

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA



FACULTE DES SCIENCES AGRO – VETERINAIRES ET BIOLOGIQUES

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Magister en Sciences Agronomiques

Option: Amélioration des productions végétales

THEME

**Etude comparée de la production d'alcaloïdes tropaniques
chez deux espèces de *Datura* : *Datura ferox* L.
et *Datura innoxia* Mill., spontanées et cultivées.**

Présenté par M^r : LAKHDAR EZZINE DJILALI

Soutenu le : 07 Avril 2003

Devant le jury d'examination :

Présidente : Pr. SAHRAOUI Z. (Professeur, Université de Blida).

Promotrice : Dr. HOUMANI Z. (Maître de conférences, Université de Blida).

Examineurs : Dr. AID F. (Maître de conférences, USTHB Alger).

: M^r. AMIROUCHE R. (Chargé de cours, USTHB Alger).

Année universitaire 2002 - 2003

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, qu'il me soit permis d'exprimer toute ma gratitude à ma promotrice Madame HOUMANI Z. pour les conseils et l'aide qu'elle a bien voulu me prodiguer tout au long de la réalisation de ce travail.

J'aimerais qu'ils retrouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance :

- Madame SAHRAOUI Z. Professeur à l'université SAAD DAHLEB de Blida, qui a bien voulu présider le jury d'examen.
- Madame AID F. Maître de conférence à l'université des sciences et technologies HOUARI BOUMEDIENNE de Bab Ezzouar, qui me fait l'honneur de faire partie du jury.
- Monsieur AMIROUCHE R. Chargé de cours à l'université des sciences et technologies HOUARI BOUMEDIENNE de Bab Ezzouar, pour sa participation en tant que membre du jury.

Que Monsieur Eddoud A., enseignant et responsable du centre de calculs à l'Institut National Agronomique d'El - Harrach retrouve ici mes sincères remerciements pour son aide et ses conseils concernant les calculs statistiques.

Mes vifs remerciements vont également à tout les enseignants du département agronomie (université de Blida) qui ont participé à l'enseignement des cours de ma première année post - graduation.

J'adresse mes remerciements à tout ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, surtout mes amis (es) et mes collègues qui m'ont soutenu moralement.

Je remercie vivement M^r BENMOKADEM N. pour son soutien ininterrompu durant toute la durée de la préparation de ce travail.

Liste des abréviations

A	= <i>Atropa</i>
CaCO ₃	= Carbonate de calcium
Cl	= Chlore
Clt.	= Cultivé
Cm	= Centimètre
D.	= <i>Datura</i>
C.E	= conductivité électrique
Fig.	= Figure
g	= gramme
g/l	= gramme par litre
Hyos.	= Hyoscyamine
<i>Hyos.</i>	= <i>Hyoscyamus</i>
H/an	= Heures par an
ha	= Hectare
I.T.G.C.	= Institut Technique des Grandes Cultures
J	= Jours
K ¹⁵ NO ₃	= Nitrate de potasse isotope 15
Kg	= Kilogramme
Kg/ha	= Kilogramme par hectare
L	= LINNE
M	= Mole
Mat.	= Matière
M (°C)	= Moyenne des températures maximales
(M + m)/2	= Moyenne annuelle des températures
m	= Mètre
m ²	= Mètre carré
m (°C)	= Moyenne des températures minimales
mg	= Milligramme
mg/g	= Milligramme par gramme
mg/kg	= Milligramme par kilogramme
Mill.	= Miller
mM	= Millimole

mm	= millimètre
MF	= Matière fraîche
Mo	= Matière organique
MS	= Matière sèche
NaCl	= Chlorure de sodium
$(^{15}\text{NH})_2\text{SO}_4$	= Sulfate d'ammonium isotope 15
Nor.	= Normale
P	= Probabilité
P F	= Poids frais
P. h	= Période humide
P.S	= Phytomasse sèche
P.S _{cult.}	= Poids sec cultivé
P.S _{sauv.}	= Poids sec sauvage
pH	= potentiel hydrogène
Plt.	= Plante
Rdt	= Rendement
S1, S2, S3, S4	= Stade1, stade2, Stade3, Stade4
Scop.	= Scopolamine
SV	= Sauvage
SM	= Semé
T	= Transplanté
Tab.	= Tableau
US.D.A.	= United states department of agriculture

ملخص:

هدف دراسة هذا البحث هو تقييم إنتاج ألكالويدات التروبان لنوعين من نبات من الدتورا (*Datura*) في حالة عشب متوحش و مزروع (بالتنقيط و البذر) خلال أربع (4) مراحل من النمو. لقد قمنا بقياس محتوى النباتين من الألكالويدات الإجمالية في حالة عشب متوحش و في حالة الزراعة (بالتنقيط و البذر) ثم قارنا تأثير الوسط و طريقة الزراعة على المحتوى الألكالويدي للنباتين. تحليل النتائج أظهر أن طريقة الزرع بالتنقيط تحسن إنتاج الكتلة النباتية و بالتالي إنتاجية الألكالويدات الإجمالية. محتوى النباتين من الألكالويدات مختلف. أثناء مختلف مراحل النمو. الطور الثاني هو الطور الأكثر غناء بالألكالويدات عند *D. innoxia* المزروع بالتنقيط أو المتوحش. *D. ferox* تنتج أقصى كمية في الطور الرابع. هذه الدراسة أظهرت أن *D. innoxia* تنتج الألكالويدات أكثر من *D. ferox*.

الكلمات الأساسية:

D. ferox, *D. innoxia* ألكالويدات التروبان، ألكالويدات إجمالية، أطوار النمو، متوحش، التنقيط، البذر

Résumé :

Notre étude a pour but d'évaluer la production des alcaloïdes tropaniques de deux espèces de *Datura* (*Datura ferox* et *Datura innoxia*) à l'état sauvage et cultivé au cours de 4 stades de développement. Nous avons mesuré la teneur en alcaloïdes totaux des deux espèces poussant à l'état sauvage et cultivé (transplantation et semis) et ensuite nous avons comparé l'influence du milieu, du stade de développement et du mode de culture sur la composition alcaloïdique des deux espèces. Les analyses des résultats ont démontré que la culture par transplantation améliore nettement l'accroissement de la masse végétative et par conséquent leur productivité en alcaloïdes totaux. Chez les deux espèces les teneurs en alcaloïdes durant les différents stades de développement sont différentes. Le stade 2 est le stade le plus riche chez *D. innoxia* cultivé par transplantation ou poussant à l'état sauvage. *D. ferox* produit le maximum de richesse au stade 4. Cette étude a révélé que la production alcaloïdique de *D. innoxia* est nettement supérieure à celle de *D. ferox*.

Mots clés : *D. ferox*, *D. innoxia*, alcaloïdes tropaniques, alcaloïdes totaux, stade de développement, sauvage, transplantation, semis.

Abstract :

Our survey has for goal to value the production of the tropan alkaloids of two species of *Datura* (*Datura ferox* and *Datura innoxia*) to the wild and cultivated state during 4 stages of development. We measured the content in total alkaloids of the two species pushing to the wild and cultivated state (transplantation and seedling) and then we compared the influence of the middle, of the development stage and the type of culture on the two species alkaloids composition. The analysis of the results demonstrated that the culture by transplantation improves the growth of the vegetative mass distinctly and therefore their productivity in total alkaloids. At the two species the contents in alkaloids during the different stages of development are different. The second stage is the richest stage at *D. innoxia* cultivated by transplantation or pushing to wild state. *D. ferox* produces the maximum of wealth to the stage 4. This survey revealed that the alkaloids production of *D. innoxia* is distinctly higher than the content of *D. ferox*.

Keys words : *D. ferox*, *D. innoxia*, tropan alkaloids, total alkaloids, stage of développement, wild, transplantation, seedling.

S O M M A I R E



INTRODUCTION

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Classification et biologie des <i>Solanaceae</i> et des <i>Datura</i>	3
2. Biologie et alcaloïdes du <i>Datura ferox</i> L.....	4
3. Biologie et alcaloïdes du <i>Datura innoxia</i> Mill.....	7
4. Les alcaloïdes.....	8
4.1 État naturel et rôle dans les plantes	8
4.2 Propriétés physico-chimiques et physiologiques des alcaloïdes.....	9
4.2.1 Les alcaloïdes tropaniques.....	10
4.2.1.1 L'hyoscyamine.....	11
4.2.1.2 L'atropine.....	12
4.2.1.3 La scopolamine (hyoscyne).....	12
5. Biosynthèse des alcaloïdes.....	13
6. Facteurs influençant la composition alcaloïdique des plantes.....	19
7. Comportement des alcaloïdes après la récolte des plantes.....	22
8. Extraction des alcaloïdes tropaniques.....	22
9. Germination des graines de <i>Datura</i>	23

EXPERIMENTATION

1 MATERIEL ET METHODES

1.1. Présentation des stations expérimentales.....	25
1.2. Matériel végétal.....	25
1.2.1 Identification des espèces.....	25
1.2.2 Récolte des échantillons.....	25
1.2.3 Tests de germination des graines.....	26
1.2.4 Culture de plants de <i>D. ferox</i> et <i>D. innoxia</i>	26

1.2.4.1 Transplantation.....	26
1.2.4.2 Semis en plein champ.....	27
1.2.5 Récolte des plants de <i>D. ferox</i> et <i>D. innoxia</i> pour les analyses.....	27
1.2.6 Traitement des plants après récolte.....	28
1.3. Techniques analytiques.....	28
1.3.1 Analyse des sols.....	28
1.3.2 Détermination de la matière sèche.....	28
1.3.3 Extraction des alcaloïdes.....	28
1.4. Analyses des résultats.....	29

2. RESULTATS ET DISCUSSIONS

2.1 Caractéristiques des deux stations expérimentales.....	31
2.1.1 Caractéristiques climatiques.....	31
2.1.2 Altitude.....	32
2.1.3 Caractéristiques édaphiques.....	32
2.2. Test de germination des graines à l'étuve.....	34
2.3. Culture.....	34
2.3.1 Culture par transplantation.....	34
2.3.2 Culture par semis en plein champ.....	34
2.4. Evolution de la phytomasse de <i>D. ferox</i> et <i>D. innoxia</i>	35
2.4.1 <i>Datura ferox</i>	35
2.4.2 <i>Datura. innoxia</i>	37
2.5. Composition en alcaloïdes totaux des parties aériennes des plants.....	39
2.5.1 <i>Datura ferox</i>	39
2.5.1.1 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux entre les stades de développement des plantes de <i>Datura ferox</i> poussant à l'état sauvage.....	41
2.5.1.2 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux entre les stades de développement des plantes de <i>Datura ferox</i> transplantées.....	43

2.5.1.3 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux entre les stades de développement des plantes de <i>Datura ferox</i> transplantées et sauvages.....	45
2.5.2 <i>Datura innoxia</i>	47
2.5.2.1 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux entre les stades de développement des plantes de <i>D. innoxia</i> sauvages.....	49
2.5.2.2 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux entre les stades de développement des plantes de <i>D. innoxia</i> transplantées.....	51
2.5.2.3 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux entre les stades de développement des plantes de <i>D. innoxia</i> semées.....	54
2.5.2.4 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux entre les stades de développement des plantes de <i>D. innoxia</i> transplantées, sauvages et semées.....	56
2.5.3 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux entre les stades de développement des plantes de <i>D. ferox</i> et de <i>D. innoxia</i>	58
2.6 Rendements alcaloïdiques.....	60
- CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	64
- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	66

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les plantes synthétisent les constituants indispensables à leur vie, ce sont les métabolites primaires et d'autres métabolites dits secondaires produits en faibles quantités. Ces derniers sont d'une utilité importante pour les industries agroalimentaire (colorants, édulcorants), cosmétique (tanins huiles essentielles) et particulièrement pour l'industrie pharmaceutique (hétérosides cardiotoniques, alcaloïdes, flavonosides etc.) (FLINIAUX, 1991). Parmi ces drogues, on distingue les alcaloïdes tropaniques telles que l'hyoscyamine, la scopolamine et l'atropine qui représentent un important groupe de composés thérapeutiques ayant des propriétés sédatives (FABRE, 1935 ; LOUNASMAA et TAMMINEN, 1993 ; GOODMAN et GILMAN, 1996). Ces substances appartiennent au groupe des parasympatholytiques (VALETTE, 1964 ; DEYSSON, 1970 ; BRACHET *et al.* , 1999). L'atropine est utilisée pour ses propriétés mydriatiques, L'hyoscyamine (duboisine) est utilisée pour ses propriétés mydriatiques et antisecretoires ; la scopolamine (hyoscine) est utilisée en association avec la morphine dans l'anesthésie chirurgicale, le parkinsonisme et dans le mal des transports en association avec divers antihistaminiques (VALETTE, 1964 ; GOODMAN et GILMAN, 1996). Ces alcaloïdes sont synthétisés par des végétaux appartenant à la famille des *Solanaceae* qui regroupe principalement les genres *Atropa*, *Brugmansia*, *Brunfelsia*, *Datura*, *Duboisia*, *Hyoscyamus*, *Latua*, *Mandragora*, *Scopolia* et *Solandra*. Les genres *Atropa*, *Datura*, *Duboisia*, *Hyoscyamus* et *Scopolia* constituent les plantes à alcaloïdes tropaniques les plus importantes (SAMUELSON, 1992 ; BRUNETON, 1993).

Actuellement avec le retour à l'utilisation des produits d'origine naturelle, les médicaments d'origine végétale sont extraits exclusivement des plantes cultivées dans de nombreux pays à des fins commerciales. Ainsi, certains pays de l'Europe de l'Est, l'Espagne et l'Australie cultivent du *Datura* et du *Duboisia* pour l'extraction des alcaloïdes tropaniques (STARY, 1992).

En Algérie les alcaloïdes sont importés pour les besoins de l'industrie pharmaceutique sous formes d'extraits d'alcaloïdes totaux, de sulfate d'atropine, de butyle bromure d'hyoscine ou d'hyoscine pure (scopolamine) (AZOUAOU *et*

al., 1983 in BENHIZIA, 1989) ; Alors que plusieurs travaux signalent l'existence en Algérie de nombreuses plantes produisant des alcaloïdes tropaniques appartenant aux genres *Atropa*, *Datura* et *Hyoscyamus* (QUEZEL et SANTA, 1963 ; OZENDA ; 1983 HOUMANI *et al.* 1994 ; HOUMANI, 1999 ; HOUMANI et COSSON, 2000).

Le contenu alcaloïdique dans la plante est variable en fonction de plusieurs paramètres tels que les stades de développement de la plante, les conditions environnementales et la diversité des espèces (COSSON, 1976 ; CASSAGNES, 1982 ; HOUMANI, 1999). Pour optimiser la production d'alcaloïdes, de nombreuses stratégies ont été mises en œuvre telles que la sélection d'espèces à potentiel élevé et leur amélioration.

Notre étude a pour but d'évaluer la production des alcaloïdes tropaniques de deux espèces de *Datura* (*D. ferox* et *D. innoxia*) à l'état sauvage et cultivé au cours de leur développement.

La première partie de cette étude traite de l'état actuel des recherches dans ce domaine. La deuxième partie porte sur l'expérimentation : Dans une première expérience, nous mesurons la teneur en alcaloïdes totaux des deux espèces poussant à l'état sauvage, dans une deuxième expérience, nous mesurons la teneur en alcaloïdes totaux des deux espèces à l'état cultivé (transplantation et semis), dans une troisième expérience, nous comparons l'influence du milieu et du mode de culture sur la composition alcaloïdique des deux espèces. Les connaissances apportées par ce travail contribueraient à définir les conditions de culture permettant l'obtention de meilleurs rendements alcaloïdiques et la détermination de l'espèce la plus productive en alcaloïdes totaux.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Classification et biologie des *Solanaceae* et des *Datura*.

Selon LAFON *et al.*, (1996), le genre *Datura* appartient à l'embranchement des Spermatophytes, sous embranchement des Angiospermes, Classe des Dicotylédones, sous classe des Gamopétales, ordre des Tubiflorales (*Solanales*) et la famille des *Solanaceae*

Selon LEBON, (1971) le terme *Datura* viendrait de *Dhatura*, nom donné à cette plante signifiant «pomme épineuse» ou «pomme de la mort». Le nom générique, d'origine arabe, dériverait probablement du mot *tat* (piquer), nom acquis grâce aux épines du fruit et la saveur de la plante (BENISTON, 1984; BIANCHINI et PANTANO, 1986).

D'après ADZET *et al.*, (1979), Linné en 1737 a distingué quatre groupes de *Datura* : *Stramonium*, *Cerataucola*, *Brugmansia* et *Datura* proprement dit.

Le groupe des *Stramonium* comporte : le *Datura stramonium* (herbe des sorciers, pomme du diable, pomme épineuse...), le *D. ferox* et le *D. quercifolia* (GAY *et al.*, 1986), le *D. leavis* et le *Datura tatula*. Cette dernière est caractérisée par la coloration violette des fleurs.

Selon ADZET *et al.*, (1979) *D. tatula* est considérée comme une espèce par BERNHARDH et WETTSTEIN et comme une variété par KOCH (var. *chalybea* Koch) et par TORREY (var. *tatula* L.).

- Le groupe de *Datura cerataucola*.

- Le groupe du *Datura brugmansia* qui se distingue par trois espèces : *Datura arborea*, *Datura sanguinea* et *Datura suaveolens* (GAY *et al.*, 1986).

- Le groupe des *Datura* proprement dit comprend 6 espèces : *Datura pruinosa*, *Datura leichhardtii*, *Datura meteloides*, *Datura innoxia*, *Datura discolor* et *Datura metel*.

La famille des *solanaceae* compte environ 2200 espèces dont près de la moitié appartiennent au genre *Solanum*, le reste se répartit en 90 genres (Anonyme 2001). Ce sont des plantes herbacées, annuelles (Tabac, pomme de terre), bisannuelles (Jusquiame), vivaces (Belladone) ou arbustives (*Duboisia* et certains *Datura*). Les feuilles sont isolées, non stipulées à limbe entier (tabac), découpées en lobes triangulaires (*Datura et Jusquiame*) ou composées pennées (pomme de terre, tomate). Les fleurs sont solitaires disposées en cymes bipares (*Datura, Belladone*) ou en cymes scorpioïdes (*Jusquiame*). Elles sont hermaphrodites, actinomorphes de type 5. Le premier bouton floral apparaît dès la 8^{ème} semaine après la germination. (COSSON *et al*, 1990).

Le fruit peut être une baie polysperme avec un calice accrescent chez *Atropa*, une capsule déhiscente chez *Datura* ou une pyxide chez *Hyoscyamus* (PARIS et MOYSE, 1971). Les graines sont albuminées avec embryon anatrope ou campilotrope (PARIS et MOYSE, 1971; HAMMICHE, 1988).

Les poils tecteurs sont pluricellulaires et unisériés (lisses chez la Belladone et la Jusquiame, ponctués chez le *Datura*).

Les poils glanduleux (sécréteurs) caractérisés par

- pied pluricellulaire et une tête unicellulaire chez la Belladone.
- Pied pluricellulaire à tête pluricellulaire chez la Jusquiame.
- Pied pluricellulaire court avec une tête pluricellulaire chez les *Datura*.

Dans les cellules, il est signalé la présence de cristaux d'oxalate de calcium sous forme de sable chez la Belladone, de mâcles chez les *Datura* et de prismes chez la Jusquiame (PARIS et MOYSE, 1971, HAMMICHE, 1988).

2. Biologie et alcaloïdes du *D. ferox* L.

Originnaire de Chine, le *Datura ferox* L. est naturalisé dans les régions chaudes du monde (PARIS et MOYSE, 1971; BHATT et SARATBABU, 1988). C'est une espèce répandue en Espagne, en Sicile, dans le sud de l'Asie (ROQUES, 1959) et au Maroc (BEKKOUCHE *et al.*, 1994). En France JAUZEIN (1995) signale la raréfaction du taxon, avec un risque de disparition nécessitant des mesures de protection. C'est une plante herbacée, la tige est verte, glabre, érigée de 50 à 150 cm de hauteur, d'un diamètre de 1 à 1.5 cm. Les feuilles sont alternes, glabres, vertes à angle très sinueux, à dents larges faisant un angle de

plus de 45° (JAUZEIN, 1995). Les fleurs sont solitaires en forme d'entonnoir, la corolle est blanche élargie longitudinalement de 4 à 6 cm de long portant 5 pétales ; Le calice est légèrement plus petit que la longueur de la corolle. Les anthères sont blanches, le fruit est une capsule ovoïde (5-8 x 4-5 cm), portant des épines inégales à base légèrement épaisse, régulièrement conique avec quatre (04) valves. Les graines sont réniformes de couleur noire (HOUMANI *et al.*, 1999).

C'est une mauvaise herbe spécifique des cultures d'été (BALLARE *et al.*, 1987 ; REISMAN-BERMAN et KIGEL, 1991), de soja (BALLARE *et al.*, 1988) et du coton (REISMAN-BERMAN et KIGEL, 1991). En étudiant la dynamique de population de *Datura ferox* infestant la culture de soja, BALLARE *et al.*, (1987) ont conclu que la production des graines de l'adventice est importante (de 500 à 1500 graines par plante) lorsque le soja est semé en faibles densités. Selon les mêmes auteurs la contamination de graines de soja par les graines de *Datura ferox* est un sérieux problème qui impose des retombées économiques négatives sur le soja. Les graines de *Datura ferox* infestent particulièrement les cultures de coton où il est difficile de l'éliminer à cause de la grande persistance de ses graines (REISMAN-BERMAN et KIGEL, 1991).

Selon HOUMANI et COSSON (1998) *Datura ferox* est une espèce à alcaloïdes tropaniques qui n'est signalée dans aucune flore algérienne. Elle est nouvellement identifiée en Algérie poussant sur des sols légèrement basiques, de textures limono - sableuses à limoneuses et sous des températures maximales allant de 20 à 35°C et minimales de 4 à 14°C.

ROMEIKE (1961) a obtenu un hybride vigoureux à partir d'un croisement de *D. ferox* et *D. stramonium*. Cet hybride a montré une richesse en alcaloïdes avec une prédominance de la scopolamine.

Datura ferox est connue par les travaux sur la biogénèse des alcaloïdes. Ainsi *D. ferox* greffé sur une racine de *Cyphomandra betacea* (solanacée sans alcaloïdes) a conduit à l'obtention de plantes dépourvues d'alcaloïdes ; Par contre, ces plantes plongées dans une solution d'hyoscyamine, font apparaître et accumuler de la scopolamine dans les organes aériens du greffon (PARIS et MOYSE, 1971). FABRE, (1935), PARIS et MOYSE, (1971), CASSAGNES, (1982), HOUMANI, (1999), signalent la présence de la scopolamine à des teneurs variables dans le genre *Datura*. *D. ferox*, *D. quercifolia* et *D. innoxia* renferment

plus de scopolamine que d'hyoscyamine, plus particulièrement le *D. ferox* (HOUMANI, 1999). *D. ferox* serait une source importante de production de scopolamine (HOUMANI et COSSON, 1998). Elle renferme plus de scopolamine que d'hyoscyamine (PARIS et MOYSE, 1971 ; HOUMANI et COSSON, 1998 ; BISIO *et al.*, 2000). GUILLON, (1950) a étudié la teneur en scopolamine de *D. stramonium*, ainsi il a constaté la présence de cet alcaloïde dans la racine, la tige, le système pilifère, la feuille et la fleur avec ses différentes parties.

D'après GAY *et al.*, (1986), le *Datura ferox* est un puissant narcotique contenant 0,3% de scopolamine, 0,1% de mételoïdine et 0,05% de 3-6 diglyteloïdine. BEKKOUCHE *et al.*, (1994) signalent que *D. ferox* est une espèce riche en alcaloïdes renfermant 0.15% d'alcaloïdes totaux dans les feuilles et 0.39% dans les graines.

Selon HOUMANI (1999), la production moyenne d'alcaloïdes majeurs (Scopolamine + Hyoscyamine) des parties aériennes est de 106 mg par plant, ces dernières renferment 4,5 fois plus d'alcaloïdes majeurs que les racines. Dans les parties aériennes, *D. ferox* contient 1.10 mg/g M.S de scopolamine et 0.06 mg/g M.S d'hyoscyamine. Au niveau des racines cette espèce contient 0.10 mg/g M.S. de scopolamine et 0.15 mg/g M.S d'hyoscyamine. Ainsi au niveau des parties aériennes la scopolamine est 18.3 fois beaucoup plus importante que l'hyoscyamine. Les racines renferment plus d'hyoscyamine que de scopolamine avec un rapport de scopolamine / hyoscyamine égal à 0.66 (HOUMANI et COSSON, 2000).

En 1995 VITALE et ses collaborateurs ont identifié cinq nouveaux alcaloïdes dans les graines de *D. ferox* de l'Argentine : 3 α tigloyloxy-tropane, 3 phenylacetoxy- 6 β , 7 β époxytropane, apohyoscyne, 7 β hydroxy-6 β propenyloxy-3 α trocyloxytropane. CIRIGLIANO *et al.*, (1995) ont isolé de nouveaux withanolides (il s'agit de lactones stéroïdales), en particulier le 15 β -hydroxynicandrine. Le même auteur signale que les feuilles renferment également de la nicandrine (withaferoxolide).

3. Biologie et alcaloïdes du *D. innoxia* Mill.

Originnaire du Mexique (PARIS et MOYSE, 1971 ; VALLET, 1996), *D. innoxia* est une espèce souvent confondue avec *D. metel* (PARIS et MOYSE, 1971). Elle est très répandue dans les zones chaudes et humides de l'Asie, de l'Amérique du Sud, de l'Amérique centrale, d'Italie et de l'Espagne (DUCROCCQ, 1994). Cette espèce a été déterminée en 1949 par MAIRE comme étant *Datura meteloides* (herbier de l'I.N.A d'ALGER). Les travaux de HOUMANI (1999) ont révélé que c'est *Datura innoxia*. En Algérie, elle croît le long des routes et sur les talus en dehors des champs cultivés.

C'est une plante annuelle, à tige dressée, veloutée pouvant atteindre plus de 2 mètres de hauteur (CASSAGNES, 1982). Les feuilles sont alternes, dentées au sommet et faiblement dentées à la base, comme les tiges elles sont recouvertes de nombreux poils fins leur donnant un aspect velouté. Elle est visqueuse au toucher. Elle possède de nombreux poils tecteurs verruqueux et fins (PARIS et MOYSE, 1971). Après l'apparition du premier bouton floral terminal, la plante continue son développement en se ramifiant en cyme bipare (DUCROCCQ, 1994). C'est une espèce autogame présentant un caryotype de 24 chromosomes (DUCROCCQ, 1994). Les fleurs mesurent 15 à 18 cm de long et contiennent cinq anthères. Le calice est formé de lobes souvent irréguliers, la corolle est blanche, de grande taille, infundibuliforme à tube plissé longitudinalement avec une extrémité évasée terminée par 10 dents. Le fruit a un aspect très caractéristique, c'est une capsule pendante, de couleur verte, ovoïde et couverte d'épines s'ouvrant à maturité en 4 segments. Chaque fruit peut contenir jusqu'à cent graines. Ces graines sont assez volumineuses, réniformes, aplaties, de couleur brune à maturité. Elles mesurent environ 5 mm. La racine est volumineuse, pivotante, et peu profonde (PARIS et MOYSE, 1971).

KAPAH et SARIN en 1978 signalent que la culture de cette espèce en sol sable-limoneux, riche en matière organique ayant une humidité relative de 70% et un pH compris entre 6,4 et 7,4 contribue à une bonne croissance végétative, une mise à graine importante et une hausse de production alcaloïdique.

Selon DUCOURTIOUX, (1982) *Datura innoxia* réagit différemment à certaines contraintes du milieu (chlorure de sodium, assèchement et carence

potassique), il a conclu que la biosynthèse alcaloïdique de cette espèce est peu affectée par les contraintes hydrique et saline.

Tout les organes de la plante produisent des alcaloïdes tropaniques (DESAILLY, 1988) dont les plus importants sont l'hyoscyamine et la scopolamine. Selon PETRI *et al.*, (1989), cette plante renferme de 0.30% à 0.50% d'alcaloïdes totaux avec comme base principale la scopolamine accompagnée d'hyoscyamine et d'atropine.

Elle présente un intérêt certain pour l'industrie pharmaceutique (DUCROCQ, 1994). Selon HOUMANI et COSSON, (2000), les racines de *D. innoxia* renferment 7 fois plus d'hyoscyamine que de scopolamine. Les parties aériennes contiennent 1,03 mg/g MS de scopolamine + hyoscyamine avec un rapport scopolamine / hyoscyamine de 2,81. L'hyoscyamine est le principal alcaloïde des plantes fraîches et des feuilles adultes. *D. innoxia* renferme 20 alcaloïdes différents dont une dizaine sont présents dans le chevelu racinaire (IONKOVA *et al.*, 1994). CASSAGNES, (1982) relève dans les racines la présence de cuscchygrine, base pyrrolinidique formée de deux noyaux hygrine (composé non dérivé du tropane). La teneur en alcaloïdes est maximale au stade végétatif puis diminue rapidement à la floraison et à la fructification (HOUMANI, 1999). La partie végétative est riche en scopolamine, les racines sont riches en hyoscyamine. La teneur moyenne en alcaloïdes majeurs (scopolamine + hyoscyamine.) est de 109 mg / plant.

C'est une espèce présentant des facilités de manipulation en culture *in vitro*, elle peut être régénérée à partir de presque tous ses organes (DUCROCQ, 1994).

4. Les alcaloïdes.

4.1 Etat naturel et rôle dans les plantes .

On désigne sous le nom d'alcaloïdes des composés azotés complexes synthétisés surtout chez les végétaux. Ils ont un caractère basique marqué, comptant une ou plusieurs fonctions amines, actifs à faibles doses dont ils sont toxiques (BINE et BRUNEL, 1968 ; HAMMICHE, 1988).

Ils sont présents essentiellement dans les plantes supérieures environ 10 à 15% des plantes vasculaires (ANONYME, 2001).

On les rencontre souvent chez les angiospermes et particulièrement chez les dicotylédones et sont à des degrés divers plus ou moins spécifiques DEYSSON (1970). Les alcaloïdes tropaniques sont produits généralement par les *Solanaceae* et par certaines familles proches (LOUNASMAA et TAMINEN in CHERKAOUI *et al.*, 1997). Selon BINE et BRUNEL (1968), les alcaloïdes ne sont jamais fournis par les mousses et les algues, ils sont rares chez les fougères et les gymnospermes. Bien que certains représentant de ces groupes fournissent des alcaloïdes très importants comme l'ergotamine de l'ergot du seigle (champignon) et l'éphédrine chez *Ephedra* (gymnosperme).

Certains alcaloïdes sont connus comme étant des phytotoxines contre des insectes (HASHIMOTO et YAMADA, 1994). Ils interviennent dans la modulation du comportement de la plante par rapport à son environnement tels que la résistance au stress et la défense contre les prédateurs (VALLET, 1996).

4.2 Propriétés physico-chimiques et physiologiques des alcaloïdes.

Selon HELLER *et al.* (1998), les alcaloïdes sont des métabolites secondaires des végétaux, dotés d'une très grande diversité chimique dont plus de 12000 sont à ce jour identifiés. HOUDE en 1985 indique que les alcaloïdes renferment 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.

Tous les alcaloïdes fournissent des précipités colorés avec des réactifs à base d'iode, réactifs de Bouchardât et Dragendorff (HAMMICHÉ, 1988).

Ils sont classés d'après la nature de la structure fondamentale (DEYSSON, 1970).

D'après PARIS et MOYSE (1971), les alcaloïdes appartiennent à trois groupes :

Le groupe des gluco-alcaloïdes stéroïdiques ou azastéroïdes, dans lesquels une génine azotée stéroïdique est unie à plusieurs oses. Ces alcaloïdes sont fournis par les genres *Solanum* et *Lycopersicum*. On y trouve également diverses substances notamment des amides (capsaïcine) à propriétés rubéfiantes (principes actifs des piments).

Le groupe des nicotines : dérivés de la pyridine et de la pipéridine telles que la conine et la nicotine.

Le groupe des alcaloïdes tropaniques qui dérivent du noyau tropane et d'acides aromatiques. Ces alcaloïdes tropaniques sont fournis par les *Solanaceae* dites mydriatiques.

4.2.1 Les alcaloïdes tropaniques.

Les alcaloïdes tropaniques sont des bases azotées généralement hétérocycliques à réaction alcaline (BINE et BRUNEL, 1968 ; HAMMICHE, 1988).

L'hyoscyamine et la scopolamine sont considérés comme les composants majeurs des alcaloïdes tropaniques (PARIS et MOYSE, 1971; HASHIMOTO *et al.*, 1991; HEROUART *et al.*, 1991).

L'isolement de ces deux principaux alcaloïdes a été réalisé au cours du 19^{ème} siècle. Se sont des esters d'un acide alcool aromatique : l'acide tropique (Fig.1) et d'un alcool dérivant du tropane : le tropanol dans le cas de l'hyoscyamine ou le scopanol (ou epoxytropanol) pour la scopolamine (Fig. 4) (COSSON, 1976 ; LEETE, 1979 ; WALLER et DERMER, 1981 ; CASSAGNES, 1982 ; KOELEN et GROSS, 1982 ; SHUKLA et THAKUR, 1992).

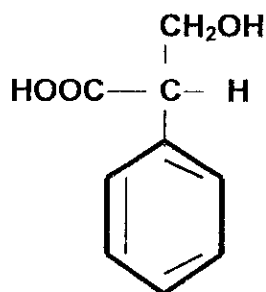


Figure 1 : L'acide tropique.

Ces alcaloïdes ont la propriété de se transformer assez facilement les uns dans les autres. Ainsi l'hyoscyamine qui est une base lévogyre se transforme facilement en atropine par chauffage ou par simple dissolution à froid dans l'alcool additionné de 10% de lessive de soude. Ces deux molécules sont des isomères racémiques (FABRE, 1935).

Les alcaloïdes sont bien connus en raison de leurs propriétés thérapeutiques mais aussi de leur toxicité.

Seïon VALETTE (1964), HAMMICHE (1988), CHERKAOUI *et al.*, (1997), MATEUS *et al.*, (1998), MATEUS *et al.*, (2000), ces alcaloïdes (atropine, hyoscyamine et scopolamine) présentent des propriétés anticholinérgiques, antispasmodiques, mydriatiques et parasympholytiques.

A doses élevées ces substances sont toxiques pour les hommes et les animaux domestiques (LIST et SPENCER, 1976). Les doses létales chez l'adulte sont 5 mg d'atropine et 4 mg de scopolamine. Chez l'enfant la dose fatale est estimée à 0,1 mg/kg d'atropine ou de scopolamine (BRUNETC'J, 1993).

4.2.1.1 L'hyoscyamine (C₁₇H₂₃NO₃).

On la rencontre dans la Belladone, la Jusquiame et le Datura mélangé avec l'atropine (VALETTE, 1964).

L'hyoscyamine ou duboisine (Fig.2), se présente en aiguilles incolores, inodores, anhydres avec une saveur désagréable. Elle est soluble dans l'alcool, l'éther, le benzène et assez soluble dans l'eau chaude. Elle est stable à 100°C.

C'est un ester de l'acide tropique gauche et du tropanol (CASSAGNES, 1982). Extraite en 1881 à partir des graines de l'*Hyoscyamus niger*. Cette substance s'isomérisé facilement en atropine. Au cours de son extraction elle est souvent transformée en atropine sous l'effet de la chaleur (FABRE, 1935, PARIS et MOYSE, 1971) : Elle commence à se transformer en atropine à partir de 106°C, la transformation est totale vers 118°C. Le froid provoque la même transformation à condition d'ajouter de la soude, du carbonate de sodium ou de l'ammoniaque (FABRE, 1935).

L'hyoscyamine présente des propriétés sédatives, à forte dose elle provoque des effets indésirables sur le système nerveux central (COSSON *et al.*, 1978). Sur le test de la sécrétion salivaire, l'hyoscyamine dérivé lévogyre est environ deux fois plus active que l'atropine racémique et douze fois plus active que l'hyoscyamine dérivé dextrogyre sans être plus toxique (FABRE, 1935). L'atropine et l'hyoscyamine ont les mêmes effets pharmacologiques et toxicologiques ; Cependant à dose égale, l'hyoscyamine se révèle plus active.

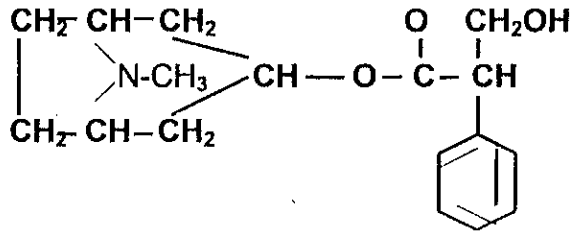


Figure 2 : HYOSCYAMINE (CASSAGNES, 1982).

4.2.1.2 L'atropine (C₁₇H₂₃NO₃).

L'atropine est l'ester de l'acide (d + l) tropique et du (d + l) tropanol (FABRE, 1935). L'isomère racémique correspondant à l'atropine est l'atrosine (VALETTE, 1964). Le tropanol dérive d'une combinaison hétérocyclique formée par la condensation de la pyrrolidine et de la pipéridine, ayant en commun l'atome d'azote et les deux carbones situés de part et d'autre. Les esters de l'acide tropique sont connus par le terme générique de tropeine (VALETTE, 1964).

Selon HASHIMOTO *et al.*, (1991) l'atropine est l'isomère racémique de l'hyoscyamine. Elle est soluble dans l'alcool et dans l'eau (moins soluble que l'hyoscyamine)

L'atropine provoque une accélération des battements cardiaques causant une légère élévation de la pression artérielle. Elle inhibe la sécrétion du mucus broncho-pulmonaire. L'action de l'atropine se manifeste par un relâchement des fibres musculaires lisses au niveau intestinal ce qui provoque le ralentissement du transit, elle provoque la rétention urinaire. Elle tarit la sécrétion des glandes salivaires (GAY *et al.*, 1986). Elle agit également sur les centres encéphaliques et notamment sur le cortex. Son action mydriatique est utilisée en ophtalmologie pour l'examen du fond de l'œil ou pour le traitement des inflammations de l'iris ou de la cornée (FABRE, 1935 ; VALETTE, 1964 ; KEELER, 1979). A dose élevée, elle agit sur le système nerveux central en provoquant une agitation, une confusion, un délire atropinique et hallucination (KEELER, 1979).

4.2.1.3 La scopolamine (hyoscyne) (C₁₇H₂₁NO₄)

La scopolamine ou hyoscyne (Fig. 3) est plus abondante chez le *Datura* et la *Jusquiame*. Elle a été isolée en 1892 par SCHMID à partir des racines de *Scopolia atropoides*, elle se présente sous forme de cristaux incolores, peu soluble dans

l'eau, très soluble dans l'éther, l'alcool, le chloroforme, elle fusionne à 109°C (FABRE, 1935 ; PARIS et MOYSE, 1971 ; CASSAGNES, 1982).

La scopolamine est une substance toxique pour les animaux domestiques et pour l'homme (LIST et SPENCER, 1976).

Elle présente des propriétés sédatives, hypnotiques et amnésiantes. Elle est utilisée en association avec la morphine et la spartéine pour réaliser un sommeil crépusculaire, préparant l'anesthésie chirurgicale (VALETTE, 1935 ; VERDRAGER, 1978 ; SAMUELSON, 1992). Elle est employée dans le traitement de la maladie du Parkinson, elle est également employée dans le mal des transports (navigation) en association avec divers antihistaminiques (VALETTE, 1964, JOSEPH *et al.*, 1987). Elle est utilisée notamment dans la préparation du sérum de vérité (GAY *et al.*, 1986).

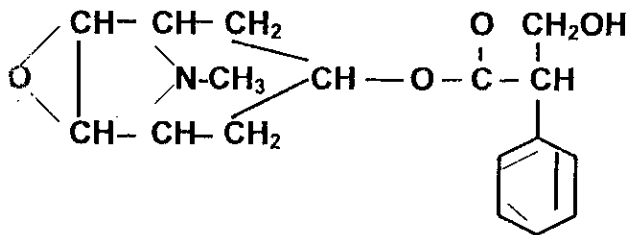


Figure 3 : SCOPOLAMINE (CASSAGNES, 1982).

La scopolamine présente des propriétés allélopathiques, elle est connue par son pouvoir inhibiteur précoce au semis de quelques plantes cultivées (LOVETT et POTTS, 1987).

5. Biosynthèse des alcaloïdes.

La voie de biosynthèse des alcaloïdes tropaniques est une des voies de du métabolisme secondaire les mieux connues. Grâce à l'emploi de radioéléments, les voies de synthèse des alcaloïdes ont pu être étudiées (GUIGNARD, 1979 ; CASSAGNES, 1982). Afin d'essayer de définir les facteurs qui régulent les flux des métabolismes primaires vers les alcaloïdes tropaniques, la R.M.N. (Résonance Magnétique Nucléaire) est utilisée pour suivre le métabolisme azoté des racines transformées de *D. stramonium* cultivé en présence de $(^{15}\text{NH})_2\text{SO}_4$ et K^{15}NO_3 , le glutamate N-acétyle et/ou d'Ornithine sont détectés, ils sont des

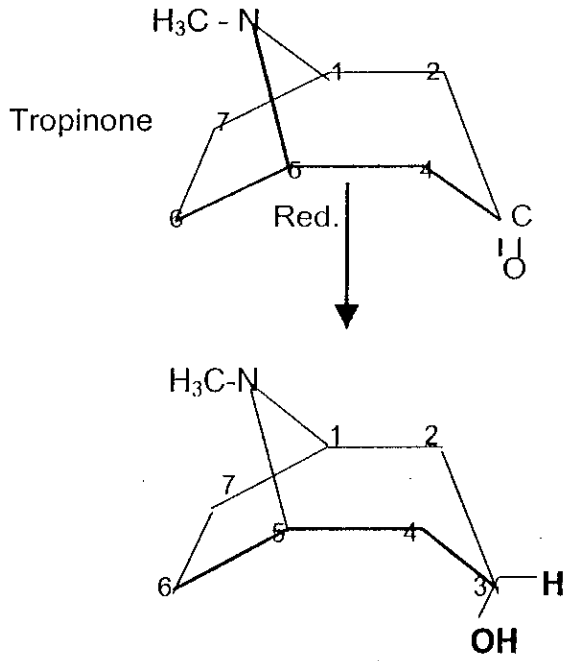
intermédiaires de la biosynthèse de l'Arginine (métabolite primaire régulant les alcaloïdes tropaniques) (FLINIAUX *et al.*, 2001). La biosynthèse des alcaloïdes a lieu par voie enzymatique à partir de précurseurs qui sont des acides aminés : l'ornithine pour le noyau tropane et la phénylalanine pour l'acide tropique (LEETE, 1979 ; WALLER et DERMER, 1981; HASHIMOTO et YAMADA, 1987; HELLER *et al.*, 1998). Les deux activités enzymatiques initiales sont l'Ornithine décarboxylase (ODC) et l'Arginine décarboxylase (ADC) (VERZAR-PETRI *et al.*, 1978).

Le noyau tropane provient de la condensation des noyaux N-méthylpipéridine et N-méthylpyrrolidine, ayant en commun l'azote et les deux atomes de carbone situés de part et d'autre. La plupart des alcaloïdes des *Solanaceae* dérivent du tropane-3 ol dont il existe 2 stéréoisomères différents par la position de l'hydroxyle par rapport au noyau N-méthylpipéridine : tropanol (isomère trans) et pseudo-tropanol (isomère cis).

L'hyoscyamine et la scopolamine sont issus du cycle des polyamines (HEBY, 1981 ; HOUGAARD, 1991).

Les précurseurs des alcaloïdes sont des aminoacides qui apportent les atomes d'azote. Le noyau tropane a pour précurseurs des acides aminés tels que l'Ornithine et l'acide glutamique ou une diamine, la putrescine, qui conduisent à la formation intermédiaire d'hygrine. Cette dernière molécule serait également un précurseur de la cuscohygrine. L'acide tropique est pour sa part dérivé d'un autre acide aminé ; la phénylalanine (LEETE, 1979).

Selon PORTSTEFFEN *et al.*, (1994) deux réductases (l'hyoscyamine 6 β hydroxylase) et l'hyoscyamine 6 β époxydase) mènent à la constitution de deux alcools isomères : la Tropinone (tropane 3 α ol) et la pseudotropinone (tropane 3 β ol). Selon les mêmes auteurs, la réduction de la tropinone est un point de départ de la chaîne de la biosynthèse des alcaloïdes tropaniques chez plusieurs *Solanaceae*. Ainsi la biosynthèse de l'hyoscyamine provient de la réduction de la tropinone en tropine qui est ensuite estérifiée avec l'acide tropique (Fig.4). Ce phénomène met en jeu deux enzymes ; l'hyoscyamine 6 β hydroxylase (HASHIMOTO *et al.*, 1986) localisée au niveau du péricycle des jeunes racines (HASHIMOTO *et al.*, 1991) et l'hyoscyamine 6 β époxydase, essentiellement localisée dans les feuilles (HASHIMOTO *et al.*, 1987).



Tropanol = **Tropine** = Trans - tropanol
 = tropanol vrai (3 α hydroxytropane)

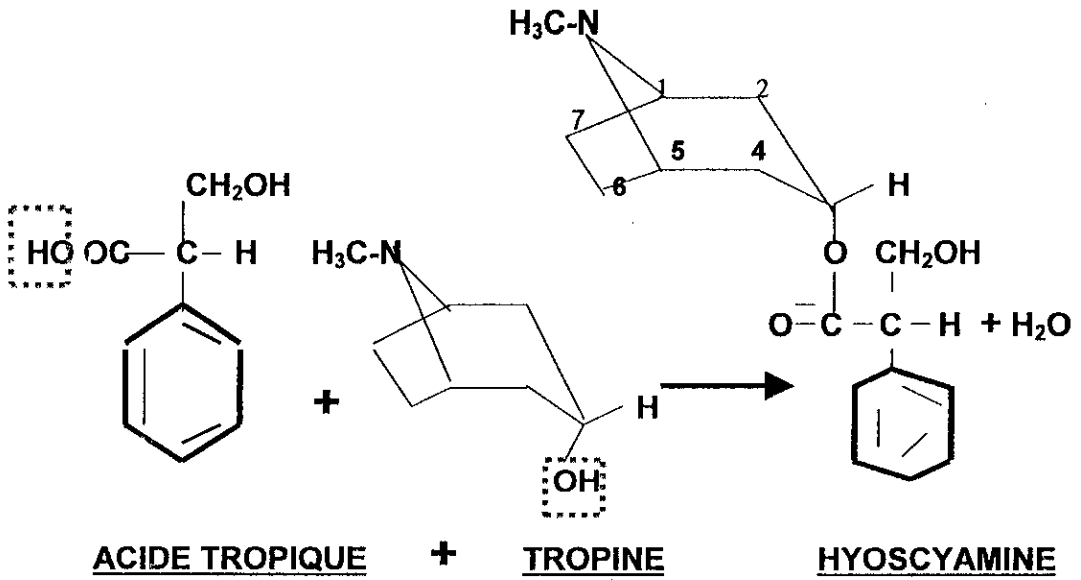


Figure 4 : Biosynthèse de l'hyoscyamine (SAMUELSON, 1992).

La scopolamine est directement issue de l'hyoscyamine par époxydation (Fig. 5). Elle est formée à partir de l'hyoscyamine par hydroxylation en 6 β Hydroxyhyoscyamine (COULADIS *et al.*, 1991 ; SAMUELSON, 1992 et MURANAKA *et al.*, 1993 ; CHERKAOUI *et al.*, 1997). La biosynthèse de l'hyoscyamine a lieu au niveau des racines, l'époxydation de l'hyoscyamine en scopolamine a lieu au niveau des parties aériennes (CASSAGNES, 1982 ; KITAMURA *et al.*, 1993)

LARDINOIS *et al.*, (1988) considèrent que le complexe enzymatique époxydant est d'autant moins performant que la plante est âgée.

D'autres alcaloïdes sont fréquemment rencontrés dans les *Solanaceae*, tels que la littorine. Plusieurs enzymes ont été testées comme la strictosidine synthase isolée à partir des cellules de *Catharanthus roseus* et qui intervient dans la biosynthèse des alcaloïdes, la digitoxine 12 β - hydroxylase qui convertit la β - méthyldigitoxine en β - méthyldigoxine.

Chez *Datura stramonium* les alcaloïdes apparaissent six (6) jours après la germination des graines dans le vacuome des jeunes cellules de l'écorce de la racine, quand les cotylédons commencent à assimiler (GUILLON, 1950).

Synthétisée au niveau des racines, l'hyoscyamine est transportée par le xylème jusqu'au feuilles (ROMEIKE, 1961; PETRI *et al.*, 1989); A ce niveau, elle est redistribuée par le phloème de façon acropète et basipède. Sa conversion en scopolamine par époxydation a essentiellement lieu dans le mesophylle photosynthétique des feuilles, elle est très faible au niveau des racines (PARR *et al.*, 1990). Ces deux molécules sont stockées dans les feuilles. Du fait de leur toxicité, leur production est limitée et leur stockage a lieu dans les vacuoles, à l'écart du métabolisme. Dans les fleurs, les sépales constitueraient des sites d'accumulation comparables aux feuilles ; La corolle n'en contient que des traces. Au niveau de l'appareil reproducteur, la scopolamine est peu répandue dans l'androcée. Dans le gynécée l'alcaloïde est surtout localisé dans les épidermes et les assises corticales très jeunes des carpelles (LOVETT et POTTS, 1987).

Au niveau cellulaire, les chloroplastes semblent impliqués dans la transformation de l'hyoscyamine en scopolamine (FLINIAUX, 1987 in VALLET, 1996). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les parties aériennes renferment davantage de scopolamine que d'hyoscyamine ; Alors que le rapport est

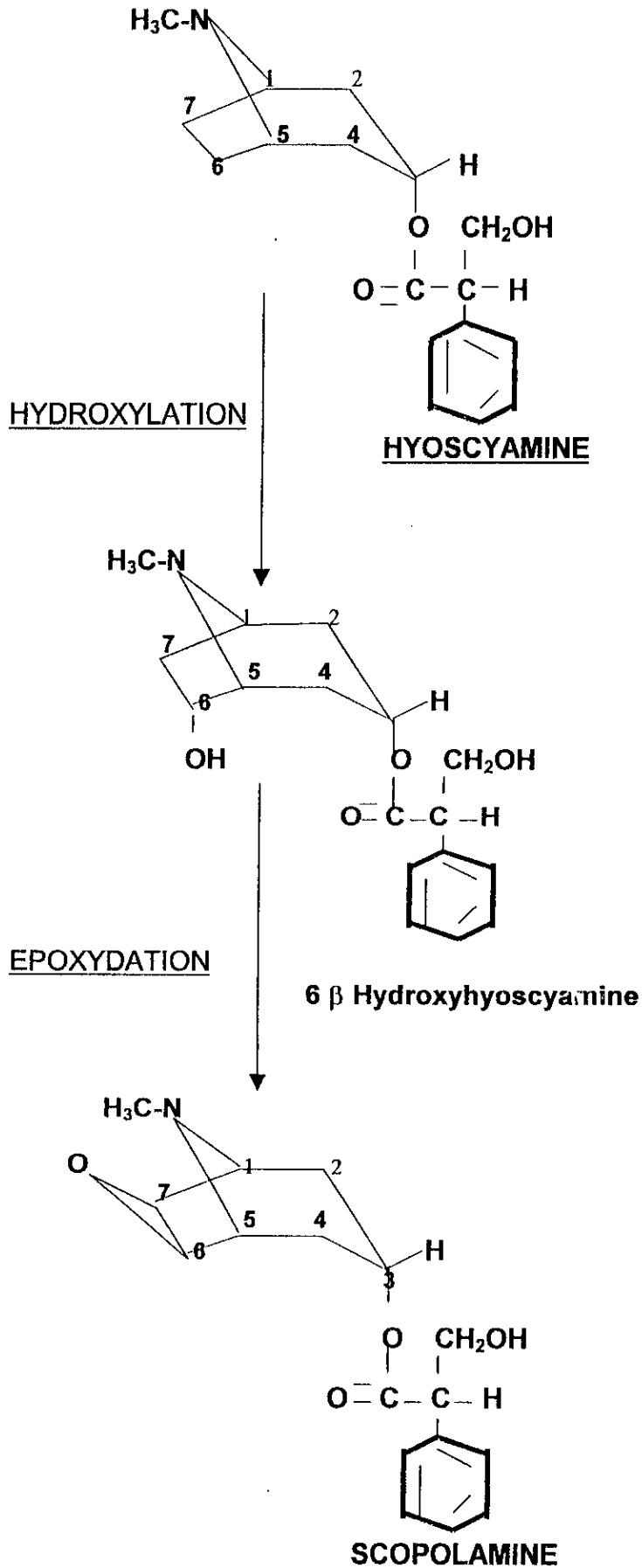


Figure 5: FORMATION DE LA SCOPOLAMINE.
 (Hydroxylation de l'hyoscyamine) (SAMUELSON, 1992).

généralement inversé dans les racines (ROBINSON, 1981 in CASSAGNES, 1982).

ROBINS *et al.*, (1990), considèrent que certaines étapes de biosynthèse sont sensibles à la rétroinhibition telle que l'arginine décarboxylase par son produit direct l'agmatine, ainsi que par d'autres plus distants comme la putrescine ou l'atropine. Selon ces mêmes auteurs l'ajout de produits intermédiaires chez *D. stramonium* (putrescine, agmatine ou tropine) n'accroîtrait pas l'accumulation de métabolites et pourrait même diminuer la concentration d'hyoscyamine; Cependant la principale étape limitante serait l'estérification de la tropine.

Les alcaloïdes peuvent être présents dans tous les organes de la plante ou n'exister que chez certains d'entre eux. Chez *D. ferox* l'hydroxylation de l'hyoscyamine en scopolamine dure pendant toute la vie de la plante, elle augmente constamment pour atteindre jusqu'à 90% des alcaloïdes totaux dans les feuilles adultes (ROMEIKE, 1958 in PARIS et MOYES, 1971). Dans les feuilles, l'alcaloïde se localise à l'origine dans les deux épidermes, il se concentre ensuite dans les parenchymes lacuneux et palissadiques. Au début de l'hiver dans les vieilles feuilles, la scopolamine se maintient autour des faisceaux libero-ligneux. Chez *D. tatula* l'accumulation de la scopolamine se fait dans les feuilles (COSSON *et al.*, 1978).

Les alcaloïdes sont localisés au niveau des poils glandulaires de l'épiderme et des poils racinaires du rhizoderme (PLANK *et al.*, 1985 in VALLET, 1996). Ils sont excrétés dans le phloème intercellulaire et le parenchyme médullaire où ils cristallisent dans des cellules précises : les idioblastes.

Durant les dernières années, des efforts considérables sont déployés afin de développer la production alcaloïdique. La production d'hyoscyamine et de la scopolamine à partir des cultures *in vitro* fait l'objet d'intenses recherches, vu leurs retombées économiques positives. Dans ce contexte, la bactérie *Agrobacterium* représente une bonne alternative pour produire des alcaloïdes tropaniques (MANO *et al.*, 1989 ; OKSMAN-CALDENTY et HILTUNEN, 1996). EN 1996, VALLET a étudié la synthèse des deux composés (hyoscyamine et scopolamine) par la méthode de transformation du chevelu racinaires en essayant d'incorporer à des plants témoins de *D. innoxia* par le biais d'*Agrobacterium tumefaciens*, un gène << P5CR >> codant pour une enzyme, la D1-pyrroline-5-carboxylate

réductase . Celle-ci catalyse la biosynthèse de la proline qui intervient dans la synthèse des alcaloïdes tropaniques auxquels appartient l'hyoscyamine et la scopolamine. La culture des racines transformées permet l'obtention de quantités élevées d'alcaloïdes tropaniques (BOITEL-CONTI *et al.*, 1995). Deux hypothèses semblent expliquer la forte augmentation des teneurs en alcaloïdes des tissus de *Datura* ayant subi la transformation anormale ou dérégulation physiologique, cette dernière pourrait provoquer au niveau de la teneur un appel important de métabolites nécessaires à la biosynthèse des alcaloïdes ou bien la transformation tumorale induit directement une exaltation de la biosynthèse des alcaloïdes (COSSON et FUNTZMANN - COUGOUL, 1980).

Plusieurs milieux de cultures ont été testés pour augmenter la production alcaloïdique par des cals de *D. innoxia*. Lorsque ces cals sont cultivés dans un milieu contenant 10^{-5} M de 2,4 D (auxine) et ensuite transférés dans un milieu ne contenant que 10^{-6} M de 2,4 D, il y a diminution de la teneur chlorophyllienne et de la teneur alcaloïdique (LINDSEY et YEOMAN, 1983). HASHIMOTO *et al.*, (1986) signalent que la biosynthèse de l'hyoscyamine et de la scopolamine est améliorée par la présence de deux phytohormones (acide indolacétique ou IAA à 10^{-6} M et diméthylallylaminopurine ou DMAA à 10^{-8} M) dans les milieux de culture testés sur 7 espèces d'*Hyoscyamus*.

D'autre part, l'expression des gènes qui codent la biosynthèse des alcaloïdes est régulée dans l'espace et dans le temps par des stimulations internes et externes tels que les hormones, la lumière et le stress, quoique des mécanismes moléculaires fondamentaux induisent l'activation ou la suppression de ces gènes (HASHIMOTO et YAMADA, 1994).

6. Facteurs influençant la composition alcaloïdique des plantes.

La teneur en alcaloïdes d'une plante est variable selon les conditions de climat et de sol. La teneur en alcaloïdes pour une espèce donnée dépend étroitement du conditionnement climatique auquel elle a été soumise (COSSON *et al.*, 1978), de l'organe considéré et du stade de développement atteint par la plante (PLANK *et al.*, 1985 ; PETRI *et al.*, 1989 ; MARTIN, 1995) in VALLET, (1996) ; HOUMANI *et al.*, (1999). Un éclaircissement long et intense provoque une augmentation de la teneur en scopolamine au moment de la floraison sur les

plants de *D. tatula* cultivés en phytotron. (COSSON, CHOUARD et PARIS, 1966). Les alcaloïdes s'accumulent abondamment en climat sec (BINE et BRUNEL, 1968). Les conditions naturelles de l'habitat ont une influence sur la performance de croissance, la production des graines et le rendement en alcaloïdes (KAPAHU et SARIN, 1978). Une fluctuation saisonnière des alcaloïdes est notée sur les feuilles et les fruits de *Datura metel* var. *fastuosa* cultivée au champ du stade végétatif au stade des fruits mûrs déhiscentes. Selon COSSON (1976), HOUMANI et al., (1994), HOUMANI, (1999) chez *Datura stramonium*, les plantes jeunes sont nettement plus riches en scopolamine que les plantes adultes. Il a été conclu qu'il existe un lien direct entre le stade de développement de la plante (l'âge et la taille des feuilles) et la teneur en alcaloïdes (GUPTA et al., 1976). COSSON et al., (1978), soulignent que les alcaloïdes peuvent être considérés comme des marqueurs des événements écophysologiques qui ont abouti à l'ontogenèse de la plante.

La régulation du métabolisme alcaloïdique des plantes est influencée par les facteurs écophysologiques, dans ce contexte, COSSON, (1976), BENHIZIA, (1981) et HOUMANI et al, (1999) ont observé que les teneurs en hyoscyamine et en scopolamine de *D. metel*, *D. tatula* et *D. stramonium* sont étroitement liées au stade de développement des plantes. De même AFSHARYPUOR et al, (1995) signalent que la teneur en scopolamine et atropine augmente parallèlement avec la croissance de la totalité des plantes de *Datura metel* L., cependant le plus haut pourcentage de scopolamine est enregistré dans les racines après 16 semaines de croissance.

L'administration des minéraux peut influencer la production des alcaloïdes (GUPTA et MADAN, 1975 in VAN DE VELDE, 1988).

Des expériences ont montré que la fertilisation du sol augmente les rendements de la biomasse végétale et par conséquent les taux alcaloïdiques de *D. stramonium* (DEMEYER et DEJAEGERE, 1989 ; 1992). SAKSON en 1979 signale que l'application de l'irrigation et de la fertilisation n'influencent pas directement la teneur alcaloïdique des plantes chez *Atropa belladonna*.

L'analyse des diverses fractions tissulaires montre que la teneur en alcaloïdes varie au sein d'un même organe. (DESAILLY et al., 1988). COUGOUL

et al., (1979) et DESAILLY *et al.*, (1988) signalent que la répartition des alcaloïdes dans les plantes se fait selon un gradient métabolique. Les estérases responsables de l'hydrolyse des alcaloïdes sont particulièrement actives dans les racines sur l'hyoscyamine.

Les dérivés de l'acide tropique chez *Datura stramonium* ont été caractérisés dans tous les organes de la plante. Selon BISIO *et al.*, (2000) l'hyoscyamine est le plus important alcaloïdes durant la floraison chez *D. stramonium*.

Selon DESAILLY *et al.*, (1988), les racines en renferment 0,1 à 0,3% de la matière sèche, la teneur de la tige est environ huit fois plus élevée au sommet de la plante (0,5 à 0,6% M.S.) qu'à sa base (0,07 à 0,08% M.S.).

Les jeunes feuilles, celles du sommet de la plante sont également nettement plus riches (0,3 à 0,5% M.S.) que les feuilles âgées de la base (0,06 à 0,1% M.S.) (DESAILLY *et al.*, 1988), Le calice des fleurs est aussi riche que les jeunes feuilles proches (0,3% M.S.). Les autres parties de la fleur ainsi que le fruit renferment peu d'alcaloïdes (0,02 à 0,08% M.S. respectivement). La teneur des graines est par contre relativement importante (0,3% M.S), comparée à celle des jeunes feuilles (DESAILLY *et al.*, 1988).

Selon BOUAMI-GUENNOUNI-ASSIMI (1986), aucune relation n'est établie entre les variations morphologiques et les variations du contenu alcaloïdiques observées chez les plantes régénérées in vitro de *Datura innoxia*.

MECHLER et COHLENBACH, (1978) ont analysé des plantes haploïdes et diploïdes de *D. innoxia* Mill., *D. meteloides* Dun. Et *D. wrightii* Regel et ont constaté que les plantes diploïdes sont plus riches en alcaloïdes que les plantes haploïdes avec une nette dominance de la scopolamine. Selon les mêmes auteurs, la teneur en alcaloïdes des plantes haploïdes et diploïdes dépend du stade de développement de la plante. Les diploïdes contiennent le maximum pendant le stade végétatif ensuite il y a diminution rapide pendant la floraison et la fructification tandis que les haploïdes accusent une petite diminution.

Par androgénèse de *D. innoxia*, HEROUART *et al.*, (1988) ont obtenu des plants diploïdes avec une haute teneur en alcaloïdes particulièrement en scopolamine dans des feuilles. D'après les travaux de HEROUART *et al.*, (1991), les cultures de cellules issues de lignées de plantes présentant des teneurs élevées en alcaloïdes pourraient augmenter la production alcaloïdique.

Les travaux de HOUMANI, (1999) montrent que *D. stramonium*, espèce non halophyte se comporte assez bien dans un sol salé renfermant 3 à 6 g/l de NaCl avec une fréquence d'arrosage un jour sur deux, une dose de 9 g/l diminue la croissance de près de 30%.

7. Comportement des alcaloïdes après la récolte des plantes.

Selon KUMAR, (1984), les alcaloïdes de *Hyoscyamus niger* ne sont pas endommagés même après séchage des plantes à 60°C durant 30 heures.

Chez l'espèce *D. stramonium* une conservation pendant 88 jours à l'air libre et à l'ombre ou à 50°C, les alcaloïdes n'ont subi aucun dommage (BENHIZIA, 1989).

Chez la même espèce les résultats de HOUMANI, (1999) font apparaître que pendant les 24 premières heures de conservation à 4°C, les plantes entières ont tendance à tripler leur teneur en alcaloïdes majeurs (hyoscyamine + scopolamine) et en hyoscyamine. Selon ce même auteur cette période serait marquée par une activation des enzymes responsables de la libération de ces alcaloïdes.

8. Extraction des alcaloïdes tropaniques.

Selon PARIS et HURABIELLE, (1981) et BOUNIAS, (1983) cité par LEVASSEUR, (1984) l'extraction des alcaloïdes tropaniques est basée sur la différence de solubilité des alcaloïdes en milieu acide et alcalin.

A pH alcalin, les alcaloïdes sont sous forme de base : ils sont solubles dans les solvants organiques non polaires tel que le chloroforme et dans les solvants organiques polaires tels que le méthanol et l'éthanol, mais ils sont insolubles dans l'eau.

A pH acides, ils sont sous forme de sels alcaloïdiques solubles dans les solvants organiques polaires et dans l'eau d'une part et insolubles dans les solvants organiques apolaires. L'extraction des alcaloïdes tropaniques est faite sur le produit sec réduit en poudre (COSSON, 1972; HE LI-YI *et al.*, 1989 in VALLET, 1996 ; HOUMANI *et al.*, 1994). L'extraction est basée sur les propriétés de solubilité des alcaloïdes en milieu alcalin et en milieu acide. Elle se réalise en deux phases . La première phase consiste en une double extraction éthanolique et

une acidification qui se traduit par l'élimination des impuretés (lipides, résines, chlorophylle) ; la deuxième phase consiste en une alcalinisation où sont éliminées les impuretés (sucres, sels organiques, sels minéraux), les alcaloïdes sont transformés en bases. Cette solution subit une purification par plusieurs passages au Chloroforme. Les solutions obtenues sont évaporées à sec. Les extraits obtenus correspondent aux alcaloïdes totaux.

9. Germination des graines de *Datura*.

KAPAH et SARIN, (1978) signalent que *Datura innoxia* est une mauvaise herbe commune présentant une irrégularité dans la germination des graines. Plusieurs travaux effectués sur la germination des graines des *Datura* ont révélé des irrégularités de germination où une dormance assez prolongée a été constatée. L'état de dormance imposé chez les graines de *Datura* est dû à la nature des tissus enveloppant l'embryon en particulier l'albumen. Les graines ayant une enveloppe assez dure, leur germination est contrôlée par l'équilibre entre le potentiel de croissance (PC) de l'embryon et l'affaiblissement de l'endosperme. En effet, il existe des expanseurs protéiques qui catalysent la relaxation et l'extension de la paroi cellulaire ; Ces protéines pourraient avoir un rôle important dans la modification de l'équilibre du potentiel de croissance de l'embryon et de l'endosperme. Selon DE MIGUEL, (1980) et BALLARE *et al.*, (1988), les graines de *D. ferox* subissent une dormance pendant la maturité du fruit car elles contiennent des inhibiteurs endogènes constitués de fractions basiques (xanthoxine) et acides (acide abscissique).

Le degré de dormance des semences de *D. ferox* est réduit lorsque la plante a subi une réduction de la radiation incidente et la rétention de l'eau pour provoquer un choc hydrique durant la période s'étendant de la formation du fruit jusqu'à la maturation des semences. Il est suggéré que les modifications des niveaux des inhibiteurs endogènes constituent l'une des voies par lesquelles les conditions de l'environnement auquel les plantes mères sont exposées peuvent influencer le comportement des semences (SANCHEZ *et al.* 1981)

Selon BALLARE *et al.* (1988), les graines de *D. ferox* ayant resté 8 mois à la surface du sol présente un taux de survie (germination) de 30% par contre ce taux

est de 40 à 91% lorsque les graines sont enterrées, les graines les plus mûres présentent une meilleure longévité.

En étudiant les facteurs du seuil de nuisibilité et de production des graines de *D. stramonium* dans les cultures de soja, WEAVER, (1986) a conclu que la date de semis influence à la fois la levée du soja et celle du *Datura*, l'écartement des rangs de soja peut causer la mortalité des graines de l'adventice.

REISMAN-BERMAN et KIGEL, (1991) étudiant le comportement des graines de *D. stramonium* et *D. ferox* enterrées au champ et conservées au laboratoire, notent que pour les graines des deux espèces conservées au sec le degré de dormance n'a pas beaucoup varié au cours de deux années de conservation et que l'enfouissement au sol supérieur à 10 cm empêche la germination qui ne se produira que lorsque les graines sont ramenées en surface. Ils ont constaté également que les graines de *D. ferox* atteignent un taux germination maximum tôt au printemps par contre la dormance augmente suite aux hautes températures de la fin du printemps et de l'été.

Certains auteurs proposent les solutions suivantes pour lever la dormance et assurer la germination :

La scarification des graines permet la levée d'inhibition à la germination des graines de *D. innoxia*. Un trempage des graines dans l'eau pendant 1 à 5 minutes pourrait inhiber la germination ; ceci serait dû à l'absence de circulation des gaz vers et depuis l'embryon à travers le hile. De même l'incubation des graines de *D. ferox* à des températures alternées au Phytochrome (exposition à la lumière artificielle) permet la levée de dormance (REISMAN-BERMAN *et al.*, 1989).

DE MIGUEL et SARIANO (1974) cités par DE MIGUEL (1980), KAPAHU et SARIN, (1978) ; SANCHEZ et DE MIGUEL, (1985). signalent que le stockage des graines de *D. innoxia* dans un milieu saturé en humidité à des températures comprises entre 20 à 25 °C pendant 90 à 100 jours permet leur germination à des taux de 64 à 80%.

La germination peut être contrôlée par le Phytochrome (variation de l'intensité lumineuse) (MELLA *et al.*, 2000).

EXPERIMENTATION

MATERIEL ET METHODES

EXPERIMENTATION

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Présentation des stations expérimentales

Deux stations expérimentales sont retenues pour la récoltes des plants sauvages et pour la culture.

La station de récolte des plants poussant à l'état sauvage de *Datura innoxia* et *Datura ferox* se situe à El Attaf dans la Wilaya de Ain Defla (environ 180 km à l'Ouest d'Alger). La culture des plants de *Datura innoxia* et *Datura ferox* est réalisée au niveau de la station expérimentale du centre universitaire de Khemis Miliana situé à environ 60 km de la station de récolte des plants sauvages.

Les données climatiques sont recueillies auprès de la station météorologique de l'Institut Technique des Grandes Cultures de Khemis Miliana (ITGC).

Les caractéristiques édaphiques des deux stations expérimentales sont déterminées par analyse des échantillons de terre prélevés aux pieds des plants. Pour chaque espèce, à une profondeur d'environ 20 cm, nous avons prélevé près de 500g de terre pour les analyses.

1.2. Matériel végétal

1.2.1 Identification des espèces

Les espèces étudiées sont *Datura innoxia* et *Datura ferox*. Leur identification a été faite sur la base des travaux de JAUZEIN (1995), de HOUMANI (1999) et de HOUMANI et COSSON (2000). Ces espèces appartiennent à la famille des *Solanaceae* et au genre *Datura*. Elles poussent en adventices des cultures de pomme de terre et sur des parcelles en jachère non travaillée. *D. innoxia* a été également observé sur les talus et en bordures des routes.

1.2.2 Récolte des échantillons

Pour les deux espèces, nous avons défini quatre stades phénologiques :

- Stade 1 (S1) = stade plantule : présence de 4-5 feuilles
- Stade 2 (S2) = stade de formation du premier bouton floral
- Stade 3 (S3) = formation d'au moins trois fleurs (pleine floraison)

- Stade 4 (S4) = formation d'au moins trois fruits mûrs (plante adulte)

Au moment de la récolte, nous avons constaté la présence de tous les stades de développement des plants sur la même parcelle.

- Plantules sauvages pour la transplantation

Pour chaque espèce nous avons récolté, le 25 juin 2000, 80 plantules au stade de formation de 4-5 feuilles (S1).

- Graines pour le semis

Pour chaque espèce, au stade adulte (S4), nous avons récolté le 25 juin 2000, 50 grammes de graines. En moyenne, un fruit de *D. ferox* renferme 240 graines; alors qu'un fruit de *D. innoxia* renferme 450 graines. D'autre part, 1000 graines pèsent environ 18 g chez *D. ferox* et 11g chez *D. innoxia*.

1.2.3 Tests de germinations des graines

Des tests de germination des graines récoltées sur les plants sauvages ont été réalisés comme suit :

- Etat des graines : entières
- Milieu : Boîtes de Pétri contenant du coton imbibé d'eau distillée.
- Nombre de graines de chaque espèce : 4 x 100graines
- Température du milieu : 30°C à l'étuve

1.2.4 Culture de plants de *D. ferox* et *D. innoxia*

La culture a lieu à la station expérimentale de l'annexe universitaire de Khemis Miliana. Pour les deux espèces, nous avons adopté deux modes de culture:

- Transplantation de 80 plantules sauvages (4-5 feuilles).
- Semis, en plein champ, de graines récoltées sur les plantes sauvages.

1.2.4.1 Transplantation

La transplantation est réalisée sur une parcelle de 100 m² ayant un précédent cultural une légumineuse (fève). Avant la plantation, la parcelle a reçu un labour moyen, un passage croisé de cover-crop et de herse.

La transplantation a eu lieu le jour même de la récolte des 80 plantules de chaque espèce. Elle est réalisée sur deux parcelles de 6 lignes distantes de 1 m les une des autres. Sur la même ligne, les plantules sont espacées de 0.80 m. La distance entre les parcelles est de 2 m (Photos 1 et 2).

Des cuvettes sont confectionnées autour de chaque plant pour recevoir l'eau d'irrigation (eau du robinet). Cette dernière est apportée une fois par jour à la fin de la journée en raison de 2-3 litres par plant.

Une semaine après la transplantation, le taux de reprise des plantules est de 89 %. Les plantules perdues ont été renouvelées.

1.2.4.2 Semis en plein champ

Le semis est réalisé le 30 juin 2000, soit cinq jours après la récolte des graines, sur trois lignes de 3 m de long. La distance entre les lignes est de 0,50 m. Le semis est effectué en mélange de graines des deux espèces.

L'irrigation (eau du robinet) du semis est réalisée une fois par jour par submersion légère de la parcelle.

Durant le développement des plants (transplantation et semis), nous avons effectué un binage et un désherbage manuel.

1.2.5 Récolte des plants de *D. ferox* et *D. innoxia* pour les analyses

Au cours du développement des plants des deux espèces poussant à l'état sauvage et cultivé (transplantation et semis), nous avons récolté les parties aériennes (feuilles, tiges, fleurs, fruits verts, fruits mûrs) des plants à différents stades de développement pour les analyses :

- Stade 2 (S2) = stade de formation du premier bouton floral
- Stade 3 (S3) = formation d'au moins trois fleurs
- Stade 4 (S4) = formation d'au moins trois fruits mûrs (plante adulte)

L'échantillonnage est constitué de 5 à 15 parties aériennes pour chaque espèce, pour chaque stade de développement et pour chaque mode de culture (sauvages, transplantées et semées),.

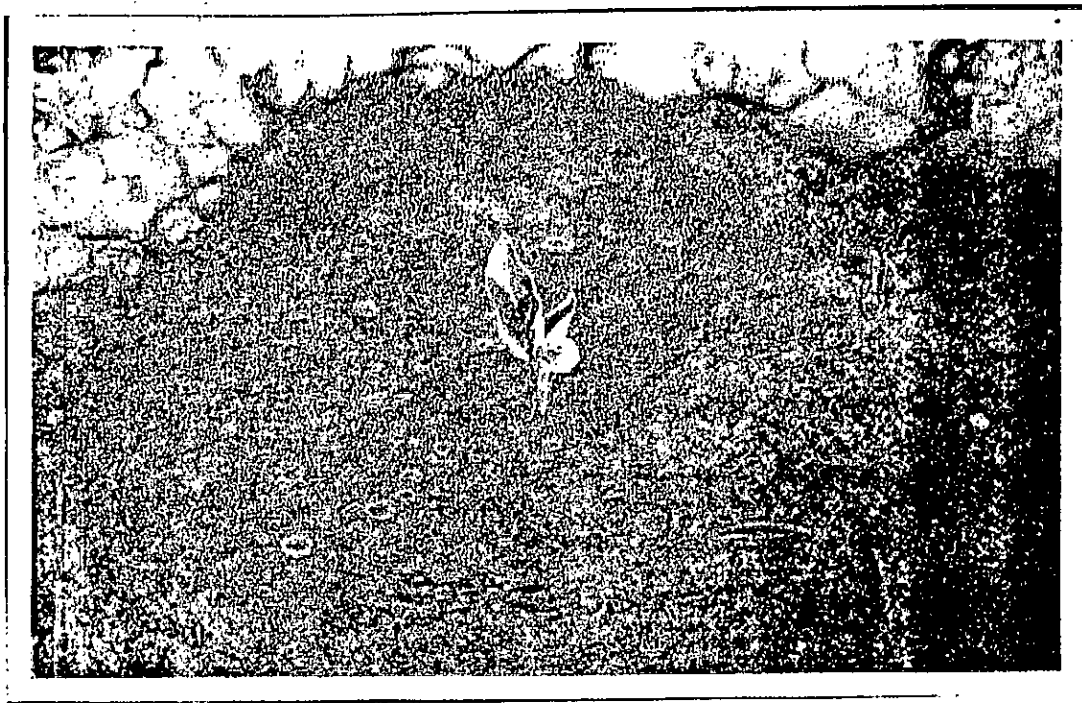


Photo 1 : La transplantation : plant de *D. innoxia* au stade 1.
(période irrigation)

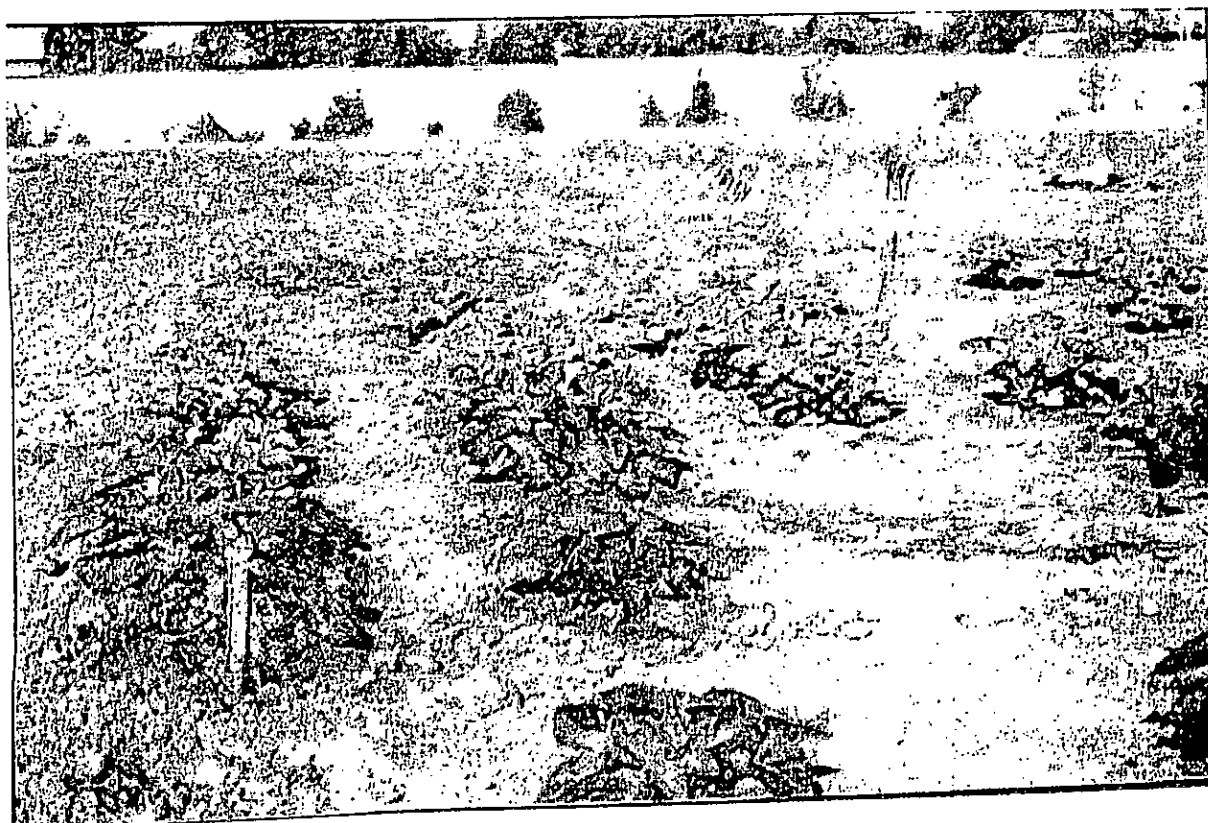


Photo 2 : Vue partielle de l'essai

1.2.6 Traitement des plants après récolte

les parties aériennes sont mises séparément à sécher au laboratoire à l'ombre. Le séchage est complété à l'étuve pendant 3-4 heures à une température de 40°C. Par la suite, les échantillons sont broyés en poudre et conservés dans des sachets en papier pour les analyses ultérieures.

1.3. Techniques analytiques

1.3.1 Analyse des sols

Les analyses de sols sont effectuées selon les méthodes de BAIZE (1988) et ont porté sur les dosages :

- Du calcaire total par la méthode du calcimètre de BERNARD
- De la matière organique par la méthode ANNE
- De la granulométrie (argile, limons, sables)
- De la texture par le diagramme USDA

1.3.2 Détermination de la phytomasse sèche

Pour chaque mode de culture et pour chaque stade phénologique nous avons déterminé la matière sèche des parties aériennes des plants par passage à l'étuve à 105°C durant 24 heures. Les résultats correspondent à la moyenne de trois échantillons.

1.3.3 Extraction des alcaloïdes

L'extraction des alcaloïdes est réalisée selon la méthode suivie par HOUMANI *et al.* (1994).

Mode opératoire

1 : au niveau de la rampe d'extraction

1g de poudre + 100ml d'éthanol à ébullition pendant ¼ d'heure ensuite filtrer.

Faire évaporer la solution obtenue (au rota-vapor), on obtient un résidu

2 : Ce résidu + 20 ml de H₂SO₄ Mettre en agitation pendant 1 heure ensuite filtrer

Filtrat + NH₄OH jusqu'à pH= 9,5 (solution alcaline)

3 : Cette dernière solution + même volume de Chloroforme : deux phases non miscibles (phase organique et aqueuse), mettre en agitation durant 1 heure.

Transvaser le tout dans une ampoule à décantation: Récupérer la phase organique (répéter deux fois l'opération avec le chloroforme) les trois solutions sont récupérées dans un même ballon. On ajoute un peu de Na_2SO_4 anhydre, on filtre.

4 : La solution obtenue est évaporée à sec (au rota- vapor). Le résidu obtenu est pesé: Ce sont les alcaloïdes totaux.

Nous avons réalisé en totalité 124 extractions correspondant à une extraction par échantillon pour chaque stade phénologique, chaque mode de culture et chaque espèce.

1.4 Analyses des résultats

Les résultats expérimentaux obtenus sont traités statistiquement selon le Logiciel STATISTICA (version 5).

Le dispositif expérimental est un plan sans contrôle d'hétérogénéité en randomisation totale.

Pour comparer la composition alcaloïdique des deux espèces étudiées, nous avons procédé à l'analyse de la variance. L'objectif de cette dernière est de tester la significativité statistique des différences entre les moyennes (des groupes ou des variables). En analysant la variance, on décompose la variance totale en une composante imputable à l'erreur aléatoire réelle (c'est-à-dire la SC intra - groupe) et une composante imputable aux différences entre les moyennes. On teste par la suite la significativité statistique de cette dernière composante de la variance. Si le test est significatif, nous pouvons rejeter l'hypothèse nulle (H_0) selon laquelle il n'existerait pas de différences entre les moyennes, et accepter l'hypothèse alternative (H_1) et que les moyennes (dans la population) sont différentes. Dans notre cas l'analyse de la variance consiste à rechercher s'il existe une différence significative pour les teneurs en alcaloïdes totaux :

- Entre les différents stades de développement au niveau des plantes sauvages et cultivés, pour chaque espèce et pour déterminer le stade performant.
- Entre les modes de cultures au sein de la même espèce afin de définir le meilleur mode de culture.
- Entre les deux espèces pour déterminer la plus productive.

La signification des résultats est exprimés en fonction de la probabilité pour une erreur réellement commise (Niveau p). Dans de nombreux domaines de recherche (médecine, agronomie etc..., le niveau $p = 0,05$ est considéré comme une "limite acceptable" d'erreur ; si $p < 0,05$, les résultats sont considérés comme statistiquement significatifs. Les résultats significatifs au seuil $p < 0,01$ sont généralement considérés comme statistiquement significatifs et au seuil $p < 0,005$ ou $p < 0,001$ comme "très" significatifs.

SC de l'Erreur et SC de l'Effet.

La dispersion intra - groupes (SC) est souvent appelée variance de l' **Erreur** . La SC de l'Effet est imputable aux différences de moyennes entre les groupes. En d'autres termes, l'appartenance à un groupe explique cette dispersion puisque nous savons qu'elle est due aux différences de moyennes.

La variance imputable à la dispersion inter - groupes (appelée Moyenne des Carrés de l'Effet , ou MC effet) et la dispersion intra - groupe (appelée Moyenne des Carrés de l'Erreur , ou MC erreur)

dL = degré de liberté.

Ecart type : L'écart - type (S) est calculé comme étant la racine carrée de la somme des carrés des écarts (par rapport à la moyenne) divisé par $n-1$.

$$S = \sqrt{[\sum (x_i - \bar{x})^2 / (n-1)]}$$

\sum = Somme

\bar{x} = moyenne de l'échantillon

n = taille de l'échantillon.

F = test de Fisher.

P = probabilité

RESULTATS ET DISCUSSIONS

2. RESULTATS ET DISCUSSIONS

2.1. Caractéristiques des deux stations expérimentales.

2.1.1 Caractéristiques climatiques

Les données climatiques de la région de l'expérimentation sont portées dans le tableau 1. La moyenne des précipitations de la région est de 473mm / an (ITGC Khemis Miliana). Les valeurs maximales en pluviométrie sont enregistrées durant le mois de Novembre (106 mm). Cependant les valeurs les plus faibles (0.5 mm) sont enregistrées durant la période de culture (Juin - Août). La quantité totale de pluviométrie durant l'année 2000 est de l'ordre de 283.7 mm.

La température moyenne annuelle est de 18.8 °C. La moyenne des températures maximales est de 27.4 °C, alors que la moyenne des températures minimales est de 11.0 °C. Durant la période expérimentale nous enregistrons des températures maximales allant de 35.3 °C au mois de Juin à 33.4 °C au mois de Septembre. L'optimum des températures est obtenu au mois d'Août avec 39.7 °C. Les températures minimales sont situées entre 11.6°C au mois de Juin et 20.7 °C au mois de Juillet.

La moyenne annuelle de l'humidité de l'air est de 65.3% ; Alors que durant l'expérimentation les taux d'humidité se situent entre 46% au mois de Juillet et 59% au mois de Septembre.

Durant l'année 2000, la région de Khemis Miliana a reçu 78 jours de gelée, 5 jours de grêle. Nous signalons que durant l'expérimentation il n'y a pas eu de gelée. Par contre nous avons enregistré deux jours de sirocco au mois de Juillet.

D'après les données climatiques enregistrées durant l'année 2000, la période sèche s'étend durant toute la période hivernale, elle s'accroît encore d'avantage durant la période de l'essai (Fig. 6). Cette dernière est marquée par un déficit de précipitations de l'ordre de 189.3 mm.

La période expérimentale (Juin à Septembre) se distingue par les plus fortes valeurs de températures moyennes, les plus basses valeurs d'humidité et la faible pluviométrie.

Pour la station expérimentale d'El Attaf (récolte des plantes sauvages) nous n'avons pas pu obtenir les données climatiques de la région.

Tableau 1 : Données climatiques de Khemis Miliana (Année 2000)
(Source : ITGC Khemis Miliana)

Paramètres	Jan.	Fev.	Mar.	Avr.	Mai	Juin	Juill.	Août
Pluviométrie (mm)	9,9	0	15,5	25,8	8,9	0,5	0	0
Nombre de jours de pluie	2	0	4	10	5	1	0	0
Températures minimales m. (°C)	0,6	2,5	5,4	9	14,7	16,4	20,7	19,5
Températures maximales M. (°C)	16	21,3	23,7	24,8	31,3	35,3	39,8	39,5
Températures moyennes (M+m)/2	8,3	11,9	14,6	16,9	23,1	25,9	30,3	29,5
Nombre de jours de gelée	23	22	6	7	0	0	0	0
Nombre de jours de grêle	0	0	1	1	1	0	0	0
Humidité (%)	79	77	72	69	61	54	46	49
Nombre de jours de Sirocco	0	0	4	2	1	0	2	0

* Valeurs Moyennes annuelles.

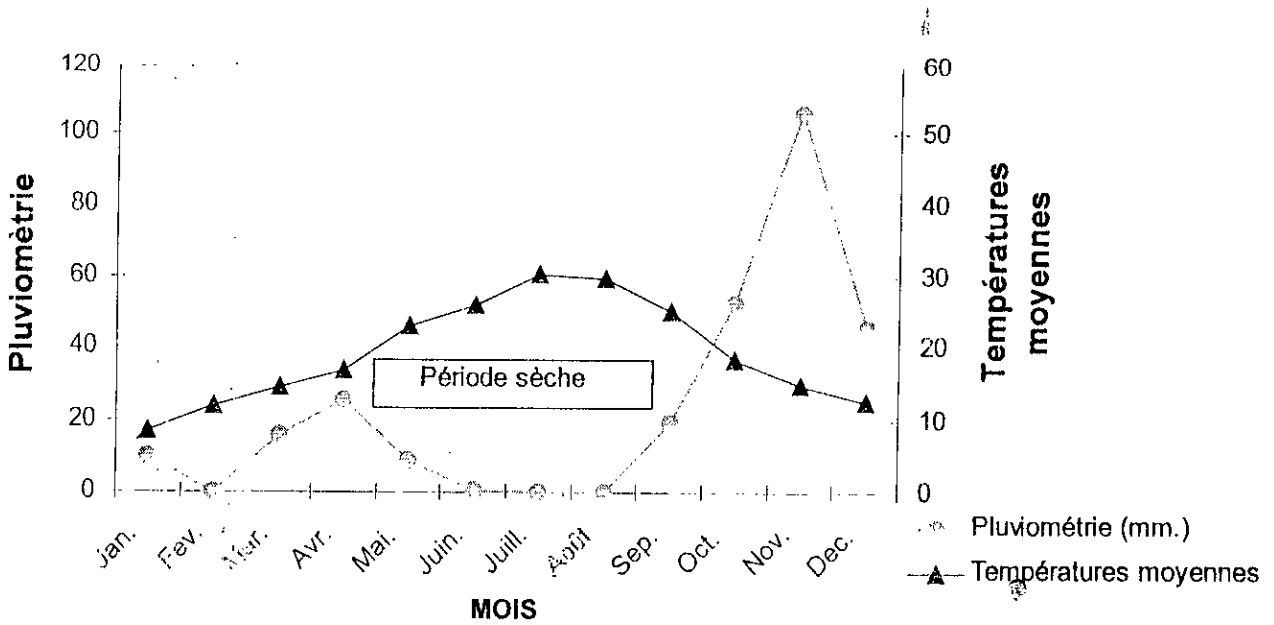


Figure 6: Courbe ombrothermique de la région de Khemis Miliana (année 2000).

D. ferox et *D. innoxia* se développent à Khemis Miliana et à El Attaf, sous des températures moyennes minimales comprises entre 16.4 °C et 20.7 °C et des températures moyennes maximales comprises entre 33.4 °C et 39.8 °C. Par contre pour les plants cultivés, la pluviométrie ne joue pas un rôle important, car les plants sont irrigués régulièrement une fois par jour jusqu'à la fin de l'expérimentation.

2.1.2 Altitude.

Les plantes sauvages de *D. ferox* et *D. innoxia* poussent dans la région d'El Attaf à environ 116m d'altitude. La culture de ces espèces est réalisée à Khemis Miliana à une altitude supérieure à environ 289 m. Cette différence d'altitude ne semble pas affecter les plants. Ainsi d'après HOUMANI (1999), les *Datura* poussent à des altitudes allant de 1.5 m à près de 1500 m.

2.1.3 Caractéristiques édaphiques

Les résultats des analyses du sol des deux stations expérimentales sont représentés dans le tableau 2.

- Station d'El Attaf

Les plantes à l'état sauvage poussent sur des sols légèrement basiques (pH = 8.29) ayant une électroconductivité (C.E) égale à 0.05 m.mho/cm, une teneur de la matière organique (MO) et en calcaire total (CaCO₃) respectivement de 2.30% et de 8.8%. L'analyse granulométrie indique que ce sol est de texture limono – sableuse.

- Station de Khemis Miliana.

Le sol de la station de culture est caractérisé par un pH = 8.18, une électroconductivité égale à 1m.mho/cm, une teneur en matière organique de 2.67%. La teneur en calcaire total est évaluée à 10.34%. La texture est limoneuse.

Tableau 2 : Caractéristiques édaphiques des stations étudiées.

Stations	Khemis Miliana	El Attaf
Paramètres		
pH	8,18	8,29
C.E. (m.mho/cm)	1	0,05
CaCO ₃ (%)	10,34	8,80
Matière Organique. (%)	2,67	2,30
Argile (%)	15,15	3,30
Limons fins (%)	30,30	5,22
Limons grossiers (%)	22,53	62,10
Sables fins (%)	10,20	19,90
Sables grossiers (%)	21,82	9,48
Texture	Limoneux fins	Limono-sableuse

Les résultats des analyses des sols des deux stations confirment ceux de HOUMANI (1989), HOUMANI *et al.*, (1994) et (HOUMANI e COSSON, 2000) qui indiquent que les *Datura* poussent sur des sols légèrement basiques, non salés de texture limoneuse et limono – sableuse. Les sols des deux stations ont une bonne teneur en matière organique et sont moyennement calcaires. Selon BAIZE

(1988), un sol est modérément pourvu en calcaire total lorsque sa teneur est comprise entre 5 et 25%.

2.2. Test de germination des graines à l'étuve.

La mise en germination des graines a eu lieu une semaine après leur récolte. Les tests ont duré 15 jours avec les graines entières dans les boîtes de Pétri sur du coton imbibé d'eau distillée, l'ensemble est maintenu à 30°C à l'étuve. Dans ces conditions aucune graine n'a germé chez *D. ferox*. Alors que seulement une graine a germé au onzième (11^{ème}) jour chez *D. innoxia*. Par contre toutes les graines ont pourri après le quinzième (15^{ème}) jour du test. Ces résultats indiqueraient que ces conditions expérimentales ne seraient pas appropriées. Les travaux de HOUMANI (1999) ont montré que les graines scarifiées de *Datura stramonium* donnent un taux de germination de 100% dans de l'eau à 30 °C. Les graines de *Datura innoxia* exigeraient un repos de quelques jours au froid avant leur mise en germination. La saison de récolte et la durée de stockage des graines pourraient jouer un rôle important dans la levée de dormance de ces espèces (HOUMANI, 1999).

2.3. Culture.

2.3.1 Culture par transplantation.

Depuis la transplantation, nous avons suivi le développement des plants. Sur la totalité des plantules transplantées, le taux de réussite enregistré est de 89%. Ainsi, 20 jours après la transplantation les plants ont formé le premier bouton floral (S₂), la majorité des plants ont atteint la pleine floraison (S₃) 40 jours après la transplantation. Et ce n'est que 90 jours après, que les plants sont arrivés à l'état adulte (S₄). Les deux espèces ont atteint un rythme de développement similaire.

2.3.2 Culture par semis en plein champ.

Les taux de germination des graines semées en plein champs est de 0.79% pour *D. innoxia* et de 0% pour *D. ferox*.

Nous avons suivi le développement des plants de *D. innoxia*. Ainsi 29 jours après, les plantules ont atteint le stade de quatre feuilles (S₁), la majorité des plants ont formé le premier bouton floral (S₂) 39 jours après le semis. La pleine

floraison (S₃) a eu lieu après 55 jours. Les plants sont arrivés au stade adulte (S₄) après 105 jours du semis.

- Discussion.

Les résultats montrent que les plants issus de la transplantation des deux espèces se développent à un rythme comparable. Une semaine après la transplantation, le taux de reprise obtenu est estimé à 89%, ce qui pourrait expliquer que les plantules n'ont pas souffert de la transplantation.

Les plantes de *D. innoxia* issues du semis montrent une croissance relativement rapide au début du cycle. Par la suite, ces plantes se distinguent par un ralentissement de la croissance. Selon REISMAN-BERMAN *et al.* (1989) la culture des *Datura* par semis dépendrait de l'état des graines, de la période du repos des graines après récolte et de leur préparation avant le semis. Selon le même auteur la scarification permet la levée de dormance des graines de *D. innoxia*.

DE MIGUEL et SARIANO (1974) cités par DE MIGUEL (1980), signalent que le stockage des graines de *D. innoxia* dans un milieu saturé en humidité à des températures comprises entre 20 et 25 °C pendant 90 à 100 jours permet leur germination à des taux de 64 à 80%. HOUMANI (1989), signale que les graines de *D. innoxia* nécessiteraient une mise à froid avant leur semis.

2.4. Evolution de la phytomasse de *D. ferox* et *D. innoxia*.

2.4.1 *Datura ferox*

Durant leur développement, les plants poussant à l'état sauvage produisent une phytomasse sèche croissante du stade 2 au stade 4, respectivement évaluée à 2.4 g/plant et à 92.1 g/plant. Au stade 3 la phytomasse sèche est de 31 g/plant (Fig. 7).

Chez les plants transplantés, la phytomasse sèche produite évolue de 41 g/plant au stade 2 à 559.2 g/plant au stade 4. Les plants au stade 3 (pleine floraison) présentent une phytomasse ayant une valeur intermédiaire soit 317 g/plant (Fig. 7).

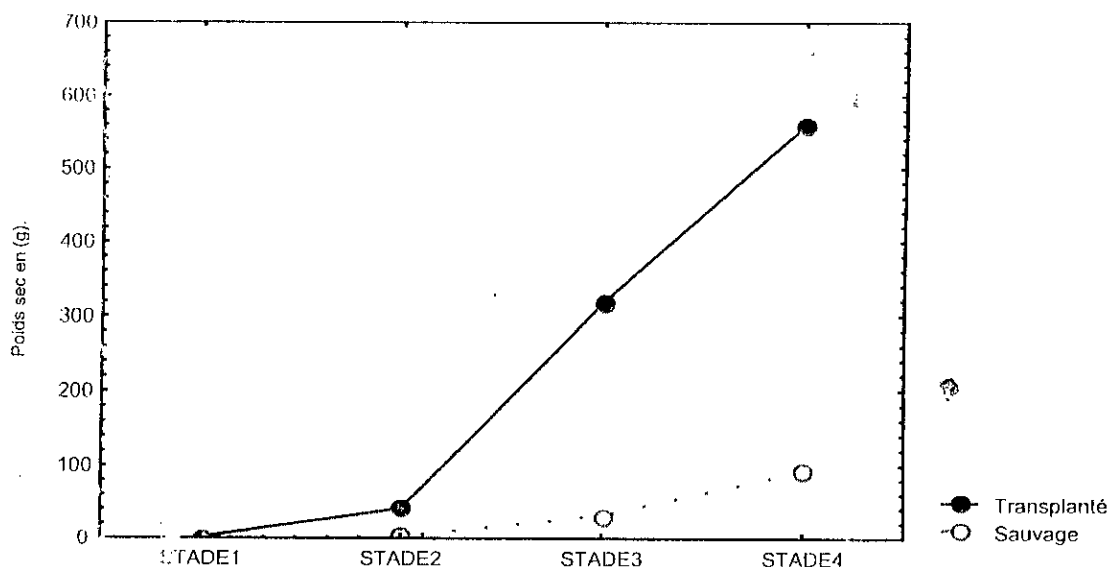


Figure 7 : Evolution de la phytomasse sèche de *Datura ferox* sauvage et transplanté.

- Discussion :

L'évolution de la phytomasse sèche chez *D. ferox* est différente selon le mode de culture des plants. Les plants transplantés fournissent à tout les stades une phytomasse plus importante que les plantes sauvages. Au stade 2 les plants transplantés produisent 17 fois plus de phytomasse sèche que les plantes sauvages. La même observation est faite pour les stades 3 et 4. Le rapport est respectivement de 10 et 6 fois plus de phytomasse sèche chez les plantes cultivées par transplantation (Tab. 3).

Tableau 3 : Evolution de la phytomasse de *Datura ferox* poussant à l'état Sauvage et cultivé (g/plant).

Stades	Plants sauvages		Plants transplantés		PS _{cult.} / PS _{sauv.}
	PS	S _n /S _{n-1}	PS	S _n /S _{n-1}	
Stade1	1		1		
Stade 2	2.4	2.4	41	41	17
Stade 3	31	12.9	317	7.7	10.2
Stade 4	92.1	2.9	559,2	17.6	6

PS = Phytomasse sèche

PS_{Cult.} = Phytomasse sèche des plants cultivés

PS_{Sauv.} = Phytomasse sèche des plantes poussant à l'état sauvage

S_{ii} = Stade_{1,....,4}

T = Transplantés, SV = Sauvage,

- Conclusion partielle :

La culture par transplantation améliore nettement la production de la phytomasse par rapport aux plantes poussant à l'état sauvage.

2.4.2 *Datura innoxia*.

Chez les plantes poussant à l'état sauvage : la phytomasse sèche produite correspond respectivement à 18.5 g/plant au stade 2 et à 130.3 g/plant au stade 4 (Fig. 8).

La phytomasse sèche produite par les plantes transplantées correspond à 70 g/plant au stade 2 et à 682 g/plant au stade 4 (Fig. 8). Alors que les plantes obtenues par semis produisent une phytomasse sèche évoluant de 11.8 g/plant au stade 2 à 129.6 g/plant au stade 4 avec une valeur intermédiaire au stade 3 soit 60.6 g/plant (Fig. 8).

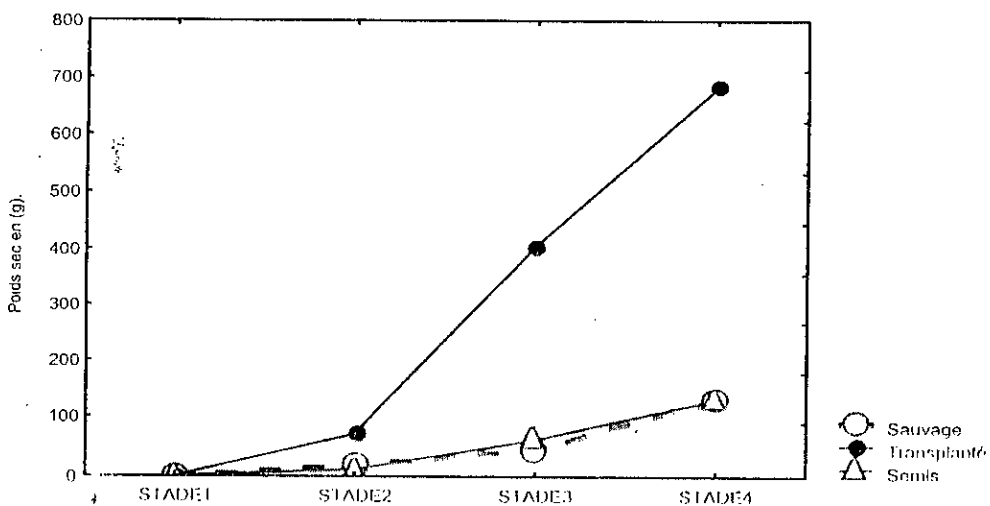


Figure 8 : Evolution de la phytomasse sèche de *Datura innoxia* sauvage et cultivé.

- Discussion

L'évolution de la phytomasse chez *D. innoxia* est différente selon le mode de culture. Les plantes transplantées fournissent à tout les stades une masse végétative plus importante que les plantes sauvages (Fig.8). Les plantes issues du semis produisent une phytomasse inférieure aussi bien par rapport aux plantes sauvages et aux plantes transplantées. Nous constatons que les plantes sauvages et les plantes issues du semis produisent une phytomasse sensiblement équivalente. La production de la phytomasse des plantes issues du semis serait influencée par le choix de la date de semis (la fin du mois de juin), par une période de dormance courte (dormance psychrolabile) ce qui aurait entraîné une croissance paresseuse des plantes (CHOUARD, 1950 ; BARTON, 1961).

Pour tous les stades phénologiques la phytomasse sèche produite chez les plantes transplantées est largement supérieure à celle produite par les plantes obtenues par semis (5 à 7 fois) et celles poussant à l'état sauvage (5 à 9 fois) (Tab. 4) Ces résultats montrent donc, que la transplantation a amélioré la production de la phytomasse des plantes. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que la transplantation a produit un effet stress sur les plantules ; Ce qui aurait entraîné une stimulation de la production végétative.

Tableau 4 : Evolution de la biomasse de *Datura innoxia* poussant à l'état sauvage et cultivé (g/plant).

Stades	Plants sauvages		Transplantés		Semis		PS _{cult.} / PS _{sauv.}	
	PS	S _n /S _{n-1}	PS	S _n /S _{n-1}	PS	S _n /S _{n-1}	Trans.	Semis
Stade1	0,7		0,7		1,1		T/SV	SM/SV
Stade 2	18,5	26,42	70	100	11,8	10,7	3,7	0,6
Stade 3	44,5	2,4	406	5,8	60,6	5,13	9,1	1,3
Stade 4	130,3	2,9	682	1,6	129,6	2,13	5,2	0,9

PS = Phytomasse sèche

PS_{cult.} = Phytomasse sèche des plants cultivés

PS_{sauv.} = Phytomasse sèche des plantes poussant à l'état sauvage

S_n = Stade_{1,....,4}

T = Transplantés, SV = Sauvage, SM = Semis

- Conclusion :

La technique de transplantation permet l'amélioration de la phytomasse sèche des deux espèces par rapport au semis et aux plantes sauvages. Les plants de *D. innoxia* transplantés sont plus vigoureux que les plants de *D. ferox*.

2.5. Composition en alcaloïdes totaux des parties aériennes des plants.

2.5.1 *Datura ferox*

Les teneurs en alcaloïdes totaux de *D. ferox* varient en fonction du mode de culture et du stade phénologique.

Chez les plants sauvages, la teneur en alcaloïdes totaux des parties aériennes varie de $0,15 \pm 0,01$ g/100g de M.S au stade 1 à $0,52 \pm 0,07$ g/100g de M.S au stade 4 (Tab. 5).

Tableau 5 : Teneurs en alcaloïdes totaux de *D. ferox* sauvage (g/100g MS).

Plants \ Stades	Stade 1	Stade 2	Stade 3	Stade 4
1	0,15	0,4	0,49	0,56
2	0,13	0,37	0,47	0,52
3	0,15	0,55	0,58	0,63
4	0,17	0,44	0,43	0,45
5	0,17	0,48	0,52	0,48
Moyennes	$0,15 \pm 0,01$	$0,44 \pm 0,07$	$0,49 \pm 0,05$	$0,52 \pm 0,07$

Chez les plants transplantés la teneur varie de $0,55 \pm 0,09$ g/100g de M.S au stade 2 à $0,62 \pm 0,06$ g/100g de M.S au stade 4 (Tab. 6).

Tableau 6 :Teneurs en alcaloïdes totaux de *D. ferox* transplanté (g/100g MS).

Plants \ Stades	Stade 2	Stade 3	Stade 4
1	0,65	0,72	0,58
2	0,42	0,53	0,6
3	0,49	0,62	0,59
4	0,53	0,65	0,73
5	0,61	0,69	0,54
6	0,65	0,58	0,64
7	0,52	0,49	0,67
8	0,63	0,66	0,52
9	0,69	0,61	0,59
10	0,5	0,63	0,7
11	0,39	0,59	0,66
12	0,55	0,57	0,63
Moyennes.	0,55 ± 0,09	0,61 ± 0,06	0,62 ± 0,06

- Discussion :

La production alcaloïdique chez *D. ferox*. est élevée durant la période de pleine fructification (Fig. 9). Chez les catégories transplantées et sauvages , elle augmente du stade plantule (S1) au stade pleine fructification (S4).

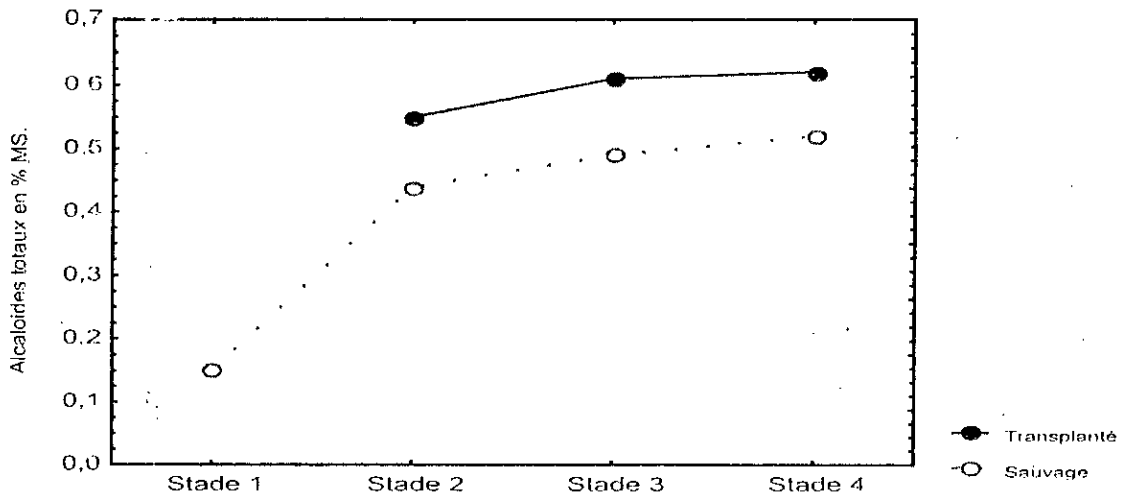


Figure 9 : Teneurs moyennes en alcaloïdes totaux des parties aériennes de *Datura ferox* transplanté et sauvage.

Les moyennes des teneurs en alcaloïdes totaux chez les plantes transplantées sont supérieures aux moyennes des plantes sauvages. Le *D. ferox*, est une plante caractérisée par une forte production d'alcaloïdes tropaniques (BEKKOUCHE *et al.*, 1994). Les différentes analyses effectuées montrent que cette espèce renferme des taux assez importants en alcaloïdes totaux, ils représentent 0.52% chez les plantes poussant à l'état sauvage. Ces taux sont plus élevés chez les plantes transplantées avec 0.62%.

- Traitements statistiques des résultats.

2.5.1.1 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux entre les stades de développement des plantes de *Datura ferox* poussant à l'état sauvage.

Chez les plants sauvages, les teneurs en alcaloïdes varient de 0.44 ± 0.07 g/100g de M.S au stade 2 à 0.52 ± 0.07 g/100g de M.S au stade 4 (Tab. 5).

L'analyse de la variance montre une différence très significative des teneurs en alcaloïdes totaux entre les différents stades de développement étudiés ($P < 0.05$) (Tab. 7). L'hypothèse (H_0) est rejetée au profit de l'hypothèse alternative (H_1) qui a tendance à augmenter la dispersion des moyennes qui nous permet de conclure que les moyennes diffèrent significativement.

Tableau 7 :Analyse de la Variance

	Effet SC	Effet dl	Effet MC	Erreur SC	Erreur dl	Erreur MC	F	p
Teneurs alcaloïdes	0,4431	3	0,1477	0,054	16	0,003	44,12	0.000

Effets significatifs marqués à $p < 0,05$

De cette analyse il en ressort le classement de 2 groupes homogènes. Le groupe A composé du stade 1 et le groupe B composé du stade 2, 3, et 4 (Tab. 8).

- Classement des groupes homogènes

Groupe A = S1 Moyenne = 0.154 g/100gMS.

Groupe B = S2+S3+ S4 Moyenne = **0.448 à 0.528** g/100Gms.

Tableau 8: Comparaison des moyennes des teneurs en alcaloïdes totaux de *D. ferox* sauvage.

	{1}	{2}	{3}	{4}
	M=0,154	M=0,448	M=0,498	M=0,528
Stade 1 {1}		0,000	0,000	0,000
Stade 2 {2}	0,000		0,191	0,044
Stade 3 {3}	0,000	0,191		0,424
Stade 4 {4}	0,000	0,044	0,424	

Différences significatives marquées à $p < 0,05$

- Variabilité des teneurs en alcaloïdes totaux.

La figure 10 nous montre la variabilité des échantillons au sein du groupe. Ce type de tracé place un carré autour du point central (c'est-à-dire la moyenne ou la médiane) pour représenter un intervalle sélectionné (c'est-à-dire l'écart-type d'une moyenne), (les valeurs minimales et maximales).

Le minimum et le maximum des valeurs sont représentés au stade 1 respectivement par 0.13% et 0.17% MS, au stade 2 par 0.37% et 0.55% MS, au stade 3 par 0.43% MS et 0.58% MS et au stade 4 par 0.45% MS et 0.63% MS (Fig.10).

La moyenne la plus petite (0.15 g/100g MS) est constatée au S2 et la plus élevée (0.52 g/100g MS) au S4. L'écart type est plus élevé (0.070) au S2 et au S4, le plus petit est enregistré au S1.

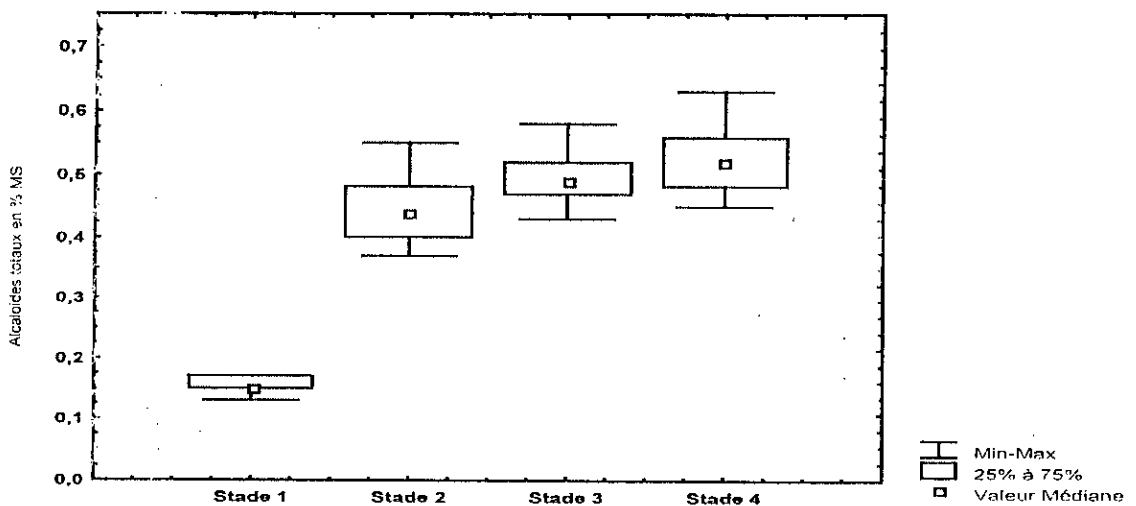


Figure 10 : Variation des teneurs en alcaloïdes totaux de *Datura ferox* sauvage au niveau de chaque stade de développement.

La figure 11 montre la variabilité des teneurs pour les quatre stades de développement des plantes de *D. ferox* poussant à l'état sauvage. Ainsi, le stade 2 (formation du premier bouton floral) et le stade 4 (formation d'au moins 3 fruits murs) montrent une plus grande variabilité des teneurs. Alors que le stade 1 (plantules 4 à 5 feuilles) et le stade 3 (pleine floraison) montrent une certaine homogénéité dans la répartition des teneurs alcaloïdiques chez les plantes qui est particulièrement marquée chez les plantules (stade 1). Cette variabilité pourrait être due à l'annonce de deux étapes physiologiques importantes à savoir l'initiation florales et la maturation des fruits.

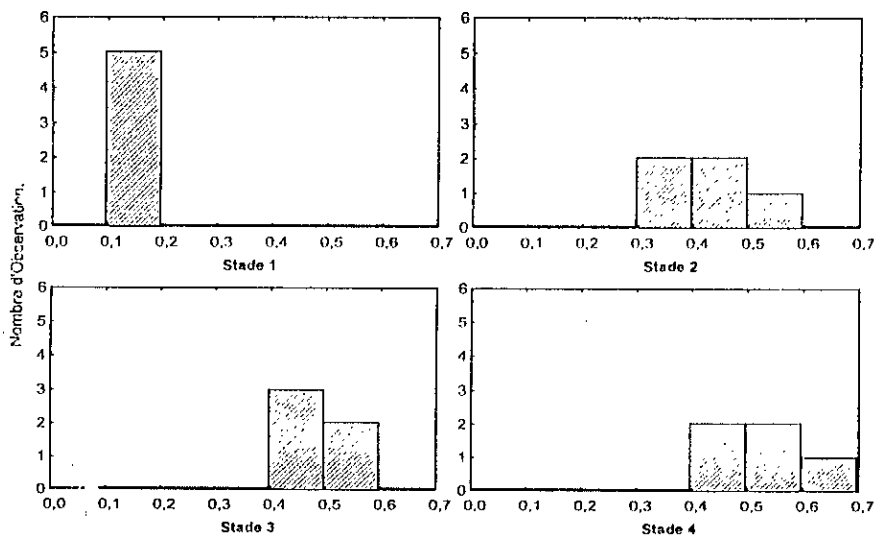


Figure 11 : Répartition des teneurs en alcaloïdes totaux de *Datura ferox* sauvage par observation et par stade de développement.

- Conclusion :

Statistiquement les plants sauvages de *D. ferox* fournissent en moyenne des teneurs en alcaloïdes totaux comparables durant les stades 2, 3 et 4. Le stade 1 est le stade le moins riche.

2.5.1.2 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux entre les stades de développement des plantes de *Datura ferox* transplantées.

Chez les plants transplantés la teneur varie de 0.55 ± 0.09 g/100g de M.S au stade 2 à 0.67 ± 0.06 g/100g de M.S au stade 4 (Tab. 6).

L'analyse de la variance (Tab. 9) montre une différence non significative des teneurs en alcaloïdes totaux entre les différents stades de développement étudiés

($P > 0.05$) (Tab. 9). L'hypothèse (H_0) est retenue, donc il y a égalité des moyennes.

Tableau 9 : Analyse de la Variance

	Effet SC	Effet dl	Effet MC	Erreur SC	Erreur dl	Erreur MC	F	p
Teneurs. Alcaloïdes	0,033	2,000	0,017	0,189	33,000	0,006	2,875	0,071

Effets significatifs marqués à $p < 0,05$

Variabilité des teneurs en alcaloïdes totaux.

La figure 12 nous montre la variabilité des échantillons au sein du groupe. Ce type de tracé place un carré autour du point central (c'est-à-dire la moyenne ou la médiane) pour représenter un intervalle sélectionné (c'est-à-dire l'écart-type d'une moyenne), (les valeurs minimales et maximales).

Le minimum et le maximum des valeurs sont représentés au stade 2 respectivement par 0.39% et 0.69% MS, au stade 3 par 0.49% et 0.72% MS au stade 3 et au stade 4 par 0.52% MS et 0.73% MS (Fig. 12).

La moyenne la plus petite (0.55 g/100g MS) est constatée au S2 et la plus élevée (0.62 g/100g MS) au S4. L'écart type est plus élevé (0.090) au S2 et au S4, le plus petit est enregistré simultanément au S3 et au S4.

Au niveau de *D. ferox* transplanté on constate une plus grande variabilité des résultats au niveau du stade 2, cette variabilité diminue progressivement au stade 3 puis au stade 4.

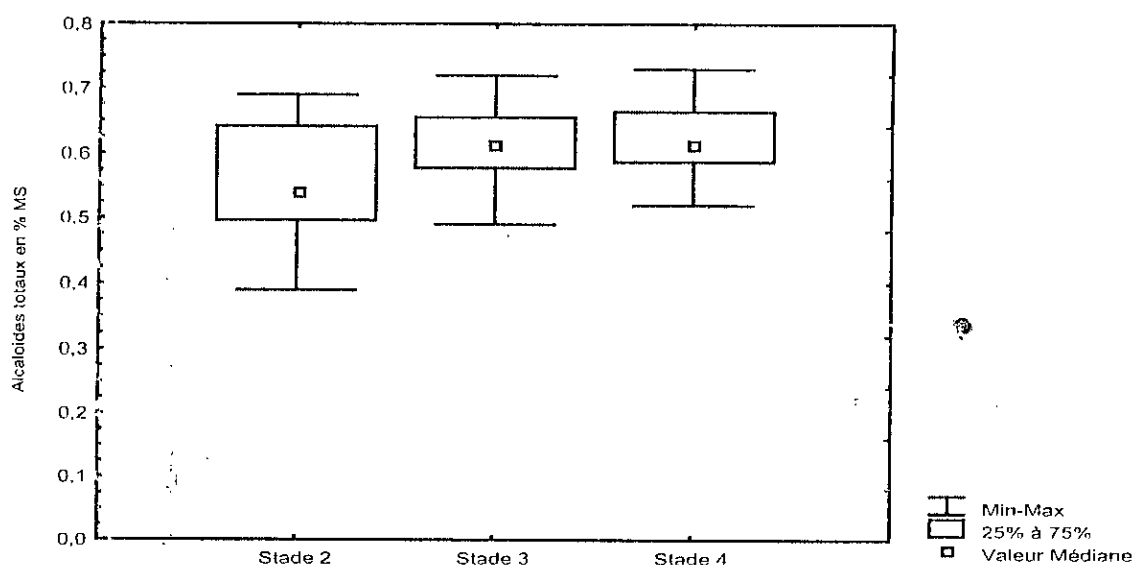


Figure 12 : Variation des teneurs en alcaloïdes totaux de *Datura ferox* transplanté au niveau de chaque stade de développement.

La figure 13 montre la variabilité des teneurs pour les trois stades de développement des plantes transplantées de *D. ferox*. Ainsi, le stade 2 (formation du premier bouton floral) montre une plus grande variabilité des teneurs. Le stade 3 (pleine floraison) et le stade 4 (formation d'au moins 3 fruits) montrent une certaine homogénéité dans la répartition des teneurs alcaloïdiques chez les plantes. L'hétérogénéité des teneurs constatée au stade 2 pourrait résulter du choc de la transplantation.

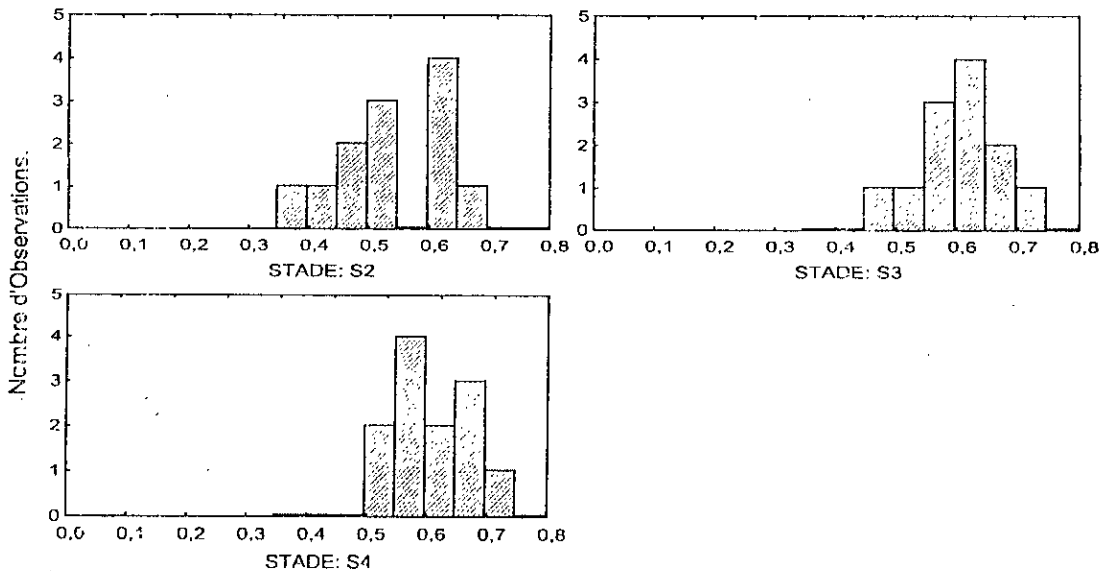


Figure 13 : Répartition des teneurs en alcaloïdes totaux de *Datura ferox* transplantié par observation et par stade phénologique.

- Conclusion :

Statistiquement il n'existe pas de différence significative pour les teneurs en alcaloïdes totaux entre les différents stades de développement des plantes de *D. ferox* transplantés.

2.5.1.3 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux entre les stades de développement des plantes de *D. ferox* transplantées et sauvages.

L'analyse de la variance montre une différence très significative des teneurs en alcaloïdes totaux entre les deux modes de culture ($P < 0.05$) (Tab. 10). L'hypothèse (H_0) est rejetée, l'hypothèse alternative (H_1) est retenue qui montre

une tendance à augmenter la dispersion des moyennes ce qui permet de conclure que les moyennes diffèrent significativement.

Tableau 10: Analyse de la Variance.

	Effet SC	Effet dl	Effet MC	Erreur SC	Erreur dl	Erreur MC	F	p
Teneurs Alcaloïdes	0,930	6,000	0,155	0,243	49,000	0,005	31,266	0,000

Effets significatifs marqués à $p < 0,05$

De cette analyse il en ressort le classement de 3 groupes homogènes (Tab. 11).

- Classement des groupes homogènes :

Groupe A = TS3, TS4 Moyenne = **0.610 à 0.620%**

Groupe B = TS2, SVS2, SVS3, SVS4 Moyenne = 0.448 à 0.552%

Groupe C = SVS1 Moyenne = 0.154%

Le classement des groupes révèle que les teneurs en alcaloïdes totaux des stades 3 et 4 des plants transplantés sont équivalentes avec une moyenne allant de 0.610% MS à 0.620% MS. La teneur en alcaloïdes totaux du stade 2 des plants transplantés est équivalente à la teneur en alcaloïdes totaux des plantes aux stades 2, 3 et 4 poussant à l'état sauvage avec une moyenne allant de 0.448% MS à 0.52% MS. Le stade 1 des plants sauvages est le stade le moins riche en alcaloïdes totaux (0.154% MS)

Tableau 11: Comparaison des moyennes des teneurs en alcaloïdes totaux de *D. ferox* sauvage et transplanté.

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
	M=0,000	M=,552	M=,611	M=,620	M=,154	M=,448	M=,498	M=,528
T S1 {1}	-	-	-	-	-	-	-	-
T S2 {2}	-		0,045	0,021	0,000	0,008	0,152	0,516
T S3 {3}	-	0,045		0,751	0,000	0,000	0,004	0,030
T S4 {4}	-	0,021	0,751		0,000	0,000	0,002	0,017
SV S1 {5}	-	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000
SV S2 {6}	-	0,008	0,000	0,000	0,000		0,267	0,079
SV S3 {7}	-	0,152	0,004	0,002	0,000	0,267		0,504
SV S4 {8}	-	0,516	0,030	0,017	0,000	0,079	0,504	

Différences significatives marquées à $p < 0,05$

T = Transplanté, SV = Sauvage

- Discussion et conclusion :

Le stade 2 des plants transplantés présente une teneur en alcaloïdes totaux équivalentes à celles obtenues aux stades 2, 3 et 4 des plants sauvages. Les stades 3 et 4 des transplantés sont les plus riches en alcaloïdes totaux.

2.5.2. *Datura innoxia*

Chez les plants sauvages, la teneur en alcaloïdes totaux des parties aériennes varie de 0.76 g/100g M.S au stade 2 à 0.54% M.S au stade 4. Le stade 1 est le stade le moins riche avec 0.39 g/100g M.S (Tab. 12).

Tableau 12: Teneurs en alcaloïdes totaux des parties aériennes des plants de *D. innoxia* sauvages (g/100g MS).

Plants \ Stades	Stade 1	Stade 2	Stade 3	Stade 4
1	0.38	0.72	0.55	0.55
2	0.4	0.85	0.62	0.58
3	0.36	0.75	0.65	0.55
4	0.45	0.82	0.6	0.57
5	0.4	0.7	0.42	0.49
Moyennes.	0.39 ± 0.033	0.76 ± 0.065	0.56 ± 0.090	0.54 ± 0.035

Chez les plants transplantés la teneur varie de 0.79 ± 0.11 g/100g M.S au stade 2 à 0.58 ± 0.11 g/110g M.S au stade 4 (Tab. 13).

Tableau 13: Teneurs en alcaloïdes totaux des parties aériennes des plants de *D. innoxia* transplantés (g/100g MS).

Plants \ Stades	Stade 2	Stade 3	Stade 4
1	0.96	0.54	0.55
2	0.87	0.38	0.53
3	0.91	0.43	0.66
4	0.61	0.38	0.7
5	0.74	0.44	0.75
6	0.78	0.55	0.61
7	0.81	0.92	0.37
8	0.63	0.72	0.66
9	0.81	0.82	0.66
10	0.67	0.78	0.38
11	0.77	0.99	0.55
12	0.95	0.88	0.58
Moyennes.	0.79+0.11	0.65+0.22	0.58 + 0.11

Chez les plants issus du semis la teneur en alcaloïdes totaux passe de 0.41 ± 0.14 g/100g MS au stade 1 à 0.63 ± 0.07 g/100g M.S au stade 4 (Tab.14). Nous observons qu'au cours du développement des plantes depuis l'apparition du premier bouton floral à la maturation des fruits, la production d'alcaloïdes des plants augmente de 0.22% M.S. Les plants en pleine floraison présentent des valeurs intermédiaires.

Tableau 14: Teneurs en alcaloïdes totaux des parties aériennes de *D. innoxia* semé (g/100g MS).

Stades	Stade 1	Stade 2	Stade 3	Stade 4
1	0.58	0.48	0.6	0,72
2	0.32	0.53	0.5	0,61
3	0.35	0.51	0.55	0,58
Moyennes.	0.41 ± 0.14	0.5 ± 0.02	0.55 ± 0.05	0.63 ± 0.07

- Discussion :

Les plants semés du stade 2 produisent des teneurs en alcaloïdes totaux inférieures à celles trouvées chez les plants transplantés et les plants sauvages. Pour les deux modes de culture sauvage et semis, le stade 1 est le moins riche en alcaloïdes totaux ($0.39 \pm 0.03\%$ M.S pour le mode sauvage et $0.41 \pm 0.14\%$ MS pour le mode semis).

Les différentes analyses effectuées montrent que les plantes de cette espèce sont riches en alcaloïdes totaux pour les trois formes de conduite. Avec des teneurs assez élevées pouvant atteindre en moyenne un taux de 0.79% pour la catégorie des transplantés, un taux de 0.76% pour les plantes sauvages et un taux de 0.63% pour les plantes issues du semis (Fig. 14).

A la maturation des fruits (plante adulte) au stade 4, les plants transplantés et sauvages voient leur production alcaloïdique diminuer. Par contre, chez les plants issus du semis la production alcaloïdique augmente jusqu'à dépasser celles des deux précédents modes de conduite (Fig. 14).

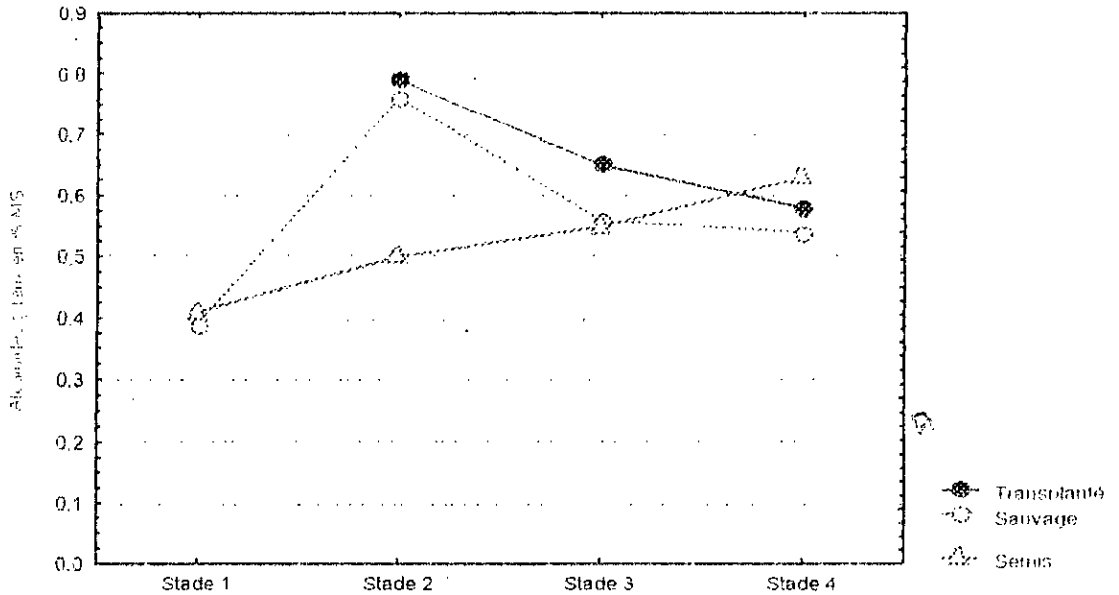


Figure 14 : Evolution des teneurs moyennes en alcaloïdes totaux des plants de *Datura innoxia* sauvages, transplantés et semés.

- Conclusion :

La production alcaloïdique chez *D. innoxia* est élevée durant la période de début floraison (S2) chez les plants transplantés et sauvages, elle accuse une diminution durant les stades de pleine floraison et pleine fructification. Par contre chez les plants de semis la production alcaloïdique n'atteint son maximum qu'en pleine fructification (S4).

- Traitements statistiques des résultats :

2.5.2.1 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux entre les stades de développement des plantes de *D. innoxia* sauvages.

Chez les plants sauvages, la teneur en alcaloïdes totaux des parties aériennes varie de 0.76% M.S au stade 2 à 0.54% M.S au stade 4 (Tab. 12).

L'analyse de la variance montre une différence très significative des teneurs en alcaloïdes totaux entre les différents stades de développement : $P = 0.000$ ($P < 0.05$) (Tab. 15). L'hypothèse alternative (H_1) est retenue qui montre une tendance à augmenter la dispersion des moyennes et montre que les moyennes diffèrent significativement.

Tableau 15 : Analyse de la variance

	Effet SC	Effet dl	Effet MC	Erreur SC	Erreur dl	Erreur MC	F	p
Teneurs Alcaloïdes	0,346	3	0,115	0,058	16	0,003	31,46	.0000

Effets significatifs marqués à $p < 0,05$

De cette analyse il en ressort le classement de 3 groupes homogènes (Tab. 16). Le groupe A = S2 (Moyenne = 0.76% MS). Le groupe B = S3 + S4 (Moyenne = 0.60% MS). Le groupe C = S1 Moyenne = 0.39% MS

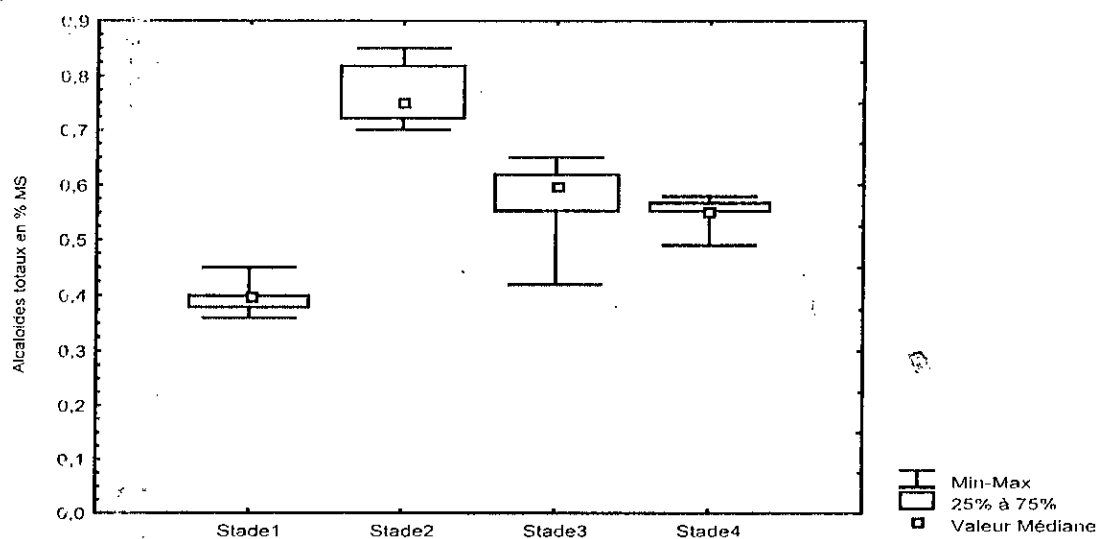
Tableau 16: Comparaison des moyennes des teneurs en alcaloïdes totaux de *D. innoxia* sauvage.

	{1}	{2}	{3}	{4}
	M = ,398	M = ,768	M = ,568	M = ,548
Stade 1 {1}		0,0000	0,0004	0,0012
Stade 2 {2}	0,0000		0,0001	0,0000
Stade 3 {3}	0,0004	0,0001		0,6088
Stade 4 {4}	0,0012	0,0000	0,6088	

Effets significatifs marqués à $p < 0,05$

- Variabilité des teneurs en alcaloïdes totaux.

La figure 15 illustre une importante variation des teneurs en alcaloïdes totaux au niveau du stade 3. C'est le stade qui contient la plus grande différence entre le minimum et le maximum.

**Figure 15 : Variation des teneurs en alcaloïdes totaux de *Datura innoxia* sauvage au niveau de chaque stade de développement.**

L'analyse des données montre que le stade 2 est le stade le plus riche en alcaloïdes totaux avec une moyenne de 0.79% MS. Le stade 3 est intermédiaire avec 0.65% MS. Le stade 4 est le stade le moins riche avec 0.58% MS. L'écart type le plus élevé est au niveau du stade 3.

La répartition des teneurs alcaloïdiques par stade montre une plus grande variabilité au cours des stades 2 et 3 (Fig. 16).

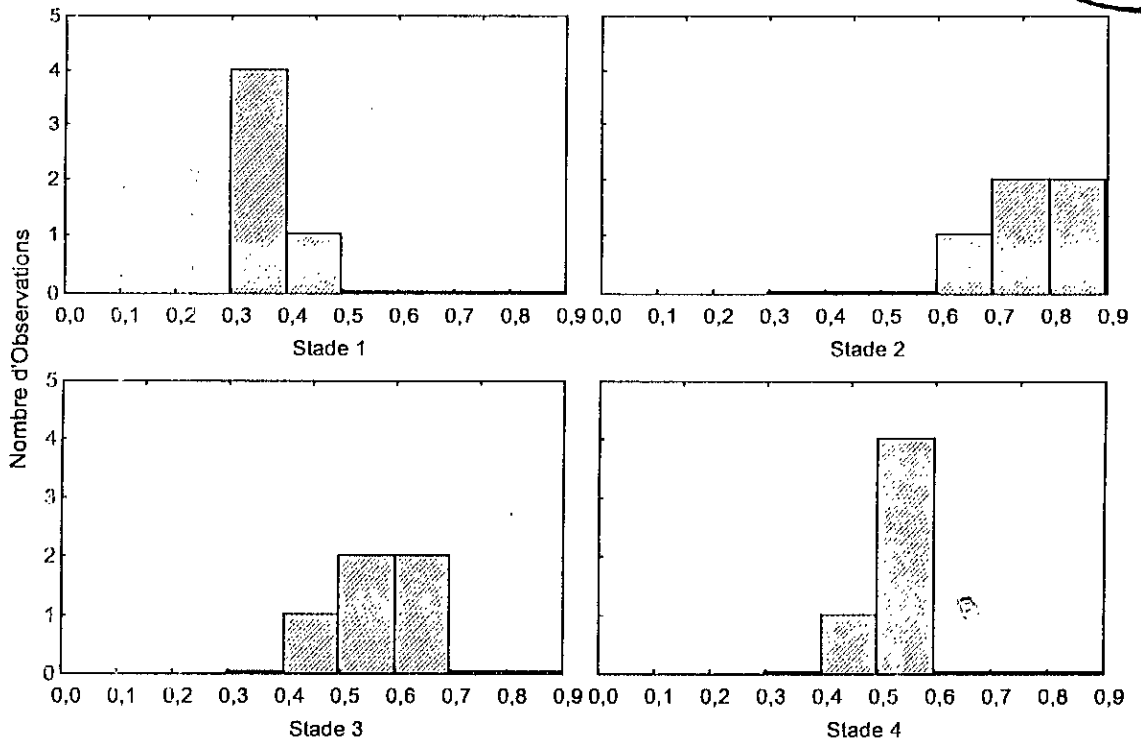


Figure 16 : Répartition des teneurs en alcaloïdes totaux de *Datura innoxia* sauvage par observation et par stade de développement.

- Conclusion :

Les plants à l'état sauvage sont caractérisés par une production alcaloïdiques plus élevée au stade 1^{er} bouton floral (S2).

2.5.2.2 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux entre les stades de développement des plantes de *D. innoxia* transplantées.

Chez les plants transplantés la teneur varie de 0.79% M.S au stade 2 à 0.58% M.S au stade 4 (Tab. 13).

L'analyse de la variance montre une différence très significative des teneurs en alcaloïdes totaux entre les différents stades de développement : $P = 0.010$ ($P < 0.05$) (Tab. 17). L'hypothèse alternative (H_1) est retenue qui montre une tendance

a augmenter la dispersion des moyennes et montre que les moyennes diffèrent significativement.

Tableau 17: Analyse de la Variance

	Effet SC	Effet dl	Effet MC	Erreur SC	Erreur dl	Erreur MC	F	p
Teneurs Alcaloïdes	0,273	2,000	0,136	0,856	33,000	0,026	5,256	0,010

Effets significatifs marqués à $p < 0,05$

De cette analyse il en ressort le classement de 2 groupes homogènes (Tab. 18).

- Classement des groupes homogènes.

Groupe A : S2 Moyenne = **0.79** g/100g MS

Groupe B : S3 + S4 Moyenne = 0.58 à 0.65 g/100g MS

Tableau 18 : Comparaison des moyennes des teneurs en alcaloïdes totaux de *D. innoxia* transplanté.

	{1}	{2}	{3}
	M=, 79250	M=, 65250	M=, 58333
Stade 2 {1}		0,0407	0,0032
Stade 3 {2}	0,0407		0,3003
Stade 4 {3}	0,0032	0,3003	

Différences significatives marquées à $p < 0,05$

- Variabilité des teneurs en alcaloïdes totaux.

La figure 17 montre une variabilité importante des teneurs alcaloïdiques au niveau du stade 3 qui enregistre un minimum de 0.38% MS et un maximum de 0.99% MS avec une valeur de l'écart type la plus élevée (0.22) contre 0.12 au stade 2 et 4. Nous constatons que la médiane au stade 2 est la plus importante (0,76% MS) comparativement au stade 3 et 4 qui enregistrent une même valeur (0.58% MS).

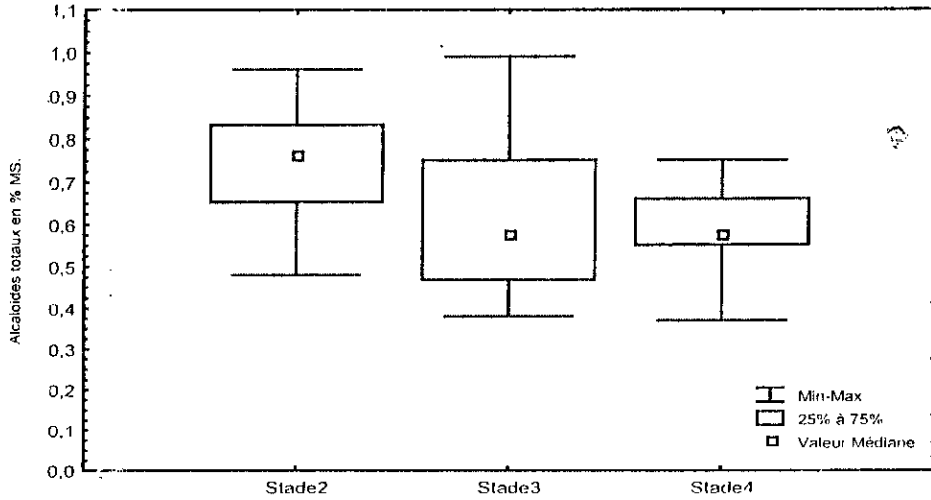


Figure 17 : Variation des teneurs en alcaloïdes totaux de *Datura innoxia* transplanté au niveau de chaque stade de développement.

La variabilité des teneurs en alcaloïdes totaux est importante au stade 3 avec un degré moindre au stade 4. Le stade 2 est le stade le plus stable du point de vue teneurs alcaloïdiques des échantillons (Fig. 18).

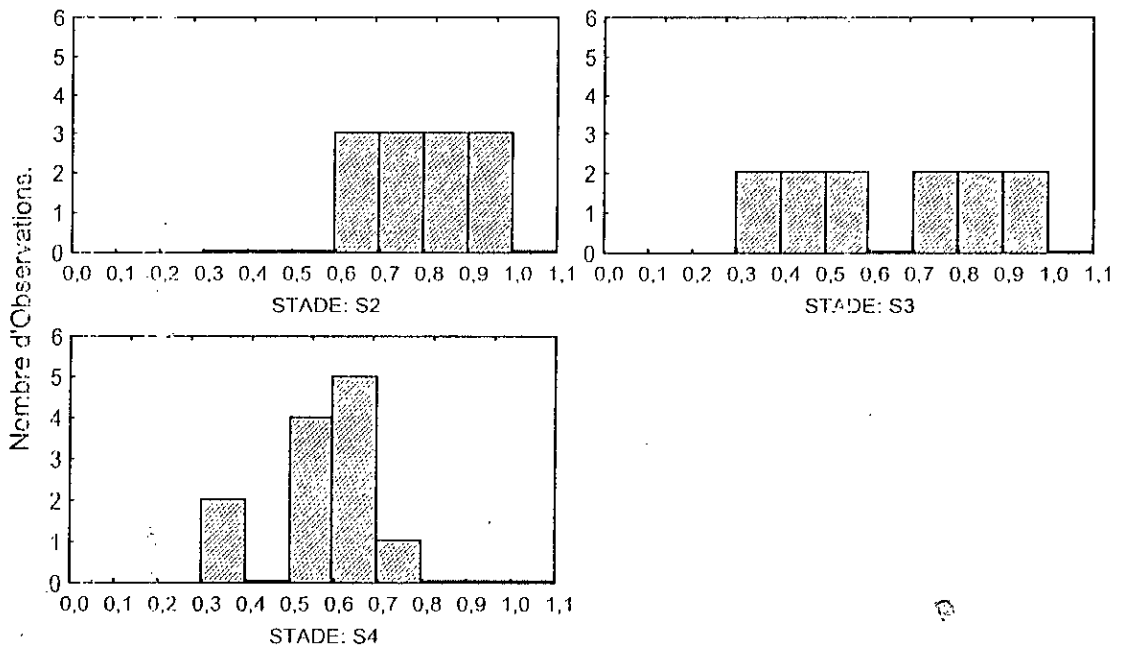


Figure 18 : Répartition des teneurs en alcaloïdes totaux de *Datura innoxia* transplanté par observation et par stade de développement.

- Conclusion :

Le plus haut rendement en alcaloïdes totaux de *D. innoxia* transplanté est obtenu au stade 2 (début de floraison).

2.5.2.3. Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux entre les stades de développement des plantes de *D. innoxia* semées.

Chez les plants issus du semis la teneur en alcaloïdes totaux est maximale au stade 4 avec 0.63% M.S contre une valeur minimale de 0.41% M.S au stade 1.(Tab.14).

L'analyse de la variance (Tab. 19). montre une différence non significative des teneurs en alcaloïdes totaux entre les différents stades de développement étudiés où $P = 0.07$ soit ($P > 0.05$) L'hypothèse (H_0) est retenue, donc il y a égalité des moyennes.

Tableau 19 : Analyse de la Variance

	Effet SC	Effet dl	Effet MC	Erreur SC	Erreur dl	Erreur MC	F	p
Teneurs alcaloïdes	0,075	3	0,025	0,058	8	0,007	3,49	0,069

Effets significatifs marqués à $p < ,05000$

- Variabilité des teneurs en alcaloïdes totaux.

La figure 19 montre une très grande variabilité des teneurs alcaloïdiques au cours du 1^{er} stade (présence de 3 à 4 feuilles). Au stade 1 le minimum est à 0.32% MS et le maximum à 0.58% MS. Nous constatons que le minimum au stade 4 est à 0.58% MS et le maximum à 0.72% MS. La valeur de la médiane la plus faible est au stade 1 et la plus forte est enregistrée au stade 4. En effet, la plus grande valeur de la variance des teneurs alcaloïdiques au sein du stade est enregistrée au stade 1.

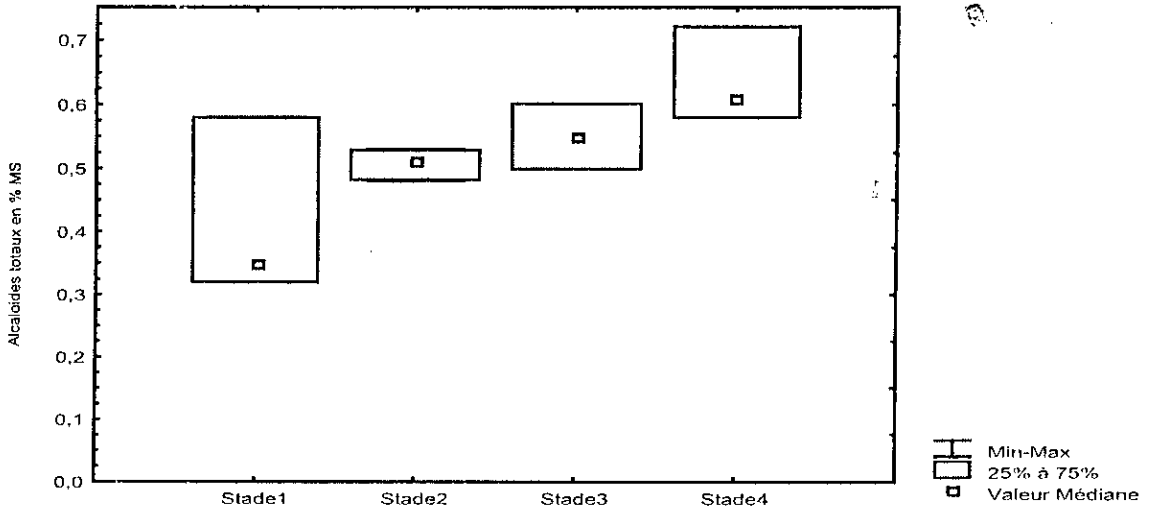


Figure 19 · Variation des teneurs en alcaloïdes totaux de *Datura innoxia* semé au niveau de chaque stade de développement.

La figure 20 illustre le décalage qui existe entre les teneurs des échantillons au stade 1. En effet nous constatons une hétérogénéité importante des teneurs en alcaloïdes totaux entre les échantillons analysés au stade 1, une stabilité aux stades 2 et 3 et une légère hétérogénéité au stade 4.

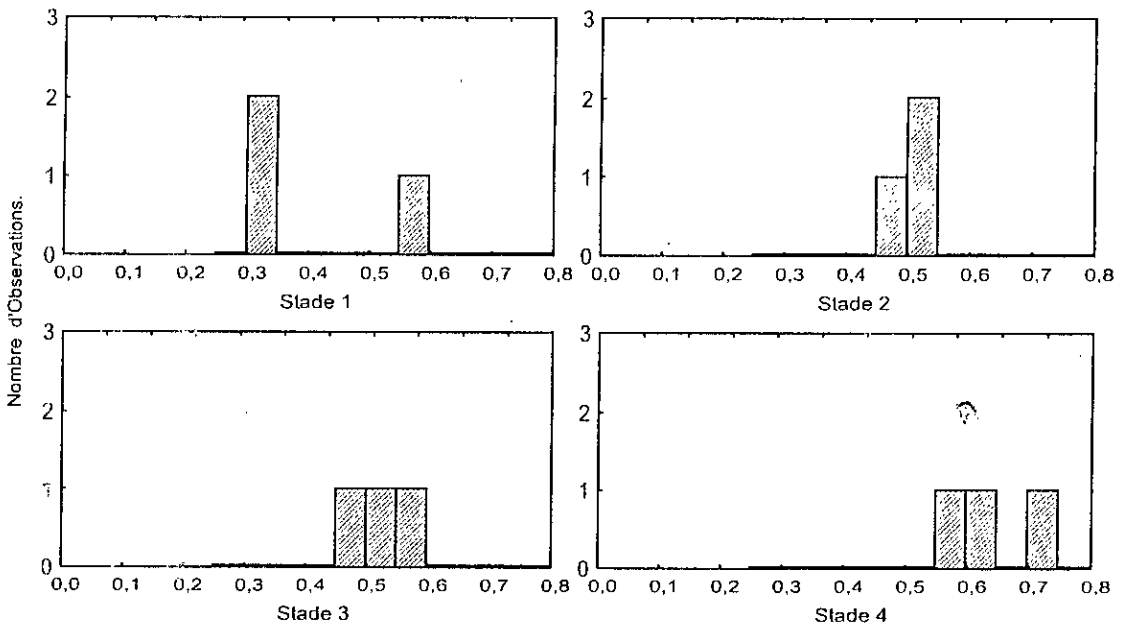


Figure 20 : Répartition des teneurs en alcaloïdes totaux de *Datura innoxia* semé par observation et par stade de développement.

- Conclusion :

Il n'existe pas de différence significative entre les teneurs alcaloïdiques des différents stades de développement de *D. innoxia* semé.

2.5.2.4 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux entre les stades de développement des plantes de *D. innoxia* transplantées, sauvages et semées.

L'analyse de la variance (Tab. 20). montre une différence très significative des teneurs en alcaloïdes totaux entre les différents stades phénologiques : $P= 0.000$ ($P < 0.05$) L'hypothèse (H_0) est rejetée, on accepte l'hypothèse alternative (H_1) qui a tendance à augmenter la dispersion des moyennes et nous concluons que les moyennes diffèrent significativement.

Tableau 20: Analyse de la Variance

	Effet SC	Effet dl	Effet MC	Erreur SC	Erreur dl	Erreur MC	F	p
Teneurs Alcaloïdes	0,959	10,000	0,096	0,972	57,000	0,017	5,626	0,000

Effets significatifs marqués à $p < 0,05$

De cette analyse il en ressort le classement de 3 groupes homogènes (Tab. 21) dont les alcaloïdiques sont comparables.

- Classement des groupes homogènes.

Groupe A : TS2, TS3, SVS2

Moyenne = **0.65 à 0.79%** MS

Groupe B: TS4, SVS3,SVS4, SMS3, SMS4

Moyenne = 0.54 à 0.6% MS

Groupe C : SVS1, SMS1, SMS2

Moyenne = 0.39 à 0.50% MS

- Discussion :

Les plants transplantés aux stades 2 et 3 donnent des teneurs en alcaloïdes totaux équivalentes aux teneurs obtenues par les plants sauvages au stade 2. Ces teneurs sont les plus élevés. Par contre un troisième groupe se distingue par des teneurs les plus faibles, représenté par les plants poussant à l'état sauvage au stade 1 (SVS1) et par les plantes obtenues par semis au stade 1 (SMS1) et au stade 2 (SMS2).

**Tableau 21: Comparaison des moyennes des teneurs en alcaloïde
Datura innoxia sauvage et cultivé.**

N° Echantillons			{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}
			M=0,00	M=0,79	M=0,65	M=0,58	M=0,39	M=0,76	M=0,56
T	S1	{1}							
T	S2	{2}			0,011	0,000	0,000	0,725	0,002
T	S3	{3}		0,011		0,198	0,001	0,101	0,228
T	S4	{4}		0,000	0,198		0,010	0,010	0,826
SV	S1	{5}		0,000	0,001	0,010		0,000	0,044
SV	S2	{6}		0,725	0,101	0,010	0,000		0,018
SV	S3	{7}		0,002	0,228	0,826	0,044	0,018	
SV	S4	{8}		0,001	0,137	0,612	0,074	0,010	0,809
SM	S1	{9}		0,000	0,009	0,068	0,764	0,001	0,143
SM	S2	{10}		0,001	0,088	0,366	0,258	0,008	0,522
SM	S3	{11}		0,006	0,228	0,693	0,116	0,026	0,851
SM	S4	{12}		0,069	0,851	0,528	0,015	0,173	0,473

T = Transplanté
 SV = Sauvage
 SM = Semis
 M = Moyennes

Un groupe intermédiaire renfermant des teneurs moyennes comparable est représenté par les plants aux stades 4 (transplantés, sauvages et semés) et aux stades 3 (sauvages, semés).

Ces résultats confirment ceux trouvés par MECHLER et KOHLENBACH en 1978 et HOUMANI (1999) sur *D. innoxia*. La teneur en alcaloïdes totaux de *D. innoxia* sous les trois modes de culture dépasse les teneurs signalées par BEKKOUCHE *et al.*, (1994), COSSON *et al.*, (1978) sur *D. stramonium*. Par contre elles sont moins importantes que celles trouvées sur la même espèce en pleine fructification (stade 4) par HOUMANI (1999). Pour les trois stades de développement, les plantes récoltées à El Attaf sont deux fois plus riches en alcaloïdes totaux que celles récoltées à Mehdellah (Est d'Alger) par DAMBRI (1998). Ces résultats confirment l'étroite dépendance des teneurs alcaloïdiques de l'organe considéré, de son âge physiologique, du stade de développement atteint par la plante et au conditionnement climatique auquel elle a été soumise COSSON *et al.*, (1978). Ces résultats montrent que les plantes de *D. innoxia* élaborent plus d'alcaloïdes totaux en phases de floraison et de fructification et concordent avec ceux des travaux de BENHIZIA, (1989) et HOUMANI *et al.*, (1994). D'autre part, la composition du sol en calcium favoriserait la synthèse alcaloïdique des plantes. Ainsi KUMAR *et al.*, (1983) indiquent que les meilleurs rendements en alcaloïdes chez *A. belladonna* sont obtenus dans un sol contenant du calcium. Les *Datura* sont des plantes nitrophiles (JAUZEIN, 1995), ainsi les fertilisants (NH_4NO_3 et le phosphore en particulier), augmentent la teneur en alcaloïdes totaux (KUMAR *et al.*, 1983). On rappelle ici que le précédent cultural de notre essai était une légumineuse.

D'après KAPAHI et SARIN, (1978) les sols limono - sableux, un pH presque neutre et une haute humidité favorisent un bon développement végétatif et une hausse de la production des alcaloïdes. Ces caractéristiques édaphiques sont similaires à nos conditions expérimentales.

- Conclusion

Les teneurs en alcaloïdes totaux de *D. innoxia* varient selon le mode de culture et le stade de développement des plants. Chez les plants transplantés et sauvages, le stade 2 (début floraison) montre la meilleure production d'alcaloïdes que les autres stades.

2.5.3 Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux entre les stades de développement des plantes de *D. ferox* et de *D. innoxia*.

L'analyse de la variance (Tab. 22) montre une différence très significative des teneurs en alcaloïdes totaux entre les différents stades phénologiques $P= 0.000$ ($P < 0.05$) L'hypothèse (H_0) est rejetée, on accepte l'hypothèse alternative (H_1) qui a tendance à augmenter la dispersion des moyennes et nous concluons que les moyennes diffèrent significativement.

Tableau 22 : Analyse de la variance.

	Effet SC	Effet dl	Effet MC	Erreur SC	Erreur dl	Erreur MC	F	p
Teneurs Alcaloïdes	2,14	17,00	0,12	1,21	106,0	0,011	11,003	0,000

Effets significatifs marqués à $p < 0,05$

De cette analyse il en ressort le classement de 3 groupes homogènes (Tab. 23).

- Classement des groupes homogènes :

Groupe A = *D. innoxia* TS2 et SVS2 (Moyennes = 0.76 à 0.79% MS).

Groupe B = *D. innoxia* SMS1 et SMS2, TS3 et TS4, SVS3 et SVS4, SMS3 et SMS4,

D. ferox TS2, TS3, TS4 et SVS2, SVS3 et SVS4 (Moyennes = 0.41 à 0.65% MS).

Groupe C = *D. innoxia* SVS1

D. ferox SVS1 (Moyennes = 0.15 à 0.39% MS).

Le test de comparaison des moyennes fait ressortir le classement de trois groupes homogènes. Le groupe A représenté par *D. innoxia* au stade 2 (apparition du 1^{er} bouton floral) des plants transplantés et poussant à l'état sauvage, les teneurs en alcaloïdes totaux sont comparables et sont les plus élevées. Le groupe C englobe les stades 1 des plants de *D. innoxia* et *D. ferox* poussant à l'état sauvage (moyennes = 0.15 à 0.39% MS). Ce groupe est caractérisé par les plus faibles teneurs en alcaloïdes totaux. Tous les autres stades appartenant aux deux espèces et aux différents modes de culture sont

Tableau 23: Comparaison globale des teneurs moyennes en alcaloïdes
Datura ferox et *Datura innoxia*.

			{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}
			M=,79	M=,55	M=,65	M=,61	M=,58	M=,62	M=,76	M=,44	M=,56	M=,49	M=,56
T	S2	D.inn {3}		0,000	0,003	0,000	0,000	0,000	0,680	0,000	0,000	0,000	0,000
T	S2	D.fer {4}	0,000		0,030	0,195	0,498	0,135	0,000	0,080	0,794	0,359	0,000
T	S3	D.inn {5}	0,003	0,030		0,370	0,130	0,487	0,054	0,001	0,156	0,010	0,000
T	S3	D.fer {6}	0,000	0,195	0,370		0,534	0,840	0,010	0,007	0,462	0,057	0,000
T	S4	D.inn {7}	0,000	0,498	0,130	0,534		0,410	0,002	0,024	0,796	0,152	0,000
T	S4	D.fer {8}	0,000	0,135	0,487	0,840	0,410		0,014	0,004	0,374	0,040	0,000
SV	S2	D.inn {11}	0,680	0,000	0,054	0,010	0,002	0,014		0,000	0,005	0,000	0,000
SV	S2	D.fer {12}	0,000	0,080	0,001	0,007	0,024	0,004	0,000		0,091	0,478	0,000
SV	S3	D.inn {13}	0,000	0,794	0,156	0,462	0,796	0,374	0,005	0,091		0,322	0,000
SV	S3	D.fer {14}	0,000	0,359	0,010	0,057	0,152	0,040	0,000	0,478	0,322		0,000
SV	S4	D.inn {15}	0,000	0,939	0,080	0,284	0,552	0,221	0,002	0,158	0,776	0,478	
SV	S4	D.fer {16}	0,000	0,680	0,038	0,160	0,352	0,120	0,001	0,258	0,570	0,670	0,000
SM	S1	D.inn {17}	0,000	0,061	0,001	0,008	0,022	0,005	0,000	0,700	0,065	0,319	0,000
SM	S2	D.inn {19}	0,000	0,524	0,045	0,146	0,288	0,115	0,002	0,471	0,451	0,915	0,000
SM	S3	D.inn {21}	0,001	0,972	0,156	0,392	0,643	0,326	0,008	0,212	0,825	0,523	0,000
SM	S4	D.inn {23}	0,032	0,243	0,826	0,728	0,459	0,826	0,109	0,022	0,399	0,091	0,000

T = Transplanté

SV = Sauvage

SM = Semis

M = Moyennes

D.fer = *D. ferox*

D.inn = *D. innoxia*

classés identiques dans le groupe B, ils contiennent en moyennes des teneurs intermédiaires variables de 0.41 à 0.65% MS d'alcaloïdes totaux.

La figure 21 illustre clairement les valeurs de la teneur moyenne en alcaloïdes totaux au niveau des 4 stades de développement. L'espèce *Datura innoxia* produit plus d'alcaloïdes totaux que l'espèce *Datura ferox* au niveau de tous les stades de développement et aux différents modes de culture à l'exception du stade 4 des plants transplantés où *Datura ferox* produit une quantité légèrement supérieure à celle de *Datura innoxia* cultivé par transplantation ou poussant à l'état sauvage.

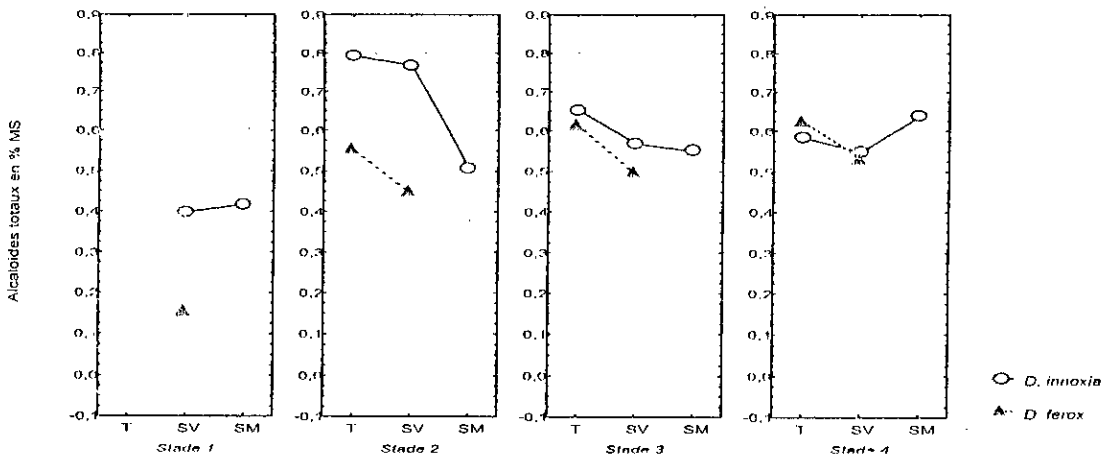


Figure 21 : Comparaison des teneurs en alcaloïdes totaux de *D. ferox* et *D. innoxia* aux différents stades de développement des plants

- Discussion

L'étude des résultats de la production alcaloïdiques des deux espèces montrent deux comportements différents. En effet *D. innoxia* produit le maximum d'alcaloïdes totaux durant le stade 2 (1^{er} bouton floral) des plants sauvages et transplantés. Les plants de *D. innoxia* issus de semis, les plants sauvages et transplantés de *D. ferox* montrent une production alcaloïdique élevée au stade 4 (pleine fructification). Selon KUMAR *et al.*, (1983), les hautes températures et la lumière intense influencent positivement la biosynthèse des alcaloïdes chez les plants de *D. innoxia*

- **Conclusion :**

- Les plus hautes teneurs moyennes en alcaloïdes totaux sont enregistrées au stade 2 chez les plants transplantés et poussant à l'état sauvage de *D. innoxia*.

- Les plus faibles teneurs moyennes en alcaloïdes totaux sont enregistrées au stade 1 chez les plants poussant à l'état sauvage de *D. innoxia* et de *D. ferox*.

- Les teneurs moyennes intermédiaires sont obtenues au niveau de tous les autres stades à savoir : SMS1, SMS2, SMS3, SMS4, TS3 et TS4, SVS3 et SVS4, pour *D. innoxia* et TS2, TS3, TS4, SVS2, SVS3, SVS4 pour *D. ferox*.

A partir de ces résultats nous faisons ressortir que :

- l'espèce *D. innoxia* est plus productive en alcaloïdes totaux que l'espèce *D. ferox* au stade 2 sous les modes de culture sauvage et par transplantation.

- les deux espèces sont caractérisées par une production maximale d'alcaloïdes totaux à des stades de développement différents. Cette différence pourrait être liée à l'espèce.

- le mode de culture à l'état sauvage et par transplantation n'ont pas d'effet sur la biosynthèse des alcaloïdes totaux chez les deux espèces. Par contre chez *D. innoxia*, le mode de culture par semis s'avère moins performant que les deux autres modes.

2.6. Rendements alcaloïdiques.

Durant notre expérimentation, en culture, nous avons évalué la densité de peuplement à 12500 plants à l'hectare pour les deux espèces. Les rendements de *Datura ferox* varient de 2.81 kg/ha au stade 2 à 43.30 kg/ha au stade 4 chez les plants transplantés. Pour les plants sauvages les rendements varient 0.13 kg/ha au stade 2 à 5.90 kg/ha au stade 4 (Tab. 24). Ces résultats montrent clairement que chez *Datura ferox* la culture par transplantation a permis une amélioration des rendements alcaloïdiques à l'hectare de 7 fois au stade 4 et à 21 fois au stade 2 par rapport aux plants poussant à l'état sauvage.

Tableau 24: Rendements en alcaloïdes totaux de *Datura ferox*
par plant (g/plant et par hectare (kg/ha).

Stades	Plants sauvages			Plants cultivés		
	PS	Rdt/Plant	Rdt/ha	PS	Rdt/Plant	Rdt/ha
Stade 2	2.4	0.010	0.13	41	0.22	2.81
Stade 3	31	0.151	1.89	317	1.93	24.17
Stade 4	92.1	0.478	5.90	559,2	3.46	43.30

PS = Poids sec

Chez *Datura innoxia* poussant à l'état sauvage (Tab. 25), les rendements varient de 1.75 kg/ha au stade 2 à 8.79 kg/ha au stade 4. Pour les mêmes stades, chez les plants cultivés, ces rendements passent respectivement à 6.91 kg/ha et 49.44 kg/ha chez les plants transplantés. Les plants obtenus par semis présentent des rendements variant de 0.73 kg/ha au stade 2 à 10.20 kg/ha au stade 4

Tableau 25 : Rendements en alcaloïdes totaux de *Datura innoxia*
par plant (g/plant) et par hectare (kg/ha).

Stades	Plants sauvages			Plants transplantés			Semis		
	PS	Rdt/Plant	Rdt/ha	PS	Rdt/plant	Rdt/ha	PS	Rdt/plant	Rdt/ha
Stade 2	18,5	0.140	1.75	70	0.55	6.91	11,8	0.05	0.73
Stade 3	44,5	0.249	3.11	406	2.63	32.98	60,6	0.33	4.16
Stade 4	130,3	0.703	8.79	682	3.95	49.44	129,6	0.81	10.20

PS = Poids sec

Nos résultats montrent que c'est le stade 4 de *Datura innoxia* et *Datura ferox* transplantés qui permettent les plus forts rendements alcaloïdiques avec respectivement 49.44 kg/ha et 43.30 kg/ha. Les plus faibles rendements sont obtenus aux stades 1 et 2 pour les deux espèces. Le stade 3 chez les transplantés donnent des résultats intermédiaires avec respectivement 24.17 kg/ha chez *Datura ferox* et 32.98 kg/ha chez *Datura innoxia*.

Les résultats montrent que la culture par semis a légèrement augmenté les rendements aux stades 3 et 4. Mais c'est la transplantation qui a entraîné une amélioration nette des rendements alcaloïdiques de 4 fois au stade 2 à 6 fois au stade 4. Au stade 3 les rendements sont augmentés de 10 fois.

La transplantation a amélioré les rendements en phytomasse et alcaloïdiques. En effet la transplantation de plantules sauvages a engendré un taux de reprise satisfaisant, une phytomasse plus forte et au stade 4 les plants transplantés révèlent une productivité d'alcaloïdes supérieure à celle des plants sauvages. On constate que les rendements alcaloïdiques augmentent parallèlement à l'amélioration de la phytomasse, ce qui concorde avec les de SAKSON (1979) sur *Atropa belladonna*. Ces résultats montrent également que les plantes de *D. ferox* élaborent plus d'alcaloïdes totaux en période de fructification ce qui concordent également avec les de résultats de HOUMANI *et al.*, (1999) ; Ces auteurs signalent que les parties aériennes de *D. ferox* sont riches en scopolamine (1.10 mg/g de MS). Dans ce contexte, ROMEIKE (1958) in PARIS et MOYSE (1971) ont signalé que l'époxydation de l'hyoscyamine en scopolamine dure pendant toute la vie de la plante et la proportion de scopolamine augmente constamment et atteint 90% des alcaloïdes totaux dans les feuilles adultes. AFSHARYPUDR *et al.* (1995) relèvent que, durant le développement de *Datura metel*, les rendements en alcaloïdes augmentent graduellement avec l'évolution de la croissance ; elles sont plus élevées quand la plante est à la fin de son stade développement (maturation des graines). Cette amélioration serait favorisée par plusieurs paramètres tels que le travail du sol, l'irrigation permanente, l'absence des mauvaises herbes et surtout le stress causé par le changement du milieu ce qui provoquerait chez la plante une augmentation de la synthèse alcaloïdique. Ce qui est confirmé par notre travail où les plants transplantés présentent les meilleurs rendements alcaloïdiques. Le précédent cultural (légumineuse) pourrait avoir un effet stimulant d'autant plus que les *Datura* sont des plantes nitrophiles (JAUZEIN, 1995) et que les fertilisants (NH_4NO_3 et le phosphore en particulier), augmentent la teneur en alcaloïdes totaux (KUMAR *et al.*, 1983). La composition du sol en calcium favorise la synthèse alcaloïdique des plantes. Ainsi KUMAR *et al.*, (1983) indiquent que les meilleurs rendements en alcaloïdes chez *A. belladonna* sont obtenus dans un sol contenant du calcium.

Les hautes températures et la lumière intense influenceraient positivement la concentration en alcaloïdes chez les *D. ferox* (KUMAR *et al.*, 1983).

Ces résultats confirment la relation des teneurs alcaloïdiques avec le stade de développement atteint par la plante, du conditionnement climatique auquel elle

a été soumise et de la diversité de l'espèce comme cela a été signalé par COSSON et al, (1978).

- Conclusion .

Pour tous les stades de développement des plants, la culture par transplantation a produit une amélioration des rendements alcaloïdiques chez les deux espèces. Mais *Datura innoxia* a montré une production plus importante que *Datura ferox*. Les deux espèces sont des mauvaises herbes communes pouvant présenter une importante source d'alcaloïdes tropaniques.

**CONCLUSION GENERALE
ET
PERSPECTIVES**

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES:

Les analyses effectuées sur les parties aériennes entières de *Datura ferox* et *Datura innoxia* révèlent la présence des alcaloïdes. L'analyse quantitative des alcaloïdes tropaniques chez *D. ferox* et *D. innoxia* révèle une variabilité des teneurs en alcaloïdes totaux dans les populations sauvages ou cultivés. Cette variabilité est conditionnée par trois paramètres :

- l'espèce.
- les conditions de cultures (cultivé ou sauvage).
- le stade de développement .

Les données climatiques et édaphiques des stations de récolte et d'expérimentation concordent avec les travaux de HOUMANI (1999) qui révèlent que les espèces de *Datura* poussent sur des sols légèrement basiques, de texture limoneuse à limono-sableuse et se rencontrent de l'étage bioclimatique humide à l'étage aride, à différentes altitudes.

Les taux de germination des graines semées au laboratoire et en plein champs sont très faibles pour *D. innoxia* voire nuls pour *D. ferox* . Ces résultats confirmeraient les travaux de HOUMANI (1999) selon lesquels, la saison de récolte et la durée de stockage pourraient jouer un rôle important dans la levée de dormance.

La culture de plantules sauvages des deux espèces par transplantation ne produit pas de stress aux jeunes plants. La réussite de la reprise des plantes après transplantation est de 89%. Elle est satisfaisante.

A tous les stades de développement, la transplantation de plantules sauvages des deux espèces provenant de la localité d'El Attaf permet de développer une plus grande phytomasse végétale que les plants poussant à l'état sauvages ou les plants issus du semis (chez *D. innoxia*). La culture par semis et l'état sauvage chez *Datura innoxia* donne des rendements similaires en matière de poids sec. Toute fois, *Datura innoxia* produit plus de matière sèche par plant que *Datura ferox*. Ce travail illustre bien , qu'à la différence des plantes poussant à l'état sauvage, la culture par transplantation améliore nettement l'accroissement

de la masse végétative des plantes et par conséquent leur productivité en alcaloïdes. Les rendements alcaloïdiques augmentent parallèlement à l'amélioration de la masse végétale, ce qui concorde avec les travaux de SAKSON (1979) sur *A belladonna*.

Cette étude a révélé que la production alcaloïdique de *D. innoxia* est nettement supérieure à celle de *D. ferox*.

Chez les deux espèces les teneurs en alcaloïdes totaux durant les phases de développement sont différentes, le stade 2 (stade 1^{er} bouton floral) est le stade le plus productif en matière d'alcaloïdes chez *D. innoxia* cultivée par transplantation ou à l'état sauvage.

Le *D. ferox* produit le maximum de richesse au stade 4 (au moins 3 fruits murs).

Concernant les conditions de culture, les différentes analyses montrent que la culture par transplantation a entraîné une nette amélioration des rendements alcaloïdiques. Le mode de culture par semis nécessite la détermination de plusieurs paramètres des graines à la maturation tels que la date de semis et le temps de repos des graines après récolte.

Il serait possible à l'aide de cultures adéquates, d'exploiter dans l'industrie pharmaceutique les deux espèces afin d'extraire les alcaloïdes d'intérêt thérapeutique.

L'exploitation de ces espèces offrirait la possibilité d'une fabrication locale avantageuse de molécules organiques industrielles habituellement importées.

Ce travail préliminaire constitue une base importante d'informations pour une éventuelle amélioration de la production des alcaloïdes tropaniques. Dans ce contexte les essais devront porter sur plusieurs axes de recherches tels que :

- Analyse quantitative et qualitative détaillée (détermination des constituants alcaloïdiques)
- Etude agrotechnique de la transplantation des deux espèces (Sols, climats, dates de transplantation, dates de semis, doses d'irrigation, des essais de fertilisation portant surtout sur la fertilisation azotée.
- Sélection massale des caractères phénologiques permettant de déterminer des individus assez productifs en alcaloïdes tropaniques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

- **ANONYME, 2001.**- Données encyclopédiques. *Hachette Multimédia. Yahoo.fr*
- **ADZET T., DIEGO G. et IGLESIAS J., 1979.**- Contribution à l'étude chimiotaxonomique de quelques taxons de *Datura*. *Plant. Med. et Phyt.* **13** (4). 292-296.
- **AFSHARIPUOR S., MOSTAGERAN A. and MOKHTARI R., 1995.**- Variation of scopolamine and atropine in different parts of *Datura metel* during development. *Plant Med.* **61** (4). 383-384.
- **BAIZE B., 1988.**- Guide des analyses courantes en pédologie. Ed. *INRA* Paris, 172p.
- **BALLARE C.L., SCOPEL A.L., GHERSA C.M. and SANCHEZ R.A., 1987.**- The population ecology of *Datura ferox* in soybean crops. A simulation approach incorporating seed dispersal. *Agri. Ecos. Envir.* **19**. 177 - 188.
- **BALLARE C.L., SCOPEL A.L., GHERSA C.M. et SANCHEZ R.A., 1988.**- The fate of *Datura ferox* seeds in the soil as affected by cultivation, depth of burial and degree of maturity. *Ann. Appl. Bot.*, **112**. 337 - 345.
- **BARTON I.V., 1961.**- Experimental seed physiology at Boyce Thompson Institute for plant research, Inc. *Youkers, N.Y. USA*, 124-161.
- **BHATT A.B. and SARATBABU G.V., 1988.**- Notes on the distribution of two exotics in western india. *Acta Bot. Indica.* **16**. 117-118.
- **BEKKOUCHE K., LAZREK H.B., et JANA M., 1994.**- Détermination quantitative de l'atropine et de la scopolamine chez quelques solanacées mydriatiques Marocaines de Rabat. Actes du 1^{er} colloque international "La pharmacopée Arabo - Islamique Hier et Aujourd'hui." 169-176.
- **BENHIZIA Z., 1989.**- Contribution à l'étude d'une plante médicinale algérienne: *Datura stramonium* L. *Thèse magister, Sci. Agr. Alger* 62p.
- **BENISTON N. T. W.S., 1984.**- Fleurs d'Algérie. Ed. *E.N.L.* Alger, 326p.
- **BIANCHINI F. et PANATANO A.C., 1986.**- Guide vert des plantes et des fleurs. Ed. *SOLAR*. 125 p
- **BINE P. et BRUNEL J.P., 1968.**- Physiologie Végétale. T2, Ed. *DOIN*. 760 - 766.
- **BISIO A. MINUTO L. and GASTALDO P., (2000).**- Etnopharmacologia. *Erga edizioni*, 76-77.

- **BOITEL-CONTI M., GONTIER E., LABERCHE J.C., DUCROQ C. and SANGWAN - NORREL B.S., 1995.**- Permeabilisation of *Datura innoxia* hairy roots for release of stored tropane alkaloids. *Planta Med.* **61.** 287 - 290.
- **BOUAMI - GUENNOUNI-ASSIMI R., 1986.**- Comparaison entre la variabilité spontanée et celle provoquée par les rayons X chez *Datura innoxia* Mill. multipliée *in vitro*. Thèse de doctorat de l'univ. Paris 6.
- **BRACHET A., MATUS L., CHERKAOUI S., CHRISTEN P., GAUVRIT J.-Y., LANTERI P. et VEUTHEY J.-L., 1999.**- Application of central composite designs in the super critical fluid extraction of tropane alkaloids in plant extracts. *Analysis* **27.** 772-778.
- **BRUNETON J., 1993.**- Pharmacognosie- Photochimie- plantes médicinales. 2ème édit. *LAVOISIER Edit.* Paris, 915p.
- **CASSAGNES A.M. 1982.**- Etude de l'influence des conditions de néoformation *in vitro* sur le contenu alcaloïdique chez *Datura innoxia* D.E.A. Biol. Et Phys. Vég. Unv. P.M. Curie Paris 6^e. 1-2.
- **CHERKAOUI S., MATEUS L., CHRISTEN P. and VEUTHEY J.L., 1997.**- Micellar electrokinetic capillary chromatography for selected tropane Alkaloid analysis in plant extract. *Chromatographica*, **46** (7/8). 351-358.
- **CHOUARD P., 1950.**- Dormances et inhibitions des graines et des bourgeons. C.D.U., Paris. 156-157.
- **CIRIGLIANO A., VELEIRO A.S., OBERTI J.C. et BURTON G., 1995.**- A 15 β - Hydroxywithanolide from *Datura ferox* L. *Phytochem.* **40** (2). 611 -613.
- **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.
- **COSSON L., 1972.**- Influence de l'éclaircissement sur la teneur en alcaloïdes tropaniques des *Datura* : Analyse des processus pouvant en expliquer les effets. *Thèse Doc. Sc.* Paris, 66p.
- **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. CHOUARD, Paris
- **COSSON L., ESCUDERO MORALES A. et COUGOUL N., 1978.**- La régulation écophysiological du métabolisme des alcaloïdes tropaniques (hyoscyamine et scopolamine), *Plant. Med. et Phyt.* **XII** (4). 319-326.

- **COSSON L. et KUNTZMANN-COUGOUL N., 1980.-** La régulation du métabolisme des alcaloïdes tropaniques (hyoscyamine et scopolamine) chez le *Duboisia myoporoides* R.Br. et les *Datura* cultivés en conditions contrôlées. *Acta. Hort.* 96, 135-141.
- **COSSON L., BOUAMI - GUENNOUNI A. et DUBREILA J., 1990.-** Selection and improvement of *Datura innoxia* Mill. Morphological variability in vitro propagated plant. *Bull. Soc. Fr. 137 Lettre Bot.* (4/5) : 261-262.
- **COUGOUL N., MIGINIAC E. et COSSON L., 1979.-** Un gradient métabolique: rapport scopolamine/hyoscyamine dans les feuilles du *Duboisia myoporoides* en fonction de leur niveau d'insertion et du stade de croissance", *Phytochemistry*, **18**: 949-951.
- **COULADIS MM., BRENT FRISSEN J., LANDGREBE E. and LEETE E., 1991.-** Enzymes catalysing the réduction of Tropinone to tropine and Ψ -tropine isolated from the roots of *Datura innoxia* . *Phytochem.* **30** (3). 801-805.
- **DAMBRI M., 1998.-** Evaluation de la composition alcaloïdique de *Datura innoxia* Mill. et *Datura tatula* L. poussant à l'état sauvage. Thèse Ing. Sc. Agr Blida, 81p.
- **DE MIGUEL L. 1980.-** Changes in levels of endogenous inhibitors during dormancy breakage in *Datura ferox* L. seeds. *Zeit. Pflanzenphysiol.* Bd. **96** He.5, Se. 415-421.
- **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** (2). 289- 294.
- **DEMEYER K. and DEJAEGERE R., 1992.-** Effect of the nitrogen form used in the growth medium (NO_3^- , NH_4^+) on alkaloid production in *Datura stramonium* L. *Plant and soil.* **147**. 79-86.
- **DESAILLY I., FLINIAUX M.-A. et DUBREUIL A. J., 1988.-** Etude de la distribution des alcaloïdes dérivés de l'acide tropique chez *Datura stramonium* L., par dosage immunoenzymatique : localisation tissulaire et subcellulaire. *C. R. Acad. Sci. Paris* , **306**, Ser. III, 591-596.
- **DEYSSON G., 1970.-** Physiologie et biologie des plantes vasculaires. 1^{ère} partie : Nutrition et métabolisme. *Soc. Edit. D'enseig. Sup.* Paris V. 238-244.
- **DUCOURTIOUX 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. 3^{ème} cycle en physiologie végétale approfondie.* Paris 72 p.

- **DUCROCQ C., 1994.**- Genetic transformation in a medicinal plant : *Datura innoxia* Mill., by *Agrobacterium tumefaciens* and *Agrobacterium rhizogenes* and contribution to the study of secondary metabolites. *Thèse Doc. Es. Sci. Biotechnologie*. 264p.
- **FABRE R., 1935.**- Alcaloïdes, 2^e partie (des solanées mydriatiques, de la coca, des aconites, des strychninées, liliacées. Genalcaloïdes). *Ed. Herman & C^{ie}*. 52 p.
- **FLINIAUX A., 1991.**- Optimisation des conditions d'analyse immunoenzymatique et chromatographique des alcaloïdes tropaniques et nicotïniques, ainsi que certains phénols. Application à l'étude des conditions de production de ces métabolites par du matériel végétal issu de cultures *in vitro* de solanacées. *Thèse Doc.d'Etat es Sciences pharmaceutiques*. 1-9.
- **FLINIAUX O., MESNARD F., RAYNAUD S., BALTORA S., ROBINS R. et FLINIAUX M.A., 2001**- Utilisation de la séquence RMN HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Coherence) pour suivre le métabolisme azoté dans des cultures de racines transformées de *Datura stramonium*. **Communication** – Méthodes et Applications en Biologie. XVII^{ème} CONGRES ANNUEL DU GERM. 14 – 18 Mai 2000. L Pommraye (Maine et Loire) France.
- **GAY C., OLIE J.P., LO E.H. et DENIKER P., 1986.**- Aspects cliniques, Pharmacologiques et thérapeutiques de l'intoxication au *Datura*. *L'évolution psychiatrique*, **51** (3), 671-682.
- **GOODMAN L. and GILMAN A., 1996.**- The pharmacological basis of therapeutics. J. Hardman, Gilman A. and Limbird L. E. (Eds) 8th ed New York St Louis. 141p.
- **GUIGNARD J.L., 1979.**- Abrégé de biochimie végétale. *Edit. Masson.*, Paris, 240p.
- **GUILLON A., 1950.**-Les alcaloïdes du *Datura stramonium* au cours de son développement *C.R. de l'académie des sciences Paris*, **230** 1604-1606.
- **GUPTA S., PRABHAKAR V.S., et MADAN C.L., 1976.**- The distribution of total Alkaloids and major components in the different organs of *Datura metel* var. *Fastuosa* at various stages of growth. *Bd. 23, Heft 4*, 370-376.
- **HASHIMOTO T., YUKIMUNE Y. and YAMADA Y., 1986.**- tropan alkaloid production in *Hyoscyamus* roots cultures. *J. Plant Physiol.*, **124**. 61-75.
- **HASHIMOTO T. et YAMADA Y., 1987.**- Purification and characterization of hyoscyamine 6 β -hydroxylase from root cultures of *Hyoscyamus niger* L. *Eur. J. Biochem.* **164**.277-285.

- **HASHIMOTO T., HAYASHI A., AMANO Y., KOHNO J., IWANARI H. and YAMADA Y., 1991.**- Hyoscyamine 6 β -hydroxylase an enzyme involved in tropan alkaloid biosynthesis is localised at the pericycle of the root. *J. Bilo. Chem.* **266** (7). 4648-4653.
- **HASHIMOTO T. and YAMADA Y., 1994.**- Alkaloid biogenesis : Molecular aspects. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **45**, 257-285.
- **HAMMICHE V., 1988.**- Systématique et morphologies botaniques. *Ed. O.P.U. Alger* 158-179.
- **HELLER R., ESNAULT R. et LANCE C., 1998.**- Physiologie végétale. Nutrition Tome 1, 6^e édit. *Dunod Edit*, Paris. 304-305
- **HEBY O., 1981.**- Role of polyamines in the control of cell proliferation and differentiation", *Springer-Verlag*, 19: 1-20,.
- **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.
- **HEROUART D., GONTIE E., SANGWA R.S. and 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.* **12** (241). 1073-1076.
- **HOUDE A., 1985.**- Pérennité des alcaloïdes. Edit. L. *PARIENTE* Paris. 53-223.
- **HOUGAARD D. M., 1991.**- Polyamine phytochemistry: localisation and possible fonctions of polyamines, *International review of cytology*, 138: 51-87,.
- **HOUMANI Z., COSSON L., CORBINEAU F. et CÔME D., 1994.**- Etude de la teneur en hyoscyamine et scopolamine d'une population sauvage de *Datura stramonium* L. en Algérie. *Acta bot. Gallica* **141** (1). 61-66.
- **HOUMANI Z. et COSSON L., 1998.**- Composition en alcaloïdes tropaniques de deux espèces de *Datura* identifiées en Algérie: *Datura ferox* L. et *Datura quercifolia* H.B.K., *Acta bot. Gallica*, **145** (3), 195-198.
- **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 doctorat d'état Sc. Agr. I.N.A Alger.
- **HOUMANI Z., COSSON L. et HOUMANI M., 1999.**- *Datura ferox* L. and *Datura quercifolia* Kunth (solanaceae) in Algeria. *Flor. Med.* **9.** 57-60.
- **HOUMANI Z. et COSSON L., 2000.**- Etnopharmacologia. *terga edizioni*, 76-213.

- IONKOVA I., WITTE L. and ALFERMANN A.W. , 1994.- Spectrum of tropane alkaloids in transformes roots of *Datura innoxia* and *Hyoscyamus X györfi* cultivated in vitro. *Planta Med.* **60**. 382-384.
- JAUZEIN P., 1995.- Flore des champs cultivés. Ed. INRA Paris. 668-674.
- JOSEPH A., GORDON C., RIBAC J., BINAH O. and ROLNICK A., 1987.- Efficacy of transdermal scopolamine against seasickness: A 3 days study at sea. *Aviat. Space Environ. Med.* **58** (1). 60-62
- KAPAH I. and SARIN Y.K. 1978.- Natural factors governing the growth and alkaloid in *Datura innoxia* Mill. *Indian J. Pharm.*, 14-15.
- KEELER R.F., 1979.- Toxic plants : tropane alkaloid toxin. A. DOUGLAS KINGHORN. Ed., N. York. 130p.
- KITAMURA Y., YAMASHITA R., MIURA H. et WATANABE M., 1993.- Phloem transport of tropane and pyridine alkaloids in *Duboisia myoporoides*. Atropine dynamics in seedlings of *Duboisia myoporoides*. *J. Plant Physiol.* **142**. 635-637.
- KOELEN K.G. and GROSS G.G., 1982.- Partial purification and properties of tropine dehydrogenase from root cultures of *Datura stramonium*. *Planta Med.* **44** 227-230.
- KUMAR A. SHARMA A. and VIRMANI O.P., 1983.- E. Review article. E1. Belladonna and its cultivation. *A review Cromap.* **5** (3), 198-211.
- KUMAR A., SHARMA A., SINGH A. K. et VIRMANI O. P., 1984.- E1 Cultivation of *Hyoscyamus* as source of tropan alkaloids : *A review Cromap.* **6** (4), 195-211.
- LAFON J.-P., THARAUD-PRAYER C. et LEVY G., 1996.- Biologie des plantes cultivées. Organisation physiologie de la nutrition : 2^{ème} édition. *Lavoisier Tec. Doc.* Tome 1, 1-91
- LARDINOIS P., DUEZ P., CHAMART S., LEJOLY J., HANOCQ M., GUISSOU P., SAWADOGO M., et MOLLE L., 1988.- Etude des conditions D'optimalisation d'une culture de *Datura stramonium* au Burkina Faso. *Bull. Med. Trad. Pharm.* **2** (1). 31-43.
- LEBON H., 1971. - *Datura stramonium* L., *Datura tatula* L., étude comparée sur les plans botanique, chimique et pharmacodynamique. *Thèse Doc. En Pharm.* Paris, 4-52
- LEETE E., 1979.- Biosynthesis and metabolism of the tropane alkaloids. *Planta Med.* **36** (2). 98-106.

- **LEVASSEUR A., 1984** .- Effet des mycoplasmes sur la teneur alcaloïdique de trois plantes; *Cathranthus roseus*, *D. stramonium* et *Nicotiana tabacum*. C.R. CNRS Lab. Phytotron Gif sur Yvette, 10-41.
- **LINDSEY K. and YEOMAN M.M., 1983** .- the relationship between growth rate differentiation and alkaloid accumulation in cell cultures. *J. Exp. Bot.* **34** (145). 1055-1065.
- **LIST G.R. et SPENCER G.F., 1976** .- Fate of jimsonweed seed alkaloids in soybean processing. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **53** (8). 535-536.
- **LOUNASMAA M. and TAMINEN T., 1993**.- The alkaloids, C. A. Cordell (Ed.), Academic Press, New York. 44.
- **LOVETT J.V., POTTS W.C., 1987**.- Primary effects of allelochemicals of *Datura stramonium* L.. *Plant and soil* **98**. 137-144.
- **MANO Y., OKHAWA H., and YAMADA Y., 1989**.- Production of tropane Alkaloids by hairy root cultures of *Duboisia leichhardtii* transformed by *Agrobacterium rhizogenes*. *Plant Science* **59**. 191-201.
- **MATEUS L., CHERKAOUI S., CHRISTEN P. and VEUTHEY J.-L. M., 1998**.- Use of Doehlert design in optimizing the analysis of selected tropane by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Journal of Chromatography A*, **829** . 317-325.
- **MATEUS L., CHERKAOUI S., CHRISTEN P., and OKSMAN-CALDENTY K.M., 2000**.- Simultaneous determination of scopolamine and littorine in plants and different hairy clones of *Hyoscyamus muticus* by micellar electrokinetic chromatography. *Phytochem.* **54**. 517-523.
- **MATEUS L., CHERKAOUI S. CHRISTEN P. and VEUTHEY J.-L., 2000**.- Enantioseparation of atropine by capillary electrophoresis using sulfated β -cyclodextrin: application to a plant extract. *Journal of Chromatography A*, **868**. 285-294.
- **MECHLER E. and COHLENBACH H. W., 1978**.- Alkaloid content in leaves of Diploid and haploid species. *Planta Med.* **33**. 350-355.
- **MELLA R. A., BURGIN M. J., STANELONI R.J. and SANCHEZ R. A., 2000**.- Expansins gene expression is regulated by phytochrome during dormancy breakage in *Datura ferox* L. seeds. *The American Society of Plant Physiologists Plant Biol.* 150p
- **MURANAKA T., KAZUOKA T., OHKAWA H. and YAMADA Y., 1993**.- Characteristics of scopolamine releasing hairy root clones of *Duboisia leichhardtii*. *Biosci. Biotech. Biochim.* **57** (8). 1398-1399.
- **OKSMAN-CALDENTY K.-M., and HILTUNEN R., 1996**.- Transgenic crops for improved pharmaceutical products. *Field Crops Research* **45**, 57-69.

- **OZENDA P., 1983.-** Flore du Sahara. 2^{ème} éd., Ed. CNRS, Paris.
- **PARIS R.R., et MOYSE H., 1971.-** Les solanacées médicales. Matière médicale. 3^{ème} édit., MASSON et Cie Edit., Paris, 76-79.
- **PARIS R.R. et HURABIELLE H., 1981.-** Abrégé de matière médicale (Pharmacognosie). Tome (plantes à glucides, à lipides, à huiles essentielles, à protides et à alcaloïdes). 256-327.
- **PARR A.J., PAYNE J. EAGLES J., CHAPMAN B.T., ROBINS R.J. and RHODES M.J.C., 1990.-** Variation in tropane alkaloid accumulation within the Solanaceae and strategies for its exploitation. *Phytochem.* **29** (8). 2545-2550.
- **PETRI G. and BAJAJ Y.P.S., 1989.-** *Datura* spp.: 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.
- **PORTSTEFFEN A., DRAGER B., and NAHRSTEDT A., 1994.-** The reduction of tropinone in *Datura stramonium* root cultures by two specific reductase. *Phytochem.* **37** (2). 391-400.
- **QUEZEL P. et SANTA C., 1963.-** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. 2, CNRS, Paris.
- **REISMAN-BERMAN O., KIGEL J. and RUBIN B., 1989.-** Short soaking in water inhibits germination of *Datura ferox* L. and *D. stramonium* L. seeds *Weed Research.* **29.** 357-363.
- **REISMAN-BERMAN O and KIGEL J., 1991.-** Dormancy patterns in buried seeds of *Datura ferox* and *Datura stramonium*. *Can. J. Bot.* **69.** 173-179.
- **ROBINS R.J., PARR A.J., PAYNE J., WALTON N.J. and RHODES M.J.C., 1990.-** Factors regulating tropane alkaloid production in a transformed root culture of a *Datura candida* × *Datura aurea* hybrid. *Planta.* **181.** 414-422.
- **ROQUES H., 1959.-** Précis de botanique pharmaceutique. Ed. Libr. Maloine, Paris. 678-679.
- **ROMEIKE A., 1961.-** Mémoires. *Bull. Soc. bot. Fr.* p. 33.
- **SAKSON N., 1979. –** The effect of irrigation and fertilisation on yield *atropa belladonna* L. *Planta Med.* **36.** (3). 247-248.
- **SAMUELSON G. 1992.-** Drugs of natural origin. A text book of pharmacology. SWEDISH PHARMACEUTICAL PRESS. SWEDEN.

- **SANCHEZ R.A., EYHERABIDE G., and DE MIGUEL L., 1981.**- The influence of the irradiance and water deficit during fruit development on seed dormancy in *Datura ferox* L. *Weed Res.*, **21**. 127-132.
- **SANCHEZ R.A. and de MIGUEL L.C., 1985.**- The effect of red light ABA and K⁺ on the growth rate of *Datura ferox* embryos and its relations with the photocontrol of germination. *Botanical Gazette*. **146**. 472-476.
- **SHUKLA Y.N., and THAKUR R.S., 1992.**- Tropane alkaloids from *Duboisia myoporoides*. *Phytochem.* **31** (12). 4389-4390.
- **STARY F., 1992.**- Plantes médicinales. *GRÜND Edit.* Paris. 92-93.
- **VALLET A., 1996.**-Contribution à l'étude de la biosynthèse des alcaloïdes tropaniques chez le *Datura innoxia* Mill.; transformation par *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium rhizogenes* et culture de chevelus racinaires. *D.E.A. Génie enzymatique, bioconversion et microbiologie. Univ. Picardie Jules Verne Amiens* Fr. 1-15.
- **VALETTE G., 1964.**- Précis de pharmacodynamique. 2eme édit. *MASSON et Cie Edit.*, Paris XI. 260-265.
- **VAN DE VELD H., DEMEYER K. and DEJAEGERE R., 1988.**- Influence of IAA and DMAA on hyoscyamine and scopolaminé production in *Datura stramonium* var. *tatula*. *Acta Agr. Hung.* **37** (1-2). 55-63.
- **VITALE A.A, ACHER A. And POMILIO A.B., 1995.**- Alkaloids of *Datura ferox* from Argentina. *J. Ethnopharm.* **49** (2). 81-89.
- **VERZAR-PETRI G., KIET D. H. and SZOKE E., 1978.**- The alkaloid production in *Datura innoxia* tissue cultures, *Acta Botanica Academiae Scientiarum Hungaricae*, **24** (3-4): 351-361,.
- **WALLER G.R., and DERMER O.C., 1981.**- The biochemistry of plant. *Comprehensive treatise. 7. ACADEMIC PRESS.* N. YORK.
- **WEAVER SE., 1986.**- Factors affecting threshold levels and seed production of Jimsonweed (*Datura stramonium* L.) in soyabeans (*Glycine max* (L.) Merr.) *Weed Research.* **26**, 215-223.

