

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA
FACULTE DES SCIENCES AGRONOMIQUES ET VETERINAIRES
MEMOIRE DE MAGISTER

Option : Amélioration des productions végétales

Effet du stress hydrique sur la production des alcaloïdes tropaniques
chez *Datura stramonium* cultivé en plein champ

Présenté par M^{elle} Felidj Menel

Devant le jury composé de :

H. Belkahla	Maître de conférence, Fac. Agro- Vet Univ. Blida	Présidente
Z. Houmani	Professeur Fac. Agro- Vet Univ Blida	Promotrice.
F. Aid	Professeur U.S.T.B.H Bab Ezouar	Examinatrice
O. Abrous	Maître de conférence U.S.T.B.H Bab Ezouar	Examinatrice
R. Amirouche	Chargé de cours, U.S.T.B.H Bab Ezouar	Examineur

Blida, Juin 2005

RESUME

Le *Datura stramonium* est une plante adventice qui appartient à la famille des *Solanaceae*. C'est une plante assez riche en alcaloïdes tropaniques et présente une importance pour l'industrie pharmaceutique.

Les teneurs en alcaloïdes totaux des parties aériennes du *D. stramonium*, cultivé en plein champ, varient selon le stade de développement des plants. Le stade de début floraison présente une meilleure production alcaloïdique par rapport aux autres stades végétatifs.

Dans le cas d'un stress hydrique provoqué après chaque stade végétatif, la réduction de la croissance signifierait une perturbation dans le fonctionnement du métabolisme des plants. Par contre, dans certains cas (stade 1 et stade 2) le métabolisme secondaire serait légèrement favorisé à travers la biosynthèses des alcaloïdes.

les plants conduits sous les conditions de sécheresse complète renferment sensiblement les mêmes teneurs en alcaloïdes que ceux arrosés tous les jours (durant 170 jours en raison de 2 litres / plant). Ce qui permettrait donc, un important gain d'eau dans le cadre d'une exploitation industrielle de la production d'alcaloïdes tropaniques

Mots clés : *Datura* – *Solanaceae* mydriatiques – Alcaloïdes tropaniques – stress hydrique – Scopolamine- Hyoscyamine – proline.

ABSTRACT

Datura stramonium is an adventitious plant which belongs to the family of *Solanaceae*. It is a plant very rich in alkaloids tropanic and which have a great importance for industry.

The contents total alkaloids of the air parties of *Datura stramonium* vary according to the stage of development of the seedlings, thus the stage flowering beginning shows a better alkaloid production compared to the other vegetative stages. The total absence of water is preferable to that is carried out once every six days and once every fifteen days. These last prove to be harmful for the development of the seedlings.

The hydrous stress caused after each vegetative stage has a bad effect on the development of phytomasse especially at the stage flowering beginning.

Key words: *Datura* - *Solanaceae* mydriatic - Alkaloids tropanic - hydrous stress - Hyoscyamine Scopolamine - proline.

ملخص

النفير أو الداتورة الشائكة عشبة من الأعشاب الضارة، تنتمي إلى فصيلة الباذنجانيات، و تصنف ضمن النباتات الطبية السامة الغنية بالألكاليات التروبانية. تتأثر نسبة الألكاليات بمختلف أطوار النمو و الجفاف. فمن خلال تجربتنا، ننصح بجني نبتة النفير أثناء فترة الإزهار لأن نسبة الألكاليات تكون في ذروتها. و من جهة أخرى فان السقي اليومي أعطى نسب من الألكاليات أحسن بكثير من السقي مرة كل 6 أيام و مرة كل 15 يوم، و لكن يستحسن عدم سقي نباتات النفير على أن تسقى على فترات فهذا يؤثر أيضا على نسبة نمو النبات. و من جهة أخرى، فإن توقيف السقي بعد مختلف أطوار نمو نبتة النفير يؤثر سلبيا على نسبة الألكاليات و يذبذ تفرع النبات.

الكلمات الأساسية:

النفير - الباذنجانيات الميدياتيكية- الألكاليات التروبانية- الجفاف- السكوبولامين- الهوسيامين- البرولين.

REMERCIEMENTS

Au terme de ce présent mémoire, qu'il me soit permis de remercier ma promotrice Pr Houmani Zahia pour avoir bien accepté de se charger de la direction de ce travail, pour ses précieux conseils, et pour ses encouragements tout au long de cette étude.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements aux membres de jury la Pr AID. F et Dr ABROUS. O, pour l'honneur qu'elles m'ont faites en acceptant de juger ce travail

Je remercie vivement Mr TRABSI, Mr AMIROUCHE, Mr HANAFI et tout le personnel du laboratoire Eco-génétique de l'université de Bab Ezouar de m'avoir accueilli au sein de leur laboratoire et pour le temps qu'ils m'ont généreusement accordé, pour leur soutien scientifique et leurs nombreux conseils.

Je voudrai également remercier Dr Belkahla. H pour avoir accepté la charge de présider le jury.

Je remercie particulièrement Zobeida Bensadok pour ses encouragements et son soutien

Je présente mes sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à ce travail, particulièrement mon cousin Rhéda

DEDICASSE

A mes parents bien aimés qui ont toujours fait mon bonheur

A la mémoire de mon Oncle Ahmed et ma Grand-mère

A mon très cher oncle Tayeb Ferahi et ses enfants

A tonton Belkacem Felidj

A toute ma famille et mes ami (es)

Table des Matières

RESUME.....
REMERCIEMENT.....
TABLE DES MATIERES.....
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX.....
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I.....	13
I LE <i>Datura stramonium</i>	13
1. Différentes nomenclatures du <i>Datura stramonium</i>	13
2. Description botanique du <i>Datura stramonium</i>	13
3. Localisation des alcaloïdes tropaniques dans la plante.....	16
4. Exigences climatiques et édaphiques du <i>Datura stramonium</i>	17
5. La multiplication.....	17
6. Récolte des plantes.....	18
7. Conservation des plantes après récolte	18
8. Amélioration génétique.....	21
9. Utilisation du <i>Datura stramonium</i> :.....	21
10. Intoxication au <i>Datura stramonium</i>	23
II. LES ALCALOÏDES TROPANQUES	24
1. Généralités	24
2. Les alcaloïdes et les plantes alcaloïfères.....	25
3. La biosynthèse des alcaloïdes majeurs (hyoscyamine et scopolamine)	26
4. Structure chimique des alcaloïdes tropaniques majeurs	30
4.1. L'hyoscyamine :	30
4.2. La scopolamine :	30
5. Variation des alcaloïdes tropaniques dans les plantes	31
5.1. Variations climatiques : Lumière et températures	31
5.2. Variations au cours du développements des plantes et mode de culture	32
5.3. Le pH du sol :.....	33
5.4. Variations selon la composition du milieu de culture.....	34
5.4.1 Les hormones	34
5.4.2 La nutrition minérale	34
5.5 Les variations génétiques.....	35
6. Action physiologique de l'hyoscyamine et de la scopolamine.....	36
6.1 La scopolamine	36
6.2. L'hyoscyamine :	36

III. LE STRESS HYDRIQUE.....	37
1- Adaptation des plantes à la sécheresse	37
2. Mécanismes d'adaptation à la sécheresse.....	39
2.1 Phénomène d'échappement ou phénomène d'esquive	39
2.2 Phénomène de résistance	40
2.2.1 L'évitement.....	40
2.2.2 La tolérance à la sécheresse.....	40
3. Effet du stress hydrique sur la plante.....	41
3.1 Effet du stress hydrique sur la croissance de la plante	41
3-2-Effet du stress hydrique sur la photosynthèse.....	43
3-3-Effet du stress hydrique sur le métabolisme glucidique.....	43
3-4- Effet du stress hydrique sur l'accumulation de la proline.....	44
CHAPITRE II . MATERIEL ET METHODES	48
1. Présentation de la parcelle expérimentale.....	48
2. Analyses chimiques:	48
2.1 Taux de matière organique:	48
2.2 Calcaire total	49
2.3 Azote total :.....	50
3. Analyses physiques.....	50
3.1 Le pH du sol.....	51
3.2 Humidité hygroscopique.....	51
3.3 Granulométrie	51
3.4 Conductivité électrique	52
4. Matériel végétal	53
5. Culture	53
5.1 Le dispositif expérimental	53
5.2 Quantité d'eau à apporter à chaque arrosage	55
5.3 Récolte et préparation des plants pour analyses	56
6. Analyses des plantes	57
6.1 Détermination de la matière sèche.....	57
6.2 Extraction et purification des alcaloïdes.....	57
6.4 Extraction et dosage de la proline.....	58
a- Principe de l'extraction.....	58
6.5 Les traitements statistiques	60
CHAPITRE III. Résultats et discussions.....	61
1. Caractéristiques de la parcelle expérimentale.....	61
1.1 Caractéristiques climatiques	61
1.2 Caractéristiques édaphiques de la parcelle expérimentale.....	64
2. Comparaison des teneurs en alcaloïdes tropaniques totaux en fonction des stades de développement chez le <i>D. stramonium</i> cultivé en plein champ.....	65
3. Comportement des plants de <i>Datura stramonium</i> cultivés sous stress hydriques... 67	
a/- Performances des plants	67
b/- Phénologie des plants de <i>Datura stramonium</i> cultivés sous stress hydrique.....	72
3.1 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux produites par le <i>D. stramonium</i> cultivé sous stress hydrique	74

4. Comparaison de la teneur en alcaloïdes totaux chez les plants de <i>D. stramonium</i> après l'arrêt des arrosages à différents stades de développement.....	78
5. Variation de la teneur en proline chez les plants de <i>D. stramonium</i> cultivé en plein champ.....	81
5.1 Variation de la proline en fonction du stade phénologiques des plants de <i>D. stramonium</i> cultivé en plein champ et arrosés tous les jours.....	81
5.2 Les teneurs en proline chez <i>D. stramonium</i> cultivé sous stress hydrique.....	82
5.3 Variation de la teneur en proline chez les plants de <i>D. stramonium</i> (pleine fructification) cultivés sous stress hydrique à différents stades de développement	84
6. Relation entre la biosynthèse de la proline et les alcaloïdes tropaniques	85
CONCLUSION	89
REFERENCES.....	
APPENDICES.....	

Liste des illustrations, Graphiques et tableaux

Figure 1 : Les fleurs du <i>Datura stramonium</i>	14
Figure 2 : Le fruit du <i>Datura stramonium</i>	15
Figure 3 : La forme des graines du <i>Datura stramonium</i>	16
Figure 4 : Relation entre le métabolisme primaire et le métabolisme secondaire.....	27
Figure 5 : Biosynthèse des alcaloïdes majeurs (Hyoscyamine et la Scopolamine).....	29
Figure 6 : Structure chimique de l'Hyoscyamine	30
Figure 7 : Structure chimique de la Scopolamine.....	31
Figure 8 : Mécanisme d'action de l'acide abscissique (ABA) sur la fermeture des stomates au niveau de la cellule de garde.....	42
Figure 9 :Voies de biosynthèse et de dégradation de la proline chez les plantes.....	42
Figure 10 : Dispositif expérimental.....	55
Figure 11 : Courbe étalon de la proline µg/ml.....	59
Figure 12 : Composition alcaloïdique des plants de <i>D. stramonium</i> arrosés tous les jours en fonction des différents stades de développement mg/g MS.....	66
Figure 13 : Schéma de ramification du plant de <i>D. stramonium</i>	69
Figure 14 : Comparaison des plants de <i>Datura stramonium</i> cultivés sous stress	72
Figure 15 : Phénologie des plants de <i>Datura stramonium</i> (année 2003).....	73
Figure 16 : Teneur en alcaloïdes tropaniques totaux chez <i>D. stramonium</i> au stade pleine maturité des fruits en mg/g MS.....	75
Figure 17 : Les plants de <i>D. stramonium</i> au stade plein maturité des fruits cultivé sous stress hydrique.....	77
Figure 18 : Comparaison de la teneur en alcaloïdes totaux chez les plants de <i>D. stramonium</i> au stade pleine maturité des fruits, après un stress hydrique (mg/g MS).....	80
Figure 19 : Teneur en proline en fonction des stades phénologiques du <i>D. stramonium</i> cultivé en plein champ et arrosés tous les jours (mg/g MS).....	81
Figure 20 : Teneurs en proline chez les plants de <i>D.stramonium</i> cultivé sous stress hydrique	83

Figure 21: Comparaison des teneurs proline chez <i>D.stramonium</i> après arrêt des arrosages à différents stades de développements.....	85
Figure 22 : Comparaison entre les variations des teneurs en proline et en alcaloïdes tropaniques en fonction des stades de développements du <i>D. stramonium</i> ..	86
Figure 23: Comparaison entre la variation des teneurs en proline et en alcaloïdes tropaniques chez <i>D. stramonium</i> cultivé sous stress hydrique.....	88
Figure 24 : Comparaison entre la variation des teneurs en proline et en alcaloïdes tropaniques après arrêt des arrosages à différents stades de développement des plants de <i>D. stramonium</i>	89
Tableau 01 : Les paramètres phénologiques et morpho-physiologique d'adaptation au déficit hydrique	39
Tableau 02 : Valeurs de la densité optiques.....	59
Tableau 03 : Caractéristiques Climatique de la station d'expérimentation.....	63
Tableau 04 : Caractéristiques du sol.....	64
Tableau 05 : Valeurs moyennes en alcaloïdes tropaniques des plants de <i>D. stramonium</i> arrosés tous les jours en fonction des différents stades de développement mg /g MS.....	65
Tableau 06 : Longueur des ramifications du <i>Datura stramonium</i> au stade pleine maturité (plus de 4 fruits mûres) cultivés sous stress hydriques.....	68
Tableau 07 : Teneur en alcaloïdes tropaniques totaux chez <i>D. stramonium</i> au stade pleine maturité des fruits en mg/g MS.....	75
Tableau 3.8 : la teneur en alcaloïdes totaux chez les plants de <i>D. stramonium</i> au stade pleine maturité des fruits, après un stress hydrique (mg/g MS).....	79

Introduction

Il existe dans la nature de très nombreuses espèces et variétés de plantes que l'homme à appris et apprend toujours à travers le temps à les connaître et à les utiliser pour se nourrir, se loger, se vêtir et pour se soigner [1]

L'utilisation des plantes médicinales est aussi vieille que l'homme, elle est utilisée à des fins préventives dans le but de compléter la médecine dite allopathique. Leur mode d'utilisation nous est parvenu à travers des générations grâce au savoir faire des chinois, aux sorciers d'Afrique, aux Romains qui cultivaient leurs aromates, aux recettes de beauté des femmes du moyen âge, aux embauments des égyptiens et aux orientaux qui allient substances naturelles et philosophie. Ce qui nous a permis a présent d'avoir une panoplie de plantes aux produits naturels bien remplie [2] dont le *Datura stramonium*.

Le *Datura stramonium* est considéré comme plante adventice, il appartient à la famille des *Solanaceae*, il est très utilisé dans les préparations officinales, du fait qu'il renferme des teneurs importantes d'alcaloïdes tropaniques dont les plus importants sont l'hyoscyamine, la scopolamine et l'atropine. Ils sont issus du métabolisme secondaire et représentent un groupe important du fait de leurs propriétés sédatives, mydriatiques, anticholinergiques, analgésiques, antispasmodiques et bactéricides [3], leur consommation à des doses élevées par l'homme peut causer des troubles mortels [4].

En Algérie la préparation officinale représente environ 1% de l'ensemble de préparations médicamenteuses [5]. Les données statistiques du commerce extérieur agricole de 2002 [6] indiquent que notre pays a importé près de 10570 tonnes de plantes médicinales et de substances d'origines végétales correspondant à près de 6198631\$. Ces substances sont d'un intérêt certain pour l'industrie cosmétique, pharmaceutique et pour l'industrie de l'insecticide [7]. Parmi ces substances d'origine végétale, on retrouve les alcaloïdes tropaniques qui seraient favorablement biosynthétisés par les *Datura* [4]. Plusieurs travaux dont ceux de HOUMANI [8] ont contribué à la connaissance de l'espèce la plus intéressante, de l'organe le plus actif, des conditions de végétation les plus favorables, de la date favorable de récolte, des meilleurs conditions de conservation, et des

conditions pédoclimatiques les plus favorables à savoir la nature et la composition du sol, le climat, les techniques culturales...etc.)[8]. D'autre part, l'eau constitue l'un des facteurs le plus important dans l'accumulation de ces principes actifs dans la plante. Elle constitue à la fois le milieu originel et fondamental de tout processus biologique et représente un facteur limitant des rendements du fait qu'elle influence de nombreux processus physiologique liés à la croissance et au développement des plantes. Son manque induirait des difficultés de développement suivies d'une activité intense du métabolisme secondaire de ces dernières. Ainsi, l'exposition des plantes à des conditions de stress hydrique ou de sécheresse engendrerait des réactions à la fois métaboliques et physiologiques [9].

L'objectif de ce travail est d'étudier l'influence du stress hydrique sur les plants de *Datura stramonium* cultivé en plein champ à travers :

- La croissance des plants,
- La biosynthèse des alcaloïdes tropaniques,
- La biosynthèse de la proline

La méthodologie adoptée est la culture par transplantation de plantules de *D. stramonium*. Après leur reprise, les plants sont soumis à différents traitements hydriques.

CHAPITRE 1

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. LE *Datura stramonium*

1. Différentes nomenclatures du *Datura stramonium*

Cette plante est connue sous différents noms communs dans le monde. En France ; la Stramoine, ou *Datura* est connu autant qu'herbe aux sorcières ou magiciens. Elle est connue aussi sous le nom de pomme de diable, ou pomme épineuse à cause du fruit, ou également endormie [10]. On lui donne aussi le nom d'herbe à fouet, de pomme du Pérou ou encore trompette des anges [11].

En Allemagne, il prend le nom d'Echter Stechapfel [12]. Les italiens lui donnent les noms de Stramonio, Mela Spina ou Phono Spinoso [13]. Les Indiens, l'appellent *Datura* et les Mexicains par contre le nomment Tlpath Stramonio [13].

En Algérie, le *Datura stramonium* présente plusieurs noms, suivant les régions du pays. Chez les Berbères il prend les noms de Tabourzisgt ou Tidilla. Par contre dans le reste du pays c'est plutôt : Shejret el Janna, Tatura, Nefir, *Datura*, Semm el Far, Djahanana, ou Messekra. Il est plus connu sous le nom Habala. Le fruit prend le nom de Djouza matel et les graines de Habet el Fouha [14].

2. Description botanique du *Datura stramonium*

Etablit pour la première fois en 1937 par Linné, la classification du *Datura stramonium* a été distinguée des groupes des *Ceratocaula* des *Brugmancia* et des *Dutra* [15].

L'espèce *D.stramonium* appartient à la famille des *Solanaceae*, à la classe des dicotylédones gamopétales et au sous embranchement des Angiospermes [16].

Le *D.stramonium* est une plante annuelle herbacée vigoureuse dont la tige verte arrondie peut atteindre 1,50 mètres de haut [17].

Le *D.stramonium* est cosmopolite [18], il pousse au bord des chemins, dans les décombres, les lieux incultes et en adventice des cultures, particulièrement des *Solanaceae* et des *Cucurbitaceae* [19]

D'après DEBELMAS et DELAVEAU [20], ses feuilles sont alternes, longuement pétiolées ; le limbe est largement échancré et à dents inégales plus au moins larges à leurs bases (de 10 à 12 cm de long et de 6 à 8 cm de large). La nervation est pennée et les nervures sont très apparentes à la face inférieure correspondant à un sillon sur la face supérieure. Les jeunes feuilles sont tomenteuses ; alors que, les feuilles âgées sont glabres de couleur « vert foncé ». A l'état frais, les feuilles dégagent une odeur nauséuse qui s'atténue par dessiccation [21, 22, 23]

Les fleurs sont solitaires de 8 à 10 cm de long (Figure 1.1), leur calice est tubuleux et denté, il est largement dépassé par la corolle blanche. Cette dernière est évasée en entonnoir et terminée par 5 lobes. Elles comportent 5 étamines insérées à la base de la corolle, le stigmate est bilobé et, l'ovaire est biloculaire [22,16].



Figure 1.1 : Les fleurs du *Datura stramonium*

Le fruit est une capsule ovoïde (Figure 1.2), dressée de 3 à 4 cm de long, couverte d'épines rudes très caractéristiques ; Il est biloculaire à l'origine et devient tétra loculaire par la formation d'une fausse cloison ; à maturité la capsule s'ouvre par quatre valves montrant au centre les placentas portant de nombreuses graines [24,25,26].



Figure 1.2: Le fruit du *Datura stramonium*

Les graines sont noires, de 3 à 5 mm de long sur 1 à 1,5 mm de diamètre (Figure 1.3) ; Elles sont réniformes aplaties dont la surface est verruqueuse et finement réticulée ou ponctuée. La section longitudinale de la graine montre sous le tégument un albumen huileux, blanc entourant l'embryon deux fois recourbé [24,26]. Une capsule produit normalement 600 à 700 graines [27].



Figure 1.3: La forme des graines du *Datura stramonium*

3. Localisation des alcaloïdes tropaniques dans la plante

Les travaux de GUILLON et BECQUEREL [28] sur le *Datura stramonium* montrent que les alcaloïdes apparaissent dans le vacuome des jeunes cellules de l'écorce et de la radicule ; ceci à partir du 6^{ème} jour de la germination de la graine, lorsque les cotylédons commencent à assimiler. Selon ces mêmes auteurs, les alcaloïdes se forment à la périphérie de l'écorce et continuent à gagner successivement les cellules du parenchyme jusque vers l'endoderme pour atteindre, après un mois, le parenchyme de la moelle. Dans la racine adulte les alcaloïdes se répartissent dans le liège et le phelloderme, plus exactement on les trouve au niveau des poils glandulaires et des poils du rhizoderme ce qui indiquerait une sorte de mécanisme d'excrétion [29]. Ils sont excrétés dans le phloème intercellulaire et le parenchyme médullaire où ils cristallisent dans des cellules spécifiques : les idioblastes. L'hyoscyamine est synthétisée dans les racines [30,29] et transportée par le xylème vers les parties aériennes. Elle peut à ce niveau être redistribuée par le phloème de façon acropète et basipète, ou se transformer en scopolamine par époxydation qui a lieu dans le mésophylle des feuilles (très peu dans les racines).

Dans la tige du *Datura stramonium*, les alcaloïdes apparaissent déjà dans les premières assises du parenchyme cortical vers le 10^{ém} jour de germination, 30 jours après, ils s'installent dans le tissu libérien et la moelle où ils disparaissent lorsque le cylindre central aura vieilli [28].

Dans les feuilles du *Datura stramonium*, les alcaloïdes se concentrent dans l'épiderme, les parenchymes lacuneux et palissadiques, le pétiole, et les nervures. Au fur à mesure que les feuilles vieillissent, ces alcaloïdes ne se maintiennent que dans le parenchyme autour des faisceaux libéro-ligneux [28,31].

Dans les fleurs les alcaloïdes se localisent au niveau des sépales et leur teneur est comparable à celle des feuilles; par contre dans la corolle ils se trouvent sous la forme de trace, particulièrement lorsqu'elle est complètement formée [28]. Les mêmes auteurs signalent que les alcaloïdes sont localisés dans les épidermes et dans les jeunes assises corticales des carpelles.

D'autre part, au niveau cellulaire, les alcaloïdes sont répartis dans les différents organites, particulièrement les chloroplastes qui semblent impliqués dans la transformation de l'hyoscyamine en scopolamine [29].

4. Exigences climatiques et édaphiques du *Datura stramonium*

D'après COSSON [32]; COSSON [33] et COSSON *et al.*, [34] le *Datura* exige une luminosité de 14000 à 18000 lux, dont la durée quotidienne est de 16 heures avec 8 heures d'obscurité. Cette photopériode favorise l'augmentation de la surface foliaire qui se traduit par une augmentation de la teneur en alcaloïdes totaux au niveau des organes. Le *Datura stramonium* demande une humidité relative entre 50 et 60% et une pleine exposition ensoleillée [35].

Pour une bonne croissance végétative du *Datura stramonium*, COSSON [32] préconise une température de 20°C à 27°C.

WEAVER et WARWICK, [27] pour obtenir une bonne germination des graines de la même espèce, recommandent une température optimale de 35°C.

Pour la multiplication du *Datura stramonium*, PARIS et MOYSE [24] préconisent une terre légère et calcaire. Ces auteurs recommandent une fertilisation phosphatée et azotée durant la culture. D'après THURZOVA [36] le sol doit être meuble plus au moins riche en humus. Egaleme nt CLAUSE [37] signale que le *Datura stramonium* pousse sur tous les sols avec une préférence des terres riches en éléments nutritifs. Cette espèce paraît sensible au pH du sol avec une préférence pour les sols basiques à pH = 8,2 [38].

5. La multiplication

La multiplication du *Datura stramonium* se fait par semis en automne ou au printemps. Le semis se réalise soit directement en plein terre, soit sous châssis ou en serre.

En plein terre, les graines sont préalablement trempées dans de l'eau pendant 24 heures et suivies d'une incubation à 25°C pendant 7 à 8 jours [39]. Le semis est réalisé à une profondeur de 2,5 à 5 cm de la surface du sol [27].

Sous châssis ou sous serre, en automne, les graines sont préalablement trempées dans de l'eau désionisée pendant environ 2 heures, puis semées sur de la vermiculite, de la laine de verre ou un autre support, et arrosées [34],[38].

Le repiquage a lieu lorsque les jeunes pousses atteignent 6 à 8cm de haut. Il s'effectue vers la fin du mois de mai, à 45 cm d'écartement avec un arrosage copieux pendant l'été [37].

6. Récolte des plantes

La récolte des plantes se fait par temps sec, après le lever du soleil et la disparition de la rosée. D'après VALNET [40], on cueille les fleurs avant complet épanouissement, les fleurs doivent être protégées de la lumière, de la chaleur et de l'humidité ; alors que les feuilles se cueillent avant complet développement, au plus tard au moment de la formation des boutons floraux.

On prélève d'abord les feuilles de la base, puis quelques semaines plus tard celles du sommet, de préférence avant la floraison [24].

Les graines arrivent à maturité dès le mois de Juillet [20]. Leurs prélèvements se fait au moment où les capsules s'ouvrent, avant leur maturité complète pour éviter la chute des graines [41].

D'après FELIDJ [42] la période de récolte et la durée de conservation des graines de *Datura* auraient une influence sur leur pouvoir de germination. Ainsi, les graines semées 29 mois après la récolte, sont celles qui présentent les taux de germination les plus élevés soit 16 à 50% par rapport à celles récoltées en hiver et en automne respectivement semées 4 mois et 1 mois après récolte.

7. Conservation des plantes après récolte

Après récolte, les plantes doivent essentiellement conserver la qualité de leurs principes actifs [40] notamment les alcaloïdes. La conservation des plantes après récolte est une étape importante pour l'exploitation industrielle des alcaloïdes.

Nos ancêtres, depuis longtemps cherchaient les moyens de conserver une denrée qui formait leur unique ou du moins leur principale subsistance. Le blé, les huiles végétales, les figues ou les fourrages animaliers ; Ces denrées présentent tous des moyens de conservation différents. Le blé par exemple est conservé dans des silos pour garder ses qualités nutritives [43]. D'après VALNET [40] pour conserver les plantes, on les sèche selon les cas : au soleil, au four, à l'étuve, au séchoir ou dans un grenier aéré. Avant de sécher les plantes, l'auteur préconise de les débarrasser des substances étrangères et des portions mortes ou altérées. Selon le même auteur, les racines doivent être séchées à l'air et conservées à l'abri de l'humidité. Les racines charnues sont coupées en tranches minces, disposées en chapelets et desséchées à l'étuve. Les mucilagineuses sont séchées au four. Les écorces, le bois, les fleurs, les feuilles et les semences doivent généralement être séchées à l'ombre en atmosphère sèche. Pour les conserver, on utilise des boîtes en bois, en carton ou dans des sachets en papier et dans un endroit sec [40]. Le même auteur signale que pour les tiges et les feuilles épaisses, elles seront séchées plus rapidement, étendues sur des claies et exposées dans une serre à 30-35°C et les remuer plusieurs fois par jour. PETRISHEK *et al.*,[44] préconisent un séchage des plantes à l'air libre, à l'ombre, à la température ambiante de 25 à 35°C et à l'abri d'humidité.

Selon KRESANEK [41] chez le *D.stramonium* une bonne conservation doit maintenir la couleur verte des feuilles et éviter la moisissure des graines dans les capsules. Les travaux effectués par BENHIZIA [45] et FELIDJ [42] sur la conservation des plantes de *D.stramonium* ont montré que le séchage à l'air libre et à l'ombre permet une meilleure conservation des alcaloïdes dans la plante et entraînerait une augmentation de la production alcaloïdique. Ainsi, ces deux auteurs montrent dans leurs travaux, qu'après la récolte des parties aériennes du *D.stramonium* et leurs conservations à l'air libre, ils perdent plus vite leur eau que celles conservées à 4°C. Ainsi, 24 heures après récolte, les plantes conservées à l'air libre perdent près de 50% de leur eau alors que celles conservées à 4°C n'en perdent que le 1/13^{ème}, cela s'explique par l'effet de la température sur l'évaporation et la perte d'eau.

Durant la période de conservation à l'air libre, le taux des alcaloïdes majeurs (hyoscyamine + scopolamine) est de 0.013% le jour de la récolte, ce taux a augmenté près de neuf fois 24 heures après la récolte soit de 0.098 %. Au 2^{ème} jour de séchage, la composition en alcaloïdes majeurs (hyoscyamine + scopolamine) des parties aériennes a diminué d'environ 3 fois, mais au 3^{ème} jour, ce taux a augmenté de nouveau pour atteindre une valeur maximum de 0.128 %. Au delà de cette période et jusqu'au 21^{ème} jour le taux des

alcaloïdes majeurs (hyoscyamine + scopolamine) reste variable mais largement inférieur par rapport aux taux obtenus le 1^{er} et le 3^{em} jour de conservation. Au 21^{em} jour de conservation les parties aériennes présentaient un taux en alcaloïdes majeurs équivalent à celui obtenu le 1^{er} jour de la récolte, c'est-à-dire avant la conservation [42].

Par ailleurs, avant la conservation à l'air libre des parties aériennes du *Datura stramonium*, le rapport scopolamine / hyoscyamine est telle que la teneur de l'hyoscyamine est plus importante que la scopolamine. Mais, à partir du 1^{er} jour de conservation, l'inverse se produit et la teneur en scopolamine devient supérieure durant les 21 jours de conservation avec un optimum au 2^{em} jour. Quant à l'hyoscyamine, il serait plus intéressant de faire l'extraction le 3^{em} jour où sa teneur est optimale. Ainsi la teneur en scopolamine durant la conservation reste toujours supérieure à celle de l'hyoscyamine [45, 25, 42].

D'après les travaux de FELIDJ [42], la conservation des parties aériennes du *Datura stramonium* à 4°C aurait également une influence sur la teneur en alcaloïdes majeurs (hyoscyamine + scopolamine), les résultats de ces travaux ont montrés que la teneur en alcaloïdes majeurs serait de 0.0130 % à la récolte, cette teneur est maximale au 4^{eme} jour de la conservation avec une valeur de 0.131%, ensuite elle diminuerait de moitié environ au 10^{eme} jour de conservation et elle continuerait à diminuer jusqu'à atteindre 0.044% au 21^{eme} jour de conservation. D'autre part, le rapport (scopolamine / hyoscyamine) présenterait une valeur de 0.68 à la récolte, cela s'expliquerait par le taux de l'hyoscyamine qui est plus important que la scopolamine, ce rapport augmenterait au 1^{er} et au 2^{eme} jour de conservation en faveur de la scopolamine qui est supérieure à l'hyoscyamine, ensuite il diminuerait progressivement à partir du 4^{eme} jour de conservation pour atteindre 1,78 au 21^{eme} jour. Il est à remarquer que malgré la diminution du rapport (scopolamine / hyoscyamine) du 4^{em} au 21^{eme} jour de conservation, la scopolamine reste l'alcaloïde dominant [45,25,41]. De ces travaux nous pouvons dire que le métabolisme de la plante continuerait à fonctionner d'une façon irrégulière durant 21 jours de conservation après récolte. Une conservation à basse température permettrait aux plantes de conserver leur eau ce qui favoriserait les réactions enzymatiques et qui permettrait une intense production alcaloïdique.

8. Amélioration génétique

Le *D.stramonium* a fait l'objet de plusieurs recherches dans le domaine de l'amélioration des plantes, notamment dans la sélection de variétés ou de races riches en alcaloïdes [17]. Des essais de mutation par « rayons X » ont été effectués par GAY *et al.*, [17]. Ces essais ont provoqué le plus fréquemment une diminution de la teneur en alcaloïdes.

En culture *In Vitro*, l'inoculation d'un plasmide d'*Agrobacterium rhizogenes* au niveau de différents milieux de culture pendant la rhizogénèse, chez le *D.stramonium* (ne produisant pas d'alcaloïdes) induit la formation d'hyoscyamine dans quelques milieux riches en saccharose et de la scopolamine dans tous les milieux [46].

ROBIN *et al.*(1990) et CHRISTEN (1993) in Vallet [29] dans leurs travaux sur des hybrides de *Datura* tel que (*Datura stramonium* X *Datura discolor*) transformés par *Agrobacterium rhizogenes*, constatent que ces hybrides deviennent hautement compétents pour synthétiser des alcaloïdes tropaniques notamment l'hyoscyamine et la scopolamine. Une seconde transformation, de plantes transgéniques ainsi régénérées, par *Agrobacterium rhizogenes* permet le développement de racines doublement transgéniques. L'apparition de telles racines adventives, le choix judicieux de milieu de cultures solide, puis liquide, permet leur croissance et leur entretien sous forme de chevelus [29].

Suite aux travaux de DEBIERRE-GROCKIEGO [47] et de VALLET [47], l'obtention de chevelus racinaires doublement transformés de *D. innoxia* Mill augmenterait principalement la synthèse de l'hyoscyamine et de la scopolamine en faisant subir à des explants foliaires de sujets témoins, une première transformation par *Agrobacterium tumefaciens*, visant à incorporer le gène P5CR, codant pour une enzyme, la D1-Pyrroline-5-Carboxylate Réductase. Celle-ci catalyserait la biosynthèse de proline, qui pourrait, en effet, intervenir dans la synthèse des alcaloïdes tropaniques.

9. Utilisation du *Datura stramonium*

Les *Datura* sont des plantes dont plusieurs espèces sont utilisées depuis des temps immémoriaux pour leurs propriétés psychotropes. Ils étaient déjà connus au temps des Babyloniens, des Egyptiens, des Grecs et des Romains. Dans l'ancien monde, le *D.*

stramonium constituait une plante sacrée associée aux rituels religieux de la Chine et de l'Inde où elle contribue à la configuration du Dieu « Shiva »[48],[15]. Il était utilisé comme plante médicinale et comme hallucinogène en Afrique et en Amérique où son usage se poursuit aujourd'hui chez certaines tribus indiennes du Mexique [49]. Cette plante constituait également l'un des principaux ingrédients des potions et des baumes destinés à emmener au sabbat les sorcières du moyen âge dont plusieurs recettes sont parvenues jusqu'à nous. La poudre de *Datura* a également été utilisée au XVII^e siècle par des bandits Parisiens appelés les endormeurs où ils offraient aux victimes une prise de tabac mélangée à de la poudre de *Datura* en profitant de l'inconscience et de l'amnésie qui en résultaient pour les détrousser [50]. Ce même scénario est mis en œuvre en Colombie depuis les années 1970 par des bandes de délinquants, ces derniers extrayaient les alcaloïdes du *Datura* et les administraient dans une boisson ou de la nourriture à des personnes dans le but de les dépouiller. La scopolamine contenue dans ce poison fait perdre la volonté et la mémoire des faits postérieurs à la prise (amnésie antérograde). La soumission de la victime permet aux délinquants de la dépouiller en toute tranquillité ; tandis que l'amnésie assure leur impunité. [49,50].

Le *D.stramonium* est très utilisé en pharmacologie humaine et vétérinaire [27] et même en protection des végétaux. Connu en Europe depuis très longtemps, le *D.stramonium* avec la Jusquiame a toujours été utilisé par les sorciers qui s'en servaient pour ces propriétés narcotiques. Sa réputation fût pendant longtemps des plus mauvaises, ce n'est que vers la moitié du 18^{ème} siècle que ses réelles propriétés thérapeutiques ont été reconnues et employées contre les convulsions, l'épilepsie, les troubles séniles, les douleurs rhumatismales, les névralgies, l'asthme et divers troubles du système nerveux..

En protection des végétaux, le *D.stramonium* fait partie des séries d'espèces végétales qui réagissent par des symptômes caractéristiques aux différents virus comme ceux qui causent la mosaïque [51].

Selon les informations recueillies au niveau des guérisseurs de Blida, le *D. stramonium* est utilisé en sorcellerie où les femmes l'emploient pour ensorceler leurs maris et même leurs belles-mères. Selon ces mêmes sources les graines du *D.stramonium* (Bourendjoug ou Djahanama) sont très utilisées pour rendre les femmes stériles et pour l'avortement ; Tout de même en Algérie son mode d'emploi reste très discret voir même secret à cause des graves conséquences qu'il peut engendrer.

10. Intoxication au *Datura stramonium*

Selon POLETTI [49], STRAY [26], le *Datura stramonium* est une plante toxique très dangereuse, son emploi devrait être réservé à des personnes très qualifiées sous contrôle médical. Ces auteurs signalent que la tolérance envers cette drogue est très individuelle, les symptômes d'empoisonnement peuvent apparaître même pour des doses minimales.

D'après VERDRAGER [52] et GAY *et al.*, [17], les signes cliniques de l'intoxication au *Datura* sont nombreux : Quelques minutes après la prise des graines du *Datura stramonium*, il apparaît une sécheresse de la bouche avec une sensation de cuisson au niveau de la langue, une élocution difficile, une sensation de soif, un trouble de la vision à type de photophobie et micropsie qui s'accompagne d'une dilatation pupillaire, un érythème cutané, une tachycardie parfois avec des palpitations, et une ascension thermique.

A un stade plus avancé, les symptômes sont d'ordre psychique tels que somnolence et confusion mentale ; les complications peuvent être encore plus graves et se manifestent par des réactions oedémateuses notamment de la glotte et de la luette et par des modifications hématologiques [17].

La durée des manifestations cliniques, d'après GAY *et al.*, [41], est généralement de l'ordre de 24 heures. Elle dépend de la nature des *Datura*, de la dose absorbée et de la sensibilité individuelle ; la dilatation pupillaire peut persister pendant plusieurs jours, elle constitue un élément diagnostique primordial.

II. LES ALCALOÏDES TROPANIQUES

1. Généralités

On désigne sous le nom d'alcaloïde des composés complexes, que l'on rencontre surtout chez les végétaux, ils sont doués de propriétés physiologiques et toxicologiques remarquables qu'ils communiquent aux plantes [53]. D'après ce même auteur, presque tous les alcaloïdes ont une action sur la lumière polarisée : ils se montrent ordinairement lévogyre, Ils présentent souvent des bandes d'absorption caractéristiques dans la région ultraviolette du spectre.

D'une manière générale, les alcaloïdes précipitent par le tanin, l'acide picrique, l'acide picrolonique, l'acide perchlorique, les acides phosphomolybdiques et phosphotungstique, l'iodure double de mercure et de potassium K_2HgI_4 , le chlorure mercurique, les chlorures d'or et de platine, la solution iodo-iodurée, l'iodure double de bismuth et de potassium, l'iodure double de potassium et de cadmium, l'acide silicotungstique, et les acides chloroplatinique $PtC_{16}H$ et chlororique $AuC_{14}H$ [53,54].

D'après RENAULT [55], les alcaloïdes montrent des colorations particulières en présence de divers réactifs : l'acide sulphovanadique colore en rouge l'atropine, en rouge sang la brucine, en orangé clair la pilocarpine, en orangé pâle la quinine, en vert la colchicine, en brun la morphine, en bleu violet la strychnine, en rouge brun la vératrine. Les réactions colorées fournissent des méthodes différentielles pour les distinguer les uns des autres, elles servent en outre, à établir leur localisation dans les tissus.

Le caractère basique des alcaloïdes permet de libérer en milieu acide des composés salins solubles dans l'eau et l'alcool ; ce qui nous permet de prévoir des méthodes d'extraction relativement simples, que les alcaloïdes se trouvent dans la plante sous forme de sels ou à l'état de bases libres. On extrait les sels d'alcaloïdes des plantes en poudre ou hachées par lixiviation aqueuse ou alcoolique. Pour extraire les bases libres insolubles on traite la plante par des acides (chlorhydrique, sulfurique, tartrique, oxalique etc.) afin de transformer ces bases insolubles en sels solubles. Les liqueurs d'extraction sont alors concentrées sous pression réduite, et on y déplace les alcaloïdes de leurs sels par NH_3 , puis

on les extrait à l'aide de solvants organiques appropriés. On purifie les alcaloïdes ainsi préparés par cristallisation fractionnée soit des bases libres, soit de leurs sels [54].

Selon POTIER [56] et POL [50], les alcaloïdes tropaniques < sont des métabolites secondaires. Ils n'exercent pas de fonctions vitales chez les organismes qui les produisent. En raison de leurs propriétés toxiques, ou médicamenteuses, ils ont toujours présenté pour l'industrie pharmaceutique un intérêt exceptionnel. Leur chimie est complexe et ils ne constituent pas une famille homogène. Par contre, ils appartiennent à diverses familles de molécules organiques caractérisées par des structures chimiques et des propriétés physiologiques très variées. Ils sont classés selon la composition de leur noyau fondamental en trois principaux groupes :

- Les alcaloïdes esters d'alcool : dérivés de tropane et d'acides aliphatiques ou aromatiques tel que l'atropine, l'hyoscyamine et la scopolamine.
- Les nicotines : dérivés de la pyridine et de la pipéridine tel que l'aconine et la nicotine.
- Les gluco-alcaloïdes stéroïdiques ou azastéroïdes : dans lesquels une genine azotée stéroïdique est unie à plusieurs oses

Les alcaloïdes renferment toujours en proportions variables, selon les molécules considérées, du carbone, de l'hydrogène, de l'azote et très souvent de l'oxygène ; exceptionnellement, ils peuvent contenir du soufre ou du chlore [57]. Ils possèdent tous une molécule d'azote (-N-) qui les rend physiologiquement très actifs [58, 56].

2. Les alcaloïdes et les plantes alcaloïfères

Dans la nature, beaucoup de plantes à alcaloïdes sont d'origine lointaine; leur recherche a contribué pour une grande part à l'éveil du goût des voyages, de l'esprit d'aventures et au développement du sens de la recherche. Des jardins d'essais et des stations de sélection se sont adonnés à l'amélioration des végétaux alcaloïfères [55].

Dans le règne végétal, on ne connaît pas d'alcaloïdes chez les algues et les mousses. Ils sont très peu répandus chez les gymnospermes (taxine du *Taxus baccata*, et l'éphédrine de *Ephedra vulgaris*) et chez les *Cryptogames* vasculaires (équisétine des *Equisetum*, bêtaïne des fougères), divers champignons en produisent également (Ergot, Amanite Tue

Mouches, Psilocybes). Ce sont les *Angiospermes* qui en sont le mieux pourvus en alcaloïdes [53, 58, 50].

Chez les Angiospermes, les alcaloïdes sont présents préférentiellement chez les plantes appartenant à certaines familles telle que les : *Renonculaceae*, les *Papaveraceae*, les *Fumariaceae*, les *Fabaceae*, les *Rubiaceae*, les *Palmaceae*, les *Colchicaceae*, les *Piperaceae*, les *Sterculiaceae*, les *Erythroxylaceae*, les *Zygophyllaceae*, les *Rutaceae*, les *Euphorbiaceae*, les *Punicacées*, les *Cactaceae*, les *Ombelliferae*, les *Loganiaceae*, les *Apocynaceae*, les *Asteraceae* et les *Solanaceae*. [53, 50].

Certains alcaloïdes tels que les tropaniques (atropine, hyoscyamine, scopolamine) ont été isolés à partir des plantes appartenant à la famille des *Solanaceae* dites mydriatiques, dont les genres *Datura*, *Atropa*, *Hyoscyamus* et *Duboisia* sont les plus importants [59, 50].

Dans la plante les alcaloïdes tropaniques sont des esters de l'acide tropique qui est un acide aromatique [60] et du tropanol ou du scopanol [61]. Ils prennent leur nom du noyau tropane. Ils se localisent dans la plante dans plusieurs organes à des concentrations variables. L'hyoscyamine et la scopolamine sont considérés comme les composants majeurs de ces alcaloïdes tropaniques. [62,63,64].

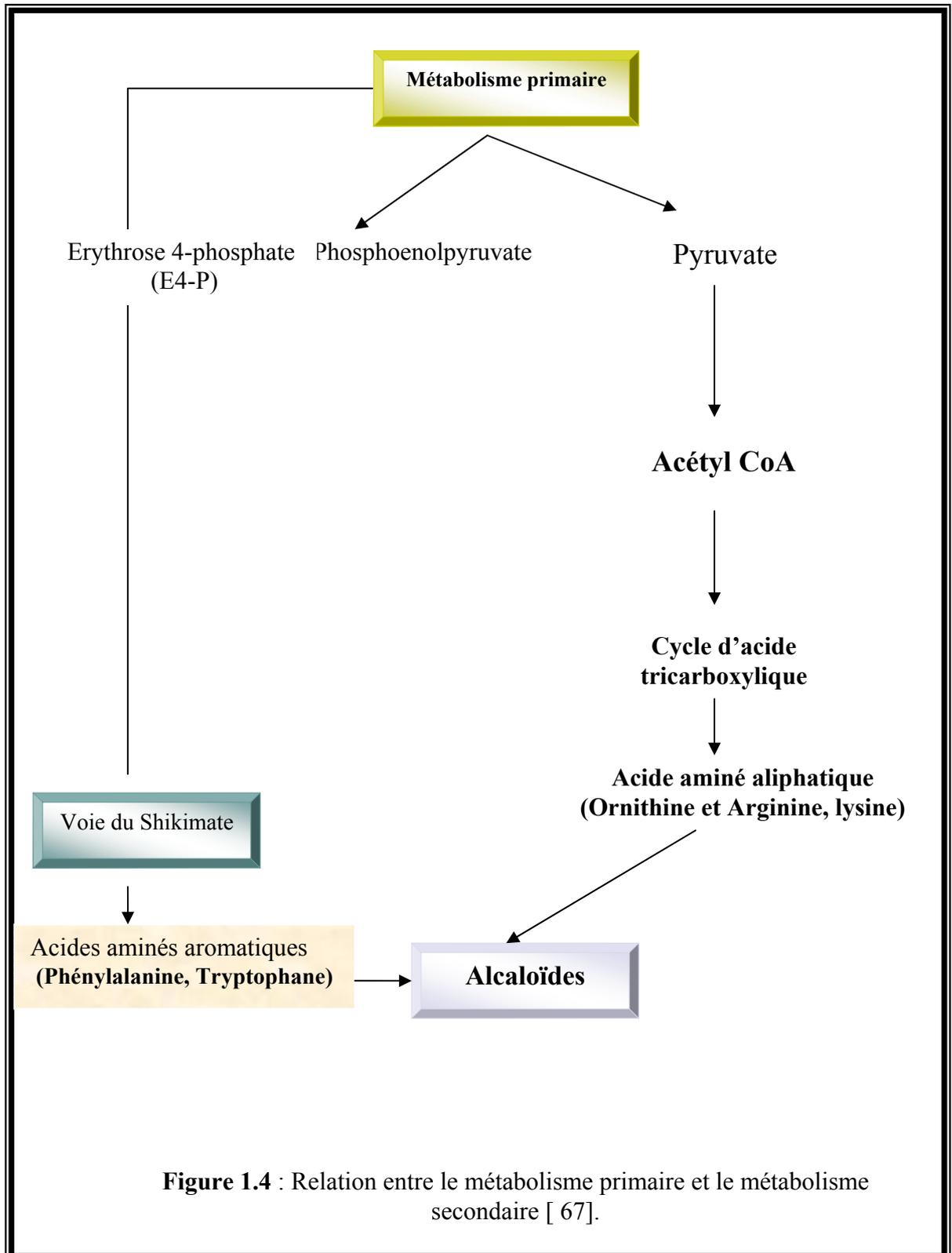
3. La biosynthèse des alcaloïdes majeurs (hyoscyamine et scopolamine)

D'après CASSAGNES [65] et GUIGNARD [18], l'emploi de radioéléments dans l'étude de la biosynthèse des alcaloïdes tropaniques a permis d'élucider les grandes étapes de la chaîne biochimique de la formation de l'hyoscyamine et de la scopolamine.

Les alcaloïdes sont des produits issus du métabolisme secondaire. Ils sont synthétisés à partir d'acides aminés notamment la phénylalanine, l'ornithine et l'arginine.

La formation de la phénylalanine se fait à partir du métabolisme des glucides par l'intermédiaire de l'acide shikinique : en utilisant les produits de la glycolyse et de la voie des pentoses, par la condensation du phosphoenolpyruvate (PEP) avec l'erythrose 4-phosphate qui aboutit après cyclisation à la formation de l'acide shikimique. La shikimate se condense avec de nouvelles molécules de PEP et permet la formation de l'acide préphénique qui, par décarboxylation et déshydratation, est à l'origine de l'acide phénylpyruvique. La transamination de l'acide phénylpyruvique conduit à la formation de

la phénylalanine, qui est l'un des acides aminés précurseurs de l'acide tropique. Ce dernier va estérifier la tropine pour donner l'hyoscyamine (Figure 1.4) [18, 66,67].



D'autre part, une deuxième étape fondamentale intervient dans la biosynthèse des alcaloïdes tropaniques et qui est à l'origine du noyau tropane. Ce dernier est synthétisé à partir de deux acides aminés aliphatiques : **l'ornithine** (qui a pour origine **la proline** et **l'acide glutamique**) et **l'arginine**, sont les précurseurs du **noyau hygrine**. Après une série de transformations initiée par *l'ornithine décarboxylase* (ODC) et *l'arginine décarboxylase* (ADC), ainsi que la *putrescine N-methyl-transferase* (PMT) et la *N-methylputrescine oxidase* (MPO) il y a formation de **l'hygrine** ensuite de **la tropinone**. Cette dernière sous l'action de la **tropinone réductase I** est réduite en *tropine* qui est par la suite estérifiée par **l'acide tropique** (dont l'origine est la phenylalaline) donnant ainsi l'hyoscyamine [68,69, 29].

La scopolamine est directement issue de l'hyoscyamine par hydroxylation suivi par une époxydation. Ce phénomène met en jeu deux enzymes : l'hyoscyamine 6- β -hydroxylase, localisée au niveau du péricycle des jeunes racines, et l'hyoscyamine 6- β -époxydase principalement localisée dans les feuilles [29] (Figure 2.5).

4. Structure chimique des alcaloïdes tropaniques majeurs

Les alcaloïdes tropaniques dont les plus importants l'hyoscyamine, la scopolamine et l'atropine sont présents dans diverses plantes de la famille des *Solanacées* vireuses telles que la *Belladone*, la *Jusquiame* et le *Datura*.

Dans la plante les alcaloïdes tropaniques sont des esters de l'acide tropique qui est un acide aromatique, et d'un alcool qui est le tropanol pour l'hyoscyamine, et le scopolol pour la scopolamine [60,61]

4.1. L'hyoscyamine :

L'hyoscyamine est un ester de l'acide tropique gauche et du tropanol. C'est l'isomère lévogyre de l'atropine qui est racémique (d, l-hyoscyamine). Ils ont pour formule brute $C_{17}H_{23}NO_3$. Leur formule de constitution met en évidence le noyau tropane [53]. La différence entre ces deux alcaloïdes tient du fait que dans l'atropine on a de l'acide tropique racémique ; alors que dans l'hyoscyamine on a de l'acide l-tropique [54]. D'après PARIS et MOYSE, (1969) [22], l'hyoscyamine est une substance lévogyre qui par action de la chaleur et de certaines conditions expérimentales s'isomérise facilement en atropine, cette dernière est dépourvue du pouvoir rotatoire (Figure 2.6).

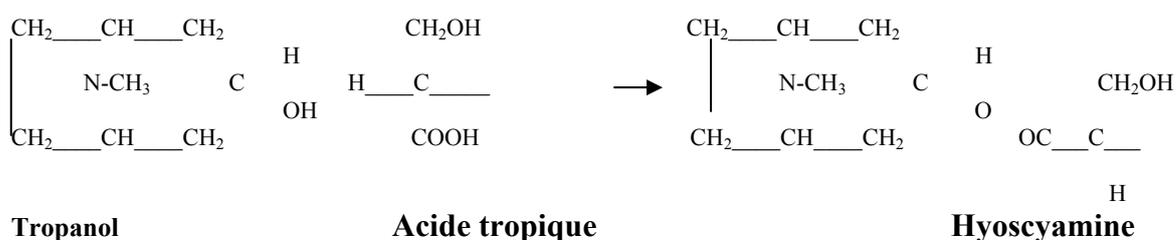


Figure 2.6: Structure chimique de l'Hyoscyamine [69]

4.2. La scopolamine :

La scopolamine dont la formule est $C_{17}H_{21}NO_4$ (Figure 2.7) a été isolée pour la première fois en 1892 par *Schmid* à partir des racines de *Scopolia artropoïde*. Elle se présente sous forme de cristaux incolores.

La scopolamine est dextrogyre, et l'hyoscine est lévogyre. Elle est particulièrement abondante dans les graines du *Datura*. (Figure 2.7) [60,61,63, 64].

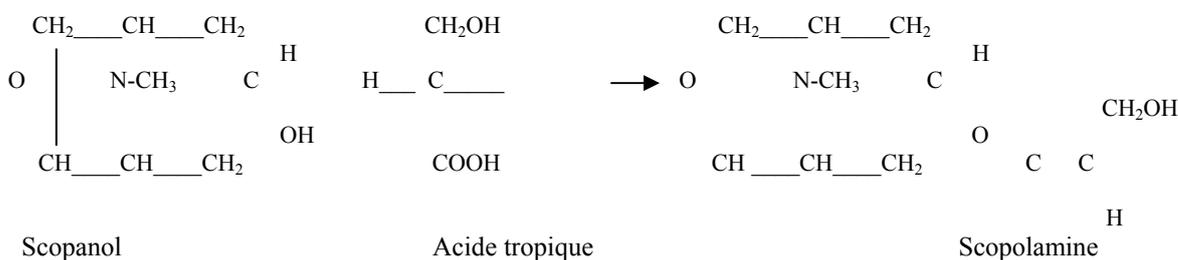


Figure 1.7 : Structure chimique de la Scopolamine [69]

La scopolamine est peu soluble dans l'eau et très soluble dans l'éther, l'alcool et le chloroforme [70,53,24,65].

4. Variation des alcaloïdes tropaniques dans les plantes

Dans la plante, le métabolisme des alcaloïdes tropaniques dont l'hyoscyamine et la scopolamine dépend étroitement des variations climatiques notamment la température et la lumière [32,25], du stade de développement atteint par la plante [71], du pH du sol ainsi que de la composition du milieu de culture en hormones et en éléments minéraux. Ils se localisent dans la plante dans plusieurs organes à des concentrations variables.

5.1. Variations climatiques : Lumière et températures

D'après Cosson *et al.*, [72], Cosson [32] et Cosson [33], le climat a une grande influence sur l'accumulation des alcaloïdes majeurs (l'hyoscyamine et la scopolamine) au niveau des feuilles de *Datura metel*. En effet, un éclaircissement long et intense favorise l'accumulation de la scopolamine au moment de la floraison. Par ailleurs l'hyoscyamine serait moins sensible aux variations de la lumière.

Selon COSSON et KUNTSMANN-COUGOUL [73], les plantes de *Datura tatula* cultivées en phytotron et soumis à une photopériode de 9 à 16 heures, et à une intensité lumineuse de 14000 et 18000 Lux, présenteraient des teneurs en alcaloïdes majeurs (l'hyoscyamine et la scopolamine) de 83 mg/100 g d'organes jeunes à 9 heures d'éclaircissement, et de 142 mg/ 100 g d'organes jeunes pour les 16 heures d'éclaircissement. Il a

été également remarqué, par ces mêmes auteurs, que dans ces mêmes conditions d'expérimentation, il existerait une variation de la scopolamine au dépend de l'hyoscyamine avec des teneurs de 144 mg à 9 heures d'éclairement et 28 mg à 16 heures d'éclairement pour 100 g d'organes jeunes.

Les travaux de BENHIZIA [45] et HOUMANI *et al.*[25] sur *D. stramonium* montrent que la période de récolte des plants a une grande influence sur le rendement alcaloïdique. Ainsi, la récolte des plants de *D. stramonium* au mois de Juin et de Juillet serait moins bénéfique que celle du mois d'Août qui est le mois le plus chaud en Algérie.

Dans la culture de plants de *D. stramonium* exposés à l'ombre ; BENVENUTI *et al.* in HOUMANI [8] auraient obtenus une diminution du nombre de fruits qui impliquerait une plus faible production de graines et donc une moindre production alcaloïdique par rapport aux plants exposés au soleil.

5.2. Variations au cours du développements des plantes et mode de culture

Certains auteurs dont, BRACHET et COSSON [74]; HOUMANI *et al.*, [25]; HOUMANI [8] ont étudié la variation de l'hyoscyamine et de la scopolamine au cours du développement des *Datura*. Au début du stade de développement du *D. stramonium* la scopolamine est l'alcaloïde dominant et au fur et a mesure du développement des plants, le rapport hyoscyamine/scopolamine augmente. Ceci correspond à la diminution de la teneur en scopolamine en faveur de l'hyoscyamine. [75, 76, 25].

D'après VERDRAGER [52]; et DESAILLY *et al.*,[31] tous les organes de *Datura* renferment des alcaloïdes à des taux variables. Selon DESAÏLLY *et al.*,[31]; BENHIZIA [45], HOUMANI *et al.*,[25], la concentration des alcaloïdes augmente de la base (0.50 mg/MS) vers l'apex (1.24 mg/MS), et que les feuilles sommitales sont plus riches en alcaloïdes (0.3 à 0.5% /MS) par rapport au feuilles basales qui sont plus âgées (0.06 à 0.1%/MS). Finalement c'est au stade floraison (au moins trois fleurs) ou au stade adulte (au moins trois fruits mûrs) que l'hyoscyamine devient l'alcaloïde prédominant par rapport a la scopolamine.

HOUMANI *et al.*,[25] rapportent que la teneur en scopolamine dans les fruits verts et les graines d'une population sauvage de *D. stramonium* est élevée par rapport au autres organes avec 0.41 mg/g MS pour les fruits verts et 0.49 mg/ g MS pour les graines.

Des études montrent que la teneur en alcaloïdes majeurs (hyoscyamine et scopolamine) varie en fonction de l'âge de la plante, ainsi MIRALDI *et al.*, [77] rapportent que les racines des jeunes plants de *D. stramonium* renferment 0.014 mg/g MS de scopolamine et 0.121 mg/g MS d'atropine, ces teneurs sont réduites à l'état de traces dans les plantes adultes. D'après ce même auteur les tiges minces et tendres des jeunes plantules de *D. stramonium* renferment des quantités plus élevées en atropine que celles des plantes adultes à des concentrations respectives de 0.915µg/mg MS et 0.001 µg/ mg MS.

La teneur en alcaloïdes majeurs (hyoscyamine et scopolamine) est également influencée par les activités physiologiques de la plante ; ainsi dans divers organes de reproduction la quantité d'alcaloïdes diminue rapidement après la fécondation, ceci est confirmé par MIRALDI *et al.*,[77] où ils démontrent dans leurs travaux que les boutons floraux de *D. stramonium* renferment 0.106 µg/mg MS de scopolamine ; cette teneur diminue graduellement au cours de la maturation des fleurs pour atteindre la valeur de 0.066µg/mg MS.

D'après LAKHDAR EZZINE [78], la teneur en alcaloïdes tropaniques chez *D. ferox* varie selon le mode de culture et le stade de développement. Ainsi, chez les plantes sauvages l'auteur a enregistré une teneur en alcaloïdes tropaniques totaux des parties aériennes qui varient de 0,15g/100g de MS au stade plantules à 0,52 g/100g de MS au stade plein fructification (plus de 3 fruits mûres), alors que chez les plants transplantés et cultivés en plein champ, cette teneur varie de 0,55 g/100g de MS au stade 1^{er} bouton floral à 0,62 g/100g de MS au stade plein maturité. De ce fait, les moyennes des teneurs en alcaloïdes totaux chez les plants transplantés sont supérieures aux moyennes des plants sauvages. Chez le *D. innoxia* transplanté la teneur en alcaloïdes tropaniques totaux varie de 0,79 % MS au stade 1^{er} bouton floral à 0,58% MS au stade plein maturité avec un plus haut rendement en alcaloïdes totaux au stade début floraison [78].

5.3. Le pH du sol :

Le pH du sol a une grande influence sur la production des alcaloïdes majeurs (hyoscyamine et scopolamine). D'après les travaux de DEMEYER et DEJAEGERE [38] sur les plants de *D. stramonium* cultivés sur vermiculite et irrigué avec des solutions à pH 5, 6 et 8,2 montrent qu'à un pH acide (pH5) l'accumulation des alcaloïdes majeurs diminue significativement par rapport au pH neutre (6) et basique (8,2).

D'après les travaux de HOUMANI [8] et HOUMANI *et al.*, [79] les plants de *Datura stramonium* poussant sur les sols plus ou moins basiques sont plus producteurs en alcaloïdes majeurs avec une dominance de l'hyoscyamine par rapport aux plants poussant sur les sols neutres.

5.4. Variations selon la composition du milieu de culture

5.4.1 Les hormones

La production des alcaloïdes est également influencée par des phytohormones. Ceci a fait l'objet de plusieurs études, selon VAN DE VELDE [76] l'apport de deux phytohormones : l'auxine IAA (Indole-acetic acid) et la cytokinine DMAA (Dimethylaminopurin) accélérerait le développement du *D. stramonium* et augmenterait la production des alcaloïdes majeurs dont l'hyoscyamine et la scopolamine. D'après ce même auteur, l'auxine IAA affecterait le cycle du glyoxylate qui augmenterait la teneur en acide glutamique et de l'ornithine et par conséquent le cycle de la biosynthèse des alcaloïdes tropaniques. Un apport combiné de ces deux phytohormones donnerait un important rendement alcaloïdique.

Selon SCINCHETTI, in GAY *et al.*, [17] un apport en acide gibbérellique permet un accroissement important de la taille des plantes, mais il entraîne une baisse de la teneur des alcaloïdes majeurs notamment en hyoscyamine et en scopolamine.

5.4.2 La nutrition minérale

D'après les études de LARDINOIS *et al.*, [75] un apport de plusieurs doses de fertilisants à dominance azotée, phosphatée et potassique augmenterait la phytomasse des plants, mais aucun de ces engrais ne favorise la production en alcaloïdes, notamment celle de l'hyoscyamine et de la scopolamine. Par contre, les travaux de DEMEYER et DEJAEGERE [80], montrent que l'apport de solutions azotées (14,7 mg/plant) au *D. stramonium* cultivé en hors sol durant 7 mois augmenterait la teneur en alcaloïdes majeurs dont l'hyoscyamine et la scopolamine par rapport aux plants traités avec des solutions potassiques ou sulfatées (à des concentrations de 3.64 mg/plant). Alors que les résultats de DEMEYER et DEJAEGERE [81] rapportent qu'un excès d'azote dans une fertilisation azotée chez *D. stramonium* cultivé en hors sol produit une diminution de la production alcaloïdique.

La composition du sol en CaCO₃ aurait un effet sur la teneur en alcaloïdes majeurs. HOUMANI [79] a observé dans ces travaux que les plants du *D. stramonium* poussant sur des sols calcaires de 42% de CaCO₃ sont plus riches en alcaloïdes totaux à raison de (4.3 mg/g MS) par rapport aux plants poussant sur des sols contenant 7% de CaCO₃ et qui donnent une teneur de 0,9 mg/g MS.

D'après AMDOUN [81] un apport de plusieurs doses de calcium à la culture de *D. stramonium* n'aurait pas d'effet significatif sur la production de la phytomasse, par contre les plants récoltés à 15 jours et 30 jours après l'apport de 5% de CaCO₃ présenterait des teneurs en alcaloïdes totaux de 12.6 mg/ plants soit deux fois supérieur que le témoins dont l'apport calcique était de 0.8% avec une teneurs en alcaloïdes totaux de 8.53 mg/ plant, alors que ceux traités avec 10% de CaCO₃ présenterait des teneurs trois fois plus élevées que celle du témoins.

5.5 Les variations génétiques

Dans la nature, chaque espèce alcaloïfère possède son propre potentiel génétique qui se manifeste dans un environnement donné par une capacité physiologique à la biosynthèse des alcaloïdes tropaniques. Ainsi, l'étude histologique de GAD *et al.*, [82] sur des tiges de trois espèces de *Hyoscyamus* de l'Egypte démontre que l'espèce la plus riche en alcaloïdes serait l'*Hyoscyamus muticus*: c'est une espèce des zones désertiques dont les cellules sont plus grandes et permettent de résister au manque d'eau en l'emmagasinant.

D'après MECHLER et COHLENBACH, [19] les analyses des plants haploïdes et diploïdes de *D. innoxia* Mill, *D. meteloïdes* Dun et *D. wrightii* Regel montrent que plus le degrés de ploïdie augmente, et plus la teneur en alcaloïdes tropaniques augmente ; ainsi les plants tétraploïdes de *D. innoxia*, *D. meteloïdes* et *D. wrightii* semble avoir un contenu alcaloïdique plus élevé que les plants diploïdes et haploïdes avec une dominance en scopolamine. Dans les travaux de HEROUART *et al.*, [84] sur la multiplication *In Vitro* de *D. innoxia* par androgenèse, les plants diploïdes issus de ces cultures présentent une haute teneur en alcaloïdes tropaniques et particulièrement en scopolamine au niveau des feuilles. Selon HEROUART *et al.*, [85], les cultures de cellules issues de lignées présentant des teneurs élevées en alcaloïdes tropaniques pourraient augmenter la production alcaloïdique.

6. Action physiologique de l'hyoscyamine et de la scopolamine

6.1 La scopolamine

La scopolamine potentialise l'action des anesthésiques et de la morphine. Elle est utilisée en association avec la morphine et la spartéine pour la préparation à l'anesthésie générale des grandes interventions chirurgicales. Elle est également utilisée en injection intramusculaire ou intraveineuse pour calmer les douleurs de l'entorse qu'elle soulage souvent d'une façon spectaculaire [52].

Selon GAY *et al.*, [17], la scopolamine est susceptible de provoquer des troubles de la locomotion par inhibition des centres de coordination et diminution de l'excitabilité et des extenseurs et des fléchisseurs des membres. La scopolamine est un parasympatholytique, elle provoque en outre d'intenses hallucinations délirantes, de l'amnésie et des pertes de conscience. Elle est active à des doses de l'ordre du dixième de milligramme, on observe souvent des séquelles psychiatriques plusieurs mois après l'intoxication. et à fortes doses, l'intoxication peut être mortelle [85]. Elle a été testée comme « sérum de vérité » pendant la seconde guerre mondiale et est utilisée, notamment par des bandes d'escrocs en Colombie, pour dépouiller des victimes qui, sous son effet, perdent leur volonté et se laissent faire oubliant ensuite ce qui s'est passé [87,88].

6.2. L'hyoscyamine

L'hyoscyamine possède la même action et la même toxicité que l'atropine, mais elle est deux fois plus active [12]. D'après GAY *et al.*, [17], l'action de l'hyoscyamine est plus nette que celle de l'atropine sur le système nerveux central. Elle possède un effet paralysant sur la fibre musculaire lisse. A des doses toxiques, elle peut engendrer un état d'excitation avec des manifestations convulsives jusqu'à l'arrêt respiratoire par paralysie des muscles. Elle a des effets parasympatholytiques (c'est à dire qui s'opposent à l'action du système nerveux parasympathique) se traduisant par une tachycardie, une mydriase, une diminution des sécrétions (salive, sueur) et un ralentissement du transit intestinal. Elle agit en se liant aux récepteurs muscariniques de l'acétylcholine dans le système nerveux central et périphérique empêchant ainsi l'action du neurotransmetteur.

Au niveau oculaire, elle induit une mydriase passive avec photophobie et augmentation de la tension oculaire par abstraction du canal de Schlem [87,88].

III. LE STRESS HYDRIQUE

Outre que les caractères génétiques, pour qu'une plante accomplisse sa croissance et donne un bon rendement, elle doit pousser dans des conditions d'environnement favorables (températures, pluviométrie, gel, froid, salinité, eau, etc.). Lorsque un ou plusieurs de ces facteurs s'écartent suffisamment de l'optimum, de façon que la croissance et le rendement sont réduits, la plante est considérée comme « stressée » [9].

La sécheresse cause beaucoup de dommage au niveau de la production agricole, d'après HENNIN [89], il y a sécheresse lorsque le déficit en eau entraîne une baisse de rendement. Alors que pour DE RAISSAC [9], il y a sécheresse chaque fois que le déficit en eau provoque des réactions de défonce de la plante se traduisant par des modifications de l'état des feuillages qui caractérise le flétrissement.

1- Adaptation des plantes à la sécheresse

D'après DE RAISSAC [9], et BELHASSEN *et al.*, [90], les stress hydriques doivent être décomposés en deux contraintes opposées : le déficit hydrique (sécheresse) et l'excès d'eau qui entraîne une asphyxie.

Dans les zones soumises à la sécheresse, le déficit hydrique du sol peut atteindre des niveaux très variables selon le type de précipitations, la texture et la structure du sol. Dans le cas d'un déficit hydrique où il y a sécheresse, l'eau devient un facteur limitant de la croissance et du rendement [9,91]. La sécheresse devient ainsi un phénomène d'occurrence très général, relatif à une culture donnée. Elle peut être définie, concrètement en considérant la disponibilité et les besoins en eau de la culture et être quantifiée à partir des différents termes du bilan hydrique : pluviométrie, évaporation potentielle (ETP), évaporation potentielle maximale (ETM), évaporation potentielle réelle (ETR), réserve utile racinaires (RUR) déterminée par la capacité de rétention en eau du sol, de la profondeur d'enracinement et des coefficients culturaux (Ke) [91,92,93 et 94]. La conjonction de plusieurs de ces indicateurs permet de décrire d'une manière quantitative le degré et le type de sécheresse s'appliquant sur l'ensemble du cycle de la plante: Contrainte hydrique modérée ou sévère, uniforme ou circonstancielle. Cependant, ce qui détermine

l'adaptation de la plante à la sécheresse, c'est sa survie jusqu'à la production des graines qui assureront la continuité de l'espèce.

En conditions méditerranéennes, la sélection des variétés précoces a été jusqu'ici le moyen le plus utilisé pour lutter contre les effets de la sécheresse de fin de cycle, chaque jour de précocité supplémentaire conduit à une augmentation de rendement. Cette stratégie a toutefois ses limites. Car, pour exprimer son caractère précoce, le génotype doit manifester une vitesse de croissance printanière élevée, être capable de croître à basse température et être insensible à la photopériode. D'autre part, la réduction de la longueur du cycle qui s'accompagne souvent d'une augmentation de la précocité de floraison, qui conduit à son tour à une sensibilité accrue aux gels tardifs (fréquent en zone méditerranéenne d'altitude) et à une réduction du potentiel de production consécutive à la diminution de la matière sèche de la floraison [95,96,97]. Face à cette multiplicité des caractères d'adaptation, MONNEVEUX [96] et BELHASSEN *et al.*, [90] dressent un tableau mettant en évidence tous les paramètres phénologiques et morpho-physiologiques d'adaptation au déficit hydrique des céréales et graminées en général.

Tableau 1.1 : les paramètres phénologiques et morpho-physiologiques d'adaptation au déficit hydrique [96,90].

PARAMETRES D'ADAPTATION	EXEMPLES
Paramètres Phénologiques	➤ Précocité
Paramètres Macromorphologiques	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Extension du système racinaire ➤ Port et surface des feuilles ➤ Taille des chaumes (Céréales) ➤ Longueurs des barbes (Graminées)
Paramètres Morphologiques	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Enroulement des feuilles ➤ Glaucescence et couleur des feuilles ➤ Présence des cires. ➤ Densité et tailles des stomates.
Paramètres Micromorphologiques	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Compaction des mésophylle ➤ Epaisseur de la cuticule. ➤ Nombre et diamètre des vaisseaux du xylème racinaire.
Paramètres Physiologiques	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Effet stomatique et non stomatique du déficit hydrique sur la photosynthèse. ➤ Réduction de la transpiration par fermeture des stomates. ➤ Maintien d'un potentiel hydrique élevé. ➤ Osmorégulation (accumulation de proline, d'ions, et de sucres solubles)

2. Mécanismes d'adaptation à la sécheresse

Différentes stratégies de tolérance à la sécheresse ont été identifiées dont la plupart tendent à éviter les déficits hydriques ou à les tolérer [97], celles ci se présentent sous deux phénomènes : Le phénomène d'échappement et le phénomène de résistance.

2.1 Phénomène d'échappement ou phénomène d'esquive

Ce phénomène permet à la plante de ne pas subir directement les contraintes hydriques en effectuant son cycle en dehors des périodes sèches. C'est le cas des plantes à cycle court qui arrivent à compléter leurs cycles avant l'arrivée de la période de sécheresse (tel que les espèces éphémères du désert). Ces plantes gardent leur potentiel biologique

sous forme de graines, de bulbes ou rhizomes et peuvent rester plusieurs années sans germer tant que les conditions de sécheresse persistent [98,9,90].

2.2 Phénomène de résistance

Le phénomène de résistance peut se présenter sous deux aspects [99] : - l'évitement
- la tolérance

2.2.1 L'évitement

L'évitement consiste pour la plante, à maintenir un état hydrique interne satisfaisant en présence d'une contrainte hydrique externe. Les plantes évitent le dessèchement en améliorant l'absorption de l'eau en l'emmagasinant dans leurs tissus, ou en réduisant les pertes. Parmi ces mécanismes d'évitement on peut citer la favorisation de la croissance racinaire, l'augmentation du support partie aérienne partie racinaire, le contrôle stomatal qui détermine l'efficacité de l'utilisation de l'eau [9], la réduction de la surface transpirante, la diminution du nombre de stomates et la formation d'une cuticule épaisse [99,100].

2.2.2 La tolérance à la sécheresse

Elle consiste en un ensemble d'aptitudes à résister aux effets d'un faible potentiel hydrique (résistance mécanique, résistance aux dégradations membranaires), autrement dit par un maintien de turgescence grâce à l'ajustement osmotique et à la tolérance à la dessiccation [98,9,90].

L'ajustement osmotique permet le maintien de nombreuses fonctions physiologiques. La capacité de cet ajustement osmotique est liée à la capacité d'accumuler certains solutés dont les ions potassium, les sucres, la proline et la glycine-betaine sont connus depuis longtemps comme étant des composants importants [100]. Quant à la tolérance à la dessiccation, elle dépend de la capacité des membranes cytoplasmiques à retenir les électrolytes, donc à préserver l'intégrité protoplasmique en cas de dessiccation [99].

Selon plusieurs auteurs dont LARCHER, [101] dans le cas de stress, notamment un stress hydrique, l'organisme de la plante passe par une succession de phases qui se prononcent selon l'intensité et la durée du stress :

Phase d'alarme : Cette phase débute par une déstabilisation d'un certain nombre de structures (membrane cellulaire), et de fonctions notamment les réactions biochimiques et le métabolisme énergétique [101]

Si les facteurs de stress disparaissent à ce niveau, nous aurons des réactions de restitutions. Dans ce cas, il y aura une synthèse de molécules de protection qui vont permettre la réparation et la restauration et de ce fait le retour à l'état initiale [101]. Par contre, si les facteurs de stress persistent et s'intensifient la plante entre dans une phase de résistance ou d'épuisement.

Phase de résistance : La plante résiste au maximum et essaie de s'acclimater en effectuant des modifications physiologiques qui vont permettre à la plante d'endurer le stress, de survivre et de continuer à se reproduire [101]. A ce niveau, si les facteurs du stress s'intensifient et persistent, la plante arrive à une phase d'épuisement.

Phase d'épuisement : Les dommages causés par le stress sont irréversibles. Dans ce cas les fonctions de la plante sont sérieusement endommagées et sa mort est inévitable [101].

Ces trois phases sont interconnectées entre elles, leurs successions dépend de l'intensité et de la durée de stress.

3. Effet du stress hydrique sur la plante

3.1 Effet du stress hydrique sur la croissance de la plante

D'après LEDOIGT et COUDRET, [99] l'exposition de la plante à un stress hydrique inhibe la croissance des extrémités apicales, des tiges et des feuilles. Le déficit hydrique entraîne souvent une baisse de turgescence cellulaire qui limite la croissance des tissus et par conséquent peut réduire la vigueur de la plante à travers la réduction de la surface foliaire et le diamètre des rameaux [95]

L'inhibition de croissance observée lors d'une déficience en eau est caractérisée par une modification de l'expression des gènes ; ce changement met en évidence une modulation réversible du taux de croissance. Une expérimentation sur le transfert de pousses de soja d'un milieu normal vers un milieu à faible potentiel hydrique constitué de vermiculite à 0.3 Mpa a entraîné l'inhibition de l'élongation de la tige hypocotylédonaire sans altération du taux d'élongation cellulaire. Une partie de cette inhibition de croissance

serait due à la perte transitoire de la turgescence et du gradient de potentiel hydrique. En outre, le taux de l'acide abscissique "ABA" est multiplié par dix (10) dans la zone hypocotylédonaire d'élongation cellulaire par rapport au taux initial et ceci peu de temps après le transfert de la plante sur un milieu à faible potentiel hydrique. Ainsi, l'acide abscissique (ABA) peut contribuer à l'inhibition de croissance dans le cas d'une déficience en eau, son rôle biologique serait presque celui d'une hormone de détresse, elle amènerait la plante à prendre des dispositions de défense à l'égard des agressions tel que la sécheresse, en fermant les stomates et en inhibant la pompe à protons responsable de leur ouverture [99, 102].

L'ABA d'origine foliaire, initie une augmentation en Ca^{2+} libre cytosolique par l'entrée du Ca^{2+} à travers la membrane plasmique par les canaux à Ca^{2+} qui provoque l'inhibition du flux entrant du K^+ et stimule son flux sortant [103]. En plus l'ABA cause une alcalisation du cytosol en agissant sur la sortie des protons H^+ vers l'extérieur à travers la pompe H^+ -ATPase, ce qui active les canaux d'efflux de K^+ [104]. Cette sortie des protons H^+ stimule les canaux anioniques qui provoquent la dépolarisation de la membrane intérieure positive, ce qui réduit encore plus les entrées du K^+ , de ce fait la turgescence des cellules stomatiques diminue et entraîne la fermeture des stomates [105]

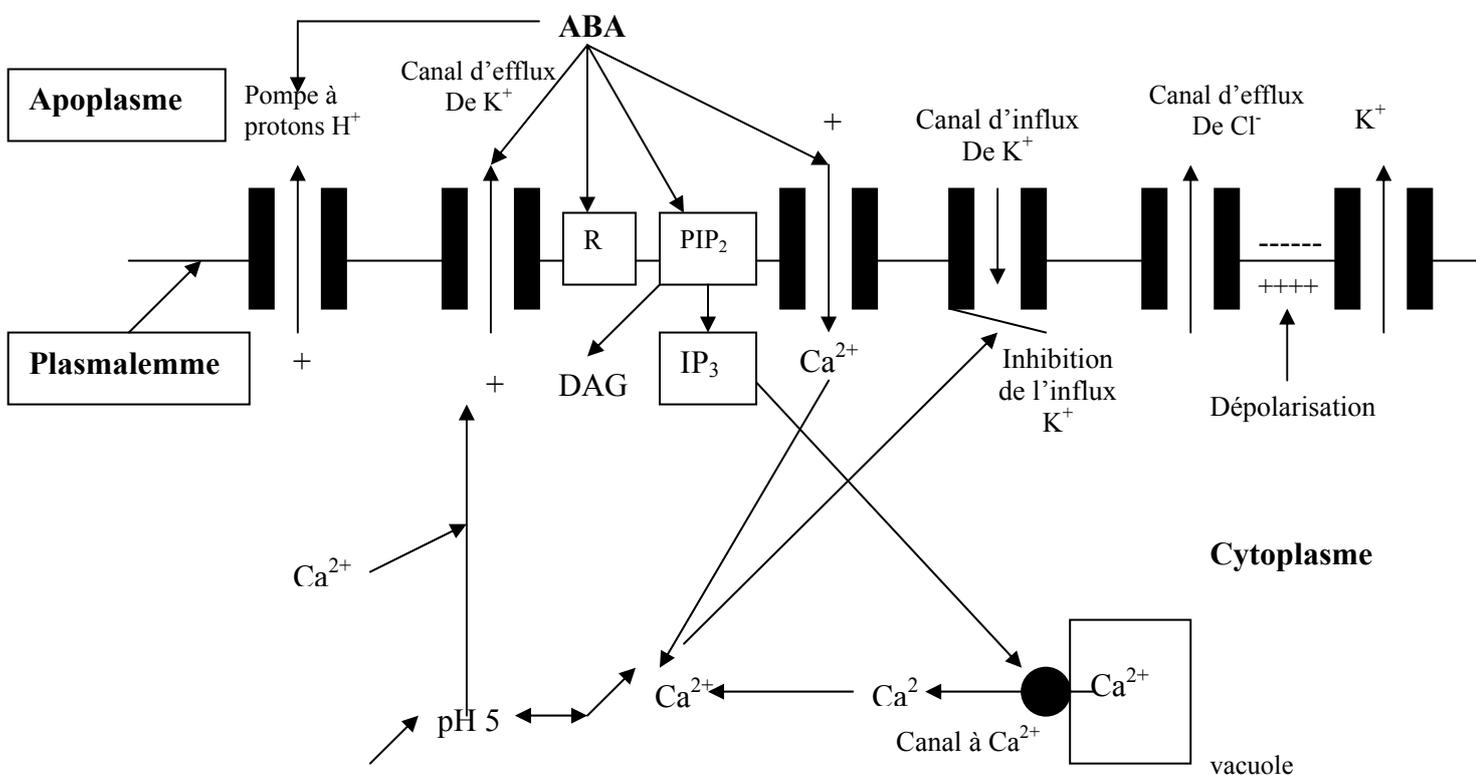


Figure 1.8 : Mécanisme d'action de l'acide abscissique (ABA) sur la fermeture des stomates au niveau de la cellule de garde [106]

3-2-Effet du stress hydrique sur la photosynthèse

La photosynthèse, facteur primaire de la production totale et la biosynthèse de macromolécules organiques, consiste à fixer l'énergie solaire et à l'utiliser pour conduire la synthèse de glucides à partir de monoxyde de carbone et d'eau. Elle serait très affectée par un stress hydrique ; La réduction de la photosynthèse comme celle de la transpiration, liée à la diminution du potentiel hydrique foliaire, est attribuée initialement à une fermeture des stomates avec pour conséquence une augmentation de la résistance à la diffusion du CO₂ [106,107]. Cependant la pénétration du CO₂ peut être limitée par un accroissement de la résistance intracellulaire sans que les causes soient actuellement parfaitement élucidées [108,109]. De même la réaction dans les chloroplastes (activité du photosystème II et donc du photosystème I, ainsi que le transport des électrons) peut être affectée chez certaines espèces même pour des stress hydriques modérés car, le centre réactionnel **P680** du photosystème II extrait un électron de la molécule d'eau pour retourner à son état stable [110].

Chez le maïs par exemple, les membranes chloroplastiques sont affectées de façon irréversible par un déficit hydrique foliaire induisant des effets négatifs sur le cycle de « CALVIN » [111,112,113].

3-3-Effet du stress hydrique sur le métabolisme glucidique

Le stress hydrique a une grande influence sur le métabolisme glucidique, il conduit à des modifications de la production de la proportion des monosaccharides et des polysaccharides. D'après KELLER et LUDLOW [114] au cours du déficit hydrique, l'amidon et le saccharose diminuent et disparaissent presque complètement ; alors que le glucose et le fructose augmentent. Cette diminution de l'amidon serait due à une photosynthèse inadéquate durant la période d'accumulation intense de réserves ou à une défaillance enzymatique (augmentation des activités enzymatiques de l'hydrolyse de l'amidon « amylase » et du saccharose [115,116].

3-4- Effet du stress hydrique sur l'accumulation de la proline

Chez les plantes supérieures, les acides aminés sont le point de départ de nombreux métabolites secondaires. Ils sont à l'origine de la biosynthèse des alcaloïdes, des hétérosides, des cyanogénétiques et des glucosinolates. Un stress hydrique conduit à l'accumulation des solutés organiques, tel que les glucides solubles et des polyols ou encore certains acides aminés et leurs dérivés bétaïniques. Parmi ces acides aminés, la proline se trouve habituellement en faible quantité dans les tissus des plantes cultivées sur des milieux peu ou pas contraignant sur le plan hydrique. Elle serait accumulée de façon spectaculaire en réponse à un stress hydrique. Son accumulation résulterait de la synthèse du précurseur principal de la proline qui serait le glutamate qui dérive des voies primaires d'assimilation de l'ammoniac ou du catabolisme des protéines et qui témoignerait de la perte des modalités normales de régulation du métabolisme de cet acide aminé et constituerait, de ce fait, un symptôme révélateur des dommages causés au niveau du métabolisme azoté [68,118]

Selon ces auteurs une accumulation de la proline s'observe chez les plantes soumises à un stress hydrique ; tandis qu'une concentration élevée en proline en glycine et en bétaine caractérise les *Halophytes*. Dans les deux cas, c'est pour la plante le moyen de maintenir une pression osmotique supérieure à celle du sol, sans faire appel à une trop grande quantité d'ions minéraux lesquels se révéleraient toxiques.

Certains acides aminés sont le point de départ de la synthèse des alcaloïdes qui se fait donc à partir de corps dans lesquels le groupe azoté a été préalablement incorporé. D'après GUIGNARD *et al.* [68], l'ornithine et la proline dérivent pour leur part de l'acide glutamique.

Dans la biosynthèse de la proline, le principal précurseur est l'acide glutamique. D'après HERMANDEZ *et al.*, [117] la forme cytosolique (GS1) de la glutamine synthétase est impliquée dans le recyclage de l'ammonium libéré lors des désamination faisant suite à la protéolyse induite sous condition de stress. La glutamine néoformée serait alors à l'origine du glutamate nécessaire à la synthèse de la proline via l'activité du glutamate synthase. Or la GS1 est connue pour être localisée au niveau des cellules compagnes du phloème chez des *Solanacées* tel que le tabac et la pomme de terre. Chez cette dernière

espèce, le stress hydrique est connu pour entraîner la surexpression du gène codant cette enzyme. Selon cette hypothèse, la faible amplitude de la réponse proliférique des disques foliaires isolés pourrait être attribuée à la disponibilité limitée en glutamate ou en ses précurseurs [117].

La proline est synthétisée dans le cytoplasme principalement à partir du glutamate à travers deux intermédiaires : l'acide glutamique γ - semi aldéhyde (GSA) et Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate (P5C) suite à deux réductions successives, qui sont catalysées dans la première étape par l'enzyme P5CS (Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthétase) et l'enzyme P5CR (Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate réductase) dans l'étape finale [118]. Il est signalé par ce même auteur que l'enzyme P5CS est fortement régulée par rétro inhibition, de ce fait la biosynthèse de la proline ne peut résulter que du relâchement de l'inhibition exercée par feedback.

D'autre part, la production de la proline peut se faire également à partir de l'ornithine qui dérive du N-Acetyl-glutamate, dans ce cas, la conversion de la proline suit deux parcours de transamination dont le premier aboutit à l'acide γ - semi aldéhyde pour suivre la voie du glutamate ; alors que le second parcours donne l'acide Keto amino valérique qui subit une cyclisation et une réduction donnant à la fin de la proline [118].

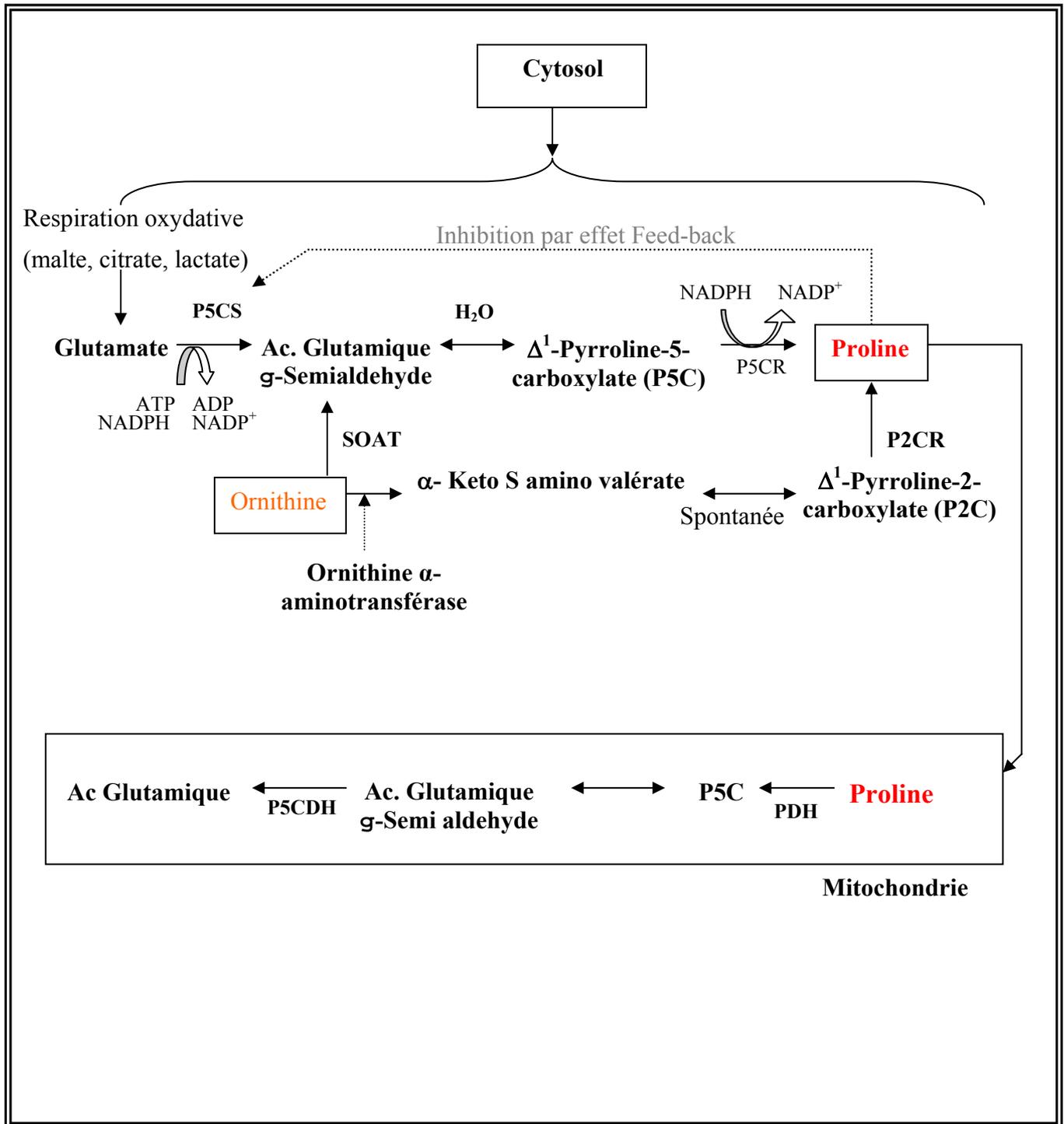


Figure 1.9 : Voies de biosynthèse et de dégradation de la proline chez les plantes [119, 120]

D'après les travaux de ROOSENS *et al.*, [121] sur des plants d'*Arabidopsis thaliana*, les deux voies glutamate et ornithine entraînent une très grande accumulation de la proline chez les jeunes plantules ; alors que, dans les plantules adultes l'augmentation de la teneur en proline est particulièrement due à l'activité enzymatique de la voie glutamate, car la voie de l'ornithine est réprimée.

Quant à la dégradation de la proline, elle se fait par l'action de séquences enzymatiques de la proline dehydrogénase oxydase (PDH) qui permet l'oxydation de la proline en Δ^1 - pyrroline-5- carboxylate (P5C) dans la mitochondrie et la Δ^1 - pyrroline-5- carboxylate dehydrogénase (P5CDH) qui convertit le Δ^1 - pyrroline-5- carboxylate (P5C) en glutamate. Ces mécanismes qui permettent de contrôler le niveau de la proline durant la déhydratation serait sous contrôle des gènes de l'enzyme de biosynthèse (Δ^1 - pyrroline-5- carboxylate synthétase) et les gènes de l'enzyme de dégradation (proline dehydrogénase) [122].

CHAPITRE 2

MATERIEL ET METHODES

1. Présentation de la parcelle expérimentale

La culture est effectuée par transplantation de plantules récoltées à l'état sauvage. Elle est réalisée, au niveau de la station expérimentale de l'université Sâad Dahleb de Blida, du mois de Juin 2003 au mois d'Octobre 2003. Nous avons réalisé l'expérimentation sur une parcelle de 300 m². Cette parcelle était occupée par des graminées (gazon) et des mauvaises herbes durant plus d'une dizaine d'années.

Avant l'installation du dispositif expérimental, nous avons effectué une préparation du sol avec plusieurs passages croisés par une charrue à disque. Nous avons ensuite procédé à l'analyse de ce sol. Ainsi, nous avons effectué 40 prélèvements de terre à une profondeur d'environ 20 cm sur l'ensemble de la parcelle, d'une façon complètement aléatoire.

Ces différents prélèvements ont été mélangés et bien homogénéisés. De ce mélange, nous avons pesé 1 Kg de terre sur lequel nous avons réalisé les analyses suivantes :

2. Analyses chimiques:

2.1 Taux de matière organique:

La méthode utilisée est celle de « ANN » ou de « MHOR ». Elle consiste à déterminer la matière organique par le biais du carbone organique, car ce dernier représente 58 % de la matière organique. Le carbone organique est oxydé à chaud par le bicarbonate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) en milieu sulfurique. Le sulfate de chrome formé est dosé volumétriquement par le sel de Mohr : 2 g de sol sont mélangé à 10 ml de bicarbonate de sodium, 15 ml d'acide sulfurique concentré et 150 ml d'eau distillée, 3-5 gouttes de diphenylalanine et 5 mL d'une solution de NaF (3 %). Cette solution est dosée par une solution de sel de Mohr 2N jusqu'au virage de la coloration de la solution vers une

coloration verdâtre. Un essai témoin est effectué au préalable en utilisant 2 g de sable de mer calciné. Ainsi le taux de matière organique est calculé selon la formule suivante :

$$\text{MO \%} = \frac{100 \times \text{C\%}}{58} = 1,72 \cdot \text{C\%}$$

$$\text{C \%} = \frac{(n' - n) \times 0,615}{p}$$

% MO : taux de la matière organique.

% C : taux du carbone

n' : volume de sol de MOHR de l'essai témoin.

n : volume de sel de MOHR de l'échantillon.

P : prise d'essai de l'échantillon

2.2 Calcaire total

L'évaluation du calcaire total dans le sol est faite à partir de la mesure du volume de CO₂ dégagé au contact de l'acide chlorhydrique et du CaCO₃ pur et sec au calcimètre de BERNARD.

Dans un erlen Meyer nous introduisant 2 g de sol fin que nous mouillons avec de l'eau distillée et que nous lui ajoutons par la suite et très délicatement 5 mL d'HCl, nous inclinons l'erlen de manière à ce que l'acide ce réponde sur l'échantillon tout en agitant délicatement afin de favoriser la réaction.

L'essai témoin est réalisé en utilisant 0.3 g de CaCO₃ au lieu du sol. Nous mesurons le volume V du gaz carbonique qui se dégage et comprime le liquide dans la colone de l'appareil. Nous estimons après, le taux de calcaire total dans le sol en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{CaCO}_3 = (0,3 \text{ v} / \text{V} \cdot \text{p}) \times 100$$

v : le volume de CO₂ dégagé par 0,3 g de CaCO₃ pur.

V : le volume de CO₂ dégagé par la prise du sol.

p : la prise du sol.

2.3 Azote total :

Nous avons utilisé la méthode « Kjeldahl ». Elle consiste à une minéralisation du sol, de l'azote organique en azote ammoniacal et une distillation dans l'appareil Buchi.

La minéralisation :

Une prise d'essai de 2.5g de sol est mise dans un matras de 250 mL avec 10 mL d'eau distillée, 10 mL d'H₂SO₄ et une pincée de catalyseur. Le tout est chauffé jusqu'à ébullition et décoloration. L'ajustement se fait ensuite avec 100 mL d'eau distillée après le refroidissement du minéralisât.

La distillation :

Une prise du minéralisât de 20 mL est transvasée dans l'appareil à distillé de Buchi et ajustée avec 20 mL de soude (10N). La distillation s'arrête après l'obtention de 150 mL de solution distillée. La titration se fait ensuite avec de l'acide (H₂SO₄) jusqu'à l'obtention d'une couleur rouge violacée. Un essai témoin est réalisé au préalable.

La teneur en matière azotée par rapport à la matière sèche est exprimée selon les formules suivantes :

$$N g = V \cdot 0,0007 [(100/y) (250/v)]$$

La teneur de la matière azoté par rapport à la matière sèche est :

$$MAT \% / MS = N g \times 6,25$$

MAT : teneur en matière azotée

MS : matière sèche

N g : L'azote total

V : volume de la burette (H₂SO₄) en ml.

Y : poids de l'échantillon de départ.

v : volume de la prise d'essai.

3. Analyses physiques

Afin de connaître la texture et la structure du sol, nous avons effectué des analyses de granulométrie, de pH et de conductivité électrique.

3.1 Le pH du sol

La connaissance du pH du sol permet d'avoir des indications sur la basicité ou l'acidité du sol, et les aptitudes culturales [125]. La mesure du pH des échantillons du sol est obtenue par la méthode électrométrique à l'aide du pH-mètre

3.2 Humidité hygroscopique

La teneur en eau dans le sol est exprimée par l'humidité hygroscopique en faisant évaporer l'eau par passage à 105°C de l'échantillon humide à l'étuve pendant 24 heures.

$$\text{T en eau \%} = \left[\frac{P_1 - P_2}{P_2} \right] \times 100$$

P_1 = Poids de l'échantillon du sol

P_2 = Poids de l'échantillon du sol après passage à l'étuve à 105°C

3.3 Granulométrie

La texture du sol est déterminée par le diagramme textural, en utilisant le pourcentage des fractions fines (argile, limon) et grossières (sable) du sol. L'analyse de la fraction fine du sol est déterminée par la méthode de la pipette de ROBINSON. Elle consiste à séparer par sédimentation des différents constituants après leur mise en suspension. Ainsi nous mélangeons 20g de terre à 40 mL d'hexametaphosphate de sodium à 1 mL d'ammoniaque pur. Nous plaçons la solution en agitation rotative pendant 02 heures. Ensuite, nous transvasons le tout dans une éprouvette.

La détermination des fractions d'argileuses et limoneuses est faite directement par pipette de Robinson, alors que la fraction sableuse est déterminée par tamisage.

Le contenu de la pipette de Robinson et celui du tamis sont transvasés dans des capsules et mis à l'étuve à 105°C pendant 24 heures.

Les teneurs d'argiles, de limons et de sables sont exprimées selon les formules suivantes :

$$\% \text{ D'argiles} = \frac{(P_2 - P_1) \times 100V}{v [P - P/100.(MO + H + CaCO_3)]}$$

$$\% \text{ Limon fin} = \frac{(P_1 - P_2) \times 100V}{v [P - P/100.(MO + H + CaCO_3)]}$$

$$\% \text{ Sables fins} = \frac{P_3 \times 100}{P - P/100. (MO + H + CaCO_3)}$$

$$\% \text{ Sables grossiers} = \frac{P_4 \times 100}{P - P/100. (MO + H + CaCO_3)}$$

P : Prise d'essais

P₁ : Poids sec de (L'argile + LF + Hexamétaphosphate de sodium).

P₂ : Poids sec de (L'argile + Hexamétaphosphate de sodium).

P₃ : Poids sec du sable fin.

P₄ : Poids sec du sable grossier.

V : Volume de la pipette de ROBINSON = 10 millilitres.

v : Volume total de suspension.

MO : Pourcentage de la matière organique.

H : Pourcentage d'humidité.

CaCO₃ : Pourcentage de calcaire dans le sol.

3.4 Conductivité électrique

La salinité globale d'un sol est exprimée par la conductivité électrique (CE). Elle est mesurée à l'aide d'un conductimètre sur un extrait obtenu à partir d'un échantillon de sol séché puis saturé d'eau, la valeur dépend de la concentration en sels de la solution.

La conductivité électrique est calculée à partir de la formule suivante :

$$CE \text{ (mmhos/ cm)} = CE. K^{-1}. f(t)$$

K = La constance d'étalonnage de l'appareil.

f(t) = coefficient correctif, il prend une valeur de 1.218 à 16°C.

Ces différentes analyses ont été réalisées au laboratoire de pédologie de l'institut d'agronomie d'El Harrach (I.N.A). Les protocoles d'analyses sont ceux suivis et détaillés par FELIDJ [42].

Les données climatiques de la région de Blida ont été recueillies sur une année agricole 2003/2004 au niveau de la station météorologique de la ferme de démonstration de l'institut technique d'arboriculture fruitière et de vigne I.T.A.F de Boufarik.

4. Matériel végétal

Les plantules de *Datura stramonium* ont été récoltées le 06/05/2003 au stade trois (03) feuilles dans la région de Ouamri wilaya de Médéa où ils ont poussés à l'état sauvage sous les pieds d'arbres d'Eucalyptus en situation semi ensoleillée.

5. Culture

5.1 Le dispositif expérimental

Le dispositif expérimental adopté dans notre expérimentation est le bloc aléatoire complet à 7 blocs. Chaque bloc comporte 60 plants. La distance entre les plants est de 0,50 mètre (plantation dense), et celle entre les bloc est de 1 mètre (Fig 4.9)

La transplantation des 420 plantules a été effectuée le 07 et 08/05/2003 sous un ciel légèrement couvert. Le remplacement des plants morts (04 plants) s'est poursuivi le troisième et le quatrième jour après la transplantation. Ensuite des cuvettes ont été confectionnées autour de chaque plantule afin de recevoir l'eau d'irrigation.

Durant les 12 premiers jours, les plantules ont été arrosées tous les jours à l'eau douce du robinet de façon à assurer leur reprise. Les traitements ont commencés à partir du 13^{ème} jour de la transplantation. Ainsi les plants de *Datura stramonium* ont été cultivés sous stress hydrique durant leur cycle de développement.

- **Bloc 1** : Arrosage des plants tous les jours = **Témoins (T)**
- **Bloc 2**: Arrosage des plants tous les jours jusqu'au stade **début floraison** (formation au plus de 3 fleurs), ensuite poursuite de la culture sans apport d'eau jusqu'au stade pleine fructification (**tj Df**)
- **Bloc 3**: Arrosage des plants 1 fois tous les 6 jours (**1/6j**) jusqu'au stade pleine fructification.

- **Bloc 4:** Arrosage des plants tous les jours jusqu'à la formation d'au moins quatre fleurs (**pleine floraison**) ensuite poursuite de la culture sans apport d'eau jusqu'au stade pleine fructification (**tj Pf**)
- **Bloc 5 :** Arrosage des plants tous les jours jusqu'à la formation du **premier bouton floral**, ensuite poursuite de la culture sans apport d'eau jusqu'au stade pleine fructification (**Tj Bf**)
- **Bloc 6 :** Arrosage des plants 1 fois tous les 15 jours (**1/15j**) jusqu'au stade pleine fructification.
- **Bloc 7 :** Plants cultivés sans apport d'eau (**SI**) jusqu'au stade pleine fructification

5.2 Quantité d'eau à apporter à chaque arrosage

La quantité d'eau à apporter à chaque arrosage est de 02 litres par plant. Elle a été calculée selon la formule suivie par l'institut technique d'arboriculture fruitière de Tessala el Merdja I.T.A.F, qui s'exprime ainsi :

$$CU = 45/100 [(S \times Zr) \times d \times CR]$$

CU : Capacité utile.

CR : Capacité de rétention.

S : Surface occupée par les racines d'en plant.

Zr : Profondeur occupée par les racines.

d : Densité apparente du sol.

Calcul de la capacité utile : (CU)

La dose d'eau à apporté à chaque arrosage se calcule par rapport au poids du volume de terre du réservoir ($S \times Zr \times d$) ; ceci conduit à recourir à la notion de « poids spécifique du sol en place » qui est obtenu en calculant la densité apparente du sol « d ». Cette dernière est mesurée en utilisant la technique du cylindre, qui consiste à prélever dans un cylindre métallique à volume connu, une certaine masse de sol, qui une fois séchée à l'étuve, nous permet de calculer « d ».

Après avoir dégagé les débris des végétaux, le cylindre est enfoncé dans le sol sans tasser la terre qui se trouve à l'intérieur. La masse de terre du cylindre est récupérée dans une boîte, pesée à l'état humide, puis portée à l'étuve à 105°C pour avoir le poids sec. La densité apparente « d » est calculée comme suit :

$$d = p / V$$

P : poids du sol séché à l'étuve.

V : Volume du cylindre.

Ainsi la dose d'eau à apporter à chaque arrosage a été déterminée à 2 litres d'eau par plant.

5.3 Récolte et préparation des plants pour analyses

Au cours du développement des plants, nous avons défini 04 stades phénologiques de récolte des plants pour les analyses :

- Stade 1 : Formation du premier bouton floral (**Bf**).
- Stade 2 : Formation au plus de 03 fleurs : début floraison (**Df**).

- Stade 3 : Formation au moins de 04 fleurs : pleine floraison (**Pf**).
- Stade 4 : Formation au moins de 04 fruits mûrs : pleine fructification (**Pfr**)

6. Analyses des plantes

6.1 Détermination de la matière sèche

La matière sèche est déterminée pour chaque échantillon avant chaque extraction et durant toute la période de conservation. Le matériel végétal est placé à l'étuve à 105°C pendant 24 heures, les résultats sont exprimés selon la formule :

$$\text{Teneur en eau en \% /MS} = \frac{\text{MF} - \text{MS}}{\text{MS}} \times 100$$

MF = Matière fraîche.

MS = Matière sèche.

Ce calcul va nous permettre de calculer le taux d'alcaloïdes totaux.

6.2 Extraction et purification des alcaloïdes

L'extraction des alcaloïdes à partir de la poudre végétale est réalisée selon la méthode de COSSON [32] et BENHIZIA [45]. Elle est basée sur les propriétés de solubilité des alcaloïdes en milieu acide et en milieu alcalin.

En milieu acide, les alcaloïdes sont sous forme de sels alcaloïdiques, ils sont solubles dans les solvants organiques polaires et dans l'eau.

En milieu alcalin, les alcaloïdes sont sous forme basique, ils sont donc solubles dans les solvants organiques (chloroforme) et (éthanol), mais ils sont insolubles dans l'eau.

Une double extraction est obtenue en premier lieu à partir d'une quantité choisie de végétal frais ou en poudre dans une quantité d'alcool éthylique bouillant. La solution alcoolique est ensuite évaporée sous pression vide où nous éliminons les impuretés solubles dans l'éthanol (lipides, chlorophylle, résine, et autres).

L'extrait obtenu est acidifié et filtré, après l'alcalinisation, nous effectuons une purification des alcaloïdes puis un séchage au sulfate de sodium anhydre. Cette solution est transvasée dans des tubes. La solution chloroformique est évaporée. Nous obtenons ainsi le poids des alcaloïdes totaux purifiés.

Le calcul des alcaloïdes totaux se fait selon une formule suivie par COSSON [32] et BENHIZIA [45] et qui s'exprime en fonction des données obtenues

6.4 Extraction et dosage de la proline

La proline est dosée selon la méthode de TROLL et LINDSLEY (01955) simplifiée et mise au point par DREIR et GORING (1974) et modifiée par MONNEVEUX (1983).

a- Principe de l'extraction

Le principe du dosage de la proline consiste à extraire la proline de la matière végétale sèche par l'alcool méthylique ou éthylique à 80 %. La proline et l'hydroxyproline réagissent en milieu acide et à chaud avec la Ninhydrine pour donner un composé rouge soluble dans les solvants organiques à noyau aromatiques, tel que le toluène, sensible à la spectrophotométrie.

➤ Préparation du réactif

Le réactif est composé de :

- 1.25 g de Ninhydrine dissous dans de l'acide acétique concentré, additionné à de l'acide orthophosphorique à 85% et 12.5 ml d'eau distillée.

➤ Extraction au méthanol

La poudre végétale sèche prélevée d'une manière complètement aléatoire et agitée énergiquement dans de méthanol à une température de 80°C pendant une heure.

L'extrait est prélevé auquel ont ajoute de l'acide acétique concentré et du réactif à la Ninhydrine.

Après homogénéisation, les extraits sont placés dans l'eau bouillante (100°C) pendant 30 mn. Ainsi la proline réagit avec la Ninhydrine en donnant un composé rose. Ensuite les extraits sont refroidis énergiquement pour terminer la réaction. La présence du Toluène montre deux phases bien distinctes. C'est la phase supérieure qui contient la proline et qui est récupérée pour la lecture de la densité optique. La lecture de la densité optique se fait au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 515 nm où l'absorption du complexe proline- Ninhydrine est maximale.

➤ Préparation de la courbe d'étalon :

La courbe étalon est réalisée à partir de concentrations croissantes de proline préparées à partir d'une solution mère de 1mM.

Tableau 2.2 : Valeurs de la densité optiques

[C] $\mu\text{g. mL}^{-1}$	2.3	4.6	6.9	9.2	11.5	13.8	16.1	18.4	20.7	23	25.3	27.6
DO(λ 515)	0.016	0.035	0.126	0.218	0.266	0.336	0.341	0.327	0.630	0.430	0.537	0.620

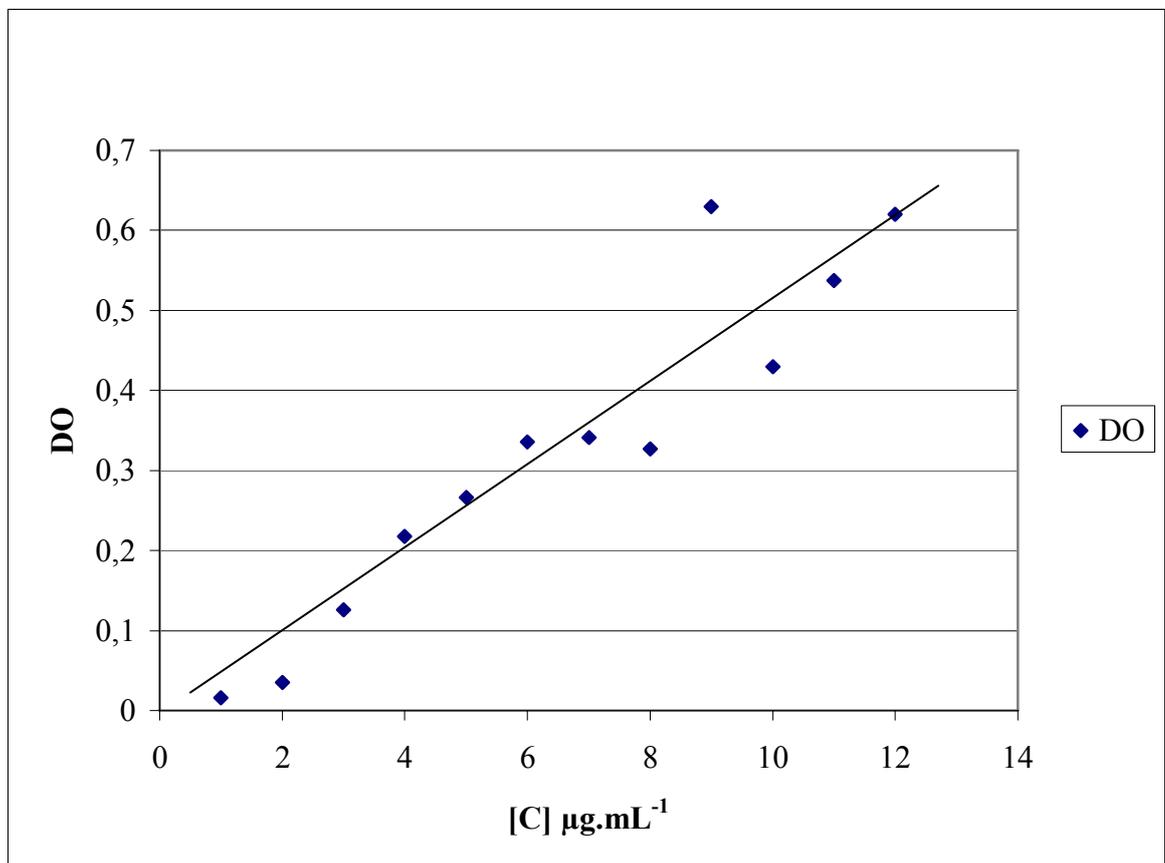


Figure 2 .11 : Courbe étalon de la proline $\mu\text{g.mL}^{-1}$

6.5 Les traitements statistiques

Les résultats expérimentaux obtenus sont traités statistiquement selon le logiciel STATICF. Pour déterminer l'effet du stress hydrique sur la production alcaloïdique des plants. Nous avons procédé à l'analyse de la variance (Appendice 2) dans le but de tester la significativité statistique des différences entre les moyennes des différents traitements selon les hypothèses suivantes :

H₁: La teneur en alcaloïdes totaux en fonction des différents stades végétatifs du *D. stramonium*.

H₂ : Effet du stress hydrique sur la teneur en alcaloïdes totaux chez le *D. stramonium* au stade pleine maturité des fruits.

H₃: Effet de l'arrêt des arrosages après chaque stade végétatif sur la teneur en alcaloïdes totaux chez le *D. stramonium* cultivé en plein champ.

H₄ : Relation entre la variation des alcaloïdes tropaniques totaux et la variation de la prolines.

CHAPITRE 3

Résultats et discussions

1. Caractéristiques de la parcelle expérimentale

1.1 Caractéristiques climatiques

La période de développement des plants de *Datura stramonium* durant notre expérimentation s'est située entre le 19 Mai et le 31 Octobre 2003. La récolte des plants a commencé à partir du 19 Juin 2003 et ce jusqu'au 27 Octobre de la même année.

Pendant la période de développement des plantes nous avons enregistré 4 jours de brouillard, 9 jours de sirocco, 2 jours de vents fort et 58,25 mm de pluies avec une température maximale de 41,5°C enregistrée le mois de juillet et une température minimale de 9°C enregistrée le mois d'octobre.

Le mois de Juin qui correspond à la période de la première et la deuxième récolte (premier bouton floral et début floraison), présente une moyenne de température de 26.40°C avec une moyenne maximale de 38°C et une moyenne minimale de 16,30°C. Une pluviométrie nulle, et 1 jours de sirocco.

La troisième récolte (stade pleine floraison) correspond au mois de juillet qui présente une température moyenne mensuelle de 27,98 °C avec une moyenne maximale 41,5°C et une moyenne minimale de 21,83°C et 3,80 mm de pluie, 6 jours de sirocco, et 1 jour de vents forts.

Le mois d'Octobre qui correspond à la période de la récolte au stade pleine maturité, la température moyenne enregistrée était de 20.85°C avec une moyenne maximale de 34°C et une moyenne minimale de 8.5°C. La pluviométrie enregistrée est de 16.45mm en 08 jours, avec 1 jours de brouillard.

D'après les météorologues, l'année 2003/2004 à été une année très perturbée avec un été couvert, et plus au moins pluvieux ; ce ci pourrait avoir une influence sur la teneur alcaloïdique des plants de *D. stramonium*. Car, d'après COSSON [33], STRAY [26] et

HOUMANI [87] la variation des alcaloïdes tropaniques dépend étroitement des variations climatiques notamment la température et la lumière (Tableau 5.2)

Tableau 3.3. Caractéristiques Climatique de la station d'expérimentation.

	Année	Jan	Fev	Mars	Avril	Mai	Juin	Juit	Aout	Sep	Oct	Nov	Dec	Tot
Température moyennes de l'air	2003	10.30	10.20	14.34	15.89	19.18	26.40	27.98	28.71	24.34	20.85	16.50	11.86	-
	2004	11.61	13.09	13.07	15.03	17.50								-
Précipitation en mm	2003	187.90	158.37	26.80	94.41	19.90	00	0.3	3.80	17.80	16.45	85.60	123.90	735.23
	2004	71.90	24.90	101.70	67.90	118.70								385.10
Nobre de jours de Brouillard	2003	1	1	4	0	2	0	0	0	1	1	3	2	15
	2004	5	12	5	0	1								23
Nombre de jours de Sirocco	2003	0	0	0	1	0	1	2	6	0	0	0	0	10
	2004	0	0	1	0	0								01
Nombre de jours de vents forts	2003	2	2	0	0	1	0	0	1	0	0	3	3	12
	2004	0	5	2		7	5							19
Nombre de jours de gelée	2003	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	05
	2004	3	0	0	0	0								03

Source : Institut Technologique de l'Arboriculture Fruitière de Boufarik (I.T.A.F.)

1.2 Caractéristiques édaphiques de la parcelle expérimentale

Les résultats des analyses chimiques montrent que le sol est moyennement riche en matière organique, et en Azote et très pauvre en calcaire. Selon Diehil [124] le taux de matière organique souhaitable pour le sol est de 2%. Soltner [123] signale qu'un taux de 0.2% d'azote est suffisant pour un sol.

Les résultats physiques du sol correspondent à une texture limono - sableuse, car la granulométrie du sol est composé de 7,67 % d'Argiles, de 70,25 % de limon (Limon grossiers + limons fins) et de 20,65% de sable (sables grossiers + sables fins).

L'électroconductivité est de 0,77 mmhos/cm ce qui correspond à un sol non salé, car cette valeur est inférieure à 4 mmhos/cm qui est inférieure d'après Soltner [123] au seuil minimum des sols salés.

Les mesures du pH du sol donnent des valeurs moyennes de 7,2. Ce qui indique un sol neutre.

Tableau 3.4. Caractéristiques du sol

Paramètres	Résultats
Matières organiques (%)	2,03 %
Calcaires total (%)	0,83 %
Azote total (%)	0,10 %
Granulométrie	
Argiles (%)	7,67 %
Limon (%)	70,25 %
- L. Fin (%)	16,85 %
- L. Grossier (%)	53,40 %
Sables (%)	20,65 %
- S. Fin (%)	8,67 %
- S. Grossier (%)	11,98 %
Texture	Limono- sableuse
pH	7,2
CE : Conductivité électrique mmhos/cm à 16°C	0,77

Ces analyses du sol nous révèlent un sol neutre de texture limono sableuse et pauvre en calcaire. D'après les travaux de Houmani [8] *le Datura* pousse sur les sols neutres avec une nette préférence aux sols calcaires à pH légèrement basique.

2. Comparaison des teneurs en alcaloïdes tropaniques totaux en fonction des stades de développement chez le *D. stramonium* cultivé en plein champ

Afin de déterminer la teneur en alcaloïdes totaux en fonction des différents stades phénologiques des plants de *D. stramonium* cultivés en plein champ, quatre stades végétatifs ont été retenus avec un arrosage de 2 l/plant/j : **Stade 1^{er} bouton floral (Bf)**, **Stade début floraison (Df)**, **Stade plein floraison (Pf)**, **Stade pleine maturité (Pfr)**.

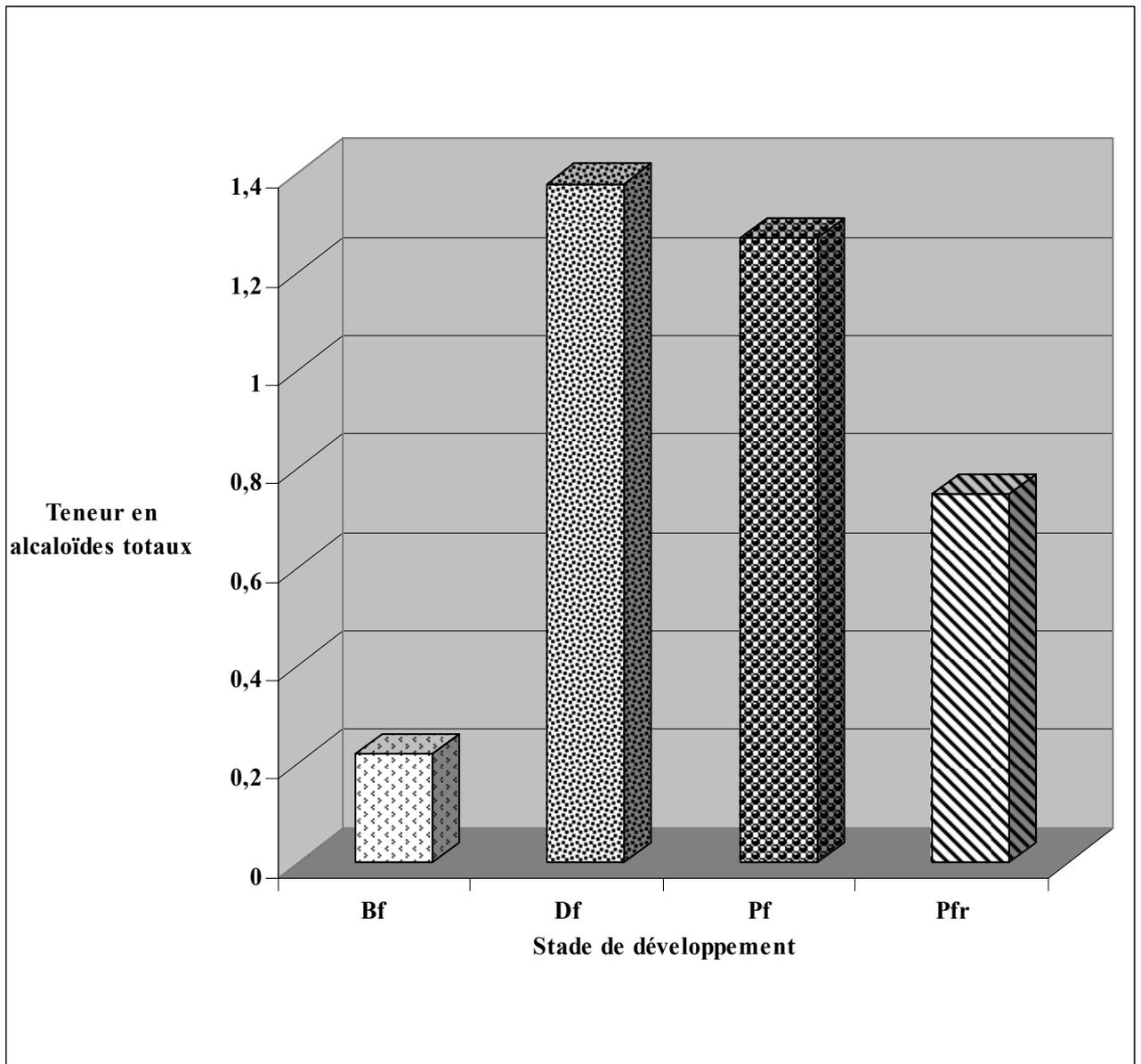
Les résultats (figure 5.11) révèlent que les parties aériennes des plants récoltés au stade premier bouton floral, présentent des teneurs en alcaloïdes totaux de $0,23 \pm 0,3$ mg/g MS. Ces valeurs augmentent de six fois au stade début floraison avec $1,38 \pm 0,3$ mg/g MS et de 5.5 fois au stade plein floraison $1,27 \pm 0,6$ mg/g MS, ensuite elles diminuent au stade pleine maturité des fruits à $0,75 \pm 0,2$ mg/g MS, mais elles restent 3 fois plus importantes par rapport au stade premier bouton floral.

L'analyse de la variance montre au seuil de 5% qu'il y a une différence très significative des teneurs en alcaloïdes totaux entre les différents stades de développement car avec une ddl =3, $F_{ob} = 15.60 \geq F_{th} = 2.98$ l'hypothèse H_1 est retenue.

De cette analyse il en ressort également trois groupes homogènes ; le groupe A avec le stade 2 et 3 (début et pleine floraison) le groupe B avec le stade4 (pleine maturité des fruits), et le groupe C avec le stade 1 (apparition du 1^{er} bouton floral).

Tableau 3.5 : Valeurs moyennes en alcaloïdes tropaniques des plants de *D. stramonium* arrosés tous les jours en fonction des différents stades de développement mg /g MS

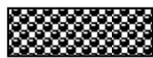
	Bf	Df	Pf	Pfr
Moyenne	0,22	1,38	1,27	0,75
Ecartype	0,3	0,3	0,6	0,2



Bf Stade premier bouton floral



Df Stade Début floraison



Pf Stade pleine floraison



Pfr = T Stade pleine fructification

Figure 3.12: Composition alcaloïdique des plants de *D. stramonium* arrosés tous les jours en fonction des différents stades de développement mg /g MS

Les résultats obtenus montrent bien que durant le développement des plants de *D. stramonium* cultivés en plein champ, le métabolisme alcaloïdique n'est pas stable. Ce ci est observé à travers les teneurs des parties aériennes récoltées à différents stades physiologiques. C'est aux stades de floraison et particulièrement au début que les plants sont les plus riches en alcaloïdes, soit des teneurs de près de 6 fois celles obtenues sur les parties aériennes des plants à la formation du 1^{er} bouton floral et près de 2 fois lorsque les plants atteignent la pleine maturité des fruits. La diminution des alcaloïdes au stade pleine floraison serait probablement due au début de la fécondation des fleurs, car d'après MIRALDI *et al.*, [77], la concentration des alcaloïdes tropaniques diminuerait rapidement après la fécondation. Ces résultats confirment ceux obtenus par LAKHDAR EZZINE, [78] sur *D. féroxe* et ceux de VERDRAGER [52]; et HOUMANI *et al.*, [25] sur *D. stramonium*. Les teneurs alcaloïdiques des plants de *Datura* sont les plus élevées au moment de la floraison.

3. Comportement des plants de *Datura stramonium* cultivés sous stress hydriques

Au cour du développement des plants de *D. stramonium*, nous avons arrêté les arrosages après chaque stade phénologique défini. Les plants continuent leurs développements sans arrosage jusqu'au stade de pleine maturité des fruits. Nous avons suivi le comportement des plants et analysé les alcaloïdes et la proline.

a/- Performances des plants

Afin d'observer le comportement des plants cultivés sous stress hydrique, nous avons effectué certaines mesures des plants (nombre et longueur des ramifications) (Tableau 5.4) et les dates correspondant a chaque stade phénologiques (Tableau 5.5).

Sur les figures 5.13 nous montrons l'état des plants après l'arrêt des arrosages

Pour toutes les conditions de stress hydrique (Tableau 5.4) nous avons observé que les plants au stade de pleines maturité développent trois ramifications R₁ (1^{er} ramifications), R₂ (deuxième ramifications) et R₃ (troisième ramifications). Sur une moyenne de 10 plants, ceux arrosés tous les jours jusqu'au début floraison (tj Df) n'ont pas formés la 3^{ème} ramification (R₃).

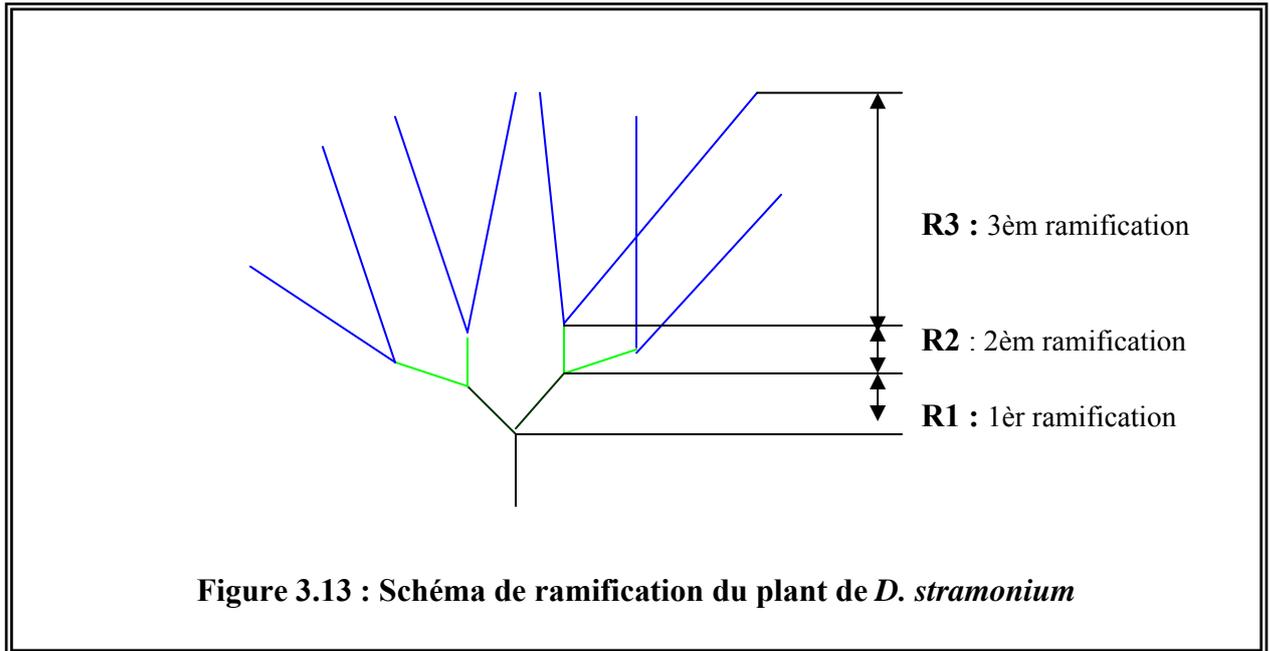
Pour un même niveau, les longueurs de ramification sont variables d'un traitement à autre. La longueur de la première ramification (R_1) varie de 25 cm (tj Df) à 35 cm (1/15j). La longueur de la 2^{ème} ramification est de 10 cm (1/6j) à 30 cm (tj Df, tj Pf, tj Pfr) avec une différence de 20 cm.

Par contre la ramification R_3 montre une grande différence de longueur entre les différents traitements. Cela varie de 0 cm (tj Df) à 100 cm (Témoins). Cette situation est mieux observée au niveau de la longueur totale des plants. Les plants témoins sont les plus hauts (150cm) suivis des plants non arrosés (130cm). Ces résultats nous permettent de conclure que les plants conduits sous stress hydriques sont les plus petits que ceux arrosés tous les jours (Témoins).

Pour un bon développement des plants, un arrosage journalier serait meilleur. L'arrêt des arrosages après chaque stade végétatif, diminue la croissance en hauteur des plants surtout au stade début floraison (tj Df).

Tableau 3.6 : Longueur des ramifications du *Datura stramonium* au stade plein maturité (plus de 4 fruits mûres) cultivés sous stress hydriques

Nbr de ramification	Témoin tj Pfr	1/6J	1/15J	SI	tj Bf	tj Df	tj Pf
Longueur de R1	30 cm	30 cm	35 cm	30 cm	35 cm	25 cm	30 cm
Longueur de R2	20 cm	10 cm	25 cm	30 cm	20 cm	30 cm	30 cm
Longueur de R3	100 cm	30 cm	40 cm	70 cm	30 cm	0	65 cm
Longueur totale du plant	150 cm	70 cm	100 cm	130 cm	85 cm	45 cm	125cm
Taux de mortalité (%)	0 %	30 %	10 %	8 %	60 %	90 %	80 %



Durant le mois de Juillet, nous avons enregistré 2 jours de sirocco correspond à une température moyenne de 38°C. Ces journées ont coïncidé avec l'arrêt des arrosages des plants atteints le début de floraison. Chez ces plants nous avons observé un flétrissement et jaunissement des feuilles suivis d'un pérississement de près de 90 % de plants. Ce qui n'a pas été le cas des plants arrosés.

En ce qui concerne les plants privés complètement d'arrosage (SI), nous avons enregistré une perte seulement de 8% après le cirocco. D'autre part, les plants étaient beaucoup plus développés présentant une floraison plus abondante. Néanmoins, seulement près de la moitié des fleurs sont arrivées à la fructification, les autres ont avorté.



-a/- Les plants de *D. stramonium* cultivés sous stress hydrique après le stade 1^{er} bouton floral



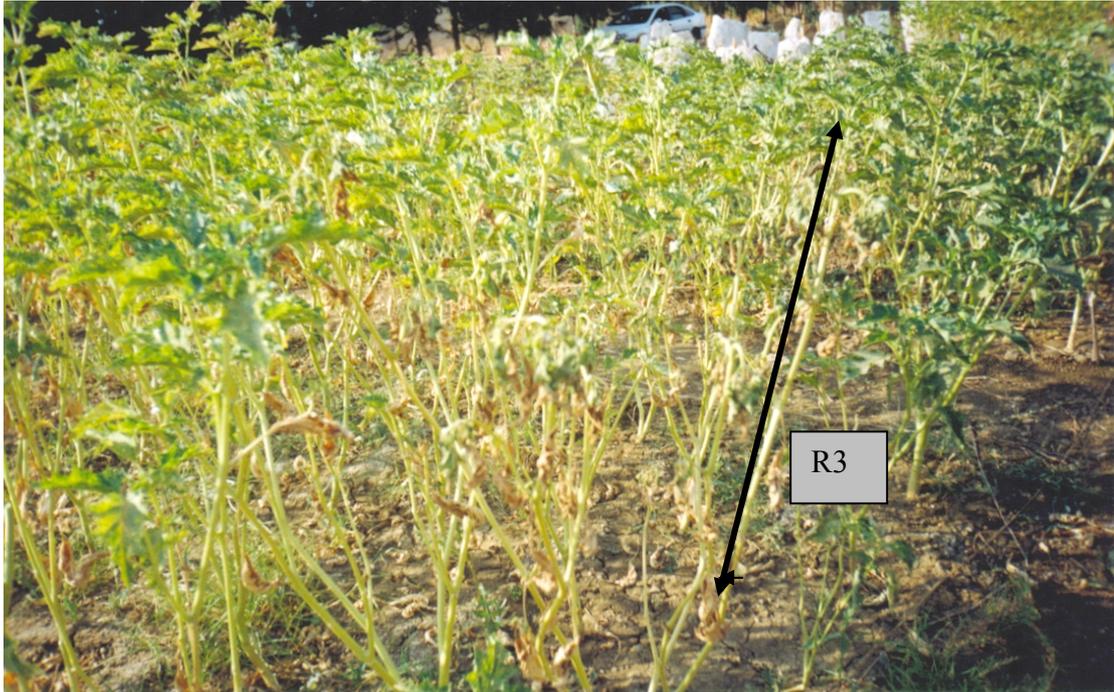
-b/- Les plants de *D. stramonium* cultivés sous stress hydrique après le stade début floraison.



-c/- Les plants de *D. stramonium* cultivés sous stress hydrique après le stade pleine floraison



-d/- /- Stade pleine maturité du bloc non arrosé



-e/- Bloc témoins au stade pleine maturité

Figure 3.14: Comparaison des plants de *Datura stramonium* cultivés sous stress

- a/- Les plants de *D. stramonium* cultivés sous stress hydrique après le stade 1^{er} bouton florale.
- b/- Les plants de *D. stramonium* cultivés sous stress hydrique après le stade début floraison.
- c/- Les plants de *D. stramonium* cultivés sous stress hydrique après le stade pleine floraison.
- d/- Stade pleine maturité du bloc non arrosé.
- e/- Bloc témoins au stade pleine maturité.

b/- Phénologie des plants de *Datura stramonium* cultivés sous stress hydrique

D'après nos observations, les plantules transplantées le 08/05/2003 se sont bien développées, car cinq jours après la transplantation, nous avons enregistré un taux de reprise de 100 %. Après transplantation, nous avons enregistré deux jours de pluie et un ciel couvert, ce qui aurait été favorable à la reprise des plantules après transplantation.

Après 13 jours de la transplantation, les traitement ont commencé, nous avons donc suivi la phénologie des plants jusqu'au stade pleine maturité des fruits dont certains résultats sont portés dans le tableau 5.5

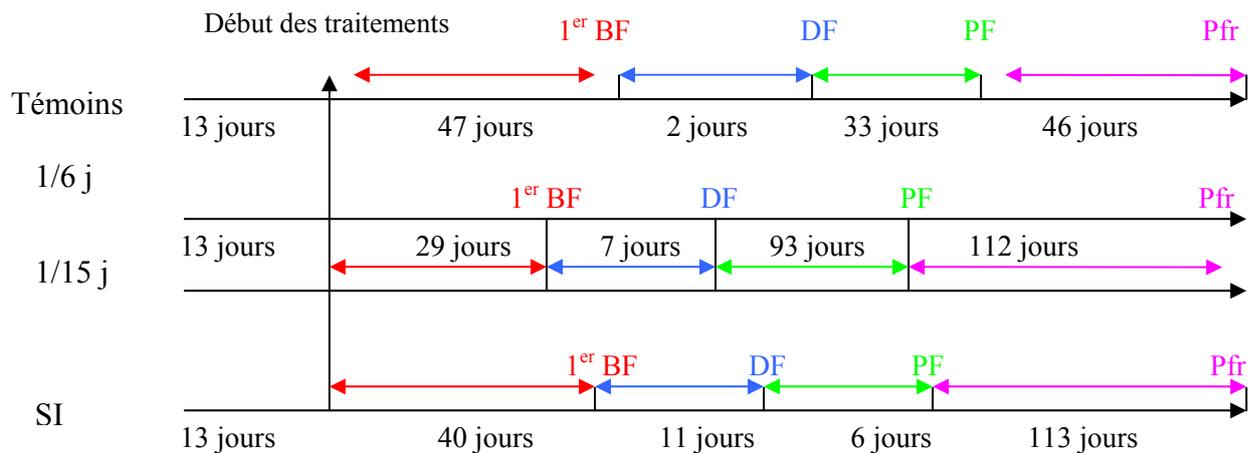


Figure 3.15 : Phénologie des plants de *Datura stramonium* (année 2003)

D'après nos observations, il a été remarqué que les plants **témoins** arrivent au premier stade (1^{er} bouton floral) 60 jours après la transplantation, alors que les plants arrosés **1/6j** et **1/15j** ont atteint ce stade 42 jours après la transplantation soit 29 jours après le début des traitements. Les plants non arrosés n'ont formé le 1^{er} bouton floral que 53 jours après la transplantation soit 40 jours après le début des traitements. Dans tous les cas les plants cultivés sous stress hydrique (**1/6j**, **1/15j** et **SI**) arrivent au premier stade 19 jours avant les plants témoins. A ce stade les plants stressés sont plus précoces que les plants témoins.

Concernant le stade début floraison, les plants **témoins** l'ont atteint deux (2) jours après le stade 1^{er} bouton floral. Cette période est de 7 jours pour les plants arrosés **1/6j** et **1/15j** et de 11 jours pour les plants non arrosés (**SI**). Par contre l'inverse se produit à ce stade : les plants témoins sont plus précoces avec une avance de plus d'une semaine. D'autre part, nous avons constaté que pour les plants arrosés **1/6j** et **1/15j**, les fleurs avaient tendance à se dessécher et tomber.

Le stade fructification a été marqué par une grande variabilité. Ainsi, 91 jours après le stade plein floraison, nous avons enregistré un début de fructification pour les plants arrosés **1/6j** et **1/15j**, alors que cette période est de 44 jours pour les plants non arrosés et de 28 jours pour les plants témoins. Dans ce cas, également nous signalons la précocité des plants témoins par rapport aux plants stressés.

D'après nos résultats les plants cultivés sous stress hydrique mettent 170 jours pour arriver au stade maturité des fruits, ce temps est de 90 jours pour les plants de *Datura*

innoxia et *Datura ferox* cultivés en plein champ et irrigués tous les jours. Ainsi d'après Lakhdar Ezzine [78] ces deux espèces arrivent au stade 1^{er} bouton floral 20 jours après la transplantation, 40 jours après ces plants avaient atteint la pleine floraison et ce n'est que 90 jours après qu'ils ont atteint le stade adulte. Cette période est de 148 jours pour les plants irrigués **1/6j** et **1/15j** pour le *D. stramonium* cultivé en plein champ sous stress hydrique.

3.1 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux produites par le *D. stramonium* cultivé sous stress hydrique

La culture sous stress hydrique a commencé à partir du 13^{ème} jours de la transplantation, après la reprise des plants qui était à 100 %

- Arrosage des plants tous les jours = **Témoins (T)**
- Arrosage des plants 1 fois tous les 6 jours (**1/6j**) jusqu'au stade pleine fructification.
- Arrosage des plants 1 fois tous les 15 jours (**1/15j**) jusqu'au stade pleine fructification.
- Plants cultivés sans arrosage (**SI**).

Après l'analyse des données, il a été remarqué que les teneurs en alcaloïdes totaux des parties aériennes des plants de *D. stramonium* varient de $0,63 \pm 0,1$ mg/g MS pour les plantes non arrosées à $0,75 \pm 0,2$ mg/g MS pour les plants à arrosage journalier. Cependant, les plants irrigués tous les jours présentent une teneur en alcaloïdes totaux de $0,75 \pm 0,2$ mg/g MS, soit deux fois plus importante que celles arrosées une fois tous les quinze jours ($0,32 \pm 0,1$ mg/g MS) et une fois tous les six jours ($0,41 \pm 0,1$ mg/g MS).

L'analyse de la variance (appendice 2) nous révèle deux groupes homogènes, le groupe A avec arrosage journalier et les plants non arrosés et le groupe B avec arrosage 1 fois tous les 15 jours et 1 fois tous les six jours.

Le test de Fisher avec un seuil de 5 % à ddl 3, $F_{ob}=13,01$ et $F_{th} = 2.98$ nous révèle une différence très significative quant à l'influence du stress hydrique sur la teneur en alcaloïdes totaux chez le *D. stramonium* au stade pleine maturité des fruits, l'hypothèse H_2 est donc retenue. C'est à dire que le stress hydrique influence la teneur en alcaloïdes totaux chez le *D. stramonium* au stade pleine maturité des fruits.

Tableau 3.7 : Teneur en alcaloïdes tropaniques totaux chez *D. stramonium* au stade pleine maturité des fruits en mg/g MS

	T	1/16	1/15	SI
Moyenne	0,75	0,41	0,32	0,63
Ecartype	0,2	0,1	0,1	0,1

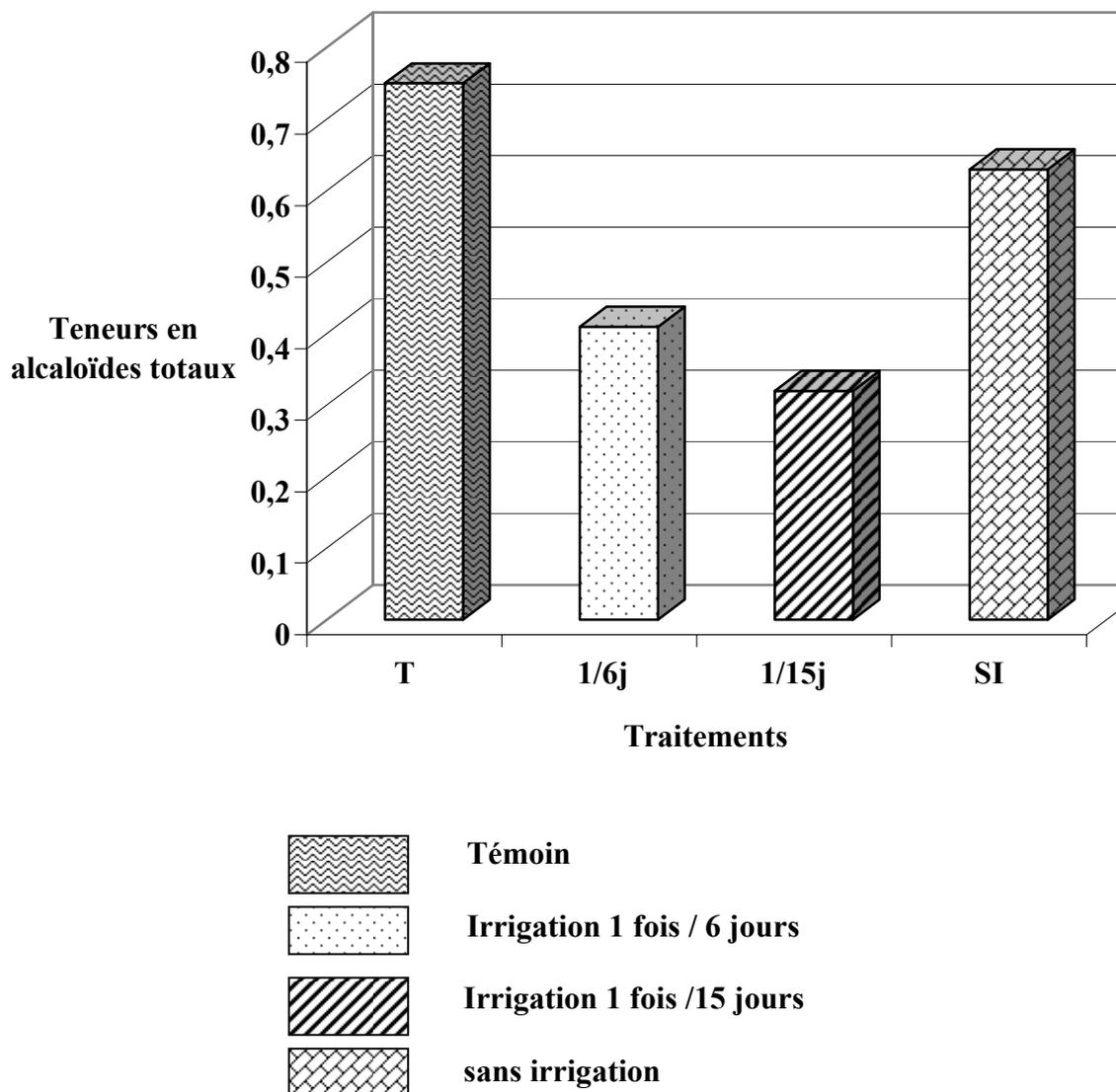


Figure 3.16: Teneur en alcaloïdes tropaniques totaux chez *D. stramonium* au stade pleine maturité des fruits en mg/g MS



a/- Arrosage journalier (T)



b/- Arrosage 1 fois tous les 6 jours (1/6j)



c/- Arrosage 1 fois tous les 15 jours (1/15j)



d/- Pas d'arrosage (SI).

Figure 3.17 : Les plants de *D. stramonium* au stade plein maturité des fruits cultivé sous stress hydrique

a/- Arrosage journalier (T)

b/- Arrosage 1 fois tous les 6 jours (1/6j)

c/- Arrosage 1 fois tous les 15 jours (1/15j)

d/- Pas d'arrosage (SI).

Les résultats de cette expérience montrent bien que l'absence totale d'arrosage permet une biosynthèse d'alcaloïdes presque autant que dans le cas des plants arrosés tous les jours. Alors que les plants arrosés à des intervalles de 6 jours et de 15 jours en produisent presque 2 fois moins. Nos résultats complètent ceux obtenus par HOUMANI.[25], les plants privés totalement d'arrosage produisent 1,3 fois plus d'alcaloïdes que ceux irrigués 1 fois par semaine. Ainsi, nous pouvons conclure que les plants de *D. stramonium* cultivés en plein champ, qu'ils soient arrosés tous les jours ou privés complètement d'arrosage produiraient sensiblement les mêmes quantités d'alcaloïdes. La deuxième situation serait économiquement la plus rentable pour une exploitation de ces cultures.

4. Comparaison de la teneur en alcaloïdes totaux chez les plants de *D. stramonium* après l'arrêt des arrosages à différents stades de développement

Après l'arrêt des arrosages suivant chaque stade végétatif, nous avons laissé les plants arriver au stade pleine maturité des fruits pour les récolter :

- Arrosage des plants tous les jours = **Pfr = témoins (T)**
- Arrosage des plants tous les jours jusqu'au stade **début floraison**, poursuite de la culture sans apport d'eau jusqu'au stade pleine fructification (**tj Df**)
- Arrosage des plants tous les jours jusqu'à la **pleine floraison**, poursuite de la culture sans apport d'eau jusqu'au stade pleine fructification (**tj Pf**)
- Arrosage des plants tous les jours jusqu'à la formation du **premier bouton floral**, poursuite de la culture sans apport d'eau jusqu'au stade pleine fructification (**tj Bf**)

Les analyses des alcaloïdes sont faites sur les parties aériennes récoltées à chaque stade phénologique défini.

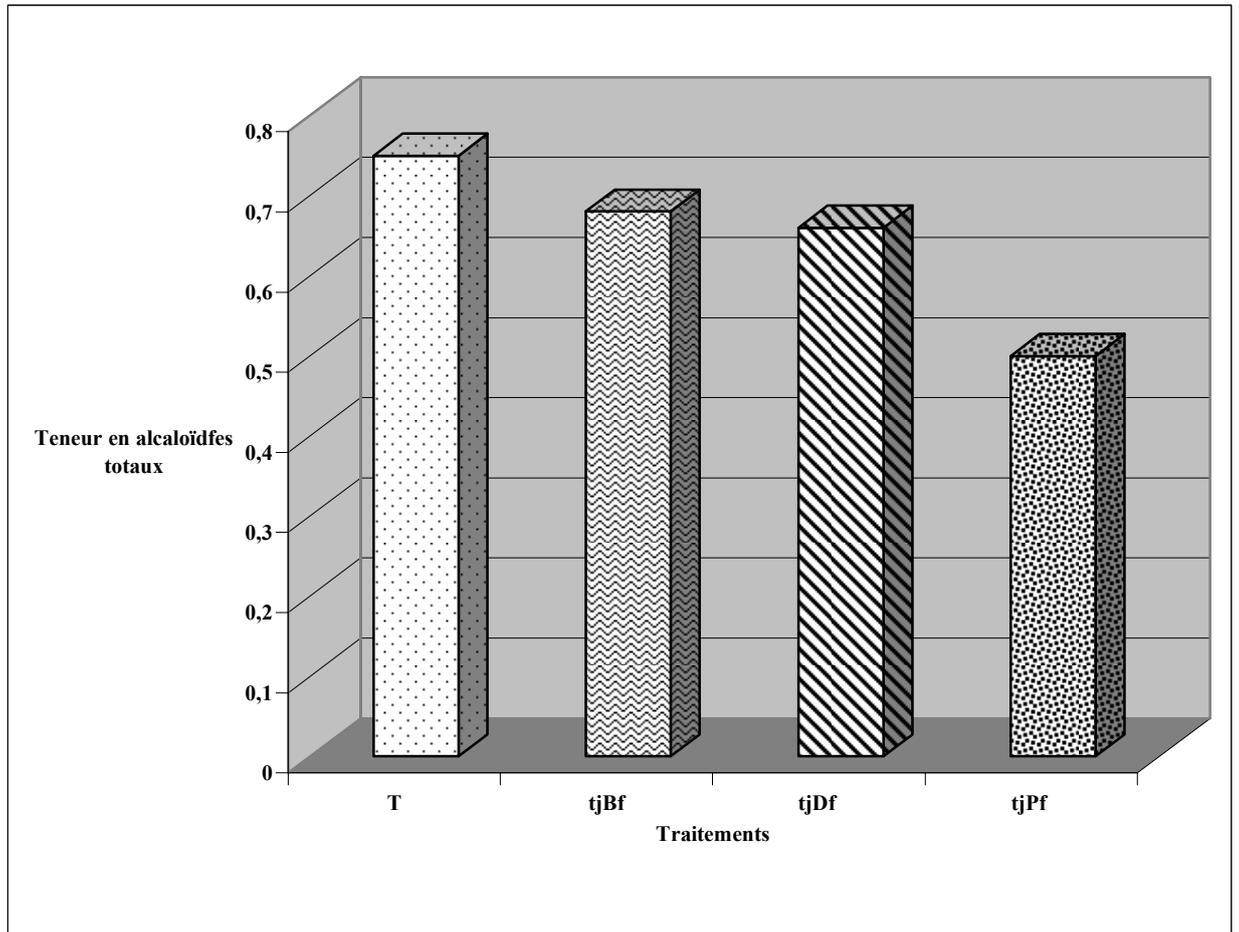
D'après les résultats portés sur la figure 5.16 nous observons un meilleur rendement en alcaloïdes totaux chez les plants témoins (T) de *D. stramonium* arrosés tous les jours avec $0,75 \pm 0,2$ mg/g MS. Après l'arrêt complet des arrosages à différents stades (1^{er} bouton floral, début floraison, pleine floraison), les plants ont poursuivi leur développement en manifestant légèrement certaines différences dans la longueur des tiges

et le volume. Quant à la production d'alcaloïdes, nous constatons que dans ces conditions, les plants arrosés tous les jours sont encore les plus riches en alcaloïdes totaux.

Néanmoins l'arrêt des arrosages dès la formation du 1^{er} bouton floral ($0,68 \pm 0,2$ mg/g MS) ou au début de la floraison ($0,63 \pm 0,1$ mg/g MS) présentent des teneurs en alcaloïdes totaux similaires et donc la différence avec les témoins ($0,75 \pm 0,2$ mg/g MS) n'est pas significative.

Tableau 3.8 : la teneur en alcaloïdes totaux chez les plants de *D. stramonium* au stade pleine maturité des fruits, après un stress hydrique (mg/g MS)

	T	tjBf	tjDf	tjPf
Moyenne	0,75	0,68	0,66	0,50
Ecartype	0,2	0,2	0,2	0,3



-  - Arrosage des plants tous les jours = **Pfr** = **témoins (T)**
-  - Arrosage des plants tous les jours jusqu'au stade **début floraison**, poursuite de la culture sans apport d'eau jusqu'au stade pleine fructification (**tj Df**)
-  - Arrosage des plants tous les jours jusqu'à la **pleine floraison**, poursuite de la culture sans apport d'eau jusqu'au stade pleine fructification (**tj Pf**)
-  - Arrosage des plants tous les jours jusqu'à la formation du **premier bouton floral**, poursuite de la culture sans apport d'eau jusqu'au stade pleine fructification (**tj Bf**)

Figure 3.18: Comparaison de la teneur en alcaloïdes totaux chez les plants de *D. stramonium* au stade pleine maturité des fruits, après un stress hydrique (mg/g MS)

Du point de vue économique, les plants arrosés tous les jours de la transplantation jusqu'à la maturité présenteraient le même centre d'intérêt que ceux privés complètement d'arrosage.

Les analyses de la variance au seuil de 5% et une ddl 4 donnant un $F_{ob} = 1.39 < F_{th} = 2,63$ révèlent une différence non significative, de ce fait il ne serait pas intéressant de récolter les plants de *Datura stramonium* cultivés sous stress hydrique au stade plein maturité.

5. Variation de la teneur en proline chez les plants de *D. stramonium* cultivé en plein champ

5.1 Variation de la proline en fonction du stade phénologiques des plants de *D. stramonium* cultivé en plein champ et arrosés tous les jours.

La détermination des teneurs en proline des parties aériennes a été faite pour les mêmes stades phénologiques que pour les alcaloïdes (**Bf, Df, Pf, Pfr**).

Les résultats obtenus des dosages de proline sont portés sur la figure 5.17

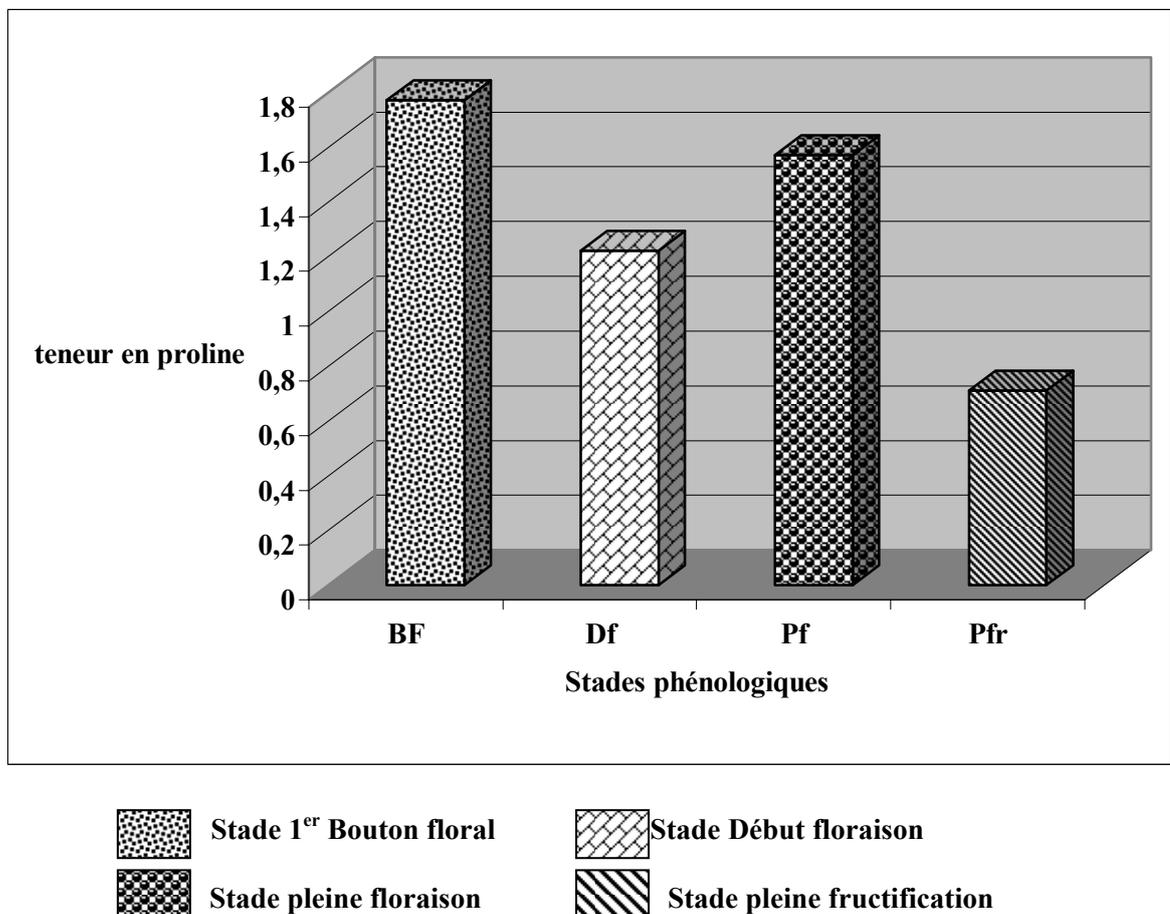


Figure 3.19: Teneur en proline en fonction des stades phénologiques du *D. stramonium* cultivé en plein champ et arrosés tous les jours (mg/g MS)

Ces résultats montrent que la teneur en proline chez les plantules de *D. stramonium* avant la transplantation était de 1.87 mg/g MS. Cette teneur diminue de 1,77 mg/g MS au stade 1^{er} bouton floral à 0,71 mg/g MS au stade pleine fructification en passant par des valeurs intermédiaires de 1,22 mg/g MS au stade début floraison et de 1,57 mg/g MS au stade pleine floraison.

Pendant le Développement des plants de *D. stramonium* cultivés sans contrainte hydrique avec un apport d'eau de 2 l / j / plant, il a été observé que la teneur en proline diminue progressivement par rapport au plantules transplantés initialement avant la cultures, ces derniers auraient probablement subit un stress qui est dû au déplacement des plants de la région de OUAMRI vers la parcelle expérimentale. Par ailleurs, il a été enregistré une augmentation de la teneur en proline de 11.29 % au stade pleine floraison par rapport au stade 1^{er} bouton floral. Signalons que cette période a coïncidé avec une situation climatique particulière au mois d'Août : Elévation de la température durant 6 jours de cirocco durant laquelle nous avons récolté les plants au stade de pleine floraison. A partir de ce stade, la teneur en proline diminue pour atteindre 0,71 mg/g MS, soit 60% de moins par rapport au stade 1^{er} bouton floral.

L'analyse de la variance montre au seuil de 5% qu'il n'y a pas de différence significative quant à la teneur en proline en fonction des différents stades de développement avec une ddl =3, $F_{ob} = 7.56 \geq F_{th} = 9.28$

Par contre ces résultats montrent que les plants jeunes, stade 1^{er} bouton floral (Bf) renferment 2,5 fois plus de proline que les plants adultes au stade de pleine fructification (Pfr). Les travaux de ROSESNS *et al.* [123], sur les plants de *Arabidopsis thaliana* ont montré une forte activité des voies de synthèse de la proline par le glutamate et l'ornithine dans les jeunes plantules. Alors que dans les plants adultes l'ornithine serait réprimée ; les auteurs concluent qu'à ce niveau la proline serait principalement due à l'activité des enzymes de la voie glutamate.

5.2 Les teneurs en proline chez *D. stramonium* cultivé sous stress hydrique

Les teneurs en proline sont déterminées sur les parties aériennes des plants cultivés et arrosés tous les jours (T), 1fois tous les 6 jours (1/6j), 1 fois tous les 15 jours (1/15 j) et celles privés complètement d'eau (SI). Dans tous les cas, les plants analysés sont au stade de pleine fructification.

Les résultats obtenus (figure 5.18) nous indiquent que les teneurs en proline chez les plants stressés sont supérieures à ceux arrosés tous les jours. Ainsi, chez les plants témoins, la teneur en proline est de 0,71mg / g MS. Cette teneur est presque le double chez les plants arrosés 1/6 jours (1,20 mg/g MS) et les plants arrosés 1/15 jours (1,32 mg/g MS). Quant au plants cultivés sans apport d'eau (SI), la teneur en proline est encore plus importante, elle est de 1,54 mg/g MS soit 2.2 fois la teneur des plants témoins.

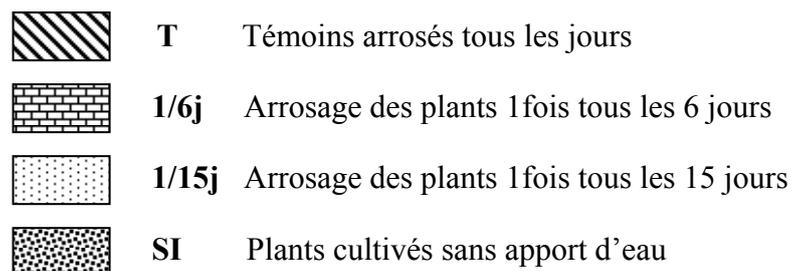
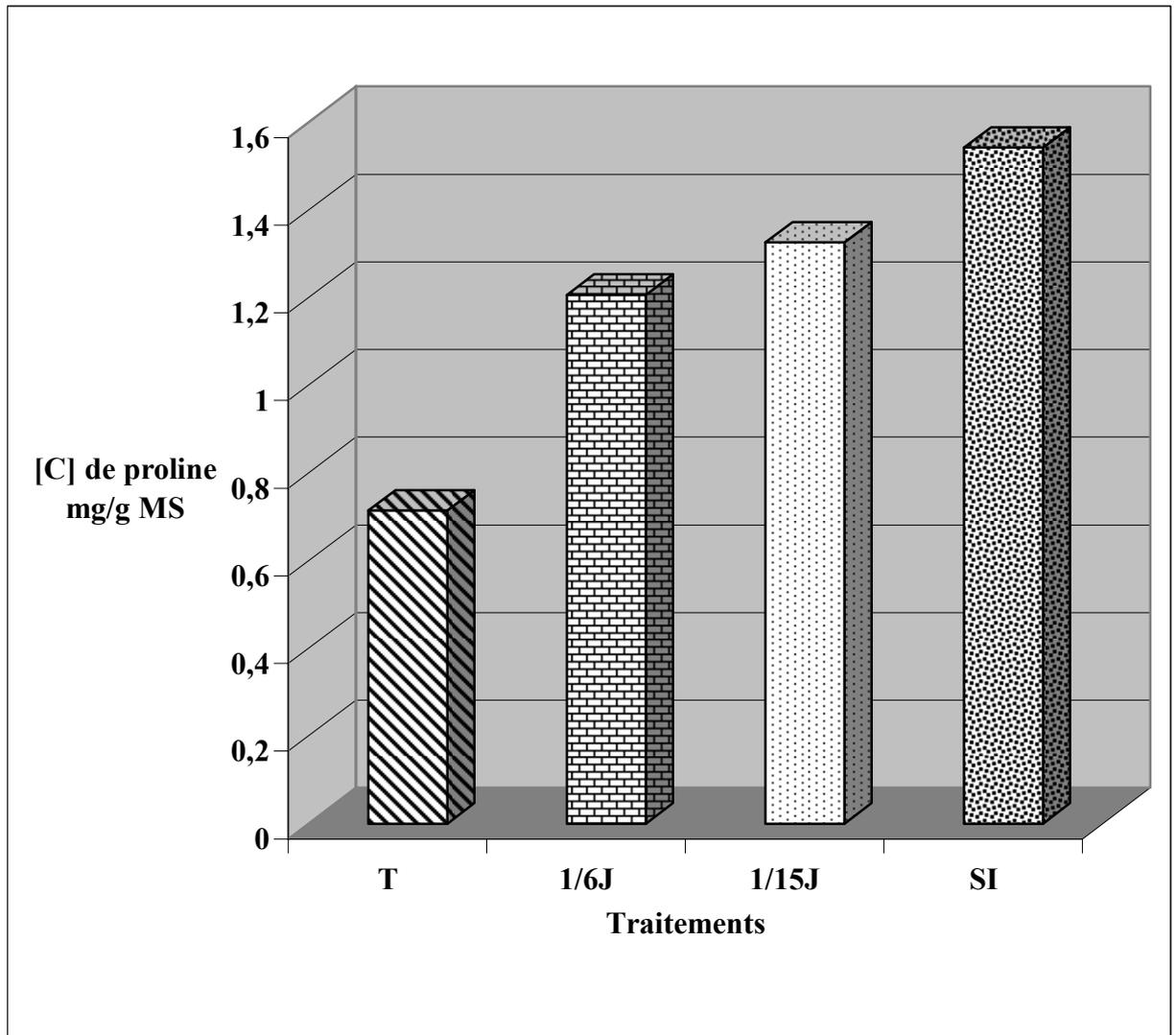


Figure : 3.20 Teneurs en proline chez les plants de *D.stramonium* cultivé sous stress hydrique

L'analyse de la variance montre au seuil de 5% et une ddl = 3 un $F_{ob} = 492 > F_{th} = 9,28$ qu'il y a une différence hautement significative quant à la teneur en proline en fonction du type de conduite de la culture.

D'après ces résultats, l'accumulation de la proline au niveau des plants stressés s'accroît avec le manque d'eau. Cette accumulation serait favorisée par des réactions biochimiques responsables de la biosynthèse de la proline, tel que les réactions de l'enzyme P5CS (Δ^1 pyrroline-5- carboxylate synthétase) [118]

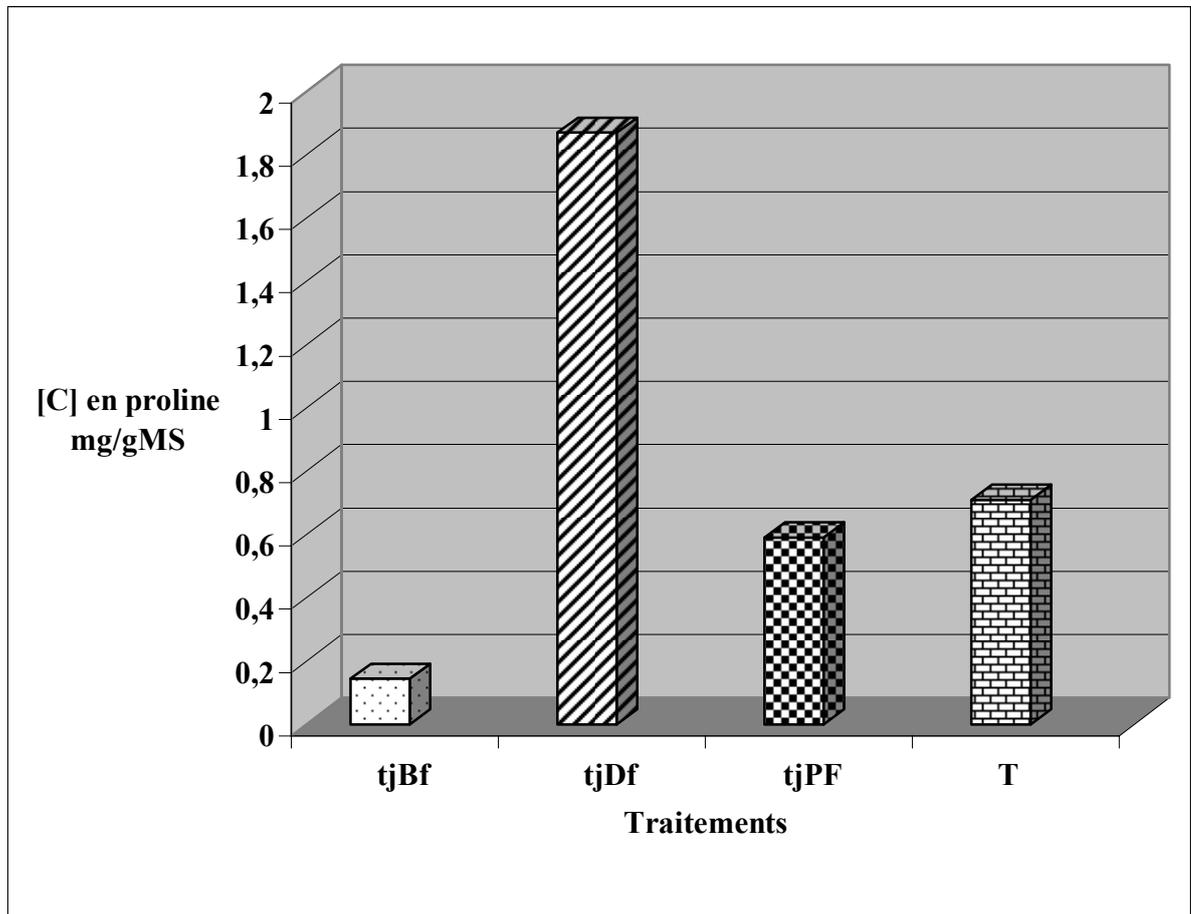
Pour cette expérience, nous pourrions concevoir que pour le même stade phénologique (pleine fructification), les plants conduits dans les conditions normales (Témoins), orientent leur métabolisme vers le développement des plants (métabolisme primaire) ; alors que les plants (SI) privés d'eau (condition défavorables) s'orientent vers le métabolisme secondaire. Selon RENARD [99] et DE RAISSAC [9] ainsi que RAMANJULU et BARTELS [101], la plante résiste au manque d'eau par une tolérance à la sécheresse par l'accumulation des solutés dont la proline, ainsi, la plante passerait par une **phase d'alarme** qui consiste en une déstabilisation d'un certain nombre de structures (membrane cellulaires) donc la croissance des plants et de fonctions notamment les réactions biochimiques et le métabolisme énergétique. Ensuite, la plante entrerait dans une **phase de résistance** où elle résiste au maximum et développerait des modifications physiologiques qui vont permettre à la plante d'endurer le manque d'eau, de survivre et de continuer à se reproduire.

5.3 Variation de la teneur en proline chez les plants de *D. stramonium* (pleine fructification) cultivés sous stress hydrique à différents stades de développement

Après l'arrêt des arrosages après chaque stade végétatif (1^{er} bouton floral, début de floraison et pleine floraison), nous avons laissé les plants arriver au stade pleine maturité des fruits.

Les analyses de la proline sont effectuées sur les parties aériennes des plants au stade de pleine fructification. L'arrêt des arrosages après chaque stade de développement des plants (figure :19) montre que les teneurs en proline sont différentes d'un cas à un autre. Les teneurs en proline sont les plus faibles lorsque les arrosages sont stoppés en 1^{er} bouton floral. Par contre, elles sont 13 fois plus importantes lorsque l'on arrête les arrosages au début de la floraison. Les autres traitements présentent des teneurs intermédiaires, elles sont de 4 fois lorsque l'on arrête les arrosages en pleine floraison et de 5 fois pour les

témoins arrosés tous les jours. Nous pouvons conclure qu'au début de la floraison, l'arrêt des arrosages produit un stress prononcé chez les plants de *D. stramonium*.



-  tjBf : Arrêt des arrosages au stade pleine 1^{er} bouton floral
-  tjDf : Arrêt des arrosages au stade Début floraison
-  tj Pf : Arrêt des arrosages au stade pleine floraison
-  T : témoins arrosé tous les jours

Figure 3.21: Comparaison des teneurs proline chez *D.stramonium* après arrêt des arrosages à différents stades de développements

6. Relation entre la biosynthèse de la proline et les alcaloïdes tropaniques

La comparaison des teneurs en prolines et celles en alcaloïdes totaux des plants de *D. stramonium* montre bien que dans les deux cas les teneurs sont variables durant le développement des plants et suivant leur état hydriques.

Les résultats portés sur la figure 5.20 montrent que les teneurs en alcaloïdes totaux augmentent durant le développement des plants pour atteindre leur maximum au début de floraison ; ensuite ils diminuent jusqu'à l'âge adulte de pleine fructification des plants. Ces résultats confirment bien les travaux menés par BENHIZIA [45] et HOUMANI [8] qui montrent que dans les plants de *D. stramonium* les teneurs en alcaloïdes totaux atteignent leurs optimum au début de la floraison. Quant à la proline, les teneurs sont maximales à l'apparition du 1^{er} bouton floral et diminuent durant le développement des plants cultivés en plein champ et arrosés tous les jours à l'eau douce.

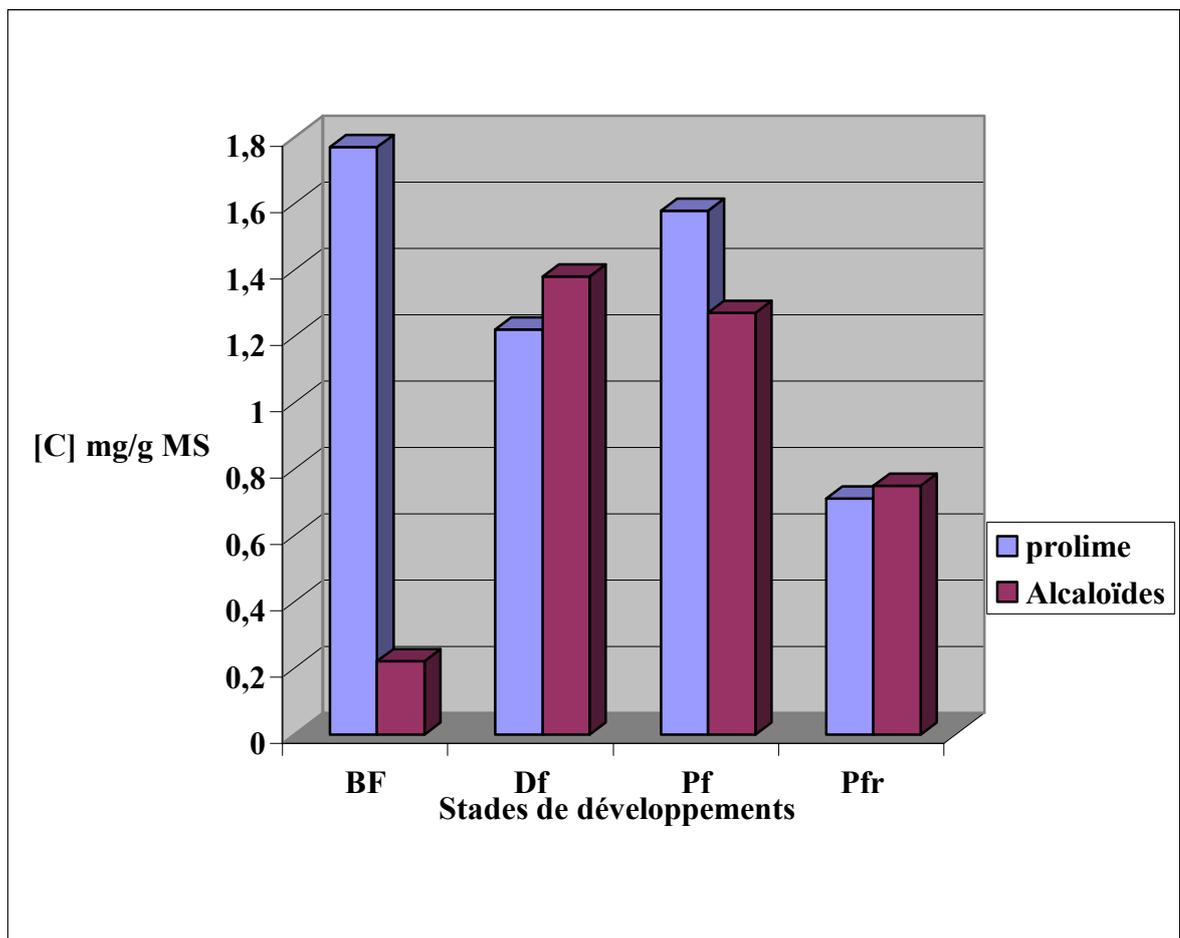


Figure 3.22: Comparaison entre les variations des teneurs en proline et en alcaloïdes tropaniques en fonction des stades de développements du *D. stramonium*

Concernant la comparaison des teneurs en prolines et celles en alcaloïdes totaux des plants de *D. stramonium* cultivé sous stress hydrique, la Figure 5.21 nous révèle que la teneur en proline s'accroît avec le manque d'eau, alors que les teneurs en alcaloïdes

tropaniques, qu'ils soient arrosés tous les jours ou privés complètement d'eau produiraient sensiblement les mêmes quantités d'alcaloïdes. Par contre, les plants de *D. stramonium* arrosés à des intervalles de 6 jours et de 15 jours produisent presque 2 fois moins d'alcaloïdes. Ainsi, nous pouvons conclure que les variations de la proline sont indépendantes des variations alcaloïdiques au stade de pleine fructification, car d'après les auteurs dont ROSESNS *et al.* [123] à ce niveau de développement, la teneur en proline serait principalement due à l'activité des enzymes de la voie glutamate étant donné que la voie de l'ornithine est réprimée.

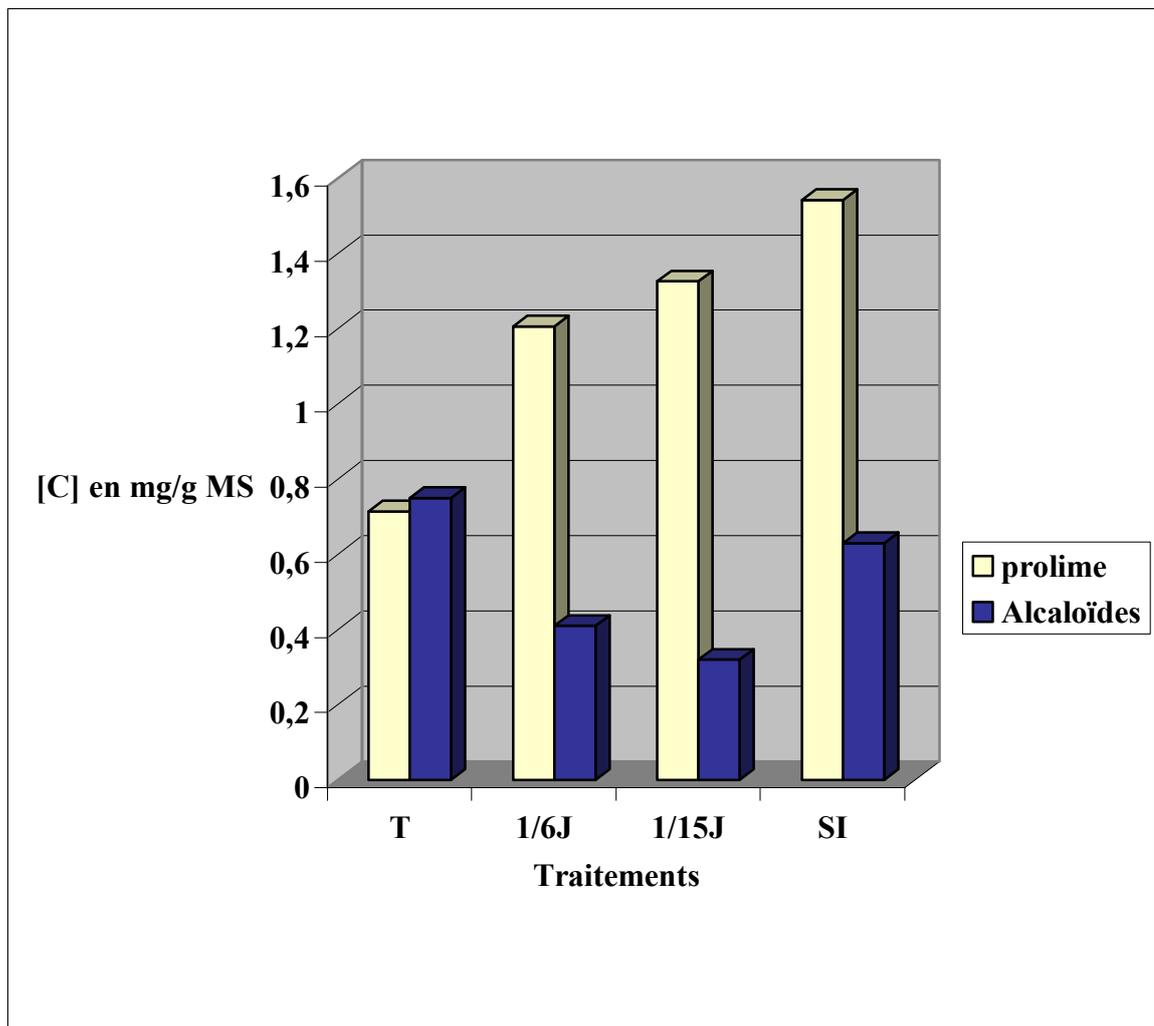


Figure 3.23: Comparaison entre la variation des teneurs en proline et en alcaloïdes tropaniques chez *D. stramonium* cultivé sous stress hydrique

La comparaison entre la variation des teneurs en proline et en alcaloïdes totaux après arrêt des arrosages à différents stades de développement des plants de *D.stramonium*, (figure 5.22) présente une variation alcaloïdique non significative quant aux arrêts des arrosages au stades ; 1^{er} bouton floral, début de la floraison et pleine floraison et qui présente des teneurs en alcaloïdes totaux presque similaires aux témoins. Alors que les variations en proline sont hautement significative, elles sont 13 fois plus importantes (par rapport au stade 1^{er} bouton floral) lorsque l'on arrête les arrosages au début de la floraison. De ce fait, le stade de début floraison est le plus sensible au manque d'eau.

Les résultats obtenus montrent donc que les teneurs en proline sont également indépendantes des variations d'alcaloïdes tropaniques après l'arrêt des arrosages à différents stades de développement des plants de *D. stramonium* et récoltés au stade de pleine maturité des fruits.

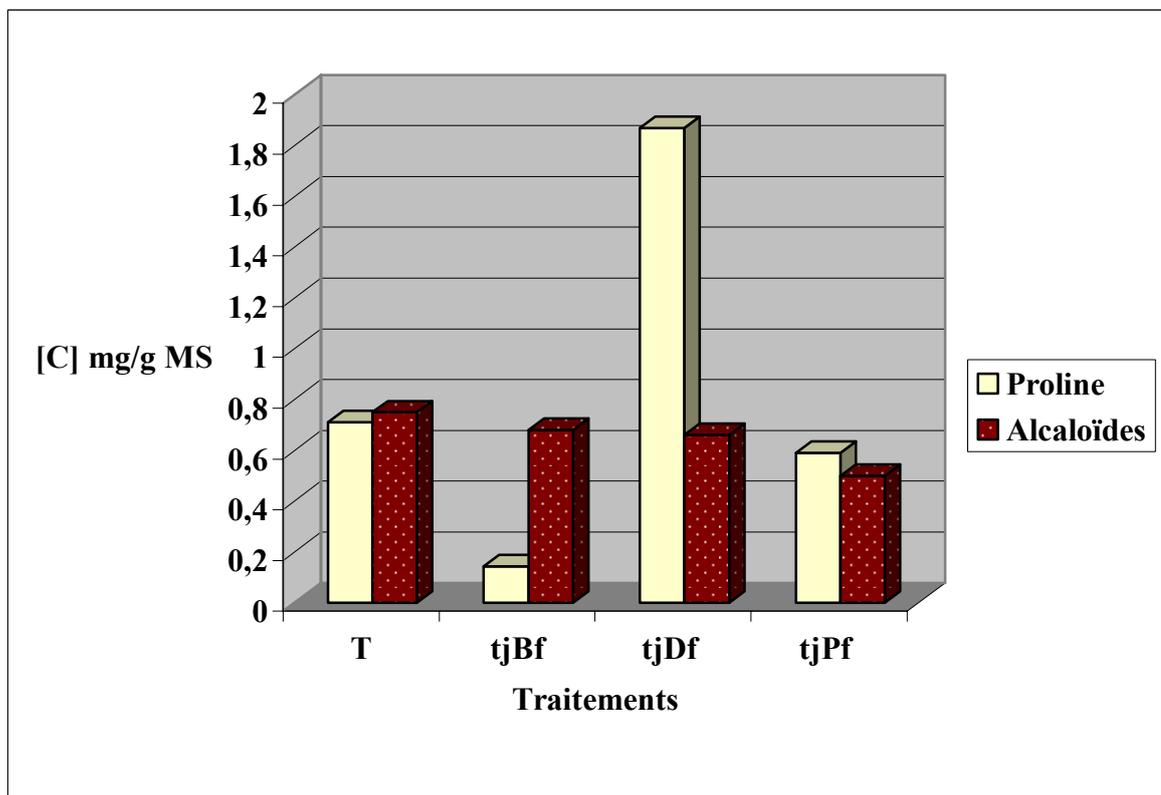


Figure 3.24 : Comparaison entre la variation des teneurs en proline et en alcaloïdes tropaniques après arrêt des arrosages à différents stades de développement des plants de *D. stramonium*

Conclusion

Ce travail a pour objectif de déterminer l'influence du stress hydrique sur le métabolisme alcaloïdique des plants de *D. stramonium* cultivés en plein champs par transplantation. Certaines conditions montrent qu'un déficit hydrique a une influence sur l'accumulation des alcaloïdes dans les parties aériennes du *D. stramonium*. Les quantités accumulées sont de même importance que chez les plants arrosés tous les jours durant 170 jours en raison de 2 l/ plant /jour. Dans les conditions de déficit hydrique total, les plants montrent une certaine adaptation qui s'est soldée seulement par 8 % de mortalité. Par contre, les plants arrosés jusqu'à un certain niveau de leur développement, et par la suite privés d'eau, montrent un épuisement avec des taux de mortalité supérieurs à 60 % des plants.

Partant de la mise en évidence de ce phénomène, nous avons essayé de le comprendre à travers l'accumulation de la proline. Ainsi, les résultats obtenus montrent que la proline n'est pas indifférente, elle réagit d'une certaine façon à l'état hydrique des plants depuis l'apparition du premier bouton floral à la maturité des fruits. Ainsi, l'accumulation de la proline est d'autant plus importante que les plants sont privés d'eau correspondant également à une accumulation assez importante en alcaloïdes. Par contre, les arrosages 1/6j et 1/15j ou l'arrêt des arrosages à un certain niveau du développement des plants ne montrent pas d'intérêt vis-à-vis de la proline ni des alcaloïdes.

Notre travail a pu mettre en évidence à travers une expérimentation menée dans des conditions naturelles sur le *D. stramonium* la relation entre déficit hydrique, biosynthèse des alcaloïdes tropaniques et l'accumulation de la proline. Ainsi, les deux voies glutamate et ornithine (qui est l'un des acides aminés précurseurs de la biosynthèse des alcaloïdes tropaniques) entraînent une très grande accumulation de la proline chez les jeunes plantules ; alors que, dans les plantules adultes l'augmentation de la teneur en proline est particulièrement due à l'activité enzymatique de la voie glutamate, car la voie de l'ornithine est réprimée.

Pour optimiser la production d'alcaloïdes tropaniques il est important de poursuivre ce travail afin d'élucider les mécanismes mis en jeu. Il serait également très intéressant de reprendre la culture du *Datura stramonium* à grand échelle, du semis jusqu'à la récolte des fruits et la conservation des plants afin de mettre en place une culture industrielle et de produire et d'extraire les alcaloïdes tropaniques.

REFERENCES

1. Rhis Alexandra., 2002 - Les plantes médicinales.
<http://www.unil.ch/Sp41/allez-savoir/as11/3plantes5.htm>
<http://www.unil.ch/Sp41/allez-savoir/as11/3plantes3.htm>
<http://www.unil.ch/Sp41/allez-savoir/as11/3plantes4.htm>
2. Smitt. S et Halbran Y., 1999 – Les médecines douces- Ed Monde D’aujourd’hui, CD.
3. Kresanek J., 1981- les plantes médicinales- éd. Boudouin, Paris. 222.
4. Fredman M et Levin C.E., 1989- Composition of jimson weed seeds- *J. Agric. Food. Chem.*, **37** : 998-1005
5. Briki M.D., 1992.- Editorial a propos des préparations pharmaceutiques- Santé Plus. (16).4-5.
6. Anonymes., 2003 – Les données statistiques du commerce extérieur 2002- Ministère de l’agriculture, Alger 2003.
7. Flinaux A., 1991- Optimisation des conditions d’analyse immuno-enzymatique et chromatographique des alcaloïdes tropaniques et nicotiniques, ainsi que certains phénols. Application à l’études des conditions de production de ces métabolites par du matériel végétal issu de culture *in vitro* de Solanacées“. Thèse de Doctorat d’Etat en Science Pharmaceutiques.1-10..
8. Houmani Z. 1999- Quelques plantes Algériennes à Alcaloïdes tropaniques. Effets du stress salin et hydrique sur la production d’alcaloïdes, Variation de leurs teneurs au cours du stockage. - Thèse de doctorat d’Etat Sc. Agr. I.N.A Alger.
9. De Raissac M., 1992 - Mécanismes d’adaptation à la sécheresse et maintien de la productivité des plantes cultivées.- *Agronomie tropical*. n° **46** : 64-69.
10. Bianchini F., 1975 - Guide vert des plantes et des fleurs.- Edit SOLAR. 125
11. Senécal P.É., Janvier 1998 - Intoxications atropinique d’origine végétale au Québec“, Bulletin d’information toxicologique, Vol.14, n°1.
12. Ghaleb E., 1965 - Dictionnaire des sciences de la nature“, éd. Imprimerie catholiques, Lybon, 383.
13. Houdé A., 1985 - Pérennité des alcaloïdes.- Edit. L. PARIENTE. Paris.

14. Boulos L., 1983 - Medicinal plant of north Africa.- *Serie medicinal plant of the worle*. 164.
15. Gay G., Olié J.P., Löö H. et Denker P., 1986 - Aspects cliniques, pharmacologiques et thérapeutiques de l'intoxication au *Datura*.- *L'évolution psychiatrique*. **51** (3) : 671-682.
16. Guignard J.L., 1989 - Abrégés de botanique.- *Ed Masson*, Paris, 259
17. Mechler E et Kohlenbach H.W., 1978 - Alcaloïd content in leaves of diploïd and haploïd *Datura* species.- *Planta Medica*. **33** : 350- 355.
18. Quezel P. et Santa C., 1962 – *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*, V.1,2,CNRS, Paris. 1170
19. Ozenda P., 1983 – Flore du sahara. 2^{ème} éd., Ed. CNRS, Paris. 622.
20. Debelmas A.M. et Delaveau P., 1978- Guide des plantes dangereuses.- éd. Maloine S.A., Paris, 1090.
21. Fourment H. et Roques S., 1942 - Répertoire des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie.- Ed. direction de l'économie Algérienne, inspection générale de l'agriculture, Alger. Bull, N°61, 159.
22. Paris R.R. et Moyses H., 1969 - Solanacées- Abrégé de matière médicale (matière première d'origine végétale).- 6^{ème} Edit. MASSON et Cie. Ed., Paris.
23. Fluck H., 1977 - Petit guide panoramiques des herbes médicinales.- éd. Delachaux et Nestlé S.A., Paris. 1086.
24. Paris R.R et Moyses H., 1971 - Les Solanacées médicale.- Matière médicale. 3^{em} édit., Masson et Cie Edit., Paris, 76-79.
25. Houmani Z., Cosson L., Corbineau F. et Côme D., 1994 - Etude de la teneur en hyoscyamine et en scopolamine d'une population sauvage de *Datura stramonium* L . en Algérie.- *Acta Bot. Gallica* **141** (1) :61-66.
26. Stray F., 1992 -Plantes médicinales.- éd. Gründ, Paris, 22.
27. Weaver S.E. et Warwick S.I., 1984 - The biology of Canadian weeds.- *Datura stramonium*. *Can.J.Bot.* **64** : 979-991.
28. Guillon A. et Becquerel., 1950 - les alcaloïdes du *Datura stramonium* au cours de son développement.- *C.R de l'Académie des sciences*, Paris. **230**, 99 : 1604-1606.
29. Vallet A., 1996 - Contribution à l'étude de la biosynthèse des alcaloïdes tropaniques chez *Datura innoxia* Mill; Transformation par *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium Rhizogènes* et culture de chevelus racinaires.- *DEA*

génie enzymatique, bioconversion et microbiologie. Université de Picardie Jules Vern. www.alexandrevallet.com .

30. Petri G. and Bajaj Y.P.S., 1989 - *Datura* ssp. : *In Vitro* regeneration and the production of tropanes.- *In Biotech. Agr. Forest.* 7. medicinal and Aromatic plants. Ed. Y.P.S. BAJAJ. Springer-Verlag, Berlin.135.
31. Desailly I., Flinaux M.A. et Jacquin-Dubreuil A., 1988 - Etude de la distribution des alcaloïdes dérivés de l'acide tropique chez *Datura stramonium* L., par dosage immuno-enzymatique : localisation tissulaire et subcellulaire.- *C.R. Acad. Sci., Paris*, 306, *Ser.III* : 591-569.
32. Cosson L., 1972 - Influence de l'éclaircissement sur la teneur en alcaloïdes tropaniques des *Datura* : Analyse des processus pouvant en expliquer les effets.- Thèse de Doctorat. SC. Paris, 66.
33. Cosson L., 1976 - Importance des facteurs climatiques et des étapes de développement dans la productivité des alcaloïdes tropaniques.- Pages 483-494 in R. Jacques, Ed. In Etude de biologie végétale. Hommage au professeur P. CHOUARDS. Paris.
34. Cosson L., Escudero Morales A. et Cougoul N., 1978 - La régulation écophysio-logique du métabolisme des alcaloïdes tropaniques (hyoscyamine et scopolamine).- *Plant. Mad. Et Phyt.* **XII** (4) : 319-326.
35. Ducourtiou D., 1982 - Influence comparée de différentes contraintes du milieu (NaCl assèchement et carence potassique) sur le taux de certains composés azotés solubles du *Datura innoxia* Mill.- *Thèse Doc. 3èm cycle en physiologie végétale approfondie*. Paris. 72.
36. Thurzova L., 1981 - Les plantes santé qui poussent autour de nous.- *Ed bordas*. 268.
37. Clause J., 1992 - Traité pratique du jardinage.- éd. *Clause jardin* pp 412-413.
38. Demeyer K. et Dejaegere R., 1995 - The effect of total mineral dose and pH on alkaloid accumulation in *Datura stramonium* L.- *Jornnal of herbs, spices & medicinal plants*.
39. Kumar A., Singh E.K. et Virmani O.P., 1984 - Cultivation of *Hyoscyamus* as source of tropane alkaoids.- a reviw. *Cromap.* 6 (4): 195-211.
40. Valnet J., 1983 - Phytothérapie traitement des maladies par les plantes.-5èm édition, *Edition Maloine S.A.* Paris. 942.
41. Kresanek J., 1981 - les plantes médicinales.- éd *Boudouin*, Paris.222.
42. Felidj M., 1998 - Effet de certaines conditions de conservation après récolte sur *datura stramonium* L : germination des graines ; Production alcaloïdique des plantes.- *Thèse Ing Blida*, 68.

43. Gast M. et Signaut S.F., 1976 - Les techniques de conservation des graines à long terme leur rôle dans la dynamique des systèmes de cultures et des sociétés.- éd. du centre national de la recherche scientifique, Paris. 240.
44. Petrishek I.A., Lovkova M.Y Grinkevich N.I Orlova L.P. et poludennyi L.V., 1984 - Effects of cobalt and copper on the accumulation of alkaloids in *Atropa belladonna* L.- UDC **631.81.095.337** : 509-516.
45. Benhizia Z. 1989 - Contribution à l'étude d'une plante médicinale Algérienne : *Datura stramonium* L.- *Thèse de magistère*, Sci. Agr.Alger. 62.
46. Palazon J., Altabelle T., Cuside R., Ribo M. and pinol M.T., 1995 - Growth and tropane alkaloid production in *Agrobacterium* transformed roots and derived callus of *Datura*.- *Biologia plantarum*, **37** (2).161-168.
47. Debierre-Grockiego F., 1995 - Transformation de *Datura innoxia* Mill. Par *Agrobacterium tumefaciens* et *Agrobacterium rhizogenes* en vue d'augmenter la production d'alcaloïdes tropaniques (insertion d'un gène d'intérêt).- D.E.A .G.E.B.M. université de Picardie Jules Verne, 50.
48. Weaver S.E ., Dirks V.A. and Warwick S.I., 1985 - Variation and climatic adaptation in northern populations of *Datura stramonium*.- *Can.j. Bot* .**63**: 1303-1308.
49. Poletti A., 1987 - Fleurs et plantes médicinales.- éd. DELACHAUX et NESTLE S.A., Paris. 191.
50. Pol D., 2002 - Dictionnaire encyclopédique des Drogues.- Ed. Ellipses Edition Marketing. Paris.239
51. Clement S., 1987 - Larousse agricole.- éd. Larousse, Paris.
52. Verdrager D.J., 1978 - Quelques notions sur les principes actifs des plantes médicinales.- *In* : Ces médicaments qui nous viennent des plantes. *Edition Maloine*, 15-17.
53. Moreau. F.,1948 - Alcaloïdes et plantes alcaloïfères.- Presse Universitaire de France. 126.
54. Hammiche., 1988 -Systématique et morphologies botaniques.- Ed. O.P.U. Alger. 150-180
55. Renault R., 1954 - Chimie Végétale.- Ed. Erolles Gauthier-Villars. Paris. 284-298.
56. Potier P., 1985 -Les plantes médicinales.- Science et vie. N° Hors série **122** (1) : 69-81.
57. Paris R.R., 1985 - Secret et vertus des plantes médicinales.- Ed. Sélection du Reader's Digest. Paris.12-14.

58. Iserin P., 2001- Encyclopédie des plantes médicinales.- Identification, préparation, soins. Ed. Larousse- Bordas. Paris, 335.
59. Houde A., 1985 - Pérennité des alcaloïdes.- Ed. L. PARIENTE. Paris.53-223 .
60. Leete E.,1979 - Biosynthesis and metabolism of the metabolism of tropane alkaloids.- *Planta medica*. **36** (2) : 4-52 .
61. Waller G.R., and Dermer OC., 1981- The biochemistry of plant.- Comprehensive treatise. **7**. ACADEMIC PRESS. NEW YORK.
62. Koelen K.G and Gross G.G., 1982 - Partial purification and properties of tropine dehydrogénase from root cultures of *Datura stramonium*.- *Planta medica*. **44**: 227-230 .
63. Shukla Y.N and Thakur R.S., 1992- Tropane alkaloids from *Duboisia myoporoides*. *Phytochen*.- **31** (12): 4380-4390.
64. Samuelsson G., 1992 - Drugs of natural origin. A text book of pharmacology.- Stockholm.
65. Cassagnes A.M., 1982 - Etude de l'influence des conditions de néoformation *in vitro* sur le contenu alcaloïdique chez *Datura innoxia* - D.E.A. Biologie et Physique végétal. Université Pierre et Marie Curie. Paris 6^{ème} 1-2.
66. Guignard J.L., 1996 - Biochimie végétale.- 1^{ère} édition. Eds Masson, Paris, 255.
67. Taiz L. et Zeiger E., 1998. in Lassouane N., 2000 - Effet du norflurazon sur la morphologie, la teneur en pigments photosynthétique et protéines des plantules de soja (*Glycine max L*) : étude comparative de deux types de traitements.- Mémoire de DES, FSB (USTHB).
68. Guignard J.L. Cosson L. et Henry M., 1985 - Abrégé de phytochimie.- Ed. Masson, 224.
69. Robins R.J., Parr A.J., Walton N.J and Rhodes M., 1990 - Factor régulant tropane alcaloïd production in a transformed root culture of a *Datura candidat x Datura aurea*.- *Hybrid planta*. **181** : 410- 425.
70. Fabre R., 1935 - Alcaloïdes, 2^{ème} partie (les Solanacées mydriatique de la *Coca*, des *Aconites*, des *Strychinées*, *Liliacées*. Genalcaloïdes).- Ed Herman & Cie 52.
71. Cougoul N., Miginiac E. et Cosson L.,1979 - Un gradient métabolique : rapport scopolamine/hyoscyamine dans les feuilles de *Duboisia myoporoides* en fonction de leur niveau d'insertion et du stade de croissance.- *Phytochemistry*, **18** : 949-951.
72. Cosson L., Chouard P., et Paris R ., 1966“ Influence de l'éclaircissement sur les variations ontogéniques des alcaloïdes de *Datura tatula*“, *LLOYDIA* Vol. **29** (1).19-25.

73. Cosson L. et Kuntsmann-Cougoul N., 1980 - la régulation du métabolisme des alcaloïdes tropaniques (Hyoscyamine et Scopolamine) chez *Duboisia myoporoides* R. Br. Et les *Datura* cultivés en conditions contrôlées.- Acta. Hort. 96 : 135-141.
74. Brachet J. et Cosson L., 1986 - Changes in the total alkaloid content of *Datura innoxia* Mill., Subjected to salt stress.- J. Exp. Bot **37** (178): 650-656.
75. Lardinois P., Duez P., Charmart S., Lejoly J., Hanocq M., Guissou P., Sawadogo M. et Moll L. 1988- Etude des conditions d'optimisation d'une culture de *Datura stramonium* au Burkina Faso.- Bull. mèd. Trad. Pharm. **2** (1) : 31-43.
76. Van de velde H., Demeyer K. et DeJagere R., 1988 - Influence of IAA and DMAA on Hyoscyamine and Scopolamine production in *Datura stramonium* var. *tatula*.- Acta Agronomica Hungarica **37** (1-2) : 55-63.
77. Miraldi E., Masti A., Ferri S. et Comparini I.B., 2001 - Distribution of hyoscyamine and scopolamine in *Datura stramonium*.- Fitoterapia **72** : 644-648.
78. Lakhdar Ezzine D., 2003 - Etude comparée de la production d'alcaloïdes tropaniques chez deux espèces de *Datura* : *Datura ferox* L. et *Datura innoxia* MILL., spontanées et cultivées.- Mémoire de magister. INES Blida, 74.
79. Houmani Z., Houmani A., Jacquin- Dubreuil & Cosson L., 2003- Investigation on *Datura stramonium* (Solanaceae) in Algeria. *Quand. Bot. Ambientale Appl.* 14: 199-202
80. Demeyer K. et DeJaegere R. 1989 - Influence of the ion- balance in the growth medium on the yield and alkaloid content of *Datura stramonium* L.- *Plant and Soil* **114**: 289-294.
81. Demeyer K. et DeJaegere R., 1992 - Effet of the nitrogen from used in the growth medium (NO_3^- , NH_4^+) on alkaloid production in *Datura stramonium* L.- *Plant and Soil.* 147: 79-86.
82. Amdoun R., 2003 - Contribution à l'amélioration de la production d'alcaloïdes tropaniques par les apports calciques chez *Datura stramonium*.- Mémoire de magister. INES Blida, 70 p.
83. Gad A.M., Omar M.A et Aziz Y.L., 1985 - Comparative study on the anatomy of three species of henbane, *Hyoscyamus* sp.- *Alex J agric. Res* **30** (3): 1293-1302.
84. Herouart D., Sangwan R.S., Fliniaux M.A. and Sangwan-Norreel B.S., 1988 - Variation on the leaf alkaloid content of androgenic diploid plants of *Datura innoxia* Mill.- *Planta medica.* **1**. 14-17.
85. Herouart D., Gontier E., Sangwan-Norreel B.S., 1991 - Analysis of the potential use of androgenic *Datura innoxia* for the development of cell cultures producing high amounts of tropane alkaloids.- *J. Exp. Bot.* **42** (241): 1073-1076.

86. Snyder SH. et Lader MH (eds)., 1986 - Flowering plants; magic in bloom.- The encyclopedia of psychoactive drugs.
87. Chan Ty., 1995 - Anticholinergic poisoning due to Chinese herbal medicine [*Datura metel*- yangjinhua].- *Vet Hun Tox.* **37**:156-157.
88. Ellenhorn M.J. et Barceloux D.G., (eds)., 1997 - Natural Toxins, Part V in Ellenhorn's Medical toxicology.- Diagnosis and treatment of human poisoning. 2nd ed. Williams and Wilkins. Baltimore.
89. Hennin S., 1996 - Définition de la sécheresse et politique d'utilisation de l'eau.- Fourrages. n°67 : 13-25.
90. Belhassen E., Dominique T. et Monneveux P. 1995 - L'adaptation génétique face aux contraintes de la sécheresse.- *Cahier Agriculture.* Vol **4-4** : 251-261.
91. Yao N.R., Goue B., Zeller B., 1989 - Consommation en eau et efficience hydrique d'une culture de manioc dans le sud de la cote d'ivoire.- *L'agronomie tropicale*, n° 44-1 : 27- 34 .
92. Dembélé Y., Duchesne J., Ouattara S., Zida Z., 1999 - Evolution des besoins en eau du riz irrigué en fonction des dates de repiquage (Burkina Faso, Région centre).- *Cahier Agriculture.* **8** : 93-9.
93. Laouar M., Kies N., Abdellaoui K., Bennour A., Bettahar N., Kadi S., Bouzza L. et Abdelguerfi A., 1999 - Effet du stress hydrique sur le comportement physiologique de dix populations de *Medicago intertexta*.- www.Stress hydrique.com .
94. Messaoudi Z. et El Fallah A., 2001- Besoin en eau et effet du stress hydrique modéré sur la croissance et la production de la vigne dans la région du Meknes.- www.zerhoune@enameknes.ac.ma .
95. Monneveux, P., 1989 - Quelques stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hivers.- *Journée Scientifique de l'AUPELF*, Tunis : 4-91 : 21 .
96. Monneveux p., 1991 - Les stratégies de sélection pour l'amélioration des céréales.- *Séminaire international.* INRA- ICARDA. Montpellier, 25p.
97. El-Djaafari S., Roger P., Lepoivre P., Semal J., Laitant E., 1993 - Résistance à la sécheresse et réponse à l'acide abscissique : analyse d'une approche synthétique.- *Cahier Agriculture* : n°2 : 256-263 .
98. Renard C., 1985 - Mécanisme d'adaptation chez le riz pluvial, Les besoins en eau des cultures.- *Conférence internationale, I.N.R.A.* Paris. 195-200.
99. Ledoigt G. et Coudret A., 1992 - Stress hydrique : Etude des mécanismes moléculaires et des modifications de l'expression du génome.- *Bull. Soc. Bot. FR.* **139** : 175-190.

100. Ramanjulu S, Bartels D., 2002.- Drought and desiccation induced modulation of gene expression in plants- *Plant, cell and environment* **25**, 141-151
101. Larcher W. 1995 – Physiological plant ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups, eds. Springer, Verlag, Berlin Heidelberg, Germany.
102. Sarda X., Vansnyt C., Touschi D. & Casse-Deba F., 1993 - Les signaux racinaires de la régulation stomatique.- In Tolérance à la secheresse des céréales en zone méditerranéenne, Colloque I.N.R.A. n° 64 : 75-79
103. Hamilton D.W, Hills A, Kôhler B, Blatt MR. 2000 – Ca²⁺ channels at the plasma membrane of stomatal guard cells are activated by hyperpolarisation and abscisic.- Proceedings of the national Academy of sciences, USA 97, 4967-4972.
104. Irving H.R, Ghering C.A, Parish R.W. 1992.- Changes in cytosol pH and calcium of guard cells precede stomatal movements. *Proceeding Natural Academic Science USA* **89**, 1790-1794.
105. Bates L.S, Waldren R.P, TEARE I.D., 1973.- Rapid determination of free proline for water stress studies.- *Plant Soil* **39**, 205-207.
106. O'Toole J.C., Ozbun J.L. and Wallage D.H. 1977 - Photosynthetic Response to water stress in *Phaseolus vulgaris*.- *Physiol. Plant.* **40**: 111-114.
107. Hoddinott J., Ehret D.L. and Gorham P.R., 1979 - Rapid influences of water stress of photosynthesis and translocation in *Phaseolus vulgaris*.- *Can. J. Bot. Vol.* **57** : 768-775.
108. Abousouan- Seropian C. & Planchon C., 1985 - Réponse de la photosynthèse de deux variétés de blé à un déficit hydrique foliaire.- *Agronomie*, **5** (7) : 639-644.
109. Bender J., Tingey D.T., Jäger H.J., Rodecap K.D. and Clark C.S., 1991 - Physiological and Biochemical Responses of Bush Bean (*Phaseolus vulgaris*) to Ozone and Drought Stress.- *J. Plant Physiol. Vol.* **137** : 565-570 .
110. Games B.D, Hooper N.M, Houghton J.D., 2000.- l'Essentiel en Biochimie- Port royal livres. Editions BERTI. Paris. 346- 358.
111. Castrillo M. and et Trujillo I., 1994 - Ribulose-1,5-biphosphate carboxylase activity and chlorophyll and protein contents in two cultivars of French bean plants under water stress and rewatering.- *PHOTOSYNTHETICA* **30** (2): 175-181.
112. Hui-lian Xu and Ryuichi I., (September)1996 - Wheat Cultivar Differences in Photosynthetic Response to Low Soil Water Potentials. II. Maintenance of leaf turgor and relative water content.- *Japanese School of Crop Science, Vol.* **LXV**, n°3.
113. Katerji N. et Bethenod O., 1997 - Comparaison du comportement hydrique et de la capacité photosynthétique du maïs et du tournesol en condition de contrainte

- hydrique.- Conclusion sur l'efficience de l'eau. *Agronomie: agriculture and environment*. **17** : 17-24.
114. Keller F.& Ludlow MM., 1993 - Carbohydrate metabolism in drought stressed bean leaves of pigeon pea (*Cafanus cajan*).- *J. Exp. Bot.* Vol **44** n° 267: 1351-1359.
115. Castrillo M., (December) 1992 - Sucrose métabolism in Bean plants under water deficit.- *Journal of Experimental Botany*. Vol. **43**. n° 0.257: 1557-1561.
116. Dorion S. et Saini H.S., 1996 - Introduction of mal sterility in wheat by mérotic stage water deficit is preceded by a dechin in invertase activity and changes in carbohydrates metabolism in anthers.- *Plant Physiol*. **111**: 137-145.
117. Hernandez S., Deleu., C., Larher F., 2000 - Accumulation de la proline dans les tissus foliaires de tomate en réponse à la salinité.- *C.R. Acad.Sci. Paris, Sciences de la vie/ Life Sciences* : **323** : 551-557.
118. Asthon J, Delavney A.J, Desh-Pal S, Verma D., 1993.- Proline biosynthesis and osmoregulation in plants- *The plant journal* **4**, 215-223.
119. Venekamp J.H. and Koot J.T.M ., 1988 – The source of free proline an Asparagine in field bean plants *Vicia faba* during and after a short period of water whith holding. *J. plant physiol*. **132**: 102-109.
120. Iyer S, Caplan A., 1998.- Products of proline catabolism can induce osmotically regulated genes in rice.- *Plant Physiology* **16**, 203-211
121. Roosens N.H, Thu T.T, Iskandar H.M, Jacob M., 1998.- Isolation of ornithine-d-aminotrasferase cDNA and effect of salt stress on its expression in *Arabidopsis thaliana*.- *Plant physiology* **117**, - 263-271
122. Peng Z, Lu Q, Verma DP., 1996.- reciprocal regulation of Δ 1-pyrroline-5-synthethase and praline dehydrogénase genes controls praline levels during and after osmotic stress in plants.- *Molecular Gene Genetic* **253**, 334-341
123. Soltner D., 1988 - Les bases de la production végétale.- Tome 1 : *Sol. Coll. Sci. Et tech. Agri*. 466.
124. Diehil R., 1975 - Agriculture générale.- éd.J.B. Baillière, Paris. 396.

APPENDICE A
LISTE DES SYMBOLES

N : Azote

PEP : phosphoenolpyruvate

ODC: Ornithine decarboxylase

ADC: Arginine decarboxylase

PMT: Putrescine N-methyl-transferase

MPO : N-methylputrescine oxydase

TDH: Tropinone dehydrogenase

mg : Milligramme

g : Gramme

MS: Matière sèche

IAA : Indole-acetic acid

CaCO₃ : Carbonate de calcium

cm : Centimètre

mm : Millimètre

°C : Degrés Celsius

% : pourcent

ETP : évaporation potentiel

ETM : évaporation potentiel maximale

ETR : évaporation potentiel réelle

RUR : réserve utile racinaires

Ke : coefficient cultural

Mpa : Poids moléculaire actif.

ABA : l'acide abscissique

CO₂ : Dioxyde de carbone

GS : glutamate synthase

MO : La matière organique

mmohs : Millimhos

ddl : Degré de liberté

mn : Minutes

nm : Nanomètre

μg : Microgramme

λ : Longueur d'ondes

APPENDICE B

TABLEAU D'ANALYSE DE LA VARIANCE

Comparaison des teneurs en alcaloïdes tropaniques totaux en fonction des stades de développement chez le *D. stramonium* cultivé en plein champ

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fob	Fth	Signification
Variation facteur	3	8,51	2.84	15,60	2.98	Très Significative
Variation résiduelle	27	4.91	0.18			
Variation total	39	15.34	0.39			

Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux produites par le *D. stramonium* cultivé sous stress hydrique

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fob	Fth	Signification
Variation facteur	3	1.14	0.38	13.01	2.98	Très Significative
Variation résiduelle	27	0.79	0.03			
Variation total	39	2.43	0.06			

Comparaison de la teneur en alcaloïdes totaux chez les plants de *D. stramonium* au stades pleine maturité après l'arrêt de l'irrigation

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fob	Fth	Signification
Variation facteur	4	0.35	0.09	1.39	2.63	non Significative
Variation résiduelle	36	2.25	0.06			
Variation total	49	3.27	0.07			

Comparaison de la teneur en alcaloïdes totaux chez les plants de *Datura stramonium* avant et après stress hydriques

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fob	Fth	Signification
Variation facteur	7	10.45	1.49	11.64	2.17	Très Significative
Variation résiduelle	63	8.08	0.13			
Variation total	79	19.42	0.25			

*Variation de la proline en fonction du stade phénologiques chez les plants de *D. stramonium* cultivé en plein champ avant stress hydrique.*

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fob	Fth	Signification
Variation facteur	3	1.94	0.65	7.56	9.28	Non Significative
Variation résiduelle	3	0.26	0.09			
Variation total	7	2.34	0.33			

Les teneurs en proline chez *D. stramonium* cultivé sous stress hydrique

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fob	Fth	Signification
Variation facteur	3	0.74	0.25	492	9.28	Hautement significative
Variation résiduelle	3	0.00	0.01			
Variation total	7	0.75	0.11			