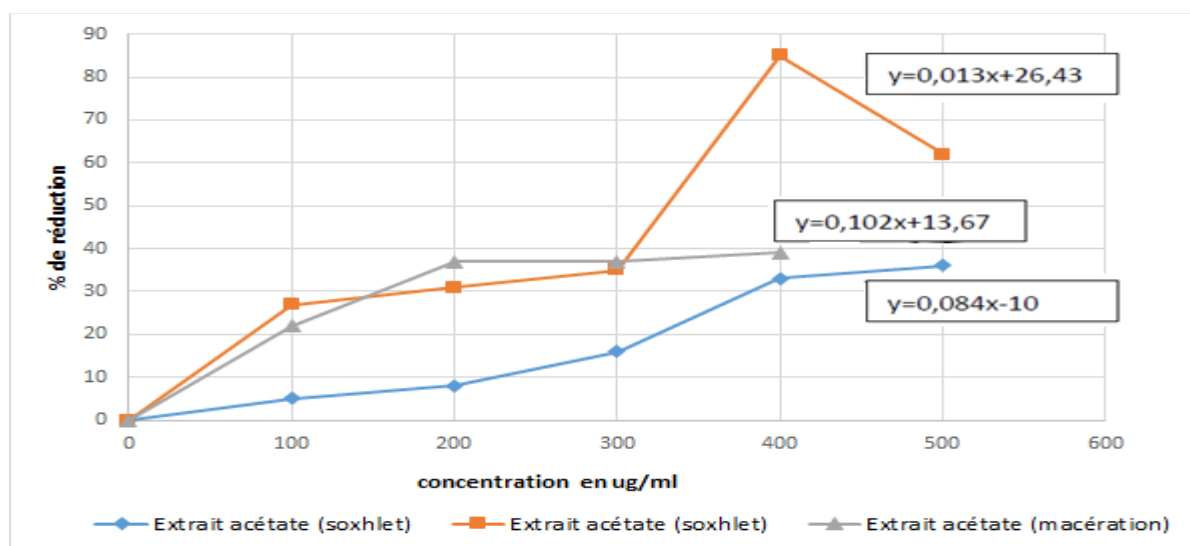


Figure n°37: Pourcentage de réduction du radical libre DPPH des extraits bruts de *Vitex agnus castus*.

Cette figure montre que l'extrait d'acétate d'éthyle de *Vitex agnus castus* présente un pourcentage d'inhibition qui est égale de 32% à une concentration de l'ordre de 500 ug/ml, et montre que l'extrait méthanolique présente un pourcentage d'inhibition qui est égale 90% dans la concentration de 400 ug/ml .

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons calculé les valeurs de IC50 de la plante *Vitex agnus castus* pour les différents extraits méthanolique, d'acétate d'éthyle (tableau n°13)

Tableau n°13: Valeurs des IC50 en ug/ml et le pouvoir antiradicalaire (ARP) des différents extraits de *Vitex agnus castus*.

Extrait	IC50	APR
Extrait méthanolique	714,28	14×10^{-4}
Extrait d'acétate d'éthyle (par macération)	356,17	28×10^{-4}
Extrait d'acétate d'éthyle (à l'aide de soxhlet)	1813	5×10^{-5}

Parmi les trois extraits de *vitex agnus castus*, l'extrait de l'acétate d'éthyle obtenu par macération et l'extrait méthanolique représentent les extraits les plus actifs, leur IC50 successives est de 0,356mg/ml et 0,714mg/ml. Pour le mécanisme de piégeage de radical, la réaction entre l'antioxydant et DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant. Certains composés réagissent rapidement avec DPPH, réduisant un nombre de molécules de DPPH égal au nombre de groupements hydroxyles (**Bondet et al., 1997**).

Une étude comparative montre que les valeurs de IC50 des extraits méthanolique correspondant à l'espèce de *Satureja calamintha* (1,8mg/ml) est similaire à notre résultat ainsi que l'extrait d'acétate d'éthyle de la même espèce est élevée à celles de notre plante.

Cette variation de résultat est largement dépendant de la composition de ces extraits ainsi à les conditions de manipulation. Plusieurs études comparatives faites sur le *Vitex agnus castus* montrent que cette plante à un effet antioxydant élève remarquer pour déférente méthode d'extraction. mais il y a une petite déférence dans les résultats final.

Cette variation de résultat est largement dépendante de la composition de ces extrait ainsi aux conditions de manipulation sans oublié les conditions climatique de la période de récolte.

Pour *Panicum turgidum* l'activité antioxydante des extraits ont été évaluées pour leur activité inhibitrice sur une solution méthanolique du DPPH, le résultat a été comparé avec le standard qui est l'acide ascorbique. Le résultat du test DPPH a enregistré une faible activité anti radicalaire, (40.49%) pour l'extrait aqueux et (31.40%) pour l'extrait éthanolique et aucune activité pour les autres extraits de *Panicum turgidum*. Les extraits de *Panicum turgidum* sont dotés d'une activité antioxydant très faible qui est justifiée par sa pauvreté en composants riche en groupement d'hydrogène responsable de l'activité antioxydante. Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydante ont été proposé, elles incluent le béta carotène,

l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E...etc. (Svoboda et Hampson, 1999).

III.3.3.2 Méthode de FRAP

D'après les résultats illustrés dans les deux figures ci-dessous, l'activité antioxydante des extraits éthanoliques des deux plantes *Vitex agnus castus*, *Warionia saharae* est confirmées par la méthode de FRAP. Cette dernière est un essai simple, rapide être productible .Il est universel peut être appliqué aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux (Li et al, 2008).Le pouvoir réducteur des espèces de plantes est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (Bougandoura et Bendimerad, 2012).La présence des réducteurs dans les extraits de plantes provoque la réduction de Fe^{3+} / complexe ferricyanure à la forme ferreux. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

Le pouvoir réducteur des extraits des deux plantes est dose dépendante (concentration dépendante). A la concentration de 0,5mg/ml, le pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique de *Warionia saharae* et *Vitex agnus castus* ($DO=0,07/D=0.24$) respectivement est nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique Figure n°38 .

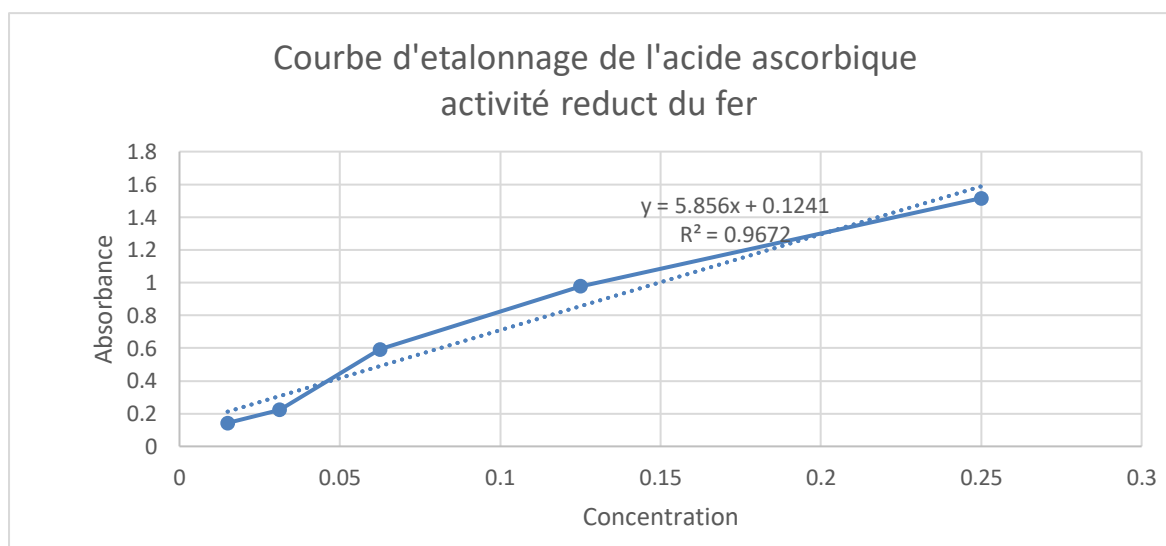


Figure n°38 : Absorbance de l'acide ascorbique en mg/ml.

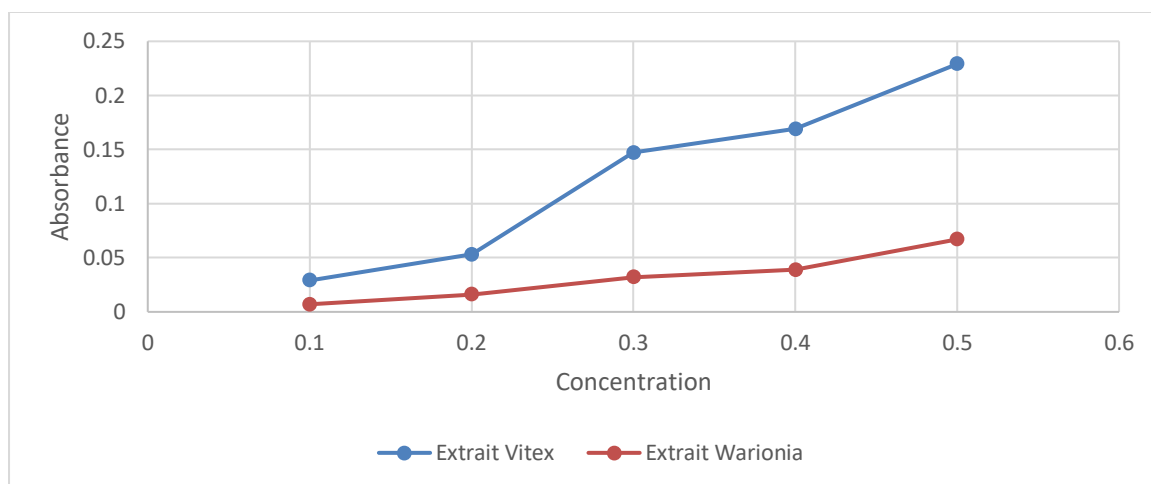


Figure n°39: Absorbance des extraits bruts de *Vitex agnus castus*, *Warionia saharae* en mg/ml .

Selon **Rechek et al (2021)** les données d'activité antioxydante indiquent que l'extrait de *Warionia saharae* a une très grande capacité à capter les radicaux en raison de sa richesse en composés à capacité antioxydante.

L'étude de l'activité antioxydante des extraits éthanolique issus des deux espèces *Warionia saharae* et *Vitex agnus castus* a montré que les deux extraits possèdent une activité antioxydante modérée. Ces extraits pourraient donc constituer une alternative à certains additifs synthétiques. Cette activité reste nettement inférieure à celle de l'acide ascorbique, on peut dire que l'extrait brut contenant un grand nombre de composés différents. Une fois purifiés, peuvent présenter une activité comparable à celle de l'acide ascorbique. Des recherches complémentaires sont nécessaires pour identifier, isoler et purifier ces constituants.

III.3.4 Activité antidiabétique

La recherche de l'activité antidiabétique a été étudiée pour l'évaluation de l'effet inhibiteur des extraits éthanoliques des deux plantes *Warionia saharae* et *Vitex agnus castus* sur les enzymes intestinales α -amylase et α -glucosidase.

Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures suivantes

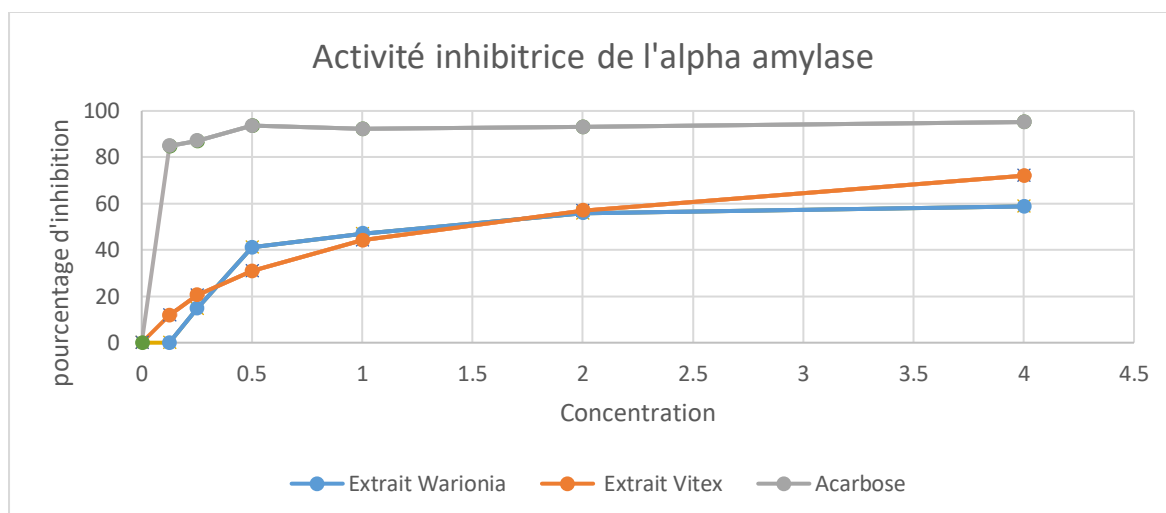


Figure n° 40: Activité inhibitrice de l'acarbose et les extraits éthanolique de *Warionia saharae* et *Vitex agnus castus* sur l'enzyme α amylase

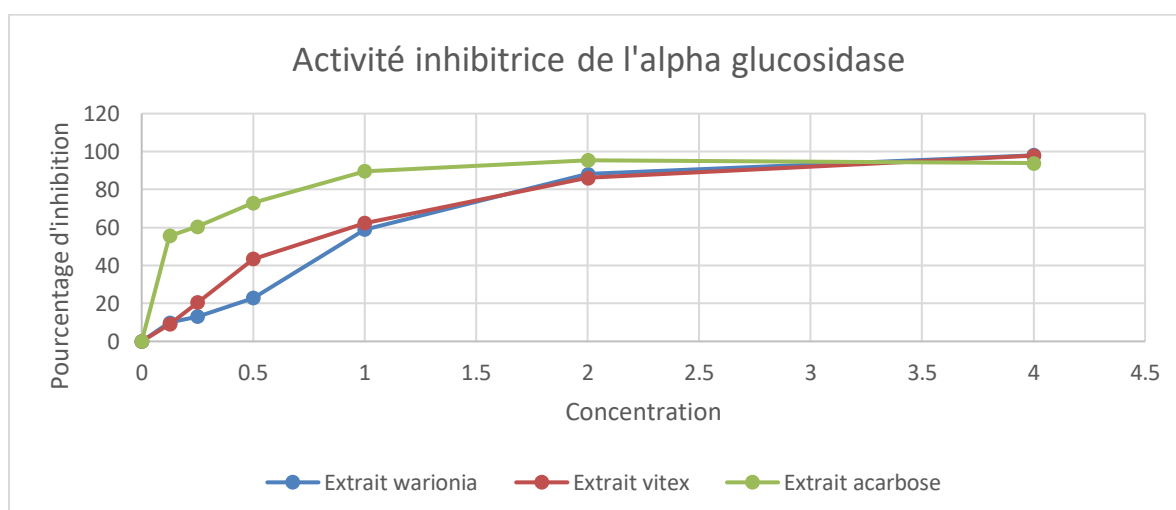


Figure n° 41 : Activité inhibitrice de l'acarbose et les extraits éthanolique de *Warionia saharae* et *Vitex agnus castus* sur l'enzyme α glucosidase.

En fonction de ces résultats, l'extrait éthanolique des deux plantes présente un effet inhibiteur croissant en fonction de la concentration de l'extrait. Quand la concentration d'inhibiteur est augmentée, plus le taux d'inhibition est élevée, jusqu'à la concentration 2mg/ml pour atteindre un taux d'inhibition de α amylase égale à 55.88% et qui va rester presque constant jusqu'à la concentration 4mg/ml a un taux d'inhibition 58.82% pour *Warionia saharae*, pour *Vitex agnus castus* la concentration 4mg/ml présente un taux d'inhibition maximal égale à 72.05%. Donc le taux d'inhibition est proportionnel à la concentration de l'extrait.

Les extraits des deux plantes ont montrés une puissance inhibition de α glucosidase à une concentration de 4mg/ml égale à 98.03% pour *Warionia saharae* et 97.86% pour *Vitex agnus castus*.

Selon **Rechek et al (2021)** l'extrait éthanolique de *Warionia saharaea* a également montré une puissante inhibition de l' α -glucosidase.

Les études qui sont faites par **Prashanth et al (2001)** ont montées que l'extrait éthanolique de l'épicarpe de *Punica granatum* à un potentiel inhibiteur sur α -amylase salivaire avec un taux d'inhibition de 68.2 %.

Ainsi que les extraits aqueux et eau-méthanol des feuilles de *Retama raetam* ont une activité inhibitrice sur l' α -amylase salivaire avec au taux 72 % et 66.12 % respectivement (**Sarraf et al., 2021**).

Selon les résultats obtenus l'extrait éthanolique des deux plantes a présenté un effet inhibiteur élevé vis-à-vis l' α glucosidase avec des IC50 de 0.8mg/ml et de 0.7mg/ml respectivement, et pour α amylase la valeur de IC50 des deux plantes est de 1.3mg/ml et 1.2 mg/ml respectivement.

Tableau n°14 : IC50 de l'extrait éthanolique de *Warionia saharae* et *Vitex agnus castus* de α amylase et α glucosidase.

Les plantes	<i>Warionia saharae</i>		<i>Vitex agnus castus</i>	
	α amylase	α glucosidase	α amylase	α glucosidase
IC50 mg/ml	1.3	0.8	1.2	0.7

Selon **Ajebli et al (2019)** la présente enquête a révélé que les tannins de *Warionia saharae* possèdent de puissantes activités antidiabétiques et antihyperlipidémiques comme indique dans les différentes pratiques ethnopharmacologiques.

Selon les résultats obtenus par **Ouffai (2021)**, la quercétine des deux plantes *Globularia alypum*L et *Zygophyllum album* La présenté un effet inhibiteur puissant avec une CI50 d'ordre de 0,004mg/ml très proche à celle de l'Acarbose (CI50 d'ordre de 0,180mg/ml).

D'après la littérature, une combinaison entre les groupements cétoniques insaturés et les fonctions hydroxyles des flavonoïdes peut être responsable de la plus part des activités biologiques, soit anticancéreuses, antimicrobiennes, cytoprotectives, antioxydants et antidiabétiques (**Unnikrishnan et al., 2014**). Par ailleurs, les composés phénoliques portant des groupements hydroxyle confèrent une activité inhibitrice de l' α -amylase et de l' α -glucosidase. Il a été démontré que la quercétine et la catéchine agissent comme des inhibiteurs

compétitifs vis-à-vis les deux enzymes digestives, et par conséquent elles peuvent diminuer la glycémie postprandiale (**Kandra et al., 2004, Calhau et al., 2014**).

De même, des études ont montrés que le rutine, quercetine, naringenine, chryisine et d'autres sont considérés comme des contrôleurs par excellence du diabète sucré (**Unnikrishnan et al., 2014**).

Les travaux conduits par **Kandra (2004)** confirment nos résultats en indiquant que plusieurs polyphénols ont une action sur l' α -amylase tels que les tannins qui sont capables de se lier aux enzymes digestives et de les inhiber grâce à leur richesse en groupements hydroxyles.

Les tanins se fixent aux α -amylases, la liaison peut avoir lieu sur le site actif de l'enzyme, ces liaisons engendrant des complexes du type enzyme-inhibiteur, puisque les tanins agissent comme inhibiteurs compétitifs des α -amylases .

Les travaux faits par **Hedqvist (2004)** ont indiqués que les tanins inhibent les glucosidases par la formation de complexes enzymatiques-tanins ou inhibent leur activité biologique par blocage du site actif. Aussi les phlorotanins qui sont des composés phénoliques spécifiques pour les algues brunes, sont riches par des fonctions hydroxyles, ces dernières peuvent se lier au site actif de l'enzyme et empêche la fixation de l'amidon. Les résultats de **Berrani et al (2018)** confirment l'utilisation de *Vitex agnus castus* comme antidiabétique.

Dans le présent travail, on a contribué à la valorisation de trois plantes très utilisées en médecine traditionnelle dans la région de Bechar, Sud-Ouest Algérien pour leurs vertus thérapeutiques, en établissant une relation entre la composition chimique de leurs extraits et leurs activités biologiques.

L'enquête ethnobotanique réalisée dans la région de Béchar et ces communes au Sud-ouest de l'Algérie a montré que les trois plantes *Warionia saharae*, *Vitex agnus castus* et *Panicum turgidum* sont très utilisées par la population locale de la région en médecine traditionnelle. *Vitex agnus castus* est utilisée pour le traitement des maladies telles que : Coliques, Toux, Diarrhée, Maux de tête, Antidiabétique et Désordres digestifs. *Warionia saharae* (Benth et Coss) est utilisée pour le traitement des maladies telles que : Gastro-intestinales, Rhumatismes, l'Ictère, Froids et Rhume, Calmant, Antidiabétique et anti-inflammatoires. *Panicum turgidum* est utilisée pour le traitement des maladies telles que : la douleur de cou et dos, la thyroïde, L'ostéoporose, et le cycle menstruel.

Le criblage phytochimique réalisé sur les trois plantes est basé sur des tests spécifiques et a permis de montrer que ces plantes sont riches en métabolites secondaires, notamment les composés réducteurs, stérols et triterpènes, flavonoïdes, alcaloïdes, tanins, saponosides, Stéroïdes. Tous ces composés sont doués d'un grand pouvoir thérapeutique.

Un rendement 19.13 % est obtenu avec *Vitex agnus castus* pour l'extrait méthanolique à la concentration 287 mg/ml, le rendement le plus élevé (27.81%) est obtenu avec *Warionia saharae* est celui de l'extrait aqueux, suivi par l'extrait éthanolique 8.06%. *Panicum turgidum* présente un rendement de 16.08% pour l'extrait aqueux suivi par l'extrait éthanolique 6.06%. On peut constater que le solvant affecte significativement l'extraction et le rendement en résidu sec.

L'activité antimicrobienne a montré que l'extrait éthanolique de *Warionia saharae* possède un effet inhibiteur bactéricide et fongicide très important vis-à-vis l'ensemble des souches testées. Toutefois *Streptococcus agalactiae* s'est montrée un peu plus résistante à cet extrait.

L'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique de *Vitex agnus castus* est peu active vis-à-vis des souches bactériennes testées ceci est dû probablement à la nature de la composition chimique de l'extrait. Cependant, l'extrait méthanolique a manifesté une activité antifongique négligeable sur l'ensemble des souches fongiques testées *Aspergillus niger*, *A.flavus*. Pour *Panicum turgidum* les résultats ont montré que l'extrait éthanolique présente un pouvoir antifongique plus important que ceux des autres extraits. L'extrait éthanolique de *Panicum turgidum* présente respectivement un indice antifongique 22.03 % vis-à-vis *Aspergillus*

niger 25% vis-à-vis *Aspergillus flavus* 40% vis-à-vis *Fusarium oxysporium* et 50 % vis-à-vis *Penicillium Sp.*

L'étude de l'activité antioxydante est effectuée par le Test de DPPH et la méthode de FRAP. Les résultats montrent que les extraits ont donné une activité antiradicalaire satisfaisante malgré leurs grandes teneurs en polyphénols. L'extrait d'acétate d'éthyle de *Vitex agnus castus* présente un pourcentage d'inhibition qui est égale de 32% à une concentration de l'ordre de 500 µg/ml, et l'extrait méthanolique présente un pourcentage d'inhibition qui est égale 90% dans la concentration de 400 µg/ml. Tandis que l'activité antiradicalaire de *Warionia saharaea* montrée un pouvoir de piégeage du radical DPPH étendu à 96.51% pour l'extrait éthanolique et de 58.05% pour l'extrait d'acétate d'éthyl à une concentration de 500 µg/ml. La plante *Panicum turgidum* a un pouvoir anti-oxidant presque insignifiant. Ces résultats sont confirmés par la méthode de FRAP.

L'activité antidiabétique a été étudiée pour l'évaluation de l'effet inhibiteur des extraits éthanoliques des deux plantes *Warionia saharaea* et *Vitex agnus castus* sur les enzymes intestinales α -amylase et α -glucosidase, plus la concentration d'inhibiteur augmente, plus le taux d'inhibition est élevée. Les extraits des deux plantes ont montrés une puissance inhibition de α glucosidase a une concentration de 4mg/ml égale à 98.03% pour *Warionia saharaea* et 97.86% pour *Vitex agnus castus*, pour α amylase la concentration 4mg/ml a un taux d'inhibition 58.82% pour *Warionia saharaea*, pour *Vitex agnus castus* la concentration 4mg/ml présente un taux d'inhibition maximal égale a 72.05%.

Enfin, ce travail de valorisation a permis de mieux caractériser trois plantes médicinales du Sud-Ouest Algérien (*Warionia saharaea* (Benth & Coss), *Vitex agnus castus* et *Panicum turgidum*), qui ne couvre cependant qu'une petite partie de la gamme des espèces existants jusqu'à maintenant du point de vue phytochimique et biologique, ce qui mise au point une nouvelle génération d'agents antimicrobiens naturels pouvant être utilisés chez l'homme contre les infections, la résistance aux antibiotiques et antifongiques classiques, à fin d'assurer le passage vers la conservation des denrées alimentaires et dans la formulation de nouveaux produits pharmaceutiques.

Il serait intéressant et indispensable aussi d'aller vers une analyse structurale des constituants présents dans les extraits méthanoliques. Elargir la gamme des souches microbiennes en se basant sur *Brucella*. Faires des testes *in vivo* afin de confirmer ou d'infirmer les activités biologiques attribuées à ces plantes.

Référence bibliographique

-Abdel-Massih R., Elias A., Elias B., Ziad D.,2010. Antibacterial Activity of the Extracts Obtained from *Rosmarinus officinalis* L., *Origanum majorana*, And *Trigonella foenum-graecum* on Highly Drug-Resistant Gram Negative Bacilli. *Journal of botany*

-Ablajan K., Abliz Z., Shang X.Y., He J.M., Zhang R.P., Shi J.G., 2006. Structural characterization of flavonol 3, 7-di-O-glycosides and determination of the glycosylation position by using negative ion electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry* 41(3).p: 352-360.

-Adigun J.O., Amupitan J.O., Kelly D.R., 2001. Chemical analysis and antimicrobial effects of petroleum spirit extract of *Anogeissus leocarpus*”. *Nigerian Journal of Chemical Research* 6.p: 37-42.

-Ajebli M., El Ouary F., Eddouks M., 2019. Study of Antihyperglycemic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Activities of Tannins Extracted from *Warionia saharae* Benth. & Coss ; *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets* ; 19(2) p :189-198(10)

-Aissaoui H., 2010. Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de type flavonoïque d'une espèce de la famille des Verbenacées. Thèse de magistère en Chimie. Université de Constantine. Algérie. p 4.

-Ali S.S., Kasoju N., Luthra A., Singh A., Sharanabasava H., Sahu A., Bora U., 2008. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Res Int*, 41,p: 1–15.

-Anderson C. M., Halleberg A., Hogberg T., 1996, Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res.* 28,p : 65-180.

-APG III,2009. A phylogenetic classification of the land plants to accompany

-Akermi M.M., Moussaoui A., Makhloufi A., Dalile H., (2018). Phyto-chemistry, antimicrobial activities of the essential oils of the branches of *Juniperus phoenicea* in Bechar (Algeria). *Applied Biology in Saharan Areas* . 1, (2) ,p : 1-7.

-Amezouar F., Wadi B., Mohammed H., Mohammed A., Nouredine B., Hassan F., 2012. Subacute Toxicity, Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities Of Ethanolic Extract Of Moroccan *Warionia Saharae* From Tata Region. ISSN- p :0975-1491, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical*.

- Asdadi A., Hamdouch A., Oukacha A., Moutaj R., Gharby S., Harhar H., El Hadek M., Chebli B., Idrissi Hassani L.M.2015.** Study on chemical analysis, antioxidant and in vitro antifungal activities of essential oil from wild *Vitex agnus-castus* L. seeds growing in area of Argan Tree of Morocco against clinical strains of *Candida* responsible for nosocomial infections . j.mycmed.10.005.
- Atefeibu E.S.I., 2002.** Contribution a l'étude des tanins et de l'activité antibacterienne d'Acacia Nilotica Var Andesonii .Thèse de Doctorat, université cheikh Anta Diop de Dakar.p :33.
- Audissou J. A., 1999.** *Warionia saharae* Bentham & Cosson. p. 30- 32 Départ. /Région : Maroc, Succulentes, 1, (4)
- Audigié C L., Dupont G., Tonzain F., 1995.** (Chromatographie) principes des méthodes d'analyses biochimiques. Tome 1 Doin. p : 44-85.
- Baba Arbi. H0, 2010.** Importance relative d'exploitation des plantes médicinales dans la pharmacopée traditionnelle à l'Est du Sahara septentrional (cas de Ouargla et Touggourt », Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université d'Ouargla).
- Bahaz M., Rachdi H., 2010.** Quantification des principes actifs (Les composés phénoliques) de *Rhetinolepis Lonadoides* Coss (Tichert) », Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université de Ouargla).
- Bahorun T., 1997.** Substances Naturelles Actives: La flore Mauricienne, Une Source D'approvisionnement Potentielle. AMAS. Food and Agricultural Research Council. Reduit. Mauritius.
- Bansod S., Rai M., 2008.** Antifungal activity of essential oils from Indian medicinal plants against human pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *A. niger*. *World Journal of Medical Sciences*, 3(2),p : 81-88.
- Barhouchi B., 2015.** Synthèse des dérivés glucidiques, lipidiques et proteiques d'origine biologique et applications industrielles. Thèse de doctorat. Univeristé Badji Mokhtar Annaba, Algérie. P : 148.
- Barka S ., Ben Attallah S., 2010.** L'effet de deux plantes médicinales sur quelques Bactéries pathogènes », Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université de Ouargla), P3-13
- Bashige V.C., Bakari A., Okusa P.N., Kalonda E.M., Simbi J.B, 2020.** Criblage phytochimique et activité antimicrobienne de six rhizomes comestibles utilisés en médecine traditionnelle à Lubumbashi (RDC). / Int. J. Biol. Chem. Sci. 14(4),p: 1367-1380.

- **Belboukhari M. , Cheriti A.,2016.** Flavonoides dans deux Asteraceae médicinales du sud – ouest Algerien : *Launaea nudicaulis et Warionia saharae* : Quantification, identification et évaluation antimicrobienne et antioxydante. Université kasdi merbah ouargla
- Belboukhari.N,** 2007, "étude chimique et évaluation biologique de deux plantes médicinales endémique de sud-ouest Algérien, *Launaea arboresens* et *Limonia strium feei* ". Thèse de Doctorat, université de Bechar.
- **Benzeggouta, N., & Semra, Z.** (2013). From ethnopharmacology to green chemistry. *Nutrafoods*, 12(1), 23-27.
- Ben mahdi H., 2000.** Valorisation de certaines plantes médicinales a activité hypoglycémiant comme la coloquinte". Thèse Magister en chimie organique appliqué ; Université de Tlemcen ; p : 167.
- Benarous K., 2009.** Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes:a-amylase, trypsine et lipase », Mémoire de fin d'étude d'Ingénieur d'état en génie biologique (université Amar Telidji Laghouat).
- Bennett J.W., Klich M., 2003.** Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev*, 16(3), p :497-516.
- Bentham G., Cosson E., 1872.** Compositarum genus novum algeriense. *Bulletin de la Société Botanique de France* 19: p :165-166.
- **Bendjima k., Mezouari A., Makhloufi A., Makhloufi k., 2020.** Antifun-gal activity of *Olea europaea subsp. sylvestris taragaint Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*,the causal agent of Bayoud of the date palm in Southwest Algeria *in Asian Journal of Andrology* 10(02):p :83-89 .
- Benzie I. F. F., Strain J. J., 1996.** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239: p :70-76.
- Berrani A., Lrhorfi L.A., Larbi O.M., El Hessni A., Zouarhi M., Erahali D., Bengueddour R., 2018.** Hypoglycemic Effect of Vitex agnus castus Extract in Diabetic Rats Induced by Streptozotocin. *Phytothérapie* (2018) 16:p :40–47.
- Berrani H., Vasies I., Cron J., Bachy B., Le Dosseur P., Mouterde O.,2015.** Association of N-acetylcysteine and glucagon during percutaneous cholangiography in the treatment of inspissated bile syndrome efficacité de l'association N-acétylcystéine-glucagon au cours de la cholangiographie percutanée dans le traitement du syndrome de bile épaisse. *Elsevier* ,22, (3), p : 300-302.

- **Berrani A., Marmouzi I., Bouyahya A., Kharbach M., El Hamdani M., El Jemli, M., Bengueddour R., 2021.** Phenolic Compound Analysis and Pharmacological Screening of *Vitex agnus-castus* Functional Parts. *BioMed Research International*, 2021, Article ID 6695311, p ;10 .
- **Bertini A. M., Silva J. C., Taborda W., Becker F., Beber F. R. L., Viesi J. M. Z., Ribeiro T. E. 2005.** Perinatal outcomes and the use of oral hypoglycemic agents.
- Bhat S.V., Nagasampigi B.A., Sivakumar M.,2005.** Chemistry of Natural Products; Ed 1: NAROSA, SPRINGER; p: 115-252. *Biochem. J*, 300: p :31-36.
- Billing J., Sherman PW., 1998.** Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it Hot. *Q. Rev. Biol.* 73: 3-49.
- **Bondet V., Brand-Williams W., Berset C. L. W. T., 1997.** Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. *LWT-Food Science and Technology*, 30(6),p : 609-615.
- Bors W., Saran M., 1990.** Radical scavenging by flavonoïd antioxidants free radical Res 2, P : 289-294.
- **Bougandoura N., Bendimerad N., 2012.** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp.Nepeta (L.) Briq.* *Nature & Technologie*. 09 : p :14-19.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C, 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss.u.-Technol*, 28(1), p :25-30.
- Bravo L, 1998,** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutr Rev*, 56, p :317– 33
- Brou Kouassi G., 2010.** On the Qualitative Phytochemical Composition of Crude Hydromethanolic extracts of the Leaves of 6 Varieties of *Manihot Esculenta* Crantz of Côte d'Ivoire ", *European Journal of Scientific Research*, , ISSN 1450- 216X Vol.45 (2) .p: 203.
- Brouillard R.,George F.,Fougerousse A,1997.**Polyphenols produced during red wine ageing.*BioFactor* ,6(1997),P :403410.
- Bremer K., 1994.** *Asteraceae: Cladistics and classification.* Timber Press, Portland, Oregon.
- Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie et phytochimie. Plante médicinales. Paris, France: Lavoisier. p 64-85,p : 278-279.
- Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie- Phytochimie- Plantes médicinales. 3^{ème} édition. Technique et Documentation. P :1120 .

- **Bruneton Lavisier J., 2003.** les plantes toxiques végétales dangereuse pour l'homme et les animaux 3.3^{eme} Edition .p :85-92.
- Burits M., Bucar F., 2000.** Antioxydant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*. 14: p :323-328.
- **Calhau C., Fari A., Keating E., Martel F., 2014.** Interaction of Polyphenols with the Intestinal and Placental Absorption of some Nutrients and other Compounds. Academic Press, 1, 2014, P :523-536.
- **CASFM : comite de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. 2012.** Consulter le 17/06/2013 sur: <http://www.sfm-microbiologie.org/>
- Cao G.H., Alessio H.M., Cutler R.G., 1993.** Oxygen-Radical Absorbency Capacity Assay for antioxidants. *Free Radical Biol Med*, 14: p :303-311.
- Cavallo J. D., Hocquet D., Plesiat P., Fabre R., Roussel-Delvallez M., 2007.** Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials: a 2004 French multicentre hospital study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59, (5), P : 1021–1024.
- Chaaib Kouri F., 2004.** Investigation phytochimique d'une brosse à dent zanthoxylodes L. (Rutaceae), Thèse de doctorat, L'université de Lausanne.
- **Chaabi, M., Benayache, S., Benayache, F., N'Gom, S., Koné, M., Anton, R., ... & Lobstein, A. 2008.** Triterpenes and polyphenols from *Anogeissus leiocarpus* (Combretaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 36(1), p :59-62.
- Charfi D., 1995.** Effet des eaux usées traités sur les caractéristiques physicochimiques du sol et sur la physiologie de quelques espèces végétales cultivées au périmètre d'ElHajeb (Sfax). Thèse en écologie végétale, Fac. Sci. de Sfax.
- Chludil. H.D., Seldes M. A., Maier S.M., 2002.** Antifungal steroidal glycosides from the Patagonian starfish *Anasterias minuta*: Structure – Activity Correlations ." *Journal of Natural Products*. 65, (2).p: 153-157.
- Clarke S., 2008.** Essential oils; Ed 2: churchill livingstone, Elsevier; p: 42- 77.
- **Colombo A. L., Guimarães T., Camargo L. F. A., Richtmann R., Queiroz-Telles F. D., Salles M. J. C., Nucci M., 2013.** Brazilian guidelines for the management of candidiasis-a joint meeting report of three medical societies: Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade Paulista de Infectologia and Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 17(3),p : 283-312
- Cowan M., 1999.** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*.

12(4),p : 564-582.

-Cuyckens F., Claeys M, 2005, Determination of the glycosylation site in flavonoid mono-O-glycosides by collision-induced dissociation of electrospraygenerated deprotonated and sodiated molecules ’’. *Journal of Mass Spectrometry*. 40(3),p: 364-372.

-Dacosta Y. 2003. Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. P :317.(citer dans Boudjouref Mourad 2011)

-David J., Afolabi E. O., Ojerinde S. O., Olotu P. N., Agwom F. M., Ajima U. 2017. In-Vitro antidiabetic and antioxidant activity of various leaf extracts of *Detarium microcarpum*.

- Dakhmouche Djekrif, S., Bennamoun, L., Labbani, F. Z. K., Ait Kaki, A., Nouadri, T., Pauss, A., ... & Gillmann, L. 2021. An Alkalothermophilic Amylopullulanase from the Yeast *Clavispora lusitaniae* ABS7: Purification, Characterization and Potential Application in Laundry Detergent. *Catalysts*, 11(12), p :1438.

-Defronzo R A, 1999. Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *annals of internal medicine*. 17;131(4),p :281-303.

-Dejob, M. 2013. Études structurales et fonctionnelles d'alpha-glucosidases bactériennes (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard-Lyon I).

-Diallo. A, 2005, Etude de la phytochimie et des activites biologiques de *Syzygium guineense* WILLD. (MYRTACEAE). Thèse de Doctorat en Pharmacie. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d’Odonto-Stomatologie de Bamako, Mali.

-Djelaila .S, 2007, Contribution a l’étude photochimique du *Buibonium graveolens*-asteracea. These de magestère .université de Bechar.

- Djabou N., Lorenzi V., Guinoiseau E., Andreani S., Giuliani MC., Desjobert JM., BollaJ M., Costa J., Berti L., Luciani A., Muselli A., 2013. Phytochemical composition of Corsican *Teucrium* essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxiinfectious pathogens. *Food Control*. 30,p: 354-363

-Duraffourd C., Lapraz J-C., Chemli R. ; 1997. La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès Intercontinental. Tunis. Ed. Granche. Paris,p : 222.

- Edith A, Robert M, Jean U 1988. Chromatographie: Theorie.26 et 28 Janvier. Lycée louis vincent – METZ.

- El-Desoukey ,2019, Phytochemical and Antimicrobial Activity of *Panicum turgidum* (Thummam) as a Grazing Herb against Some Animal Pathogens. *EC Microbiology* 5.1 (2017),p: 22-29.

Eryigit T., Çig A., Okut N., Yildirim B., Ekici K.,2015. Evaluation of Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Vitex agnus castus* L. Fruits' Essential Oils from West Anatolia, Turkey.18, 2(1) P : 208-214 .

- **Essaqui A., Benaissa M.,2012.** Chemical Composition of the Essential Oils of Flowers of *Warionia saharae* from Morocco. TEOP 16 (3). p :372 – 376

-**Essaqui A., Elamrani A., Cayuela J. A., Benaissa M. 2007.** Chemical composition of the essential oil of *Warionia saharae* from Morocco. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 10(3),p : 241-246.

-**Hassani M E., Douiri E. M., Bammi J., Zidane L., Badoc A., Douira, A. 2013.** Plantes médicinales de la Moyenne Moulouya (nord-est du Maroc). Ethnopharmacologia, 50, 39.

-**Eymard, S. 2003.** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*): choix des procédés (Doctoral dissertation, Université de Nantes).

-**Favier, A., 2003.** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, p :108-115.

Forkmann J ,Martens S, 2001, Metabolic engineering and application of flavonoids. *Current Opinion in Biotechnology*, 12,p: 155-160.

- **Gende, L. B., Mendiara, S., Fernández, N. J., Van Baren, C., Di Leo Lira, A., Bandoni, A., Eguaras, M. J. 2014.** Essentials oils of some *Mentha* spp. and their relation with antimicrobial activity against *Paenibacillus* larvae, the causative agent of American foulbrood in honey bees, by using the bioautography technique. Bull Insectol, 67(1), p :13-20.

- **Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, M.J. 2005.** Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant derived product,J.Agric.Food Chem, 53: p :1370-1373.

- **Gershenson, J. 1994.** Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants. Journal of chemical ecology, 20(6),p : 1281-1328.

- **Ghestem A., Segun E., Paris M., Orecchinio A-M, 2001,** Le préparateur en pharmacie: Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie- Homéopathie. Lavoisier Tec et Doc, Paris. p.273

-Guerin-Fauble V., Carret G., 1999. L'antibiogramme, principes, méthodologies, intérêts et limites. Journées nationales GTV-INRA, Nantes, France. p: 5-12.

Gherib F.M., Bekkara A., Bekhechi C., Bighelli J A., Casanova, 2014. Composition and antimicrobial activity of the essential oil from Algerian *Warionia saharae* Benth. & Hook.. *Journal of Essential Oil Research*, Taylor & Francis, 2014.

- **Grieve M.** 1973, *A Modern Herbal*. London: Cresset Press Book.

-Gilbert B.L. , Norris D.M.A, 1968, Chemical basis for bark beetle (*Scolytus*) distinction between host and non-host tree. *J.Insect Physiol.* 14. p :1063-1068.

-Gupta R.,Gigras P.,,Mohapatra H., Kumar Goswami V., Chauhan B,2003. Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. *Process Biochemistry*,38 (11) .p :1599-1616

- **Guinoiseau E., 2010.** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat. Université de corse, France. P : 114.

- **Gulluce M., Aslan A., Sokmen M., Sahin F., Adiguzel A., Agar G., Sokmen A., 2006.** Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicaria nylanderiana*. *Phytomedicine.* 13: p :515–521.

- **Habbab A., Sekkoum K., Belboukhari N., Abdelkrim Cheriti A., Aboul-Enein H,Y ,2015.** Essential Oil Chemical Composition of *Vitex agnus-castus* L. from Southern-West Algeria and Its Antimicrobial Activity. *Current Bioactive Compounds.* 12 , (1),p : 51-60.

-Haddouchi F., Chaouche T.M., Noureddine H., 2019. Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytotherapie* 16(1),p: 254-262.

- **Haddouchi, F. Chaouche, TM . Halla ,N, 2016.** Phytochemical screening, antioxidant activities and hemolytic power of four Saharan plants from Algeria. *Phytothérapie*,p : 1-9.

-Hadi M., 2004. La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'université Louis Pasteur domaine: pharmacochimie.p : 155.

- **Hamidi.N, 2006**, Contribution a l'étude photochimique d'Anabasis aretioides (dega), Thèse de magistère .université de Becher, version originale en arabe.
- **Harborne, J.B. 1980**. Secondary Plant Products. Encyclopedia of Plant Physiology, Vol 8, Bell EA, Charlwood BV, eds, Springer-Verlag, Berlin, ,p.329-402. In: Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. Macheix, J.J., Fleriet, A., Christian, A. 2005. PPTUR Lausanne.
- **Hartmann.T, 2007**, From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism Review''. Phytochemistry vol 68. P: 2831– 2846.
- **Hedqvist, H.** (2004). Metabolism of soluble proteins by rumen microorganisms and the influence of condensed tannins on nitrogen solubility and degradation . 501., thèse doctorat.
- **Heim k.E., Tagliaferro A.R., et BobilYA D.J, 2002**, Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationship; Journal. Nutr. Biochem. 13; p: 572-584.
- **Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F, 2004**, Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1:p : 3-6.
- **Hollman P.C.H; 2001**: Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects , Journal of the Science of Food and Agriculture. 81(9),p: 842-852.
- **Hopkins W.G et Evrard C.M. 2003**. Physiologie végétale, De Boeck Supérieur, Paris. P : 532.
- **Huang, D., Ou, B., Prior, R.L , 2005**, The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*. 53,p:1841-1856.
- **Hesse, M.** 2002. Alkaloids: Nature's curse or blessing?. John Wiley & Sons.
- **Iserin P,** 2001, Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed. Paris. p.10, 11-15, 151.
- **Janique V, Léo G. Leduc, G F, Mamdouh AZ.2015**. Activité antimicrobienne de produits naturels originaires du Nord de l'Ontario P :220-236
- **Jassbi. A.R, 2002**, Chemistry and biological activity of secondary metabolites in Euphorbia from Iran''. *Phytochemistry*; 67.p: 1977-84.
- **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P.F, 2002**, Botanique systématique. Une perspective phylogénétique. 1ère Edition De Boeck Université. Paris, p :383.
- **Katinas, L., Tellería M. C., Susanna de la Serna A., Ortiz S. 2008**. Warionia (Asteraceae): a relict genus of Cichorieae?.

- **Kato, C. G., Gonçalves, G. D. A., Peralta, R. A., Seixas, F. A. V., de Sá-Nakanishi, A. B., Bracht, L., ... & Peralta, R. M. 2017.** Inhibition of α -amylases by condensed and hydrolysable tannins: Focus on kinetics and hypoglycemic actions. *Enzyme Research*, 2017
- **Kandra, L., Guemant G., Zajacz, A., Batta, G., 2004.** Inhibitory effects of tannin on human salivary α -amylase, *Biochemical and Biophysical Research Communication*. (319),p:1265- 1271.
- **Kanadaswami, C., Lee, L. T., Lee, P. P. H., Hwang, J. J., Ke, F. C., Huang, Y. T., & Lee, M. T. 2005.** The antitumor activities of flavonoids. *In vivo*, 19(5), p :895-909.
- Kheyar N., Meridja D., Belhamel K,2014.** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia , *Algerian Journal of Natural Products* 2:1(2014)18-26 18
- Kolman ,Meinich.R ; 2008 :** '' Atlas de poche de Biochimie''. P : 35.
- **Koneman EW., Allen SD., Janda WM., Scherckenberger PC., Winn WC., 1997.** Color Atlas and Textboo of Diagnostic Microbiology. Philadelphia: Lippincott-Raven.
- Lahouel M., Amedah S., Zellagui A., Touil A., Rhouati S., Benayache F., Leghouchi E., et Bousseboua H. ; 2006.** The interaction of new plant flavonoids with rat liver mithochondria: relation between the anti and prooxydant effect and flavonoids concentration. *Thérapie*, 61(4), p :347-355.
- **Lamarti A., Badoc A., Deffieux G., Carde J .P., 1994.** Biogénèse des monoterpènes, Ilocalisation et sécrétion. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 133: p :69-78.
- Lahlou M., 2004,** Methods of Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential oils; *Phytotherapy Research* 18; WILEY & SONS; p: 435- 448.
- **Lebovitz, H. E. 1997.** Alpha-glucosidase inhibitors. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 26(3), p :539-551
- **Lee K.W, Kim Y.J, Lee H.J et Lee C.Y. 2003.** Cacao has more phenolic phytochemicals and a higher antioxydant capacity than teas and red wine, *J Agric Food chem*. P : 51-7292.
- **Licina BZ., Stefanovic OD., Vasic SM., Radojevic ID., Dekic MS., Comic LR., 2013.** Biological activities of the extracts from wild growing *Origanum vulgare* L. *Food Control*. 33,p: 498-504.
- Li, C., Oldham, C.D., May, S.W.N., 1994,** N-Dimethyl-1,4-phenylenediamine as an alternative reductant for peptidylglycine. Alpha-amidating mono-oxygenase catalysis. *Biochem. J*, 300,p : 31-36.

- Louis S, 2004**, Diversité structurale et d'activité biologique des Albumines entomotoxiques de type 1b des graines de Légumineuses. Thèse de doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon. P : 43.44.
- **Li H-B. , Wong C-C., et Cheng K-W., Feng C.2008** ,Antioxydant properties in vitro and total Phenolic contents in methanol extracts . medicinal plants. Lebensmittel- Wissenschaft and Technology. 41(3),p : 385–390.
- **Li, W. L., Zheng, H. C., Bukuru, J., & De Kimpe, N. 2004**. Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. Journal of Ethnopharmacology, 92(1),p : 1–21.
- MA jun-yi, ZHANG Ji ,WANG Yong Li, YAO Jian,WANG Yi feng,2005** Analysis on chemical composition of volatile oil in leaves of Glycyrrhiza uralensis fish.4,p :122-125
- **Macheix, J.J., Fleuriet, A et Billot, J .1990**. Fruit phenolics, CRC press, Boca Roton. In : les polyphénols en agroalimentaire Sarni-Manchado P, Cheynier .2006., Tec et Doc Lavoisier-Paris.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A et Christian, A .2005**. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. PPTUR Lausanne.
- Makhloufi A., Moussaoui A. et Lazouni H.A ; 2012**. Antibacterial activities of essential oil and crude extracts from *Matricaria pubescens* (Desf.) growing wild in Bechar, South west of Algeria. Laboratory of valorization of vegetal Resource and Food Security in Semi Arid Areas, South West of Algeria, BP 417, University of Bechar, Algeria.
- Makkar H.P.S., Siddhuraju P. et Becker K., 2007**, Plant Secondary Metabolites, Methods in Molecular Biology 393; Ed: HUMANA PRESS; p: 67-111.
- **Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E. Et Kefalas P.; 2005**. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*); Food Chemistry 89; p: 411-420.
- **Marc, F., Davin, A., Deglene-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., & Fritsch, P. 2004**. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. M/S: médecine sciences, 20(4), p :458-463.
- **Marfak A, 2003**, Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES.p :187.

- **Mehdi Chaabi, Nouredine Beghidja, Samir Benayache et Annelise Lobstein, 2007**, Activity-Guided Isolation of Antioxidant Principles from *Limoniastrum feei* (Girard) Batt''. Laboratoire de Valorisation des Ressources Naturelles, Route Ain El-Bey. Constantine, Algérie. P :145-149.
- **Merabti, R. 2006**. Isolement et caractérisation de souches levuriennes amylolytiques à partir de sol saharien algérien.
- Mezhoud S., Derbré S., Ameddah S., Mekkiou R., Boumaza O., Seghir R., Benayache S., Richomme P., Benayache F., 2012**. Antioxidant activity and chemical constituents of *Warionia saharae* Benth & Coss. (Compositae) from Algeria; *Int. J. Med. Arom. Plants*, ISSN 2249-4340 ; 2 ; (3) , p : 509-513.
- **Mezouari A, Makhloufi A, Bendjima K, Benlarbi L, Boulanouar A, Makhloufi K, and Jesús Gonzalez MD 2019**. Antifungal activity of *Acacia tortilis subsp. raddiana* taron *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*, the cause of Bayoud Disease of the date palm in South-west Algeria. *Applied Biology in Saharan Areas* 4,p: 10-26.
- Mohammedi Z, 2013**. Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse Doctorat.
- **Molyneux P., 2004**. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin. J. Sci. Technol.* 26(2),p: 211-219.
- Mibindzou. M , 2004** , screening phytochimique de deux espèces de plantes *Crotalaria Retusal* (papilionaceae) et *hallea ciliatubren* et *Pallegr* (Rubiaceae) récoltées au Gabon''.Thèse Doctorat ,Faculté de Médecine et pharmacie.université de Bamako.
- **Miguel, M. G. 2010**. Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25(5), p :291-312
- Miller N-J., Sampson J., Candeias L.P., Bramley P.M., Rice-Evans C.A, 1996**., Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters*, 384, p :240-242.
- **Murray PR., Baron EJ., Pfaller MA., Tenover FC., Tenover RH. 1995**. *Manual of Clinical Microbiology*. sixth Ed. ASM, Washington, DC, USA.
- Nait Said N. 2007**. Etude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes: "*Pituranthos chloranthus*" et "*Marrubium vulgare*". Thèse de magistère. Université de Batna.

Noriega P .,Ballesteros J., De la Cruz A .,Veloz T,2020. Chemical Composition and Preliminary Antimicrobial Activity of the Hydroxylated Sesquiterpenes in the Essential Oil from Piper barbatum Kunth Leaves. *PMCID: PMC7076699.* 9(2),p: 211.

- **Oubadi Miloud , Hamou Ahmed , Faci Mohammed , Farhi Yacine .2020** .Impacts des canicules sur les contraintes environnementales dans la région de Béchar. *Journal Algérien des Régions Arides (JARA)* 14 (1),p : 80-101.

-**Ohyama K.** 2003. *Biol. Pharm. Bull* p 26, 10-8.

- **Oke F., Aslim B., Ozturk S., Altundag S., 2009.** Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food. Chem.* 112: p :874–879.

- **Ouffai K ,2021.** Etude phytochimique et évaluation d’activité antioxydante et antidiabétique des extraits et des fractions riche en composés phénoliques préparés du *Globularia alypum* L. et *Zygophyllum album* L.

- **O.M.S, 2002.** Organisation Mondiale de la santé (OMS) Rapport sur la médecine traditionnelle Besoins et potentiel. N° 4. 6 p.

- **Ozenda, P. 1991.** Flore et végétation du Sahara, 3^{ème} édition, Edition CNRS. Paris. p 407.

-**Oyaizu, M., 1986.** Studies on products of browning reaction-Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition.* 44,p : 307–315.

- **Payan, F. 2004.** Structural basis for the inhibition of mammalian and insect α -amylases by plant protein inhibitors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics,* 1696(2),p : 171-180.

-**Peronny S. 2005.** La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta).Thèse de Doctorat du Muséum national d’histoire naturelle .Discipline Eco-Ethologie .p :151.

- **Peskin AV., Winterbourn CC., 2000.** A microtiter plate assay for superoxide dismutase using a water-soluble tetrazolium salt (WST-1). *Clinica Chimica Acta.* 293,p :157–166.

-**Pibiri M.C., 2006.**Assainissement microbiologique de l’air et des systèmes de ventilation au moyen d’huiles essentielles, Thèse de doctorat, Ecole polytechnique fédérale de Lausanne ----

-**Pierre et gallouin ; 2003 ,** Epices, aromes et condiments “. *Protoplasma.P* :20-26.

-**Pietta P; 2000:**“Flavonoids as Antioxidants “. *Journal of Natural Products,* Vol 63(7),p: 1035-1042.

- Popov, I., Lewin, G., Baehr, R. 1987.** Photochemiluminescent detection of antiradical activity. I. Assay of superoxide dismutase. *Biomed Biochim Acta*, 46: p :775–779.
- **Prakash, D., Upadhyay, G., Singh, B. N., & Singh, H. B. 2007.** Antioxidant and free radical-scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (*Glycine max*). *Food chemistry*, 104(2),p : 783-790.
- Prashanth D. Padmaja R.,Samiulla D.S, 2001,** Effect of certain plant extracts on α -amylase activity, *Fitoterapia*,72,(2), P : 179-181.
- **Quattrocchi, U. 2006.** CRC World Dictionary of Grasses: Common Names, Scientific Names, Eponyms, Synonyms, and Etymology - 3 Volume Set (1st ed.). CRC Press.
- **Rahman, M. M. 1988.** Taxonomic studies in the genus *Panicum* L. KB thesis scanning project 2015.
- **Randrianarivelo R., 2010.** Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar « *cinnamosma fragrans* », alternative aux antibiotiques en crevetticulture. Thèse de doctorat. Université d'Antananarivo. P :45.
- **Rechek H., Haouat A., Hamaidia K., Allal H.,Boudiar T.,Pinto D.C.G.A., Cardoso S.M., Bensouici C.,Soltani N.,Silva A.M.S. 2021,** Chemical Composition and Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Enzyme Inhibitory Activities of an Endemic Species from Southern Algeria: *Warionia saharae*. *Molecules*, 26, 5257.
- **Rezzoug, C., Remini, B., & Hamoudi, S. 2016.** Modern irrigation in oasis of lahar (bechar, algeria): problems and consequences. *larhyss Journal* P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782, (25), p :259-267.
- Ricarte L.P., Bezerra G.P., Romero N.R., Silva H. C DA., Lemos T.L.G., Arriaga A.M.C., Alves P.B., Dos Santos M.B., Militão G.C.G., Silva T.D.S., Braz-Filho R., Santiago G.M.P,2020.** Chemical composition and biological activities of the essential oils from *Vitex-agnus castus*, *Ocimum campechianum* and *Ocimum carnosum* . *Journal of Essential Oil Bearing Plants* , 17;92(1).
- Roberts M. F. et Wink M.; 1998;** ALKALOIDS: Biochemistry, Ecology and Medicinal Applications; Ed: PLENUM PRESS; p: 1- 6.
- Roux D., 2008.** Conseil en aromathérapie. 2^{ème} édition, Pro-Officina, 187.
- Sanchez-Moreno C.; 2002.** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems; *International Journal of Food Science and Technology* 8; p: 121-137.

- Sarraf, A., Verton, E., Addoun, N., Boual, Z., Ould El Hadj, M. D., El Alaoui-Talibi, Z., ... & Pierre, G. 2021. Polysaccharides and derivatives from Africa to address and advance sustainable development and economic growth in the next decade. *Applied Sciences*, 11(11), p :5243.
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., 1998. Main methods used in lipid oxidation determination. *Food Sci. Technol. Int*, 4: p :391-399.
- Saxena K. N. and Basit A. 1982 Inhibition of oviposition by volatiles of certain plants and chemicals in the leaf hopper. *Amrasca derastans* (Distant). *Journal of Chemical Ecology* 8, 329-338.
- Scherer, R., Godoy, H.T., 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chem*, 112,p: 654–658.
- Sellam, K., Ramchoun, M., Alem, C., Khallouki, F., El Moualij, B., & El Rhaffari, L. 2012. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Warionia saharae* from oases of Morocco. *Gas Chromatography–Biochemicals, Narcotics and Essential Oils*, p :213-220.
- Sharma A., Gupta S., Sarethy IP., Dang S., Gabrani R., 2012. Green tea extract: Possible mechanism and antibacterial activity on skin pathogens. *Food. chem.* 135,p: 672–675.
- Shibano, M., Kitagawa, S., Nakamura, S., Akazawa, N., Kusano, G. 1997. Studies on the constituents of *Broussonetia* species. II. Six new pyrrolidine alkaloids, broussonetine A, B, E, F and broussonetinine A and B, as inhibitors of glycosidases from *Broussonetia kazinoki* Sieb. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 45(4), p :700-705.
- Singleton V.L.et Rossi J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology and Viticulture*. 16, p :144-153.
- Singleton V. L, Orthofer R, Lamuela-Ravent´os R. M.,1998. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent,” *Methods in Enzymology*, 299, p : 152–178.
- Speroni, E., Cervellati, R., Innocenti, G., Costa, S., Guerra, M. C., Dall’Acqua, S., & Govoni, P. 2005. Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antioxidant activities of *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile. *Journal of Ethnopharmacology*, 98(1-2), p :117-125.

- Sqalli H., Elouarti A., Ennabili A., Ibsouda S., Farah A , Haggoud A., Houari A., Iraqui M., 2007.** Évaluation de l'effet antimycobactérien de plantes du centre-nord du maroc. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 146, p :271-288.
- **Svoboda, K. P., & Hampson, J. B. 1999.** Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. *Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW, 16,* p : 1-7.
- **Terfaya B, Makhloufi A , Mekboul A, Benlarbi L; Abdelouahid DE ,2019.** In vitro Antifusarial Activity of a Tar Extracted from the *Juniperus phoenicea L.* wild in southwest of Algeria. *Phytothérapie* 19,p: 243–249
- Thalapaneni, N. R., Chidambaram, K. A., Ellappan, T., Sabapathi, M. L., & Mandal, S. C. 2008.** Inhibition of carbohydrate digestive enzymes by *Talinum portulacifolium* (Forssk) leaf extract. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 5(1).
- Torres.R, Faini.F,Modak.B,Urbina.F,Labbé.C,Guerrero.J,2006,** Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinousexudates of *Haplopappus multifolius*; *Phytochemistry* 67; Ed: ELSEVIER; p: 984-987.
- **Travlos I.S., Karamanos A.J , 2007.** Influence of Heat on Seed Germination and Seedling Emergence of Chaste Tree (*Vitex agnus castus L.*) . *Journal of Agronomy*, 6: 25-28.
- Unnikrishnan, R, Anjana, R M, Deepa, M, Pradeepa, R, Joshi, S R, Bhansali, A, Dhandania, V K, Joshi, P P, Madhu, S V, Rao, P V, Lakshmy, R, Jayashri, R, Velmurugan, K, Nirmal, E, Subashini, R, Vijayachandrika, V, Kaur, T, Shukla, D K, Das, A K, Mohan, V ,2014,** Glycemic Control Among Individuals with Self-Reported Diabetes in India—The ICMR–INDIAB Study. *Diabetes Technol Ther.* 1; 16(9),p: 596–603.
- Vincent MC., 1991.** L'aromatogramme. Encyclopédie de médecine naturelle, phytothérapie, aromathérapie, Paris.
- Vogel, A., 1820.** Gilbert's Am. Phys. 64, 161.
- Walton. N.J, Brown D.E.; 1999;** Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products; Ed: WORLD SCIENTIFIC; p: 1-14
- **Wayner, D. D. M., Burton, G. W., Ingold, K. U., & Locke, S. 1985.** Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation: The important contribution made by plasma proteins. *FEBS letters*, 187(1), 33-37.

-**Worthington,1988** . Biochemical Corporation, Enzyme and Related Biochemicals, Worthington Biochemical Corporation, Freehold, NJ, USA, 1978.

-**Wichtl .M , Antone .R ; 2003** : ''plantes thérapeutiques .2eme Edition. Paris. P: 125.

-**Winston, G.W., Regoli, F., Dugas, A. J., Fong, J. H., Blanchard, K. A. 1998**. A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. *Free Radical Biol. Med*, 24,p: 480–493

- **Wu, X., Ding, H., Hu, X., Pan, J., Liao, Y., Gong, D., & Zhang, G. 2018**. Exploring inhibitory mechanism of gallic acid on α -amylase and α -glucosidase relevant to postprandial hyperglycemia. *Journal of Functional Foods*, 48, p :200-209.

-**Yanez J. A., Andrews P. K., Davies N. M. 2007**. Methods of analysis and separation of chiral flavonoids. *Journal of Chromatography B*, 848(2), p :159-181.

-**Yousfi, Y., Djellouli, N., & Bahiani, M. 2017**. Etude quantitative des composés phénoliques des extraits de quatre cultivars de dattes du (Doctoral dissertation, Université Ahmed Draïa-Adrar).

- **Zenk M H et Juenger M. 2007** .Evaluation and current status of the photochemistry of nitrogenous compounds. *phytochemistry*, 68, p :2757-2772

-**Zhang Z., Liu R., Noordhoek J. A., Kauffman, H. F. 2005**, Interaction of airway epithelial cells (A549) with spores and mycelium of *Aspergillus fumigatus*. *Journal of Infection* 51, p :375-382.

Zhelev L., Petkova Z., Kostova L., Damyanova S., Stoyanova A., Dimitrova-Dyulgerova L., Antova G., Ercisli S., Assouguem A., Kara M., Almeer R., A Sayed A, 2022. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Fruits from *Vitex agnus-castus* L., Growing in Two Regions in Bulgaria. *Phytothérapie* 11(7), p :896.

Annexes

1/ Les tests phytochimiques :

(Karumi *et al.*, 2004 ; Benmehdi, 2000 ; Edeoga *et al.*, 2005 ; Haddouchi, 2007)

I. Extraction par l'eau :

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigèrent, On met 50 g de poudre de la plante dans un volume de 300 ml d'eau distillée; et on porte l'ensemble à reflux pendant 1h. Après refroidissement, on filtre le mélange et le soumettre aux différents tests suivants.

Réactif d'Amidon : 1,2 g d'I₂ et 2,5 g de KI solubilisés dans 500 ml d'eau distillée.

a) Caractérisation d'amidon :

On ajout 10 ml de solution d'NaCl saturée avec 5 ml d'extrait aqueux, on traite la solution avec le réactif d'Amidon. L'apparition d'une coloration bleue-violacée indique la présence d'amidon.

b) Caractérisation des composés réducteurs :

Test 1 : on traite 2 ml de la solution aqueuse avec 5 à 8 gouttes de liqueur de Fehling, après un chauffage, l'apparition d'un précipité rouge brique marque la présence des hydrates de carbones.

Test 2 : Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani. A 1 ml de chaque extrait on ajoute 5 ml d'acide acétique contenant des traces de FeCl₃ et 5 ml d'acide sulfurique contenant des traces de FeCl₃. La présence des composés réducteurs est confirmée par la formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique).

c) Caractérisation des saponosides :

5 ml d'extraits aqueux est agité vigoureusement dans le sens de la longueur avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 mn. La formation d'une mousse persistante après 15 minutes confirme la présence des saponosides.

➤ Calcul d'indice de mousse :

Dans une série de 6 tubes à essai (1,3 cm de diamètre interne), on introduit successivement 1 à 6 ml de solution testée et on complète les volumes jusqu'à 10 ml avec de l'eau distillée ; après on agite dans le sens de longueur pendant 15 secondes.

Après un repos de 15 minutes, la hauteur de la mousse est mesurée. Dans les tubes ayant une hauteur de mousse plus de 1 cm, l'indice de mousse est calculé par la formule suivante :

I_{mousse} = hauteur de mousse x e (cm) * 5 / 0.0x.

d) Caractérisation des tanins :

À 1 ml de la solution testée, on ajout 1 ml d'eau distillée et on traite la solution avec 1 à 2 gouttes de solution de FeCl_3 (1%).

Après quelque minutes l'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu-verte avec un précipité indique la présence des tanins.

e) Caractérisation des alcaloïdes :

On neutralise 15 ml d'extrait aqueux avec le NH_4OH (10%) jusqu'à $\text{pH}=9$, ensuite on extraire la solution avec 3×10 ml de chloroforme et on lave la solution chloroformique avec 3×2 ml d' HCl (10%) ; ueuse est traitée avec le réactif de Mayer et de Wagner, dont lequel : La formation d'un précipité jaune avec le réactif de Mayer ou la formation d'un précipité brun avec le réactif de Wagner indique la présence des alcalo.

f) Caractérisation des acides gras :

On acidifie la solution aqueuse alcaline, puis on l'extraire avec l'éther diéthylique, après on concentre la solution étherique à sec. Le test positif est révélé par l'obtention d'un résidu gras.

II. Extraction par l'éthanol :

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigèrent, On met 50 g de poudre de la plante dans un volume de 300 ml l'éthanol (95%); et on porte l'ensemble à reflux pendant 1h. Après refroidissement, on filtre le mélange et le soumettre aux différents tests suivants.

a) Caractérisation des alcaloïdes :

On évapore 20 ml de solution éthanolique à sec jusqu'à l'obtention d'un résidu, on le dissout ensuite avec 5 ml d' HCl (2N) et on le chauffe dans un bain marie, puis on filtre le mélange et le divise en trois parties égaux, on traite un avec le réactif de Wagner et l'autre avec le réactif de Mayer et laisser le troisième comme témoin. La présence des alcaloïdes est indiquée par la formation d'un précipité jaune avec le réactif de Mayer et par la formation d'un précipité brun avec le réactif de Wagner.

b) Caractérisation des flavonoïdes :

On traite 5 ml d'extrait alcoolique avec quelques gouttes d' HCl concentré et 0.5 g de tournure de magnésium. L'apparition d'une coloration rose ou rouge après trois minutes indique la présence des flavonoïdes.

c) Caractérisation des tanins :

On prend 1 ml de la solution alcoolique et on ajoute 2 ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de FeCl_3 diluée. Un test positif est marqué par l'apparition d'une coloration bleunoire, verte ou bleue-verte et un précipité.

d) Caractérisation des composés réducteurs :

On traite 1 ml de l'extrait alcoolique avec 2 ml d'eau distillée, puis on ajoute 20 gouttes de liqueur de Fehling et on chauffe le mélange. Un test positif se traduit par la formation d'un précipité rouge-brique.

e) Caractérisation des anthracénosides :

On prend 25 ml de l'extrait éthanolique et on ajoute 15 ml d'HCl 10%, puis on le porte à reflux pendant 30 mn. Après refroidissement, on extrait la solution 3 fois avec 15 ml d'éther diéthylique afin d'obtenir deux phases, aqueuse et étherique.

Le test de la présence des anthracénosides est basé sur la réaction de Borntrager. Dans le quel on évapore 8 ml de la phase étherique et récupérer le résidu avec 2 ml d'eau chaude, on ajoute quelques gouttes d' NH_4OH à 10%. Le test considéré positif par l'apparition d'une coloration rouge orangée.

f) Caractérisation des anthocyanosides :

On extrait la solution alcoolique avec l'eau et on dose la phase aqueuse obtenu avec le NaOH. Un virage de couleur à pH différent indique la présence des anthocyanosides (l'apparition d'une couleur rouge à $\text{pH} < 3$ et bleu entre 4 et 6, caractérise les anthocyanosides).

g) Caractérisation des terpènes et stéroïdes :

Test 1 : On évaporer 10 ml d'extrait éthanolique et traite le résidu obtenu avec 10 ml de chloroforme anhydride. Ensuite, on mélange 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydride acétique. Après l'ajout de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, on l'agite puis la laisse reposer. L'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert confirme la présence des hétérosides stéroïdiques.

Test 2 : 5 ml d'extrait est mélangé avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marronne de la couche d'interface indique la présence des triterpène hétérosidique.

III.Extraction par l'éther diéthylique:

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigèrent, On met 50 g de poudre de la plante dans un volume de 300 ml d'éther diéthylique; et on porte l'ensemble à reflux pendant 1h. Après refroidissement, on filtre le mélange et le soumettre aux différents tests suivants.

a) Caractérisation des alcaloïdes :

On évapore 10 ml de la solution étherique et dissout le résidu obtenu dans 1.5 ml de HCl (2%), la formation d'un précipité blanc jaunâtre après l'ajout de 1 à 2 gouttes de réactif de Mayer à la solution aqueuse indique la présence des alcaloïdes bases.

b) Caractérisation des emodols :

On évapore 3 ml de l'extrait étherique et on ajoute 1 ml d' NH_4OH concentré.

L'apparition d'une teinte vive variant de l'orangé rouge au violet pourpre, indique la présence des emodols.

c) Caractérisation des huiles volatiles :

On évapore 20 ml de solution étherique et dissout le résidu obtenu dans l'éthanol, puis on concentre la solution éthanolique à sec. Le test est positif lorsqu'on obtient un résidu aromatique.

IV. Extraction par l'éther de pétrole:

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigèrent, On met 5 g de poudre de la plante dans un volume de 30 ml d'éther de pétrole; et on porte l'ensemble à reflux pendant 1h. Après refroidissement, on filtre le mélange et le soumette aux différents tests suivants.

a) Caractérisation des stérols et triterpènes :

On évapore 10 ml de l'extrait étherique et dissout le résidu dans 0.5 ml d'anhydride acétique et 0.5 ml de chloroforme, puis on ajoute 2 ml d'acide sulfurique concentré. Un anneau rouge brun ou violet dans la zone de contact avec le surnageant ou une coloration violette indique la présence des stérols et triterpènes.

b) Caractérisation des polyuronides :

Dans un tube à essai on met 10 ml d'éthanol et on ajoute goutte à goutte 2 ml d'extrait étherique. L'apparition d'un précipité violet ou bleu indique la présence d'un mucilage.

V. Macération par l'éther de pétrole :

Dans un tube, on met 1 g de matériel végétal broyé avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole. On agite le mélange et le laisse reposer pendant 24 h. on filtre le mélange et le soumette au test suivant.

a) Caractérisation des quinones libres :

On concentre l'extrait à sec et on ajoute quelques gouttes de NaOH (1/10). La présence des quinones libres est confirmée par un virage de couleur de la phase aqueuse au jaune, rouge ou violet.

VI. Extraction par le chloroforme:

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigèrent, On met 5 g de poudre de la plante dans un volume de 30 ml de chloroforme et on porte l'ensemble à reflux pendant 1h. Après refroidissement, on filtre le mélange et le soumette au test suivant.

a) Caractérisation des anthraquinones :

On ajoute le KOH aqueux (10%) à l'extrait et on agite le mélange. Un virage de couleur de la phase aqueuse au rouge confirme la présence des anthraquinones.

2/Identification des souches fongiques

1. Critères d'identification macroscopique :

L'aspect des colonies représente un critère d'identification. Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses ; parfois certaines colonies peuvent avoir une apparence glabre (l'absence ou pauvreté du mycélium aérien).

Le relief des colonies : il peut être plat ou plissé et la consistance des colonies peut être variable (molle, friable, élastique ou dure).

La taille des colonies: Elle peut-être très variable en fonction des genres fongiques : petites colonies (*Cladosporium*) ou au contraire, colonies étendues, envahissantes (*Mucor*, *Rhizopus*).

La couleur des colonies est un élément très important d'identification ; les couleurs les plus fréquentes sont le blanc, le crème, le jaune, l'orange, le rouge allant jusqu'au violet ou le bleue, le vert, le brun allant jusqu'au noir. Les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus*, *Penicillium*) ou diffuser dans le milieu de culture (*Fusarium*).




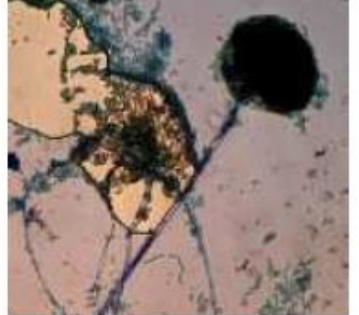
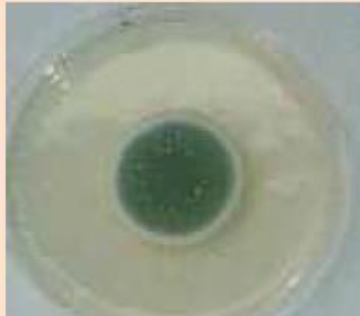



Les structures de fructification : la présence ou l'absence, au centre de la colonie, des structures de fructification sexuée (cléistothèces) ou asexuée (pycnides) (**Botton et al., 1990**).

2. Critères d'identification microscopique (Technique de Micro culture):

Elle consiste à cultiver les moisissures sur des lames menées de petits carrés de PDA solidifié et les couvrir par des lamelles, ensuite les conditionner dans une chambre stérile et humide et les incuber à 25° C pendant 3 à 5 jours. après l'incubation , on effectuée les observation des lames grâce à un microscope.

Après 2 à 3 jours d'incubation, sur des nouvelles lames stérile, on dépose 2 à 3 gouttes de lactophénol ou bleu de coton pour le gonflement du mycélium et faciliter l'observation microscopique des mycéliums collés sur la lame des morceaux de PDA (**Pitt, 2004**).

Tableau : Résultat d'identification des moisissures

Aspect des colonies	Observation microscopique	Résultat d'identification
		<p><i>Aspergillus flavus</i></p>
		<p><i>Aspergillus niger</i></p>
		<p><i>Penicillium sp.</i></p>
		<p><i>Fusarium sp.</i></p>

3.Pourcentage d'inhibition = Diamètre du témoin _ diamètre de la concentration tests divisé par le diamètre du témoin × 100.