

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD Dahleb.Blida



Faculté des sciences Agro-vétérinaires et Biologiques
Département d'Agronomie

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master 2
En sciences de la nature et de la vie.

Spécialité : Biotechnologie des plantes aromatiques et médicinales et des produits naturels

THEME

Evaluation des teneurs en alcaloïdes totaux du *Datura innoxia* Mill sous l'effet de *Trichoderma* sp.

Présenté par : **HADRI Asmaâ**

Soutenu le : 16/12/2012

Devant le jury composé de :

Mme. HOUMANI Z.	Pr	USDB	Présidente
Mme. CHEBATA N.	MAA	USDB	Promotrice.
Mme. MOUMEN S.	MAA	USDB	Co-promotrice.
Mr. AISSAT A.	MCA	USDB	Examineur
Mme. GHANAI R.	MCA	USDB	Examinatrice.

Année universitaire : 2011/2012

Remerciement

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail..

Je tiens à exprimer ma gratitude et ma reconnaissance à mes parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Je voudrais présenter mes remerciements à ma promotrice Mlle CHEBATA N je voudrais également lui témoigner ma gratitude pour sa patience et son soutien qui m'a été précieux afin de mener mon travail à bon port.

Je tiens aussi à remercier ma Co-promotrice Mme MOUMEN pour sa présence, ces précieux conseils, ses qualités humaines, et son aide.

Je voudrais dire combien je suis particulièrement reconnaissante à Mme HOUMANI Z pour avoir honoré de sa présence ce jury en acceptant de le présider, elle est toujours présente, disponible et qui a toujours trouvé le temps pour mener avec moi des discussions enrichissantes.

Mes remerciements s'adressent également aux membres du jury. M. AISSAT A. pour avoir accepté de présider le jury et Mme GHANAI R,

Je remercie vivement ma sœur Mina qui m'a encouragé, m'a aidé de m'a accompagnée durant mon cursus, et je n'oublierai jamais ma sœur Khadija et mes frères Abdellah et Fayçal, pour leur support et soutien.

Mes vifs remerciements vont à monsieur BOUABIDA et les filles de la pépinière «E'CHO VERT» pour leur aide et leur présence à mes côtés et pour leur soutien.

J'adresse mes plus sincères remerciements au Mr BELLATRECHE pour son aide précieuse

Je ne terminerai pas mes remerciements sans une pensée pour mes amis de l'option de biotechnologie des plantes médicinales et aromatiques et produits naturels et pour Sihem et Rabab techniciennes de labo

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

A mon père pour son soutien aux moments difficiles de mon travail et surtout pour sa patience

A ma mère qui m'a éclairée mon chemin et qui m'a encouragé et soutenue toute au long de mes études

A mon frère Abdellah

A mes sœurs : mina et Khadidja,

A ma nièce JNEB

A ma grand-mère Pasmina.

A ma mes cousins Omed et Rym

A tous mes amis de la promotion de biotechnologie des plantes médicinales et aromatiques et produits naturels

A mes amies soumia, mira, sabrina, zola, mouna, romaissa et lamo

A toute personne qui a contribué de près ou de loin pour terminer ce mémoire.

Résumé

Notre travail contribue à montrer l'effet de la souche (PA) de *Trichoderma* sur *Datura innoxia* afin d'évaluer la faculté germinative ainsi que le développement des parties aériennes des plantes témoins et traitées et leur rendement en alcaloïdes tropaniques totaux.

Les résultats ont montré que les plantes traitées avaient un pouvoir germinatif supérieur à celui des plantes témoins avec une valeur de 80%.

Les plantes traitées ont montré aussi une bonne croissance végétative par rapport aux plantes témoins quant à la hauteur et le diamètre des tiges ainsi qu'une meilleure genèse des feuilles.

L'extraction des alcaloïdes tropaniques de différents organes des plantes témoins et traitées aux différents stades de développement a montré que les teneurs en alcaloïdes tropaniques des plantes traitées sont supérieures (0.71%) à celles des plantes témoins (0.49%), ils sont maximales au stade d'apparition du 1^{er} bouton floral (0.60%) et sont concentrée au niveau des feuilles par rapport aux tiges avec une moyenne de 0.67%.

Mots clés : *Datura innoxia* Mill, *Trichoderma* sp., allélopathie, alcaloïdes tropaniques, croissance.

Abstract

Our study contributes to demonstrate the effect of (PA) *Trichoderma* on *Datura innoxia* to evaluate the germinative power also the development of aerial parts and their yields in total tropanic alkaloids

The results showed that the treated plants had a superior germinative power comparing to control plants with percentage of 80%.

The extraction of tropanic alkaloids from different organs of treated and control plants in their different development stage, revealed that the yield in tropanic alkaloids in treated plants is superior than those control plants with percentage 0,71% and 0,49% respectively, furthermore this yield attained their maximal in the first bud (0,60%) also they are concentrated in the leaves compared to stems (0,67%)

Key word: *Datura innoxia* Mill, *Trichoderma* sp., allelopathy, tropanic alkaloids, growth.

ملخص

ساهمت هاته الدراسة على إظهار تأثير سلالة فطر الترايكوديرما على نبتة الداتورة انوكسيا لتقييم القدرة الانتاشية لبذور الداتورة و تطور الأجزاء الهوائية للنباتات بالإضافة إلى تقييم المردود الكلي للكالويدات التروبينية.

بينت نتائج التحليل الإحصائي أن نباتات الداتورة انوكسيا المعالجة بفطر الترايكوديرما كانت لديها قدرة انتاشية اكبر من النباتات الشاهدة بمعدل 80%.

كما أظهرت النباتات المعالجة بفطر الترايكوديرما نموا جيدا مقارنة مع النباتات الشاهدة فيما يخص الأعضاء الهوائية بما فيها طول و قطر السيقان و كذلك أفضل نمو للأوراق.

كشفت التحاليل الكمية لمستخلصات الأوراق و السيقان للنباتات المعالجة و الشاهدة في مرحلة النمو النباتي و مرحلة ظهور البرعم الأول أن كمية الكالويدات في النباتات المعالجة كانت كبيرة بنسبة متوسطة قيمتها 0.71% مقارنة بالنباتات الشاهدة بنسبة قدرها 0.49% حيث تميزت مرحلة ظهور البرعم الأول بوجود الكالويدات بنسبة 0.60%. كذلك أما بالنسبة لأعضاء النبتة فالكالويدات التروبينية كانت مركزة في الأوراق بنسبة متوسطة قيمتها 0.67% بالمقارنة مع السيقان.

الكلمات المفتاحية : *داتورة انوكسيا* ميل, *ترايكوديرما*, التضاد الكيميائي, الكالويدات التروبينية, النمو النباتي.

Liste des figures

Figure 1	<i>Datura innoxia</i> Mill. (A) et ces organes : bouton floral et fleur (B) ; fruit et graines (C) ; racines (D) (VU, 2008).	6
Figure 2	Structure de la molécule d'hyoscyamine, de scopolamine et du noyau tropaniques (VU, 2008).	8
Figure 3	Structure chimique de l'atropine (SCHMELZER et GURIB-FAKIM, 2008).	10
Figure 4	Biosynthèse de l'hyoscyamine et de la scopolamine (ROBINS et <i>al.</i> , 1990 in FELIDJ, 2005).	11
Figure 5	Aspect morphologique d'un conidiophore de <i>Trichoderma longibrachiatum</i> (SAMUELS et <i>al.</i> , 1994).	17
Figure 6	Aspect cultural et morphologie de la souche PA de <i>Trichoderma sp</i> utilisée (Gr : x 500) (ZANOUNE, 2012).	23
Figure 7	Aspect des plantes témoins et traitées aux différents stades évolutifs	Annexe 2
Figure 8	Variation de la moyenne des longueurs des tiges de <i>Datura innoxia</i> témoins et traitées (modèle GLM).	29
Figure 9	Variation de la moyenne des diamètres des tiges de <i>Datura innoxia</i> témoins et traitées (modèle GLM).	30
Figure 10	Variation de la moyenne du nombre des feuilles de <i>Datura innoxia</i> témoins et traitées (modèle GLM).	31
Figure 11	Variation de la moyenne des températures maximales et minimales (A) et de l'humidité moyenne (B), en fonction du temps.	32
Figure 12	Variation des teneurs en alcaloïdes totaux des plantes de <i>Datura innoxia</i> en fonction des stades évolutifs (modèle GLM).	34
Figure 13	Variation des teneurs en alcaloïdes totaux des plantes au stade végétatif en fonction des organes (modèle GLM).	36

Figure 14	Variation des teneurs en alcaloïdes totaux des plantes au stade d'apparition du 1 ^{er} bouton floral en fonction des organes (modèle GLM).	36
Figure 15	Variation des teneurs en alcaloïdes totaux des plantes témoins et traitées au stade végétatif (a) et au stade d'apparition du 1 ^{er} bouton floral (b) (modèle GLM).	37
Figure 16	Variation des teneurs en alcaloïdes totaux des plantes témoins et traitées au stade d'apparition du 1 ^{er} bouton floral en fonction des organes (modèle GLM).	38
Figure 17	Variation des teneurs en alcaloïdes totaux des plantes témoins et traitées au stade végétatif en fonction des organes (modèle GLM).	39

Liste des tableaux

Tableau 1	Taux de germination (en %) des graines témoins et traitées.	28
Tableau 2	La moyenne des longueurs des tiges de <i>D.innoxia</i> témoins et traitées.	Annexe 3
Tableau 3	Analyse de variance des moyennes des longueurs des tiges de <i>D.innoxia</i> témoins et traitées.	29
Tableau 4	Moyennes des valeurs des diamètres des tiges de <i>D.innoxia</i> témoins et traitées.	Annexe 4
Tableau 5	Analyse de variance des moyennes des valeurs des diamètres des tiges de <i>D.innoxia</i> témoins et traitées.	30
Tableau 6	La moyenne de nombre des feuilles de <i>D.innoxia</i> témoins et traitées.	Annexe 5
Tableau 7	Analyse de variance de la moyenne du nombre des feuilles de <i>D.innoxia</i> témoins et traitées.	31
Tableau 8	Facteur de corrélation de température maximale et minimale et d'humidité moyenne avec les plantes de <i>Datura innoxia</i> témoins et traitées.	33
Tableau 9	Variation des teneurs en alcaloïdes totaux des plantes de <i>Datura innoxia</i> en fonction des stades.	34
Tableau 10	Variation des teneurs en alcaloïdes totaux au stade d'apparition du 1 ^{er} bouton floral en fonction des traitements et des organes et traitements*organes.	35
Tableau 11	Variation des teneurs en alcaloïdes totaux au stade végétatif en fonction des traitements et des organes et traitements*organes.	35

Sommaire

Introduction.....	1
Partie I : Synthèse bibliographique	
1. Le genre <i>Datura</i>	4
1.1. <i>Datura innoxia</i>	4
1.1.1. Noms communs.....	4
1.1.2. Description botanique.....	5
1.1.3. Origine et répartition biogéographique.....	6
1.1.4. Exigences climatiques et édaphiques.....	7
1.1.5. Culture et germination.....	7
1.2. Les alcaloïdes tropaniques.....	8
1.2.1. Voie de biosynthèse des alcaloïdes tropaniques.....	10
1.2.2. Variation de la concentration et de la nature des alcaloïdes tropaniques	13
1.3. Utilisations traditionnelles et modernes de <i>D.innoxia</i>	17
1.4. La toxicité de <i>Datura innoxia</i>	18
2. <i>Trichoderma</i>	18
2.1. Ecologie.....	18
2.2. Morphologie.....	19
2.3. Production de métabolites.....	19
2.4. Rôle de <i>Trichoderma sp</i>	19
2.4.1. Activité antagoniste	19
2.4.2. Promotion de la croissance des plantes.....	20
3. Allélopathie.....	20
3.1. Les allélochimiques.....	20
3.2. Les interactions plantes- champignons.....	21

Partie II : Matériels et méthodes

1.	Matériels	23
1.1.	Matériel végétale.....	23
1.2.	Matériel fongique.....	23
2.	Méthodes.....	24
2.1.	Préparation du sol.....	24
2.2.	Préparation de la suspension du <i>Trichoderma sp.</i>	24
2.3.	Mise en culture de <i>Datura innoxia</i>	24
2.3.1.	Traitement et semi des graines.....	24
2.4.	Conditions de culture.....	25
2.5.	Etude des paramètres de croissance.....	25
2.6.	Evaluation des teneurs en alcaloïdes totaux.....	25
2.6.1.	Séchage et broyage.....	25
2.6.2.	Détermination de la matière sèche.....	26
2.6.3.	Extraction et purification des alcaloïdes totaux.....	26
2.6.4.	Analyses statistiques.....	26
	Partie III : Résultats et discussions.....	28
	Conclusion et perspectives.....	40
	Références bibliographiques.....	43
	Annexes	

Introduction

Introduction

Les plantes constituent une source importante de substances pour l'industrie comme les arômes, les antioxydants, les parfums, les huiles, les cosmétiques et les médicaments (SATO et *al.*, 2001). Ces substances sont issues du métabolisme secondaire des plantes et sont dits 'principes actifs' en pharmacologie (BRUNETON, 1993).

Parmi ces molécules, on distingue les alcaloïdes tropaniques qui sont synthétisés essentiellement par la famille des Solanacées (BRUNETON, 2005). Ils sont retrouvés dans les genres *Atropa*, *Duboisia*, *Hyoscyamus*, *Scopolia* et *Datura* (ROUX et CATIER, 2007). Ces molécules sont douées de nombreux effets pharmacologiques et sont très utiles en médecine à cause de leurs effets neurologiques. (GONTIER, 2001 ; NABORS, 2008).

En Algérie, plusieurs travaux montrent l'existence des plantes produisant des alcaloïdes tropaniques (HOUMANI, 1999 ; COSSON et *al.*, 1994 ; HOUMANI et COSSON, 2000). Cependant, ces molécules sont importées sous forme d'extraits d'alcaloïdes totaux, de sulfate d'atropine, de butyle bromure d'hyoscine pure (AZOUAOU et *al.*, 1983).

Des alternatives ont été envisagées pour l'amélioration de ces molécules bioactives tels que la culture *in vitro* (cultures de cellules et de tissus de plantes ; cals, racines, tiges feuillées) (VERPOORTE et *al.*, 1991) et l'établissement de symbioses entre plantes productrices de ces molécules et certains microorganismes (NABORS, 2008).

Au niveau de la recherche agronomique sur les plantes médicinales, *Datura innoxia* peut être une bonne plante modèle (GONTIER et *al.*, 2002 ; TRAN, 2005). C'est une plante rustique annuelle connue par sa richesse en alcaloïdes tropaniques ce qui les rend vénéneuses et très toxiques (GONTIER, 2001).

Trichoderma sp. est naturellement abondant dans le sol et la matière organiques (WIDDEN et SCATTOLIN, 1988). Il paraît exercer une action stimulatrice sur la germination des graines, la croissance et le métabolisme des plantes (LYNCH et *al.*, 1991 ; MOURIA et *al.*, 2007).

Sur la base de ces données, nous avons procédé dans cette présente étude à la détermination de l'effet de *Trichoderma sp* sur la croissance et la production des alcaloïdes tropaniques de *Datura innoxia* Mill.

Partie I

Synthèse

bibliographique

1. Le genre *Datura*

D'après PALOMINO et *al.* (1988), les *Datura* sont des angiospermes de la classe des dicotylédones, appartiennent à la famille des solanacées. Ils comprennent des espèces herbacées, arbustives ou arborescentes, pouvant être annuelles ou pérennes. La plante fraîche dégage une odeur vireuse (TRISTAN et *al.*, 1987).

BAJAJ (1999), indique que plusieurs espèces appartiennent au genre *Datura*, les plus importantes de point de vu biologique et économique sont *D.discolor*, *D.fastuosa*, *D.ferox*, *D. innoxia*, *D.kymatocarpa*, *D.stramonium*. Toutes ces espèces possèdent des propriétés semblables (BARAN, 2000). Ce sont des plantes riches en alcaloïdes dans leurs différents organes, ces molécules rendent les *Datura* vénéneuses et très toxiques (VU, 2008). De plus, et d'après AVERY et *al.* (1959), ils ont un grand intérêt en pharmacognosie.

Selon BARAN (2000), les *Datura* sont des plantes des régions chaudes et tempérées; ils se retrouvent à l'état sauvage en Europe, en Asie, en Océanie, en Afrique ainsi que dans la partie tempérée de l'Amérique du nord et en Amérique centrale. Les espèces de *Datura* se rencontrent de l'étage bioclimatique humide à l'étage aride (HOUMANI, 1999 ; LAKHDAR EZZINE, 2007).

STEVENS et *al.* (2001) et JEAN (2007), mentionnent que ces espèces poussent naturellement à différentes altitudes entre 400 et 1000m Elles reçoivent de 750 à 1000 mm de précipitations annuelles moyennes. Elles préfèrent les sols gras, riche en argile et les terrains ensoleillés (PARIS et DILLEMANN, 1960).

1.1. *Datura innoxia*

1.1.1. Noms communs

PREISSEL et PREISSEL (2002), citent que cette plante est connue par plusieurs noms communs selon le pays d'origine:

Français : *Datura* trompette, Herbe à Sitarane, Pomme épineuse

Anglais : Downy thornapple, Indian apple, Recurver thorn-apple, Toloache, moonflower.

Arabe : الداتورة. بوق الملاك . تفاح شوكي. تفاح شوكي مريش. التفاح الهندي. زهرة القمر. داتورة مقدسة :

1.1.2. Description botanique

Datura innoxia est considéré comme une plante ornementale (PARIS et HURABIELLE, 1981). C'est une plante rustique poussant en touffes (PARIS et DILLEMANN, 1960). Selon BARAN (2000) et TRAN (2005), c'est une herbacée annuelle vivace, sa hauteur moyenne est de 50 cm, et peut atteindre 1 à 2m. Les tiges sont très ramifiées (VU, 2008), à poils mous et simples; elles sont assez cassantes et densément pubescentes (BOSSER, 2000), caractérisés par la présence des poils tecteurs et des poils glanduleux (HAMMICHE et CUEYOUCHE, 1988). Les racines sont peu profondes et la racine principale est volumineuse et pivotante (PARIS et MOYSE, 1971) (Figure 1).

Les feuilles sont de couleur verte grise, et de nombreux poils les y couvèrent, ce qui leur donne l'aspect velouté (DUCROQO, 1994). TRISTAN (1987), BARAN (2000) et TRAN (2005) notent que ses feuilles sont alternes, fortement dissymétriques, irrégulièrement ovale, à bord légèrement denté; elles mesurent 8 à 15 cm de long et 6 à 9 cm de large. Les fleurs sont blanches en forme de trompette isolée, mesurant environ 15 à 20 cm (VU, 2008). D'après BARAN (2000) et BARGUIL (2011), elles sont dressées, le calice mesure de 5 à 11 cm de long, et la corolle de 12 à 19 cm de long.

Le fruit de *Datura innoxia* est une capsule couverte d'épines piquantes, pondant, de formes ovale à conique (BARAN, 2000). Il mesure 5 cm de long et 4 cm de diamètre (PARIS et DILLEMANN, 1960). SCHULTES et HOFMANN (1981), TRISTAN (1987) et VU (2008) indiquent que le fruit est divisé en trois carpelles contenant chacun une centaine de graines (100 à 300 graines par fruit). Ces dernières sont réniformes, de couleur brune et mesurent de 4 à 5 mm de diamètre.

La reproduction chez *Datura innoxia* se fait généralement par autogamie. Elle est diploïde avec $2n = 24$ chromosomes somatiques (PALOMINO et al., 1988).



A: *Datura innoxia* Mill.



B: Bouton floral et fleur



C: Fruit mûr et graines



D: Racines

Figure 1. *Datura innoxia* Mill. (A) et ces organes : bouton floral et fleur (B) ; fruit et graines (C) ; racines (D) (VU, 2008).

1.1.3. Origine et répartition biogéographique

Datura innoxia est originaire du Mexique, de l'Amérique du Sud et de l'Inde (DRAKE *et al.*, 1996). Il est plus spécifique des régions chaudes et tropicales des deux hémisphères (BARAN, 2000). L'espèce est naturalisée en Afrique, depuis des centaines d'années (BURKILL *et al.*, 2006).

D'après STEVENS *et al.* (2001), cette plante pousse naturellement dans les zones perturbées comme les sites érodés, les anciens champs, terrains vacants, des parcours, des routes. TRISTAN (1987), cite qu'elle pousse fréquemment autour des villages et des agglomérations surtout dans les terrains vagues, décombres et bordures de chemin.

En Algérie *D.innoxia* pousse sur les bords des routes (l'Est : MECHDALLAH), dans certains Oasis (Sud : BOUSSAADA), et au niveau des plaines irriguées (Ouest : ELATTAF) et sur les talus en dehors des champs cultivés (HOUMANI ,1999). De plus,

et selon LAKHDAR EZZINE et HOUMANI (2007), *Datura innoxia* pousse en adventice des cultures de pomme de terre et sur des parcelles en jachère non travaillée.

1.1.4. Exigences climatiques et édaphiques

Les *D. innoxia* spontanées d'Algérie, poussent 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. (LAKHDAR EZZINE et HOUMANI, 2007). Selon les mêmes auteurs, elles poussent sur des sols de texture limoneuse à limono-sableuse, légèrement basiques (PH = 7,5 à 8,6). L'électroconductivité de ces sols est faible, varie entre 0,06 m.mho/cm et 0,95 m.mho/cm. La teneur en matière organique (MO) et en calcaire total (CaCO₃) varie respectivement entre 2,30 % et 8,8%. Les taux de chlorure de sodium sont faibles; ils sont inférieurs à 0.3% (HOUMANI ,1999).

D.innoxia peut se développer en présence d'éléments métalliques. Elle est tolérante au zinc, au nickel et au chrome. De plus, elle présente des capacités à accumuler des métaux en développant une biomasse très importante (LIN et RAYSON, 1998; LIN et *al.*, 2002; BHATTACHARYA et *al.*, 2004; GHOSH et SINGH, 2005).

1.1.5. Culture et germination

Datura innoxia se multiplie en général, par semi ou par bouturage et produit de nombreuses graines faciles à manipuler à chaque cycle (GONTIER et *al.*, 2002; TRAN, 2005).

La décontamination des graines est nécessaire pour avoir une culture saine, cela peut se faire par les traitements des graines par l'hypochlorite de calcium (CaCl₂O₂) à 7%, ou par l'acide sulfurique concentré à 96% pendant 5 min (VU, 2008).

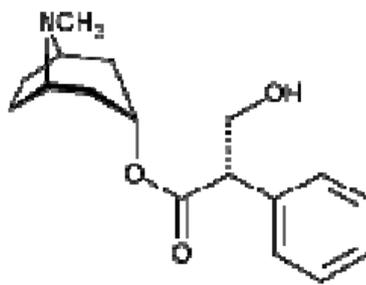
Le semi doit être effectué au printemps, dans un sol fumée pour que les plants se développent bien (PARIS et DILLEMANN, 1960).

La germination est lente et irrégulière ; elle peut être accélérée si les graines sont soumises à des alternances de refroidissement et de réchauffement, ce qui amollit les téguments (PARIS et DILLEMANN, 1960), soit par le stockage des graines dans une atmosphère saturée d'eau (DE MIGUEL, 1980 cité par HOUMANI, 1999). Egalement, la lever dormance peut s'effectuer encore par scarification des graines (REISMAN-BERMAN et *al.*1989 cité par HOUMANI Z .1999).

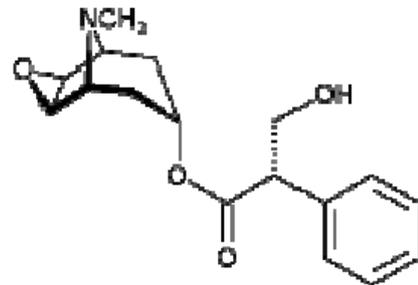
1.2. Les alcaloïdes tropaniques

Toutes les espèces de *Datura* et de *Brugmansia* sont chimiquement analogues. Leurs principes actifs se composent d'alcaloïdes tropaniques (produits azotés à propriétés alcalines) dérivés de l'atropine. Les deux principaux composés sont la scopolamine (hyoscine) et l'hyoscyamine (TRISTAN, 1987). Elles sont définies par la présence d'un noyau tropane hérité de la tropinone, qui porte le noyau azoté et d'un noyau benzène hérité de la phénylalanine (Figure 2). Elles ne sont retrouvées que chez certaines espèces de Solanacées (GONTIER, 1993).

BARAN (2000), indique que la scopolamine représente 1/3 des alcaloïdes totaux, et l'hyoscyamine et l'atropine 2/3. Le même auteur, note que de nombreux autres alcaloïdes ont été isolés chez le *Datura*, tels que: l'apoatropine, la noratropine, la tropine, la belladonine, la norhyoscyamine, la météloïdine, le 3-6 ditiglytéoïdine et la cuscohygrine.



Hyoscyamine
Formule : C₁₇H₂₃NO₃
Masse de Mol : 289,4g



Scopolamine
Formule : C₁₇H₂₁NO₄
Masse de Mol : 303,4g

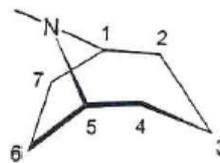


Figure 2. Structure de la molécule d'hyoscyamine, de scopolamine et du noyau tropaniques (VU, 2008).

✓ L'hyoscyamine

D'après PARIS et MOYSE (1971), l'hyoscyamine est extraite en 1881 à partir des graines de *Hyoscyamus niger*. Elle se présente en aiguilles incolores, inodore,

anhydres avec saveur désagréables. (CASSAGNES ,1982). L'hyoscyamine, est un hétérocycle azoté à noyau tropane sa formule chimique est $C_{17}H_{23}NO_3$; c'est un ester de l'acide tropique gauche et du tropanol; c'est une substance lévogyre avec un pouvoir rotatoire spécifique de 21° dans l'éthanol (TRISTAN et *al.*, 1987). Elle s'isomère facilement (sous l'influence de la chaleur), en atropine, dépourvue de pouvoir rotatoire (BARAN ,2000).

L'hyoscyamine et la scopolamine sont des alcaloïdes fragiles. La liaison ester peut s'hydrolyser et l'acide tropique peut se racémiser. L'hyoscyamine et l'atropine ont la même formule chimique et la même activité pharmacologique, mais l'hyoscyamine est plus active que l'atropine (GRZEGORZ et *al.*, 2008).

✓ **La scopolamine**

La scopolamine ou hyoscine ou encore scopine tropate a été isolée par SCHMID en 1892, à partir des racines de *Scopolia anthroïdes*, de formule brute $C_{17}H_{21}NO_4$ et masse molaire de 303.36 (PARIS et MOYSE ,1971; STEENKAMP et *al.*, 2004). La scopolamine est l'ester de l'acide tropique gauche du scopanol (BARAN, 2000). Le même auteur mentionne qu'elle est spécifique aux genres *Datura* et *Brugmansia*, particulièrement concentrée chez *D. metel*, *D. ferox*, *D. innoxia*. Elle est retrouvée dans toutes les parties de la plante. (PARIS et DILLEMANN, 1960).

✓ **L'atropine**

L'atropine pure a été isolée la première fois en 1831 par un pharmacien allemand à partir des racines sèches de belladone (*Atropa belladonna*) (FOLEY, 2003). C'est l'ester de l'acide (\pm)-tropique et du tropanol. Ce racémique, en partie présent dans la drogue sèche, se forme notamment lors de l'extraction (BRUNETON, 2005). Sa formule brute est de $C_{17}H_{23}NO_3$, et sa masse molaire est de 289.37 (TANCZOS et *al.*, 2004 ; STEENKAMP et *al.*, 2004) (Figure 3).

Elle est utilisée en médecine, car elle est stable et moins sensible aux enzymes hydrolytiques (GRZEGORZ et *al.*, 2008). Elle sert de modèle pour l'obtention de molécules de synthèse analogue (O'HAGAN, 2000).

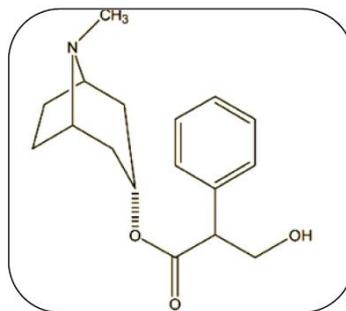


Figure 3. Structure chimique de l'atropine (SCHMELZER et GURIB-FAKIM, 2008).

1.2.1. Voie de biosynthèse des alcaloïdes tropaniques

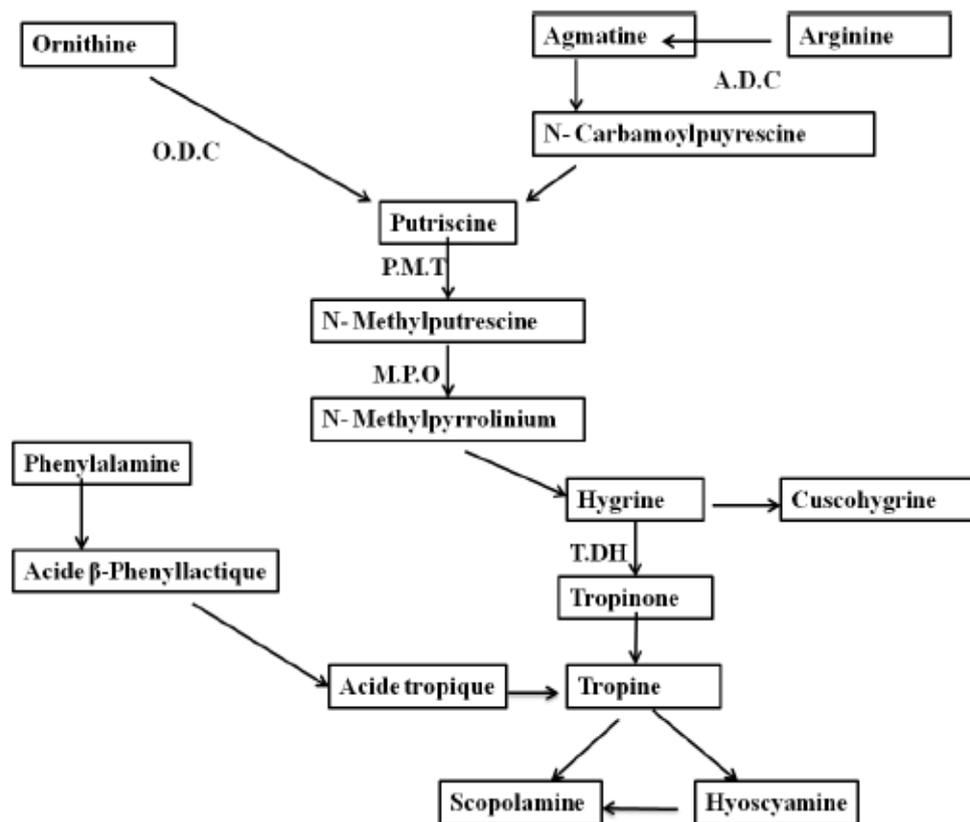
Les alcaloïdes tropaniques sont des esters d'un acide aromatique (acide tropique) et d'un alcool (KOELLEN et GROSS, 1982 ; SHUKLA et THAKUR, 1992 *in* HOUMANI, 1999), ce dernier est le tropanol pour l'hyoscyamine et le scopolol pour la scopolamine (LEETE, 1979; WALLER et DERMER, 1981; SAMUELSSON, 1992 *in* HOUMANI, 1999).

Généralement les alcaloïdes sont synthétisés au niveau des sites précis (racine en croissance, cellules spécialisées, chloroplastes) ; ils sont ensuite transportés dans leurs sites de stockage (BRUNETON, 1999). Les feuilles sont les principaux sites d'accumulation (KITAMURA et *al.*, 1993 cité par HOUMANI, 1999). La synthèse de l'hyoscyamine se fait essentiellement au niveau des racines de la plante (WALLER et NOWACKI, 1978 ; NAKANISHI et *al.*, 2000). Une partie est ensuite transportée vers les parties aériennes et l'autre est transformée en scopolamine au cours de la translocation (GONTIER, 1993; LANOUE et *al.*, 2002). D'autre part, dans les parties aériennes se déroulent les réactions d'époxydation de l'hyoscyamine en scopolamine, chez les plantes jeunes caractérisées par une intense activité enzymatique (PARIS et MOYSE, 1971; COSSON, 1976; HASHIMOTO et YAMADA, 1987 *in* HOUMANI, 1999).

L'atropine est présente sous forme de traces dans les parties fraîches; elle résulte de la racémisation de l'hyoscyamine durant l'extraction (KUMAR et *al.*, 1983 *in* HOUMANI, 1999).

Au niveau cellulaire, d'après SUZUKI et *al.*, (1999a, 1999b cité par NAKANISHI, 2000), le site principale de production des alcaloïdes tropaniques devrait être le péricycle des jeunes racines, où se trouve les enzymes essentielles des voies de biosynthèse, la putrescine N-méthyltransférase (VU, 2008). L'hyoscyamine et la scopolamine sont issues du cycle des polyamines (arginine, ornithine, méthionine et phénylalanine). Le noyau tropane bicyclique est formé à partir de l'ornithine et/ou de

l'arginine via la tropanone, tandis que le groupement acide tropique est synthétisé à partir de la phénylalanine (LANOUE *et al.*, 2002). D'après COULADIS *et al.*, (1991), la biosynthèse de l'hyoscyamine provient de la réduction de la tropinone en tropine, qui est ensuite estérifiée avec l'acide tropique. La scopolamine est formée à partir de l'hyoscyamine par hydroxylation en 6 β hydroxyhyoscyamine (COULADIS *et al.*, 1991; SAMUELSSON, 1992; MURANAKA *et al.*, 1993). L'enzyme qui catalyse les deux réactions a été purifié par HASHIMOTO *et al.*, (1986). C'est l'hyoscyamine 6 β -hydroxylase (H6H) (Figure 4).



Les enzymes :

- O.D.C Ornithine décarboxylase
- A.D.C Arginine décarboxylase
- P.M.T Putrescine N-méthyl-transférase
- M.P.O N-méthylputrescine oxidase
- T.D.H Tropinone déhydrogenase

Figure 4. Biosynthèse de l'hyoscyamine et de la scopolamine (ROBINS *et al.*, 1990 *in* FELIDJ, 2005).

1.2.2. Variation de la concentration et de la nature des alcaloïdes tropaniques

Le contenu alcaloïdique dans la plante est variable en fonction de plusieurs paramètres tels que les organes de la plante, les stades de développement, les conditions environnementales et la diversité des espèces (HOUMANI, 1999, LAKHDAR EZZINE et HOUMANI Z, 2007).

✓ L'organe

ROMEIKE (1961), a mentionné la présence d'alcaloïdes dans les poils sécréteurs à la surface supérieure du limbe des feuilles de *Datura*. Les travaux de VERZAR-PETRI (1973) ont décrit des cristaux semblant correspondre à des alcaloïdes dans le parenchyme racinaire chez ce genre.

D'après ROBINSON (1981), le taux d'hyoscyamine est supérieur au taux de scopolamine dans les racines. Cela s'inverse dans les tiges et plus dans les feuilles où le contenu maximum en scopolamine est observé dans les feuilles apicales (MIRALDI et *al.*, 2001). Donc le taux des alcaloïdes dans la plante est lié à la synthèse de l'hyoscyamine dans les racines (ROMEIKE, 1961), à la migration des alcaloïdes au sein de la plante et à leur dégradation (KITAMURA et *al.*, 1988).

Toutefois PLANK et WAGNER (1986), ont montré que la quantité en alcaloïdes dans les racines est supérieure à celle dans les feuilles, et que plus le diamètre des racines est faible plus la concentration mesurée est forte.

En revanche, SZOKE et *al.*, (1982), DESAILLY et *al.*, (1988), ont montré que les teneurs des alcaloïdes dans la corolle et dans le gynécée sont plus faibles.

D'après (TRISTAN, 1987), dans les graines, la concentration des alcaloïdes est de 0.4%, avec essentiellement de l'hyoscyamine et une faible quantité de scopolamine.

Au niveau subcellulaire, DESAILLY et *al.*, (1988) ont démontré une plus forte concentration des alcaloïdes dans les chloroplastes que dans le reste de la cellule.

✓ **Le stade de développement de la plante**

La quantité des alcaloïdes varie aussi en fonction du stade de développement de la plante (KITAMURA et *al.*, 1988). Selon LAKHDAR EZZINE et HOUMANI (2007), *D.innoxia* produit le maximum d'alcaloïdes totaux durant le stade apparition du 1^e bouton floral des plantes sauvages. Elle est maximale chez une plante cultivée quand le premier bouton floral atteint 1 cm de longueur (COSSON, 1976). D'après PARIS et DILLEMANN (1960), durant la période de floraison, la teneur en alcaloïdes atteint son maximum. Dans les racines, la concentration en hyoscyamine continue d'augmenter jusqu'à la mise à graine. Cependant les quantités d'alcaloïdes chez les jeunes feuilles sont plus importantes que chez les feuilles âgées (COSSON, 1976 ; VERZAR-PETRI et HUYNH, 1977 ; COUGOUL et *al.*, 1979 ; DUEZ et *al.*, 1985 ; GONTIER, 1988).

D'après RAVEN et *al.* (2000), La concentration des alcaloïdes varie considérablement au cours du cycle journalier.

Les études de SPORER et *al.* (1993), montrent que dans les parties vertes d'*Atropa belladonna*, les alcaloïdes sont accumulés en grandes quantité le soir et en début de la matinée. Par contre, la plus faible concentration se situe autour de midi et en plein nuit

✓ **Les conditions culturelles**

La quantité des alcaloïdes varie en fonction des conditions écophysiologiques, qui ont une grande importance sur la productivité des plantes (VU, 2008). D'après TRAN (2005), la modification des facteurs biotiques, et abiotiques (ozone, lumière), peut augmenter la croissance et la quantité de métabolites secondaires accumulés dans la plante. Les *Datura* cultivés avec une photopériode de 16 heures et une intense lumière (18000 lux) produisent un maximum d'alcaloïdes tropaniques (COSSON, 1972,1976; COSSON et *al.*, 1978).

D'autre part, le sol et sa composition en sels minéraux jouent un rôle important vis-à-vis de la production alcaloïdique de *D. innoxia*, le calcium favoriserait la synthèse alcaloïdique des plantes (KUMAR A et *al.*, 1983).

Les *Datura* sont des plantes nitrophiles (JAUZEIN, 1995), les fertilisants (NH₄NO₃ et le phosphore en particulier), augmentent la teneur en alcaloïdes totaux (KUMAR et *al.*, 1983).

D'après KAPAHI et SARIN (1978), des sols limono-sableux, un pH presque neutre avec une haute humidité, favorisent un bon développement végétatif et une hausse de la production des alcaloïdes. Dans la culture hydroponique le plus fort rendement en matière sèche et la plus grande quantité des alcaloïdes ont été obtenus avec 15 mM de NO_3^- qui permet de satisfaire les besoins de la plante en azote (VU, 2008). D'après le même auteur, l'aération de la solution nutritive joue un rôle positif dans la croissance et l'accumulation des alcaloïdes chez *Datura innoxia*. D'après TRAN (2005), *Datura innoxia* présentait une bonne croissance en conditions hors sol et la production d'hyoscyamine et de scopolamine était égale ou supérieure à celle obtenue en culture classique en terre (VU, 2008).

✓ La diversité spécifique

Toutes les espèces de *Datura* et de *Brugmansia* sont chimiquement analogues. Leurs principes actifs se composent d'alcaloïdes dérivés de l'atropine (l'hyoscyamine et la scopolamine). La scopolamine est spécifique du genre *Datura*, particulièrement concentré dans les *Datura* : *metel*, *ferox*, *innoxia*, et *Brugmansia*. L'hyoscyamine caractérise surtout l'espèce *Datura stramonium* (BARAN, 2000).

1.3. Utilisations traditionnelles et modernes de *D.innoxia*

Les solanacées mydriatiques ont été liées à des pratiques magiques et religieuses (TRISTAN, 1987). Depuis de temps immémoriaux, diverses espèces de *Datura* productrices d'alcaloïdes sont utilisées comme plantes sacrées aux propriétés psychotropes (BRUNETON, 1996).

Selon TRISTAN (1987), le *Datura* est utilisé en médecine traditionnelle africaine, en usage externe, dans les enflures de toutes natures, et pour soigner les rhumatismes (SCHULTES et HOFMANN, 1981).

D'après BARAN (2000), à la fin du 16^e siècle, les fleurs et les graines de *Datura* ont été employées pour soigner les éruptions cutanées sur le visage, et la plante entière, en usage interne, pour traiter les rhumes, troubles nerveux et autres. Ils servaient d'anesthésique en chirurgie.

A côté de ses utilisations traditionnelles, *D. innoxia* est cultivée pour la production des alcaloïdes tropaniques, vu que tous ces organes constituent une source importante de ces

molécules, connues pour leurs activités pharmacologiques (LOCKWOOD, 1973 et BRUNETON, 1993). En effet, d'après PARIS et HURABIELLE (1980), elle est cultivée en Europe de l'Est pour l'extraction de la scopolamine.

Dans le domaine médical, les alcaloïdes tropaniques présentent une activité parasympholytique à des degrés différents, ils inhibent l'action muscarinique de l'acétylcholine (TRISTAN, 1987).

Selon BARAN (2000), l'atropine possède une plus faible action excitante sur le système nerveux central ; une action puissante sur le système nerveux autonome et une action paralysante sur les fibres musculaires lisses. Le même auteur indique qu'en ophtalmologie, l'atropine provoque une mydriase passive au niveau de l'œil avec photophobie, une paralysie de l'accommodation.

Dans la maladie de Parkinson, ces alcaloïdes améliorent l'hypertonie et à degré moindre le tremblement (TRISTAN, 1987).

Sur le plan microbiologique, les extraits des plantes de *D.innoxia* peuvent être fréquemment utilisés dans les traitements des maladies causées par des microorganismes qui avaient développé une certaines résistances contre les antibiotiques (KAUSHIK et GOYAL, 2008).

A côté de l'usage médical, l'utilisation de *Datura* est en plein essor dans le monde agricole ouvrant de nouvelles perspectives possibles ; comme leur utilisation en tant qu'insecticides contre les insectes qui causent des dégâts au niveau du stock de riz. (BARAN, 2000).

En Inde, des études ont montré l'efficacité du *Datura* contre différentes bactéries et champignons (*Myrothecium roridum*, *Alternaria tenuis* et *Xanthomonas campestris malvacearum*) s'attaquant aux plants de coton (THAKUR et al., 1995).

En agriculture biologique, *D. innoxia* avec le pyrèthre donne d'excellents résultats contre le doryphore (HARBOUCHE, 2005). *Datura stramonium* a montré son efficacité pour limiter la propagation de la maladie des plantations de tomates causées par le mildiou (FLETCHER et al., 1988).

En biotechnologie, les alcaloïdes des *Datura* sont employés comme détecteurs des réactions du métabolisme azoté des plantes en face des variations du milieu, ce caractère

fait des alcaloïdes des marqueurs de certains processus physiologiques au moment du développement de la plant (COSSON et *al.*, 1978).

Dans le domaine écologique JEAN (2007), cite que les *Datura* peuvent être utilisés pour décontaminer les eaux et les sols pollués par les métaux lourds.

1.4. La toxicité de *Datura innoxia*

A côté de ses vastes utilisations et leurs diverses propriétés médicinales, les *Datura* sont très toxiques pour l'homme et l'animal.

BRUNETON (2005), signale des cas d'intoxications des bovins, de chevaux, de volailles, de chèvres, de moutons, et de porcs. Selon CIRIMELLE (2011), les alcaloïdes des *Datura* peuvent être trouvés dans les produits alimentaires bruts ou transformés comme les céréales, blé noir, vin, farine et produits de boulangerie.

Généralement, les alcaloïdes ont une activité stimulante à faible dose, et dépressive à forte dose, pouvant entraîner un coma et la mort par arrêt respiratoire (TRISTAN, 1987).

2. *Trichoderma*

Le genre *Trichoderma* est l'un des 3 genres fongiques prédominants, il vient à la troisième position après les genres, *Penicillium* et *Aspergillus* du point de vue importance numérique (LANDREAU, 2001). Il se trouve dans différents écosystèmes (VITERBO et HORWITZ, 2010). Il est naturellement abondant dans le sol et la matière organique comme le bois mort ou en décomposition, les débris végétaux et la paille (PAPAVIZAS, 1985 ; WIDDEN et SCATHLIN, 1988 *in* CARON et *al.*, 2002). Les espèces de ce genre sont capables de dégrader de nombreux substrats organiques du sol pour se nourrir et se développer, ce qui indique qu'elles peuvent survivre dans plusieurs niches écologiques (PAPAVIZAS, 1985 *in* CARON et *al.*, 2002).

2.1. Ecologie

Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques, le genre *Trichoderma* est très répandu dans la nature, aussi bien en milieu terrestre que marin. D'après LANDREAU (2001), les *Trichoderma* représentent 6% du nombre total des espèces fongiques, en milieu terrestre, et de 6.4% à 10.4% en milieu marin.

Ce sont des organismes remarquables pour leur croissance rapide et leur capacité à utiliser différents substrats. Les *Trichoderma* terrestres se développent dans les sols

forestiers ou cultivés et sur les végétaux en décomposition. Ils contaminent le compost de la culture industrielle des champignons comestibles, mais sont rarement parasites de plantes vivantes (PIVKIN, 2000).

2.2. Morphologie

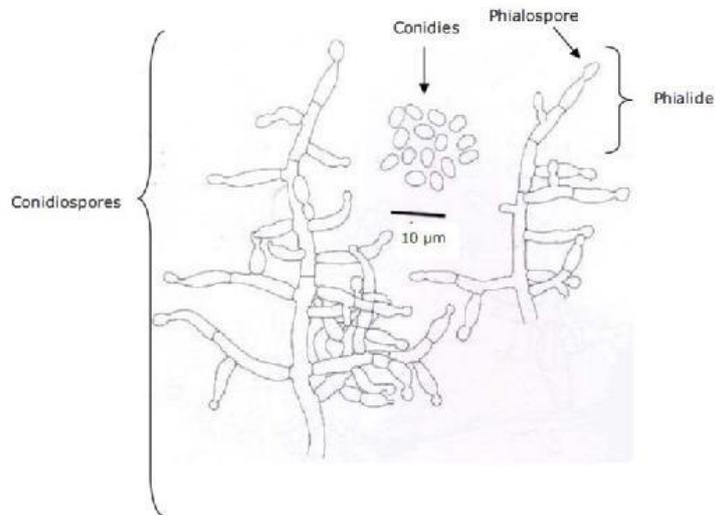


Figure 5. Aspect morphologique d'un conidiophore de *Trichoderma longibrachiatum* (SAMUELS et *al.*, 1994).

Les colonies fongiques de *Trichoderma* peuvent être *légèrement* floconneuses ou bien compactes en touffes. Elles sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides. Cinq jours après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium blanc et stérile en forme de cercle, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, correspondant à la conidiogénèse. D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite. Au microscope optique, il apparaît un mycélium composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés à paroi lisse. Les conidiophores ont une forme conique ou pyramidale. Ils portent des phialides en forme flasque qui à leur tour portent les spores (COURNUT, 1984 ; LANDREAU, 2001 ; KUBICEK et *al.*, 2003).

2.3. Production de métabolites

La production de métabolites secondaires par *Trichoderma sp.* a été rapporté pour la première fois par WEIDLING (1934), Les principaux métabolites synthétisés par *Trichoderma* sont :

✓ Les enzymes

SANDGREN et *al.* (2005), notent que la production des enzymes est variable d'une souche à l'autre, les xylanases ou les cellulases sont les plus importantes. Selon KUBICEK et *al.* (2003) ces enzymes sont exploités dans plusieurs domaines biotechnologiques.

✓ Les substances bioactives

Les *Trichoderma* produisent plusieurs substances bioactives comme:

- Les métabolites volatils, tels que: 6penty- α pyrone, éthylène, cyanure d'hydrogène, alcools, aldéhydes (VIZSCAINO et *al.*, 2005).
- Les métabolites non volatils diffusibles, tels que: polyacétates (antifongiques, antibiotiques), trichotécènes, notamment les trichodermines, qui forment une variété de toxines actives sur les microorganismes et mammifères. (LANDREAU, 2001).

Le même auteur indique que les espèces de ce genre produisent également des métabolites polypeptidiques, ciclosporines, immunosuppresseurs, anti-inflammatoire (les peptaiboles, qui sont généralement assimilés à des mycotoxines peptidiques).

2.4. Rôle de *Trichoderma sp.*

2.4.1. Activité antagoniste

Plusieurs microorganismes telluriques peuvent avoir un effet bénéfique dans le contrôle des champignons pathogènes des racines (ADAMS, 1990).

Depuis, les recherches portant sur le *Trichoderma* se sont multipliées ainsi, les champignons du genre *Trichoderma* ont été utilisés comme agents de lutte biologique contre un large spectre de pathogènes aussi bien telluriques (CAMPOROTA 1985 ; DAVET 1996 ; OUZZANI- TOUHAMI et *al.*, 1994) que foliaires (MOURIA et *al.* 1997a, b).

Différents études ont montré que les *Trichoderma* ont un potentiel de lutte contre divers agent pathogène (METCALF et *al.*, 2004). L'activité antagoniste de *Trichoderma* réside dans la production d'enzymes extracellulaires (ELAD et KAPAT, 1999; STEFANOVA et *al.*, 1999) et/ou de substances antibiotiques (GHIZALBERTI et ROWLAND, 1993).

Cette production est associée à une possible compétition pour les nutriments de la rhizosphère (SIVAN et CHET, 1993).

WOOD (1952), note que les *Trichoderma* ont la capacité d'attaquer les agents pathogènes via différents modes d'action à savoir :

- **L'antibiose:** résulte de la production des substances agissantes comme des antibiotiques et qui inhibe la croissance et le développement de l'agent pathogène.
- **La compétition:** c'est l'aptitude de *Trichoderma* à utiliser les mêmes ressources du milieu que les champignons pathogènes, il emploie ce mode d'action surtout pour occuper les lieux.
- **Le parasitisme:** se manifeste par la destruction de l'agent pathogène par l'enroulement de *Trichoderma* autour de lui en l'étranglant, en pénétrant à l'intérieur et/ou en lui injectant des enzymes qui le détruisent.

Trichoderma possède une batterie de mécanismes d'attaque potentiellement utilisables mais qui demeurent toutefois complexes. Il peut employer un ou plusieurs modes d'action en même temps pour maîtriser un agent pathogène. Le déploiement des modes d'action varie également selon les partenaires en présence et les conditions physico-chimiques du milieu (températures, humidité, etc). *Trichoderma* est efficace lorsqu'on lui permet de s'installer avant l'arrivée des champignons pathogènes. Son action est donc préventive. Il permet, au niveau des racines, de créer un manchon protecteur autour de celles-ci et ainsi contrer l'entrée des agents pathogènes à l'intérieur des racines (CARON et al., 2002).

2.4.2. Promotion de la croissance des plantes

A côté de ce rôle, *Trichoderma* possède une aptitude à stimuler la croissance de certaines plantes (MOURIA et al., 2008).

Une fois installé, *Trichoderma* peut avoir un effet stimulant pour la plante en absence des champignons pathogènes. (CARON et al, 2002). Les travaux de BAKER (1988) et de LYNCH et al., (1991 a) ont montré que certaines souches de *Trichoderma* semblent exercer une action stimulatrice sur la croissance de certaines plantes. Grâce à leur capacité de coloniser rapidement la rhizosphère, les *Trichoderma* mettent en place une

véritable barrière physique, empêchant ainsi le développement de populations pathogènes.

Les études de MOURIA *et al.* (2008), ont montré que *T. harzianum* induit une meilleure croissance axiale et une meilleure genèse des feuilles et des fleurs, chez la tomate.

Les souches de *Trichoderma* produisent des régulateurs de croissance qui améliorent le taux de germination et le poids sec des pousses (WINDHAM *et al.*, 1986).

3. Allélopathie

Les plantes vivent et interagissent avec d'autres organismes de différentes manières. Les chances de survie d'une plante sont influencées par ces interactions qui ont été façonnées par l'évolution (NABORS, 2008).

L'allélopathie est un terme qui désigne l'ensemble des interactions biochimiques existant entre une plante et un autre organisme (végétal, champignon ou micro-organisme). Le mot allélopathie vient du grec "*allélos*" qui signifie: l'un et l'autre et "*pathos*" qui veut dire maladie, l'allélopathie se définit comme les interférences que cause une plante à ses voisines par la diffusion de composés chimiques dans son environnement. Ce principe a été remanié à de nombreuses reprises et sa définition stricte varie selon les auteurs. En effet, l'allélopathie n'est parfois définie que par l'effet toxique d'une plante sur les autres (altération du développement et de la croissance) (INDERJIT *et al.*, 1999).

3.1. Les allélochimiques

Les composés biochimiques impliqués dans l'allélopathie sont appelés composés **allélochimiques** et sont pour la plupart issus du métabolisme secondaire des plante. Leur grande diversification est le résultat de la coévolution plantes-organismes vivants. Ce sont des molécules hydrophiles ou lipophiles de faible mass moléculaire et de nature chimique très variée: acides phénoliques, flavonoïdes, terpénoïdes, quinones, alcaloïdes etc. Ils sont présents dans les organes et les tissus des végétaux (SUTY, 2010).

Ces composés sont libérés dans l'environnement par différents processus : la volatilisation, la lixiviation (lessivage entraînant des éléments solubles), l'exsudation racinaire et la décomposition du végétal (SUTY, 2010).

Les interactions allélopathique impliquent généralement plusieurs composés et les réponses sont souvent dose-dépendante (SUTY, 2010).

3.2. Les interactions plantes-champignons

La microflore et la microfaune utiles et nuisibles du sol sont très importantes et diversifiées à différents niveaux de profondeur dans le sol. La plupart des microorganismes sont utiles, tandis que d'autres constituent de véritables ennemis et entravent le développement de la plante et de son système racinaire (CARON et *al.*, 2002).

Les bactéries et les champignons du sol participent à la décomposition et la mobilisation des nutriments, la minéralisation, l'absorption de l'eau, la fixation du nitrogène et la dénitrification (CAIN et *al.*, 2006).

Certains mycètes sont des organismes mutualistes, ils vivent avec d'autres organismes dans une association intime qui est utile à tous les associés. Il existe des associations dans lesquelles les mycètes dits mycorhizales se trouvent à l'intérieur ou à l'extérieur des racines de plantes où elles forment un épais réseau mycélien. Ces associations sont appelées des mycorhizes. Dans cette association les mycètes reçoivent les sucres et les acides aminés à partir des plantes, lesquelles profitent des hyphes pour une absorption plus efficace de l'eau et des nutriments. (CAIN et *al.*, 2006).

Partie II

Matériels et

méthodes

Notre travail a été commencé la fin de mois de Mai et fini au début du mois de novembre 2012, les études ont été effectuées au niveau de 3 compartiments :

- La serre de l'université (USDB), pour la mise en culture des plantes de *Datura innoxia*.
- Laboratoire des plantes médicinales et aromatiques à la faculté d'agronomie du département de Biologie au sein de l'université (USDB), pour le séchage des plantes et l'extraction des alcaloïdes tropaniques.
- Laboratoire de phytopathologie de l'Institut Nationale de Protection des Végétaux (INPV) de Boufarik Wilaya de Blida, pour la préparation des suspensions sporales de la souche (PA) de *Trichoderma*.

3. Matériels

3.1. Matériel végétal

Les graines de *D. innoxia*, utilisées pour la culture, ont été récoltées dans la région d'Aïn el banyan, en juillet 2011. Elles ont été conservées dans leurs fruits, encore attachés à la plante. Les plantes entières ont été conservées dans du papier journal au laboratoire et à température ambiante pendant une année.

3.2. Matériel fongique

Nous avons utilisé la souche (PA) de *Trichoderma* (MOUMEN, 2012), qui a été fournie par l'Institut Nationale de Protection des Végétaux (INPV) de Boufarik. La souche provient de la région de Fouka Wilaya de Tipaza. la souche a été entretenue sur un milieu Potato Dextrose Agar (PDA), et conservée à 25°C (Figure 6).

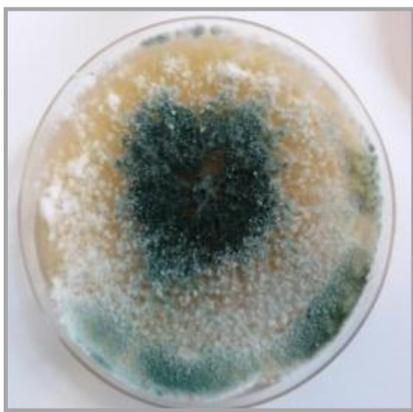


Figure 6. Aspect cultural et morphologie de la souche PA de *Trichoderma sp* utilisée (Gr : x 500) (ZANOUNE, 2012).

4. Méthodes

4.1. Préparation du sol

Le sol utilisé provient de la pépinière d'E 'CHO VERT de GUERWEW, il a été désinfecté à chaleur sèche dans un four à 120°C pendant 15 min avec remuement. La tourbe utilisée a été achetée sous forme des sacs commerciaux, elle a été aussi désinfectée à chaleur sèche à 70°C pendant 10min.

Pour le semis nous avons mélangé 1/3 de tourbe à 2/3 de sol. 80 pots ont été remplis par ce mélange:

- 30 pots, de 19 cm de diamètre, 16 cm de haut et un volume de 4 litre, ont été réservés pour le semis des plantes témoins.

- 50 pots, mesurant 24 cm de diamètre et 23 cm de haut, avec une capacité de 5 litre, ont été utilisés pour les plantes traitées.

4.2. Préparation de la suspension du *Trichoderma sp*

La souche de *Trichoderma* (PA) a été repiquée sur le milieu de culture (PDA) qui a été préparé selon la méthode de JOHNSON et BOOTH (1983) *in* HAMMI (2003) (composition voir annexe 1) et incubée à 25°C pendant 15 jours afin de favoriser leur sporulation. La suspension sporale a été préparée en raclant la surface des cultures émergées avec 50 ml d'eau distillée stérile.

A l'aide d'une cellule de malassez, nous avons pu déterminer la concentration de la suspension mère, qui est égale à $15 \cdot 10^7$ spores/ml. A partir de cette dernière, nous avons préparé la suspension désirée dont la concentration est de 10^6 spores/ml.

L'inoculation du *Trichoderma* a été faite par l'incorporation de la suspension sporale avec le sol de chaque pot du lot traité a raison de 125 ml par pot (CARON et *al.*, 2002) . Ces derniers sont laissés dans la serre à une température de 25°C et humidité moyenne de 74% pendant 15 jours avant le semis des graines, et sont arrosés quotidiennement pour assurer une humidité adéquate au développement du champignon.

4.3. Mise en culture de *Datura innoxia*

4.3.1. Traitements et semis des graines

Les graines de *D. innoxia* ont été désinfectées par une solution diluée d'eau de Javel pendant 20 à 30min. Elles sont ensuite rincées à l'eau distillée stérile. Les graines sont scarifiées manuellement.

Le semis a eu lieu en fin Mai, où 2graines sont semées par pot pour les témoins et les traitements. Les graines sont recouvertes par une couche de 0,5 cm de tourbe dans laquelle l'humidité est maintenue par un arrosage quotidien.

4.4. Conditions de culture

La mise en culture des graines a été réalisée dans la serre, au niveau du département d'Agronomie, où les conditions sont variables: la température varie entre 25 et 39 °C durant la période de développement, et l'humidité varie entre 40% et 74%. L'aération est assurée par les fenêtres entre ouvertes et la porte de la serre. La luminosité est relativement faible.

4.5. Etude des paramètres de croissance

Dés le premier jour du semis et jusqu'à la récolte des plantes, des prélèvements de température et d'humidité ont été effectués à l'aide d'un thermo-hygromètre, le matin et à midi, afin de calculer les températures moyennes et l'humidité moyenne pour chaque semaine du développement des plantes.

Au cours de cette étude, nous avons suivi la croissance des plantes témoins et traitées, en tenant compte des paramètres suivants :

La hauteur de la tige ;

Le diamètre de la tige ;

Le nombre des feuilles ;

4.6. Evaluation des teneurs en alcaloïdes totaux

4.6.1. Séchage et broyage

Les plantes témoins et traitées ont été récoltées à deux stades de leur développement : le stade végétatif (5 à 7 feuilles) et le stade de l'apparition du premier bouton floral (12 à 13 feuilles). Les feuilles, les tiges et les racines sont séparés et mis à sécher à l'air libre et à l'ombre pendant un mois. Le séchage a été complété ensuite à l'étuve à 60°C pendant 15 min.

Les différentes organes (tiges, feuilles, racines) ont été broyés et conservés dans des sachets en papier à température ambiante dans le laboratoire.

4.6.2. Détermination de la matière sèche

Nous avons pu déterminer la matière sèche pour chaque poudre, en mettant 1g de la poudre végétale à l'étuve, à 105°C pendant 24 heures, en mettant ensuite la poudre dans le dessiccateur afin d'éliminer le reste d'humidité, puis on calcul le poids de la poudre obtenu qui correspond au poids de la matière sèche.

4.6.3. Extraction et purification des alcaloïdes totaux

Le protocole d'extraction suivi est celui de HOUMANI (1999). Nous avons effectué une double extraction éthanolique à ébullition sous reflux pour 1 g de poudre végétale, après filtration le bouillon alcoolique est évaporé sous pression réduite, et l'extrait sec est acidifié et filtré, ensuite la solution est alcalinisée. Une triple purification est effectuée par l'addition du chloroforme (V/V). La solution est évaporée à sec, sous pression réduite. Ainsi, nous obtenons l'extrait des alcaloïdes totaux purifiés. Pour chaque organe nous avons effectué 4 essais, au total nous avons obtenu 32 extraits.

4.6.4. Analyses statistiques

Nous avons réalisés les analyses statistiques à l'aide d'un logiciel SYSTAT version (7), en modèle GLM (Generalized Linear Model), en étudiant l'analyse de variance, pour mettre en évidence les différences entre la croissance des plantes de *Datura innoxia* témoins et traitées par la souche (PA) de *Trichoderma sp*, et les teneurs en alcaloïdes totaux dans les différents organes de ces plantes.

Pour mettre en évidence la signification ou non des résultats, nous avons procédé à l'étude de la probabilité pour une erreur $p=5\%$ qui est considérée comme limite acceptable d'erreur.

- Si le $p > 0,05$, les résultats sont considérés statistiquement «non significatifs».
- Si le $p < 0,05$, les résultats sont considérés statistiquement «significatifs».
- Si le $p = 0,00x$, les résultats sont considérés «hautement significatifs».
- Si le $p = 0,000$, les résultats sont considérés «très hautement significatifs».

Partie III
Résultats et
Discussions

1. Germination des graines

Les résultats de germination des graines sont représentés dans le (Tableau 1).

Tableau 1. Taux de germination (en %) des graines témoins et traitées.

	Témoins	Traitements
Nombre des graines semées	60	100
Nombre des graines germées	30	80
Taux de germination	50	80

Après une semaine du semis, sur les 100 graines du lot traité par *Trichoderma sp*, nous avons obtenu 80% des graines germées. Cependant, pour les graines du lot témoin, à partir de 60 graines semées, 50% ont germés. Nous constatons que *Trichoderma sp* a amélioré nettement la germination des graines de *Datura innoxia*.

En effet, LYNCH et *al.* (1991), ont démontré l'effet de certaines souches du *Trichoderma* sur la germination des graines de laitue en l'absence de tout agent pathogène.

BESNARD et DAVET (1993) et JOHANNE et *al.* (2002), notent que certaines souches de *Trichoderma* exercent un effet stimulant sur la germination de certaines plantes notamment chez la tomate.

De plus WINDHAM et *al.* (1986) rapportent que les souches de *Trichoderma* produisent des régulateurs de croissance qui permettent d'améliorer les taux de germination des graines. JANOT (1986) ; BAKER (1988) et NABORS (2008), indiquent que les réponses de stimulation des plantes par le *Trichoderma* sont dues aussi bien à son aptitude à lutter contre les pathogènes mineurs qu'à la production de régulateurs de croissance comme les gibbérellines, qui favorisent la germination des graines. ALABOUVETTE et *al.* (1993); LEWIS et *al.* (1998) et PAPAIVIZAS (1985), mentionnent que l'introduction de *Trichoderma* au substrat est l'approche privilégiée car le champignon se multiplie et colonise la rhizosphère ce qui lui permet d'occuper prioritairement la niche écologique.

2. Suivi de la Croissance végétative

Le développement des plantes de *Datura innoxia* témoins et traitées est représenté dans la figure 7 (annexe 2).

2.1. La longueur des tiges

Les résultats du suivi de la croissance en longueur des tiges sont représentés sur la figure 8, le tableau 2 (annexe 3), et le tableau 3.

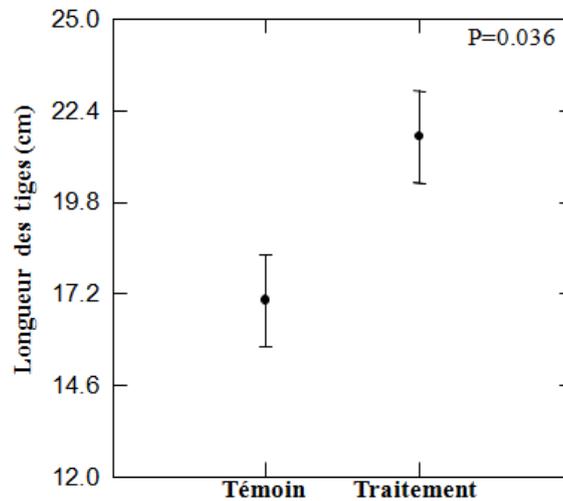


Figure 8. Variation de la moyenne des longueurs des tiges de *Datura innoxia* témoins et traitées (modèle GLM).

Tableau 3. Analyse de variance des moyennes des longueurs des tiges de *D.innoxia* témoins et traitées.

Facteurs	Sommes des carrées des écarts	ddl	Carrées moyens	F-ratio	Probabilité
Traitements	97.022	1	97.022	6.345	0.036
Périodes	4792.768	8	599.096	39.177	0.000
Erreurs	122.335	8	15.292		

La figure 8, montre une différence significative ($p=0.036$) entre les deux lots. La longueur moyenne des tiges des plantes traitées est de 21.4 cm qui est supérieure à celle des plantes témoins 17.2 cm.

2.2. Le diamètre des tiges

Les résultats du suivi de la croissance en épaisseur des tiges sont reportés dans la figure 9, le tableau 4 (annexe 4), et le tableau 5.

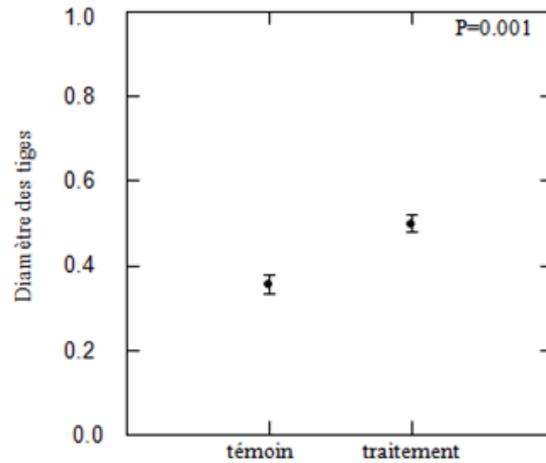


Figure 9. Variation de la moyenne des diamètres des tiges de *Datura innoxia* témoins et traitées (modèle GLM).

Tableau 5. Analyse de variance des moyennes des diamètres des tiges de *D.innoxia* témoins et traitée.

Facteurs	Sommes des carrés des écarts	ddl	Carrés moyens	F-ratio	Probabilité
Traitements	0.092	1	0.092	23.258	0.001
Périodes	1.529	8	0.191	48.079	0.000
Erreurs	0.032	8	0.004		

D'après la figure 9, l'épaississement des tiges, diffère entre les plantes, une différence hautement significative ($p=0.001$) est obtenue entre les plantes traitées et témoins. En effet nous remarquons que les tiges des plantes traitées sont plus épaisses ($\Phi = 0.50$ cm) que celles des plantes témoins ($\Phi = 0.36$ cm).

2.3. Le nombre des feuilles

Les résultats obtenus pour le dénombrement des feuilles sont reportés dans la figure 10, le tableau 6 (annexe 5), et le tableau 7.

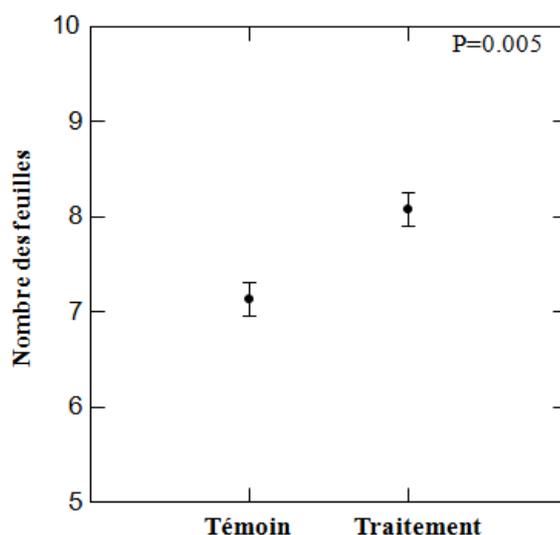


Figure 10. Variation de la moyenne du nombre des feuilles de *Datura innoxia* témoins et traitées (modèle GLM).

Tableau 7. Analyse de variance de la moyenne du nombre des feuilles de *D.innoxia* témoins et traitées.

Facteurs	Sommes des carrées des écarts	ddl	Carrées moyens	F-ratio	Probabilité
Traitements	4.004	1	4.004	15.220	0.005
Périodes	460.806	8	57.601	218.931	0.000
Erreurs	2.105	8	0.263		

Selon la figure 10, une différence hautement significative ($p=0.005$) est observée entre les plantes traitées qui présentent un nombre élevé de feuilles par rapport aux plantes témoins, avec une moyenne qui varie de 7 feuilles à 8 feuilles respectivement.

D'après les résultats du suivi de la croissance, nous constatons que les plantes de *Datura innoxia* cultivées en serre et traitées par la souche de *Trichoderma* (PA) présentent une meilleure croissance par rapport aux plantes témoins.

Des résultats similaires ont été obtenus par MOURIA et al. (2007) sur les plantes de concombre et de tomate.

KLEIFELD et CHET (1992) et OUSLEY et al. (1994) rapportent que la stimulation de la croissance des plantes par le *Trichoderma* serait due à l'augmentation du transfert des nutriments à partir du sol jusqu'aux racines d'une manière similaire aux effets des mycorhizes. Dans le même sens, BARBER et LYNCH (1977), notent que ce

champignon a la capacité de convertir les éléments du sol ou de la matière organique en une forme assimilable par la plante.

OUSLEY et al. (1994); KLEIFELD et CHET (1992); MACKENZIE et al. (1995); AHMAD et al. (2008), mentionnent que la réponse des plantes à l'action de *Trichoderma* est due à la production des métabolites tels que les auxines, gibbérelline, cytokinine qui stimulent directement la croissance des plantes, en influençant leur métabolisme et leur activité enzymatique. De plus, ils contribuent à la production des hormones par la plante (CHANG et al., 1986; WINDHAM et al., 1986).

HIBAR et al. (2005) notent que l'amélioration des paramètres de croissance des plantes par les souches de *Trichoderma* est attribuée à leur aptitude à combattre les maladies. En effet, BROADBENT et al. (1977); ELAD et al. (1987), indiquent que ce champignon permet le contrôle des agents pathogènes mineurs de la rhizosphère.

2. Variations des conditions environnementaux température/humidité.

Les valeurs moyennes de température maximales et minimales, et d'humidité dans lesquelles les plantes avaient poussées sont représentées dans les graphes ci-dessous (Figure 11).

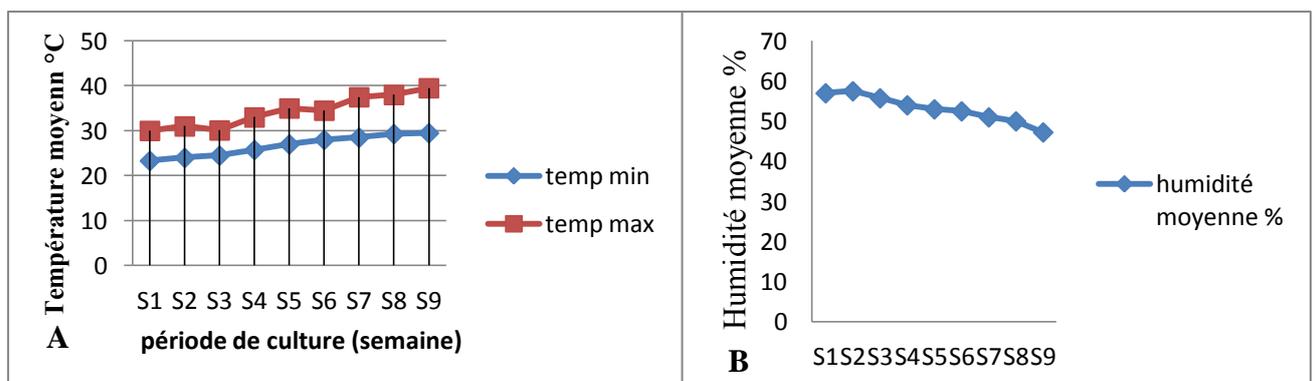


Figure 11. Variation de la moyenne des températures maximales et minimales (A) et de l'humidité moyenne (B), en fonction du temps.

D'après ces résultats, nous constatons une augmentation des températures minimale et maximale en fonction du temps. Elles varient entre 23.33 et 29.5°C pour la température minimale et entre 30 et 39.5°C pour la température maximale. Par contre nous remarquons une diminution de l'humidité moyenne qui varie entre 57.5 et 47%.

Le calcul des coefficients de corrélation-présenté dans le tableau 8-pour l'effet des températures et de l'humidité sur la croissance des plantes témoins et traitées, montre que les températures maximales et l'humidité sont positivement corrélées à la

croissance des plantes. Cependant les températures minimales ne présentent aucune corrélation.

Tableau 8 : facteur de corrélation de température maximale et minimale et d'humidité moyenne avec les plantes témoins et traitées.

	Témoin	Traitement
Température maximal	2,03E-05	9,25E-06
Température minimale	0,067393	0,065916
Humidité moyenne	0,00067507	0,00054345

La température et l'humidité sont deux composantes très importantes de l'environnement dans lesquels poussent les plantes. Selon KUMAR et *al.* (1984), les espèces de *Hyoscyamus* exigent une haute température et une forte humidité. Ces paramètres sont déterminants pour la production végétale.

D'après HOUMANI (1999), les solanacées à alcaloïdes tropaniques poussent sous tous les climats, à des températures maximales comprises entre 20 et 35°C. Selon LAKHDAR EZZINE et HOUMANI (2007), *Datura innoxia* se développe à des températures maximales comprises entre 33.4°C et 39.8°C. En effet, VU (2008) montrent que les plantes de *Datura innoxia* cultivées en serre chauffée présentent un bon développement de la biomasse.

3. Production des alcaloïdes tropaniques

Les teneurs en alcaloïdes totaux ont été calculées pour les extraits des feuilles et des tiges des plantes témoins et traitées, au stade végétatif et au stade d'apparition du 1^{er} bouton floral.

3.1. Variation des teneurs en alcaloïdes totaux en fonction du stade de développement.

Les résultats sont représentés dans la figure 12 et le tableau 9.

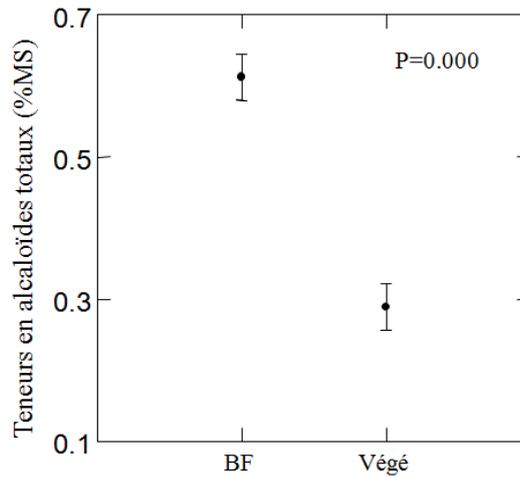


Figure 12. Variation des teneurs en alcaloïdes totaux des plantes de *Datura innoxia* en fonction des stades évolutifs (modèle GLM).

Tableau 9. Variation des teneurs en alcaloïdes totaux des plantes en fonction des stades.

Facteurs	Sommes des carrées des écarts	ddl	Carrées moyens	F-ratio	Probabilité
Stades	73.386	1	73.386	49.501	0.000
Erreurs	38.54	26	1.483		

D'après l'analyse de variance, une différence hautement significative ($p=0.000$) a été enregistrée entre les teneurs en alcaloïdes totaux et le stade de développement. La production des alcaloïdes est plus importante au stade d'apparition du 1^{er} bouton floral qu'au stade végétatif.

D'après la figure, cette plante est riche en alcaloïdes totaux qui atteignent un taux de 0.60% au stade d'apparition du 1^{er} bouton floral. De plus ces teneurs sont de 0.30% au stade végétatif.

Nos résultats concordent avec ceux de LAKHDAR EZZINE et HOUMANI (2007), qui notent des teneurs en alcaloïdes totaux égale à 0.39%, au stade plantule (4 à 5 feuilles) et sont de l'ordre de 0.76% au stade (1er bouton floral) pour la même espèce.

HOUMANI (1999), indique que les plantes cultivées augmentent de 14 fois leur rendement total en alcaloïdes. D'après PARIS et MOYSE (1971), *Datura innoxia* renferme plus d'alcaloïdes et elle est plus toxique que *Datura stramonium*.

3.2. Variation des teneurs en alcaloïdes totaux aux différents stades évolutifs en fonction des organes et des traitements et traitements*organes.

Les résultats d'analyse de variance sont représentés dans les tableaux (10 et 11).

Tableau 10. Variation des teneurs en alcaloïdes totaux au stade d'apparition du 1^{er} bouton floral en fonction des traitements et des organes et traitements*organes.

Facteurs	Sommes des carrées des écarts	ddl	Carrées moyens	F-ratio	Probabilité
Traitements	19.660	1	19.660	86.917	0.000
Organes	7.359	1	7.359	32.534	0.000
Traitements*Organes	1.530	1	1.530	15.957	0.003
Erreur	2.488	11	0.226		

Tableau 11. Variation des teneurs en alcaloïdes totaux au stade végétatif en fonction des traitements et des organes et traitements*organes.

Facteurs	Sommes des carrées des écarts	ddl	Carrées moyens	F-ratio	Probabilité
Traitements	1.569	1	1.569	6.052	0.034
Organes	4.226	1	4.226	16.304	0.002
Traitements*Organes	0.153	1	0.153	0.589	0.461
Erreurs	2.592	10	0.259		

3.2.1. Variation des teneurs en alcaloïdes totaux en fonction des organes de la plantes.

➤ Stade végétatif

Les Résultats d'analyse de variance sont représentés sur la figure 13 et le tableau 11.

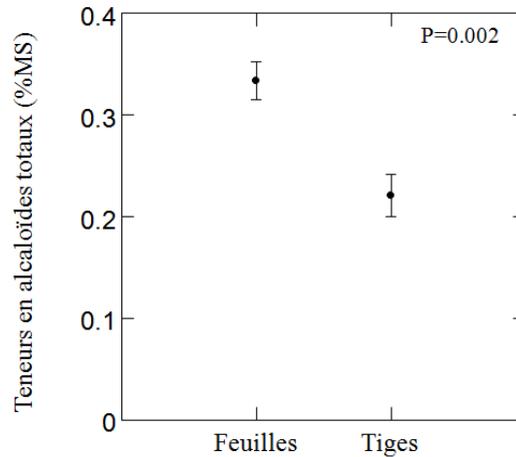


Figure 13. Variation des teneurs en alcaloïdes totaux des plantes au stade végétatif en fonction des organes (modèle GLM).

La figure 13 montre que la teneur en alcaloïdes totaux diffère significativement selon les organes de la plante où une différence hautement significative ($p=0.002$) a été obtenue. Les feuilles sont plus concentrées en alcaloïdes avec une moyenne de 0.32% par rapport aux tiges (0.23%).

➤ Apparition du 1^{er} bouton floral

Les Résultats d'analyse de variance sont représentés sur la figure 14 et le tableau 10.

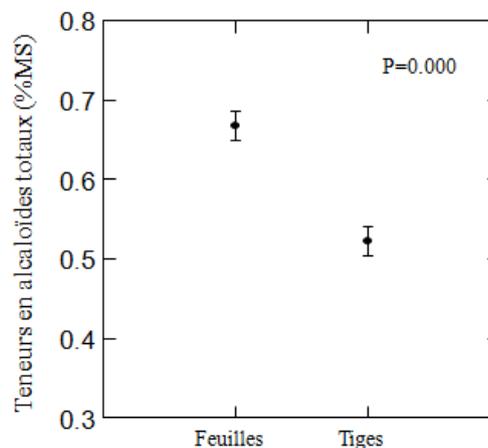


Figure 14. Variation des teneurs en alcaloïdes totaux des plantes au stade d'apparition du 1^{er} bouton floral en fonction des organes (modèle GLM).

Selon la figure 14, au stade du 1^{er} bouton floral, les feuilles contiennent environ 0.67% d'alcaloïdes totaux et les tiges en contiennent 0.52%, avec une différence hautement significative (p=0.000).

Nos résultats montrent que les feuilles de *Datura innoxia* sont les plus riches en alcaloïdes tropaniques quelque soit le stade de développement.

KAPAH et SARIN (1978), indiquent que les feuilles de *Datura innoxia* sont riches en scopolamine. MIRALDI et al (2001), indiquent que le contenu maximum en scopolamine est observé dans les feuilles apicales.

Ces valeurs sont plus élevées à celles trouvées par BENHIZIA (1989), qui mentionne que les feuilles de *Datura stramonium* spontané contiennent 0.36% MS d'alcaloïdes totaux. Le même auteur note des valeurs de 0.12%MS pour les tiges de la même espèce.

D'après PARIS et MOYSE (1971), les feuilles de *A.belladonna* cultivée contiennent 0.2 à 0.6% d'alcaloïdes totaux, et peut varier de 0.1% à 0.7% selon KUMAR et al. (1984).

Par ailleurs nos résultats semblent inférieurs à celles trouvées par YAMANI (1997) pour les feuilles de *Datura arborera* qui renferment environ 1.55% de MS.

3.2.2. Variation des teneurs en alcaloïdes totaux en fonction des traitements

✓ Stade végétatif et stade d'apparition du 1^{er} bouton floral

Les résultats sont traduits sous forme de graphe sur la figure 15 et les tableaux (10 et 11).

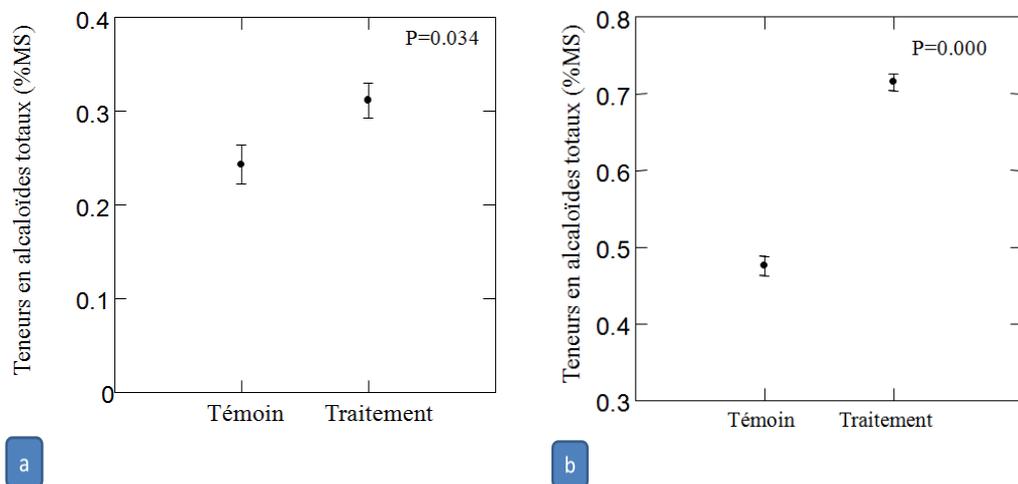


Figure 15. Variation des teneurs en alcaloïdes totaux des plantes témoins et traitées au stade végétatif (a) et au stade d'apparition du 1^{er} bouton floral (b) (modèle GLM).

Au stade végétatif, nous avons observé une différence significative ($p=0.034$) entre les teneurs en alcaloïdes totaux des plantes traitées (0.31%) et les plantes témoins (0.24%). Cependant au stade du 1^{er} bouton floral, la différence est hautement significative ($p=0.000$). Effectivement, les plantes traitées en contiennent 0.71% et les plantes témoins contiennent 0.49%.

3.2.3. Variation des teneurs en alcaloïdes totaux en fonction des traitements*organes.

✓ Stade d'apparition du 1^{er} bouton floral

Les résultats sont traduits sous forme de graphe sur la figure 16 et dans le tableau 10.

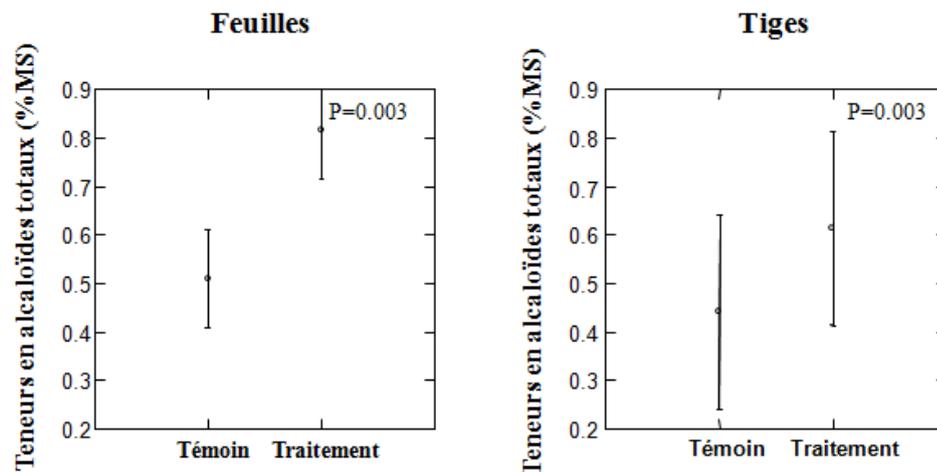


Figure 16. Variation des teneurs en alcaloïdes totaux des plantes témoins et traitées au stade d'apparition du 1^{er} bouton floral en fonction des organes (modèle GLM).

La figure 16 montre que les feuilles des plantes traitées sont riches en alcaloïdes (0.81%) par rapport au feuilles des plantes témoins (0.51%) au stade du 1^{er} bouton floral, avec une différence hautement significative ($p=0.003$). le même résultat a été observée pour les tiges, où les teneurs en alcaloïdes totaux des plantes traitées sont de 0.62%et ceux des plantes témoins sont de l'ordre de 0.44%.

✓ Stade végétatif

Les résultats sont traduits sous forme de graphe sur la figure 17 et dans le tableau 11.

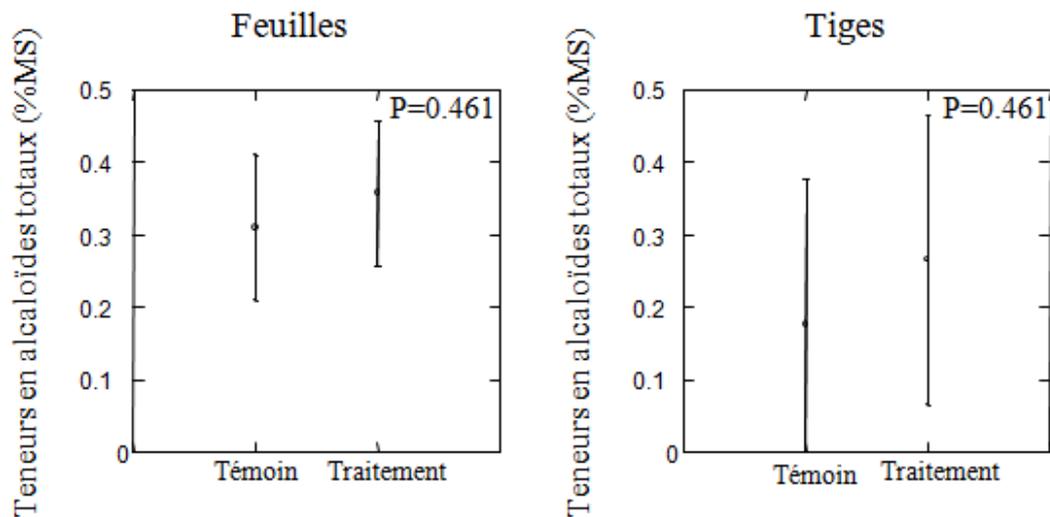


Figure 17. Variation des teneurs en alcaloïdes totaux des plantes témoins et traitées au stade végétatif en fonction des organes (modèle GLM).

En outre, au stade végétatif une différence significative a été observée ($p=0.0461$) entre les teneurs en alcaloïdes totaux des feuilles des plantes traitées qui ont été supérieures (0.35%) à celles des plantes témoins (0.31%). De plus les tiges des plantes traitées contiennent plus d'alcaloïdes (0.26%) que les plantes témoins (0.17%).

D'après VU (2008), les cultures hydroponiques de *Datura innoxia* par différentes souches d'*Agrobacterium* a conduit à une amélioration de la biosynthèse et de l'accumulation des alcaloïdes dans la plante.

HASHIMOTO et al. (1986), signalent que la culture des racines de *Hyoscyamus albus* dans un milieu renfermant des régulateurs de croissance produit principalement de l'hyoscyamine, dont la teneur varie de 0.5 à 1.2% de la MS.

De plus d'après MOURIA et al (2007), l'ajout de *Trichoderma* aux plantes de tomate permet l'accroissement général du métabolisme de la plante.

Conclusion général

Notre travail a porté sur l'étude de l'action de *Trichoderma* sur la croissance et la production des alcaloïdes tropaniques de *Datura innoxia* Mill cultivée.

Le suivi de la germination et de la croissance des plantes nous a permis de constater que les plantes traitées présentent une meilleure germination et un meilleur développement par rapport aux plantes témoins avec un taux de 80%.

D'après l'analyse de variance, une différence hautement significative ($p=0.000$) a été enregistrée entre les teneurs en alcaloïdes totaux des plantes au stade d'apparition du 1^{er} bouton floral avec une moyenne de 0.60% et au stade végétatif avec une moyenne de 0.30%.

Nos résultats montrent que la teneur en alcaloïdes totaux diffère significativement selon les organes avec une différence hautement significative ($p=0.002$). En effet, les feuilles sont plus concentrées en alcaloïdes par rapport aux tiges, avec des valeurs respectives 0.32% et 0.23% au stade végétatif.

Une différence hautement significative ($p=0.000$) a été observée entre les organes au stade du 1^{er} bouton floral, où les feuilles contiennent environ 0.67% d'alcaloïdes totaux.

Concernant le traitement, nous avons observé une différence significative entre les teneurs en alcaloïdes totaux des plantes traitées et des plantes témoins pour les deux stades de développement. En effet, les plantes traitées semblent produire plus d'alcaloïdes (0.31% et 0.71%) en comparaison avec les plantes témoins (0.24% et 0.49%).

La comparaison entre organes montre une différence hautement significative ($p=0.003$) entre feuilles et tiges des plantes traitées et témoins. Les feuilles des plantes traitées sont plus riches en alcaloïdes (0.35% et 0.81%) par rapport aux feuilles des plantes témoins (0.17% et 0.51%).

Perspectives

Ce travail doit être complété :

- 1- Utilisation de plusieurs souches fongiques du *Trichoderma sp.* ou bactériennes.
- 2- Tester différentes concentrations de l'inoculum choisi.
- 3- Tester différents modes d'inoculation, par trempage ou injection des racines, par incorporation dans le sol.
- 4- Moduler les paramètres environnementaux (température/humidité), luminosité (naturelle/artificielle), afin de savoir le comportement des souches de *Trichoderma* vis-à-vis le changement des conditions de culture et optimiser sa croissance.
- 5- Le suivi de la croissance de *Trichoderma* dès le jour d'inoculation et déterminer la concentration à chaque période de culture. Déterminer aussi la présence des autres microorganismes (bactéries, champignons, virus...).
- 6- Utiliser différentes pratiques culturales, culture sur sol, culture *in vitro*, cultures hydroponiques (hors sol).
- 7- Effectuer des analyses chromatographiques CGMS, HPLC, FTIR, afin de déterminer les métabolites sécrétés par le *Trichoderma* et comprendre leur mode d'action sur la plante et leur métabolisme.
- 8- Effectuer l'analyse chromatographique pour les plantes traitées par le *Trichoderma* afin de doser l'hyoscyamine et la scopolamine dans les différents organes.
- 9- Etudier le profil génétique de la plante soumise sous l'effet de *Trichoderma* pour voir la modification des réponses génétiques vis-à-vis les éliciteurs.

**Références
bibliographiques**

Références bibliographiques

1. **ADAMS P.B. 1990.** The potential of mycoparasites for biological control of plant diseases. *Annu. Rev. Phytopathol.* 28 : 59-72.
2. **ALABOUVETTE C., COUTEAUDIER., LOUVET J., 1983.** Importance des phénomènes de compétition nutritive dans l'antagonisme entre microorganismes. Colloque de la société Française de Phytopathologie. Bordeaux (FR). XXIV 34 : 7-16.
3. **AVERY A.G., SATINA S., RIETSMA J., 1959.** Blakeslee: the genus *Datura*. *Chron. Bot.* 20. 289 pp in **DARBYSHIRE S. J., 1953.** Inventaire des mauvaises herbes du Canada.401p.
4. **AZOUAOU Z., BELLEILI S., et BOUATOURA N., 1983.** Perspective de développement des plantes médicinales et aromatiques. INRA. Algérie. 56p.
5. **BAJAJ Y. P. S., 1999.** Biotechnology in agriculture and forestry 45, transgenic medicinal plants. Ed. **BAJAJ Y. P. S., Springer-Verlag Berlin Heidelberg.** 372p.
6. **BAKER K. F., 1988.** *Trichoderma spp.* as plant-growth stimulants. *C. R. C. Crit. Rev. Biotechnol.*, 7(2) : 97-106.
7. **BAKER R., 1988.** *Trichoderma spp.* as plant-growth stimulants. *CRC Crit. Rev. Biotechnol.* 7 (2): 97-106.
8. **BARAN J-M., 2000.** Daturas : plantes magiques, hallucinogènes, et médicinales à l'île de la Réunion et dans le monde. Thèse Doct. 3^{ème} cycle de Médecine générale. Univ. HENRI POINCARÉ NANCY I. France, 119p.
9. **BARBER D. A., et LYNCH J. M., 1977.** Microbial growth in the rhizosphere. *Soil Biol. Biochem.* 9 : 305-308.
10. **BARGUIL Y., 2011.** Etude de trois plantes psychotropes consommées en Nouvelle-Calédonie : *kava*, *cannabis* et *Datura*. Aspects médicaux et médico-légaux. Thèse Doc. Chimie des biomolécules. 158 p.
11. **BENHIZIA Z., 1989.** Contribution à l'étude d'une plante médicinale algérienne : *Datura stramonium* L. Thèse Mag. Sci. Agro. Alger, 62 p.
12. **BESNARD O. et DAVET P., 1993.** Mise en évidence de souches de *Trichoderma spp.* à la fois antagonistes de *Pythium ultimum* et stimulatrices de la croissance des plantes. *Agronomie* 13 : 413-421.
13. **BHATTACHARYA et al., 2004.** Photosynthetic eukaryotes unite: endosymbiosis connects the dots. *BioEssays* 26(1):50-60.

14. **BOSSER J., 2000.** Flore des Mascareignes: la Réunion, Maurice, Rodrigues. 127 Convolvulacées à 135 Acanthacées. Éd. IRD. 227 p.
15. **BROADBENT P., BAKER K. F., FRANKS N., et HOLLAND J., 1977.** Effet of Bacillus on increased growth seedlings in steamed and nontreated soil. *Phytopathology* 67 : 1027- 1033.
16. **BRUNETON J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} Éd. Éd. Technique et Documentation Lavoisier. Paris. 264 p.
17. **BRUNETON J., 1996.** Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Tec & Doc. Ed. Paris.
18. **BRUNETON J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Éd. Éd. Technique et Documentation Lavoisier. Paris. 915 p.
19. **BRUNETON J., 2005.** Plantes toxiques pour l'Homme et les animaux. 3^{ème} Éd. Éd. Technique et Documentation Lavoisier. Paris. 618 p.
20. **CAIN Michael L., DAMMAN H., LUE R.A., YOON C. K., 2006.** DECOUVRIR LA BIOLOGIE. 1^{ère} édit. Edition de boeck. Bruxelles 728p.
21. **CAMPOROTA P., 1985.** Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma spp.* vis-à-vis de *Rhizoctonia solani Kühn.* *Agronomie* 5 (7) : 613-620.
22. **CARON J. L., LAVERDIERE P. O., THIBODEAU., BELANGER R. R., 2002.** Utilisation d'une souche indigène de *Trichoderma harzianum* contre cinq agents pathogènes chez le concombre et la tomate de serre au Québec. *Phytoprotection* 83 : 73-87.
23. **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^é. 1-2.
24. **CHANG Y.C., CHANG R., BAKER O., KLEIFELD., et CHET I., 1986.** Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum.* *Plant Dis.* 70 (2) : 145-148.
25. **CIRIMELE V., 2011.** Détection de contaminations alimentaires à l'atropine et à la scopolamine. *Chem. Tox.* France N° 35. EUROFINS.
26. **COSSON L., 1972.** Influence de l'éclaircissement sur la teneur en alcaloïdes tropaniques des *Datura* : analyse des processus pouvant en expliquer les effets. Thé. Doc. Sc. Paris, 66P.
27. **COSSON L., 1976.** Importance des facteurs climatiques et des étapes de développement dans la productivité des alcaloïdes tropaniques. *Etude de biologie végétale, R. Jacques Edit,* Paris. Pages 483 – 494.

28. **COSSON L., ESCUDERO MORALES A., et COUGOUL N., 1978.** La régulation ecophysiologique du métabolisme des alcaloïdes tropaniques (hyscyamine et scopolamine). *Plant.Med et Phyt.* 12(04) :319-326.
29. **COSSON P., and LETOURNEUR F., 1994.** Coatomer interaction with di-lysine endoplasmic reticulum retention motifs. *Science* **263**, 1629-1631.
30. **COUGOUL N., MIGINIAC E., et CONSSON L., 1979.** Un gradient métabolique : rapport scopolamine /hyoscyamine dans les feuilles du *Duboisia myoporoides* R. Br. En fonction de leur niveau d'insertion et du stade de croissance. *Phytoch.* 18(6) : 949- 951.
31. **COULADIS M. M., BRENTFRIESEN J., LANGREBE M. E., et LEETE E., 1991.** Enzymes catalyzing the reduction of tropinone to tropine and pseudotropine isolated from the roots of *Datura inoxia*. *Phytochem.* 30(3): 801-805.
32. **DAVET P., 1996.** Vie microbienne du sol et production végétale, 383 p. Edition INRA. Paris (FR).
33. **DE MIGUEL L. C., 1980.** Changes in levels of endogenous inhibitors during dormancy breakage in *Datura ferox* L. seeds. *Zeit. Pflanzenphysiol.* Bd. 96 s. 415-421.
34. **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 immuno enzymatique : localisation tissulaire et subcellulaire. *C. R. Acad. Sci.* Paris, 306, Ser. III. 591-596.
35. **DRAKE J. A., HEWITT C. L., HUXEL G. R., KOLASA J., 1996.** Diversity and higher levels of organization. In: Gaston K (ed) *Biodiversity: a biology of numbers and differences.* Blackwell. Oxford. pp 149–166.
36. **DUCROCQ C., 1994.** Genetic transformation in a medical plant : *Datura innoxia* Mill., by *Agrobacterium tumefaciens* and *Agrobacterium rhizogenes* and contribution to the study of secondary metabolites. Thèse Doc. Sci. Biotechnologie. 264p.
37. **DUEZ P., CHAMART S., HANOCQ M., MOLLE L., VANHAELEN M., et VANHAELEN-FASTRE R., 1985.** Comparison between thin layer chromatography-densitometry and layer performance liquid chromatography for the determination of hyoscyamine and hyoscyne in leaves fruits and seeds of *Datura* (*Datura ssp.*). *J. Chrom.* 529: 415-421.

38. **ELAD Y., and KAPAT A., 1999.** The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. *Eurpian Journal of Plant Pathology* 105: 177-189.
39. **ELAD Y., SADOWSKY Z., & CHET I., SCANNING.,1987.** Electron microscopical observations of early stages of interaction of *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **88**, 259–263.
40. **FELIDJ M., 2005.** Effets de stress hydrique sur la production des alcaloïdes tropaniques chez *Datura stramonium* cultivé en plein champs. Thèse. Mag. Sci. Agro. Blida.75p.
41. **FLETCHER J. T., SMEWIN B. J., COOK R. TA., 1988.** Tomato powdery mildew. *Plant Pathol.* 37(4): 594-598.
42. **FOLEY P.B., 2003.** Beans, roots & leaves: The history of the pharmacological therapy of parkinsonism. Edit: Tectum-Verlag. Marburg. Germany.
43. **GHIZALBERTI E. L & ROWLAND G. Y., 1993.** Antifungal metabolites from *Trichoderma harzianum*. *J Nat Prod* 56: 1799-1804.
44. **GHOSH M., SINGH S.P., 2005.** Comparative uptake and phytoextraction study of soil induced chromium by accumulator and high biomass weed species. *Applied Ecology and Environmental Research.* 3 (02) 67-79.
45. **GONTIER E., 1988.** Etude de la production d'alcaloïdes tropaniques chez le *Datura innoxia* Mill. cultivée *in vitro*. Essais d'immobilisation au sein d'une matrice d'alginate de calcium. Diplôme d'Etude Approfondies. *Université de Picardie Jules Vernes.* Amiens. France. 35p.
46. **GONTIER E., 1993.** Etude de la production d'alcaloïdes tropaniques chez le *Datura innoxia* Mill. Cultivé *in vitro* : impact physiologique de l'immobilisation des cellules au sein d'une matrice d'alginate de calcium. *Thèse de doctorat, Université de Picardie Jules Verne en Biotechnologies Végétales,* France, 165p.
47. **GONTIER E., 2001.** Biotechnologies et valorisation des productions végétales : une démarche de type « génie métabolique » appliquée aux alcaloïdes, aux furanocoumarines et aux triglycérides. *Mémoire de l'Habilitation à diriger des Recherches, spécialité en Sciences Agronomiques à l'INPL.* 64p.
48. **GONTIER E., CLEMENT A., TRAN T.L.M .GRAVOT A., Lièvre K., GUCKERT A., BOURGAUD F., 2002.** Hydroponic combined with natural or forced root permeabilization : a promising technique for plant secondary metabolite production. *Plant science,* 1963: 723-732.

49. **GRZEGORZ B, OLIVERA B. M., 2008.** Folding of Conotoxins: Formation of the Native Disulfide Bridges during Chemical Synthesis and Biosynthesis of *Conus* peptides. *Antiox Redox Sign*, 10:141- 56.
50. **HAMMICHE V., et CUEYOUCHÉ R., 1988.** Les plantes médicinales dans la vie moderne et leur situation en Algérie, *Ann, I.N.A.*, El- Harrach. 12 (01) : 419-431.
51. **HARBOUCHE H., 2005.** Etude botanique et physiologique de l'espèce *Datura stramonium L.*, dans la région de Sétif, Thèse, Mag, Univ, Sétif, 104 p.
52. **HASHIMOTO T., and YAMADA Y., 1986.** Hyoscyamine-6 β -hydroxylase, a 2-oxoglutarate dependent dioxygenase, in alkaloid-producing root culture. *Plant Physiol.* 81: 619-625.
53. **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.
54. **HIBAR K., DAAMI-REMADI M., KHIAREDDINE H., et EL MAHJOUB M., 2005.** Effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 9 (3) : 163-171.
55. **HOUMANI Z., 1999.** Quelques plantes Algériennes à alcaloïdes tropaniques, effets du stress salin et hydrique sur la production d'alcaloïde, variation de leurs teneurs au cours du stockage. Thèse.Doc d'état. Sc. Agro. I.N.A Alger. 86 p.
56. **HOUMANI Z., et CONSSON L., 2000.** Quelques espèces Algériennes à alcaloïdes tropaniques. *Etnopharmacology*. Éd. Antonio guerci. 76-213.
57. **INDERJIT S., KEATING K.I., 1999.** Allelopathy: Principles, procedures, processes, and promises for biological control. *Adv. Agron.* 67, 141-231.
58. **JANOT M M., 1986.** *Encyclopaedia Universalis*, A: 649-655.
59. **JEAN L., 2007.** Mobilisation du chrome et du nickel à partir de sols contaminés, en présence de complexants : Transfert et accumulation de ces métaux chez *Datura innoxia*. Thèse. Doc. Univ. LIMOGES. Chimie et Microbiologie de l'Eau. 63-64.
60. **JOUZEIN P., 1995.** Flore des champs cultivés. Éd. INRA. Paris. 668-674.
61. **KAPAHI B.K et SARIN Y.K., 1978.** Natural factors governing the growth and alkaloid in *Datura innoxia Mill.* *Indian J. Pharm.* 14-15.

62. **KAUSHIK P., GOYAL P., 2008.** In vitro evaluation of *Datura innoxia* (thorn apple) for potential antibacterial activity. *Indian J. Microbiol.* 48: 353-357.
63. **KITAMURA Y., MIURA H., and SUGII M., 1988.** Change of atropine esterase activity in the regenerated plants of *Duboisia myoporoides* during development, and its relation to alkaloid accumulation. *J. Plant Physiol*, 133: 316-319.
64. **KITAMURA Y., YAMASHITA R., MIURA H., et WATANABE M., 1993.** Phloem transport of tropane and pyridine alkaloids in *Duboisia myoporoides*. *J. Plant Physiol.* 142. 635-637.
65. **KLEIFELD O., et CHET I., 1992.** *Trichoderma harzianum* interaction with plants and effect on growth response. *Plant Soil* 144 : 267-272.
66. **KOELEN K. J., et GROSS G. G., 1982.** Partial purification and properties of tropane dehydrogenase from root cultures of *D.stramonium*. *Planta Med.* 44: 227-230.
67. **KUBICEK C.P., BISSETT J., DRUZHININA I., KULLNIG-GRADINGER, C. and SZAKACS G., 2003.** Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma sp.*: a case study on South-East Asian isolates. *Fungal Genet. Biology*, 38 (3): 310-319.
68. **KUMAR A., SHARMA A., et VIRMANI O. P., 1983.** E. Review article. E1. Belladonna and its cultivation. *A review Cromap.* 5(3): 198-211.
69. **KUMAR A., SHARMA A., SINGH A.K., et VIRMANI O.P., 1984.** E-1- Cultivation of *hyoscyamus* as source of tropan alkaloids : A review *Cromap.* (4) : 195-211.
70. **LAKHDAR EZZINE DJ., HOUMANI Z., 2007.** Evaluation de la composition en alcaloïdes tropaniques chez *Datura ferox* et *Datura innoxia* poussant à l'état sauvage. Article originale *Journal Algérien de Médecine.* vol. XV N° 1 & 2. 31-35.
71. **LANDREAU A. 2001.** Métabolites d'une souche de *Trichoderma koningii* *Oudemans* isolée du milieu marin : Etude chimique, biologique et risques pour les coquillages en culture. Thèse. Pharmacie. Nantes. 201 p.
72. **LANOUE A., BOITEL-CONTI M., PORTAIS J. C., BARBOTIN J. N., CHRISTEN P. and SANGWAN-NORREED B., 2002.** Kinetic study of littorine rearrangement in *Datura innoxia* hairy root by ¹³C NMR spectroscopy. *J. Nat. Prod.*, 65: 1131-1135.

73. **LEETE E., 1979.** Biosynthesis and metabolism of the tropane alkaloids. *Planta med.*, 36 (2): 98-106.
74. **LEWIS J. A., LARKIN R. P., et ROGERS D. L., 1998.** A formulation of *Trichoderma* and *Gliocladium* to reduce damping-off caused by *Rhizoctonia solani* and saprophytic growth of the pathogen in soilless Mix. *Plant Dis.* 82 : 501-506.
75. **LIN S., DRAKE L.R., et RAYSON G.D., 2002.** Affinity distributions of lead ion binding to an immobilized biomaterial derived from cultured cells of *Datura innoxia*. *Advances in Environmental Research.* 6 (04) : 523-532.
76. **LIN S., RAYSON G. D., 1998.** Impact of surface modification on binding affinity distributions of *Datura innoxia* biomass to metal ions, *Environmental Science and Technology.* 32: 1488-1493.
77. **LOCKWOOD T. E., 1973.** Generic Recognition of *Brugmansia*. *Botanical Museum Leaflets.* 23(O6): 273-284.
78. **LYNCH J.M., LUMSDEN R.D., ATKEY P.T., et OUSLEY M.A., 1991.** Prospects for control of Pythium damping-off of lettuce with *Trichoderma*, *Gliocladium* and *Enterobacter spp.* *Biol. Fertil. Soils* 12 : 95-99.
79. **LYNCH J.M., LUMSDEN R.D., ATKEY P.T., et OUSLEY M.A., 1991a.** Prospects for control of *Pythium* damping-off of lettuce with *Trichoderma*, *Gliocladium* and *Enterobacter spp.* *Biol. Fertil. Soils* 12 : 95-99.
80. **MACKENZIE A. J., STARMAN T. W., et WINDHAM M. T., 1995.** Enhanced root and shoot growth of *Chrysanthemum* cutting propagated with the fungus *Trichoderma harzianum*. *Am. Soc. Hortic. Sci.* 30 (3): 496-498.
81. **METCALF D.A., DENNIS J.J.C., WILSON C.R., 2004.** Effect of inoculum density of *Sclerotium cepivorum* on the ability of *Trichoderma koningii* to suppress white rot of onion. *Plant Disease.* **88**:(3), 287-291.
82. **MIRALDI E., MASTI A., FERRI S., COMPARINI I B., 2001.** Distribution of hyoscyamine and scopolamine in *Datura stramonium*. *Fitoterapia* .72 (06): 644-648.
83. **MOURIA A., OUAZZANI-TOUHAMI A., DOUIRA A., BENKIRANE R., MLAIKI A., et EL YACHIOUI M., 1997a.** Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma spp.* vis-à-vis de *P. oryzae*. *Al Awamia* 96 : 9-17.
84. **MOURIA B., OUAZZANI-TOUHAMI A., DOUIRA A., 2008.** Effet de diverses souches du *Trichoderma* sur la croissance d'une culture de tomate en serre et leur

- aptitude à coloniser les racines et le substrat. *Phytoprotection*, vol. 88, n°3, p. 103-110.
85. **MOURIA B., OUZZANI-TOUHAMI A., et DOUIRA A., 2007.** Effet de diverses souches du *Trichoderma* sur la croissance d'une culture de tomate en serre et leur aptitude à coloniser les racines et le substrat. *Phytoprotection*. 88(3) : 103-110.
86. **MOURIA, A., A. OUZZANI-TOUHAMI, A. MLAIKI, M. EL YACHIOUI et A. DOUIRA. 1997b.** Lutte biologique contre *Helminthosporium oryzae* : Antagonisme *in vivo* des *Trichoderma spp.* vis-à-vis de *H. oryzae*. Troisième congrès de l'Association Marocaine de Protection des Plantes, Rabat, 23-24 déc. P. 113-116.
87. **MURANAKA T., OHKAWA H., YAMADA Y., 1993.** Continuous production of scopolamine by a culture of *Duboisia leichhardtii* hairy root clone in a bioreactor system. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 40: 219-223.
88. **NABORS M., 2008.** Biologie végétale: structure, fonctionnement, écologie et biotechnologies. 1^{ère} édit. Edition. Pearson. France. 640 P.
89. **NAKANISHI F., SASAKI K., SHIMOMURA K., 2000.** Kinetics of littorine content in various developing stages of regenerates of *Atropa belladonna*. *Plant Cell Reports*. 19: 1021-1026.
90. **O'HAGAN D., 2000.** Pyrrole, pyrrolidine, pyridine, piperidine and tropane alkaloids. *Nat. Prod. Rep.* 17, 435-446.
91. **OUZZANI-TOUHAMI A., DOUIRA A., BENKIRANE R., EL OIRDI M., BOUSLIM F., ZIDANE L., GMIRA N., et EL HALOUI N.E., 1994.** Antagonisme *in vivo* de certaines espèces fongiques vis-à-vis de *Verticillium dahliae*. *Rev. Rés. APAMA* 7 : 197- 211.
92. **OUSLEY M. A., LYNCH J. M., et WHIPPS J. M., 1994.** Potential of *Trichoderma spp.* as consistent plant growth stimulators. *Biol. Fertil. Soils* 17 (1): 85-90.
93. **PALOMINO G., VIVEROS R., ROBERT A., 1988.** Cytology of Five Mexican Species of *Datura L.* (Solanaceae). *The Southwestern Naturalist*. 33 (1) : 85-90.
94. **PAPAVIZAS G. C., 1985.** *Trichoderma* and *Gliocladium* : Biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.* 23 : 23-54.
95. **PARIS M., et HURABIELLE M., 1981.** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie), TOME I Généralités-morphologies, édition MASSON, 339 p.

96. **PARIS R R., et MOYSE H., 1971.** Les solanacées médicales Matières médicales 3^{ème} Éd. Éd. Masson et Cie. Paris. 76-79.
97. **PARIS R., & DILLEMANN G., 1960.** Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue pharmacologique, Ed UNESCO. 99p.
98. **PIVKIN M. V. 2000.** Filamentous fungi associated with holoturians from the Sea of Japan, off the Primorye coast of Russia. *Biol. Bull.*, 198 (1): 101-109.
99. **PLANK K. H., et WAGNER K. G., 1986.** Détermination of hyoscyamine and scopolamine in *Datura innoxia* plants by high performance liquid chromatography. *Naturforsch 41C*. 391-395.
100. **RAVEN H., EVERT R. F., EICHHORN S. E., 2000.** Biologie végétale. 6^{ème} édition. Traduit par Jules Bouharmont avec la collaboration scientifique de Charles- Marie Evrard. *De Boeck Université-Paris*. 944p.
101. **REISMAN-BERMAN O., KIGEL J., et RUBIN B., 1989.** Short soaking in water inhibits germination of *Datura ferox* L. and *D. stramonium* L. *Seeds Weed Aesearch*. 29: 357-363.
102. **ROBINS R. J., PARR A. J., PAYNE J., WALTON N. J., et RHODES M. J. C., 1990.** "Factors regulating tropane-alkaloid production in a transformed root culture of a *Datura candida* x *D.aurea* hybrid" *.Planta*. 181: 414-422.
103. **ROBINSON D. A., 1981.** The biochemistry of alkaloids, 2nd ed. Springer-verlag, New York.
104. **ROMEIKE A., 1961.** Mémoire sur la biogénèse de la scopolamine. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 33- 35 p.
105. **SAMUELSON G., 1992.** Drugs of natural origin. A text book of pharmacology. SWEDISH PHARMACEUTICAL PRESS. SWEDEN.
106. **SANDGREN M., STAHLBERG J. et MITCHINSON C., 2005.** Structural and biochemical studies of GH family 12 cellulases: improved thermal stability, and ligand complexes. *Prog. Biophys. Mol. Bio.* 89 : 246-291.
107. **SATO F., HASHIMOTO T., HACHIYA A., TAMURA K. I., CHOI K. B., MORISHIGE T., FUJIMOTO H., YAMADA Y., 2001.** Metabolic engineering of plant alkaloid biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98 (1): 367-372.
108. **SCHMELZER G.H., et GURIB F., 2008.** Plantes médicinales. Vol.11. Ressources végétales de l'Afrique tropicale, G.J.H. Grubben. PROTA. 850 p.
109. **SCHULTES RE., HOFMANN A., 1981.** Les plantes des Dieux: les plantes hallucinogènes, botanique et ethnologie. Paris: Berger-Levrault.

110. **SHUKLA Y. N., et THAKUR R. S., 1992.** Tropane alkaloids from *Duboisia myoporoides*. *Phytochem.* 31 (12). 4389-4390.
111. **SIVAN A & CHET I., 1993.** Integrated control of *Fusarium crown* and root rot of tomato with *Trichoderma harzianum* in combination with methyl bromide or soil solarization. *Crop Prot* 12: 380-386.
112. **SPORER F., SAUERWEIN M., WINK M., 1993.** Diurnal and developmental variations of alkaloid accumulation in *Atropa belladonna*. *Acta hortic.* 331: 381-386.
113. **STEENKAMP P. A., HARDING N. M., VAN HEERDEN F. R., VAN WYK B. E., 2004.** Fatal *Datura* poisoning: identification of atropine and scopolamine by high performance liquid chromatography/photodiode array/mass spectrometry *Forensic Science International.* 145 (01): 31-39.
114. **STEFANOVA M.E., TONKOVA A.I., MITEVA V.I., and DOBREVA E.P., 1999.** Characterization and cultural conditions of a novel cyclodextrin glucanotransferase-producing *Bacillus stearothermophilus* strain. *J. Basic Microbiol.*, 39: 257-263.
115. **STEVENS R.D., UIIOA-U C., POOL A., et MONTIEL O.M., 2001.** Flora de Nicaragua. Monographs in Systematic Botany. *Missouri Botanic Garden, St. Louis, MO.* 85 (3) 911-2, 666.
116. **SUTY LYDIE., 2010.** La lute biologique : vers de nouveaux équilibres écologiques. Edition Quae. France. 328p.
117. **SUZUKI E., NAKAGOMI M., HASHIMOTO M., AGUI M., IIDA S., KONNO K., HARA Y., KURIHARA H., MATSUKI Y., IMAI K., & ONO H., 1999b.** Preparation of Specific Antisera to 15alpha-Hydroxyestrogens. *Steroids*, 64:551-557.
118. **SUZUKI H., KOKADO M., SAITO K., KUNIEDA T., & SUZUKI K., 1999a.** A locus responsible for hypogonadism (hgn). *Mammalian Genome*, 10: 1106-1107.
119. **SZOKE E., DUNG N. N., VERZAR-PETRI G., and POTOCZKI A., 1982.** Chang in the total alkaloid contents in the tissue cultures of *Datura innoxia* Mill. In the function of the cultural circumstances. *Acta Botanica Academiae Scientiarum Hungaricae.* 29, 3-4: 403-410.

120. **TANCZOS A. C., PALMER R. A., POTTER B. S., SALDANHA J. W., HOWLIN B. J., 2004.** Antagonist binding in the rat muscarinic receptor a study by docking and X-ray crystallography. *Comput Biol Chem.* 28 (5-6): 375-85.
121. **THAKUR K. D., KHUNE N. N., SABLEY J. E., 1995.** Inhibition of some cotton pathogens by plant extracts. *Pkv Res. J.* 19 (1): 39-41.
122. **TRAN T. L. M., 2005.** Synthèse et accumulation d'alcaloïdes tropaniques chez *Datura innoxia* Mill. Cultivé en hydroponie : analyse des effets de l'environnement biotique et abiotique ; essais de mise en place d'une nouvelle technologie de production. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine en Science Agronomiques. France. 105p.
123. **TRISTAN M., LAURENS A., et SYLLA O., 1987.** Les Daturas activité psychodysléptique et toxicomanie. *Psychopathologie Africaine*, vol, XXI, N° : 2, pp 137 153, Dakar.
124. **VERPOORTE R., VAN DER HEIJDEN R., VAN GULIK W. M., and H. J. G., 1991.** Plant biotechnology for the production of alkaloids: present status and prospects. *Brossi A. (ed) The alkaloids, Academic Press, San Diego.* 40: 1-187.
125. **VERZAR P. G., 1973.** Histochemical and autoradiographic examination of alkaloid localization in the vegetative organs of *Datura innoxia* Mill. *Acta Botanica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 18: 257-271.
126. **VERZAR PETRI G., and HUYNH D., 1977.** Formation of alkaloid content and composition of *Datura innoxia* Mill. during sprouting. *Acta Pharmaceutica Hungarica.* 47: 37-44.
127. **VITERBO A., HORWITZ B. A., 2010.** Mycoparasitism. In *Cellular and Molecular Biology of Filamentous Fungi*. Edited by K. A. Borkovich & D. J. Ebbole. Washington: *Am. Soc. Microbiol.* 42:676-693.
128. **VIZCAINO J.A., SANZ L., CARDOZA R.E., MONTE E., & GUTIERREZ S., 2005.** Detection of putative peptide synthetase genes in *Trichoderma* species: Application of this method to the cloning of a gene from *T. harzianum* CECT 2413. *FEMS Microb. Lett.* 244: 139–148.
129. **VU T. D., 2008.** Effets de l'environnement sur la croissance et l'accumulation de métabolites secondaires chez *Datura innoxia* Mill. Cultivé en conditions hors sol ; impact des facteurs biotiques et abiotiques. Thèse de Doct, Institut National Polytechnique de Lorraine en Science Agronomiques. France. 238p.

130. **WALLER G. P., and NOWACKI E. R., 1978.** Alkaloid biology and metabolism in plants. *New York Pleneum.*
131. **WALLER G. R., et DERMER O. C., 1981.** The biochemistry of plants. A comprehensive treatise. 7. ACADEMIC PRESS. N. YORK.
132. **WIDDEN P., et SCATTOLIN V., 1988.** Competitive interactions and ecological strategies of *Trichoderma* species colonizing spruce litter. *Mycologia* 80 : 795-803.
133. **WINDHAM M.T., ELAD Y., et BAKER R., 1986.** A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma spp.* *Phytopathology* 76: 518-521.
134. **WINDHAM M.T., ELAD Y., et BAKER R., 1986.** A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma spp.* *Phytopathology* 76 : 518-521.
135. **YAMANI H., 1997.** Evolution des teneurs e hyocsyamine et en scopolamine de *Datura arborea* L. cultivée en Algérie. Thèse. Ing. Sc. Agr. Blida. 50 p.

Annexes

Annexe 1

Composition du milieu de culture de Potato Dextrose Agar (PDA).

La composition du milieu de culture est basé sur la méthode de JOHNSON et BOOTH (1983) *in* HAMMI (2003)

20g d'agar-agar

20g de glucose

1000 ml d'eau distillée

200g de pomme de terre

Annexe 2

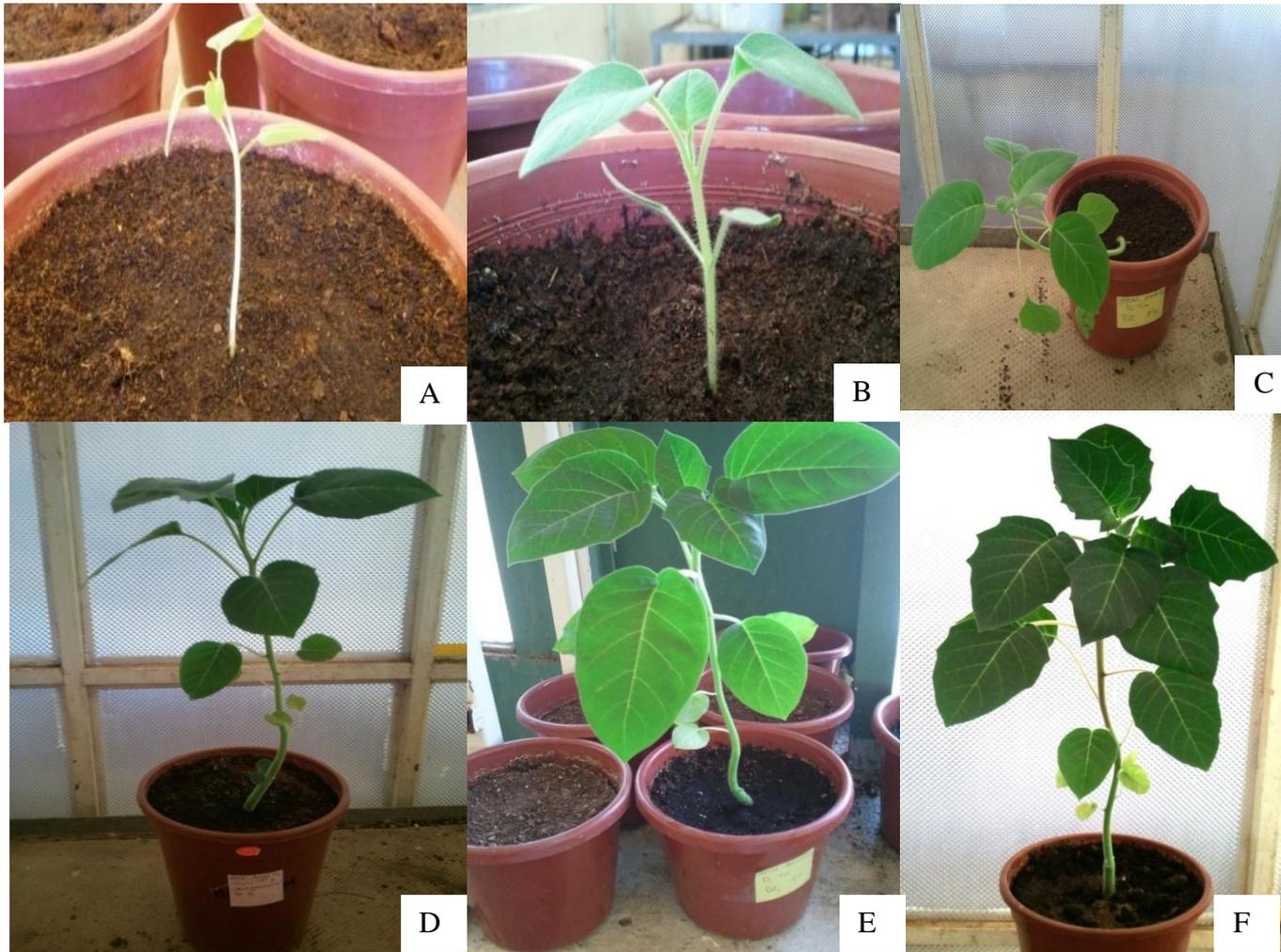


Figure 7. Aspect des plantes témoins et traitées aux différents stades évolutifs

A : Plantule témoins de *Datura innoxia* à 5 feuilles.

B : Plantules de *Datura innoxia* traitée par *Trichoderma* à 5 feuilles.

C : Plantes témoins de *Datura innoxia* au stade végétative.

D : Figure-11d : plantes de *Datura innoxia* traitées par *Trichoderma* au stade végétative.

E : Plantes témoins de *Datura innoxia* au stade du 1^{er} bouton floral.

F : Plantes de *Datura innoxia* traitées par *Trichoderma* au stade du 1^{er} bouton floral.

Annexe 3

Tableau 2. La moyenne des longueurs des tiges de *D.innoxia* témoin et traitées.

période	Témoin	Traitement
S1	0	0
S2	2	2
S3	2.78	3.12
S4	8.71	9.84
S5	16.28	17.17
S6	21.42	26.14
S7	26.14	40.6
S8	35.71	45.58
S9	40.12	50.5
Moyenne général	17.12	21.40

Annexe 4

Tableau 4. Moyennes des valeurs des diamètres des tiges de *D.innoxia* témoins et traitées.

période	Témoin	Traitement
S1	0	0
S2	0.1	0.18
S3	0.17	0.24
S4	0.25	0.38
S5	0.30	0.49
S6	0.37	0.56
S7	0.45	0.76
S8	0.67	0.81
S9	0.89	1.07
Moyenne général	0.36	0.50

Annexe 5

Tableau 6. La moyenne du nombre des feuilles de *D.innoxia* témoins et traitées.

Période	Témoin	Traitement
S1	0	0
S2	2	2.5
S3	3.2	3.18
S4	4.57	5.27
S5	6.28	7.19
S6	8.57	9.14
S7	10	12.07
S8	12.71	14.56
S9	14.85	16.44
Moyenne général	6.90	7.81