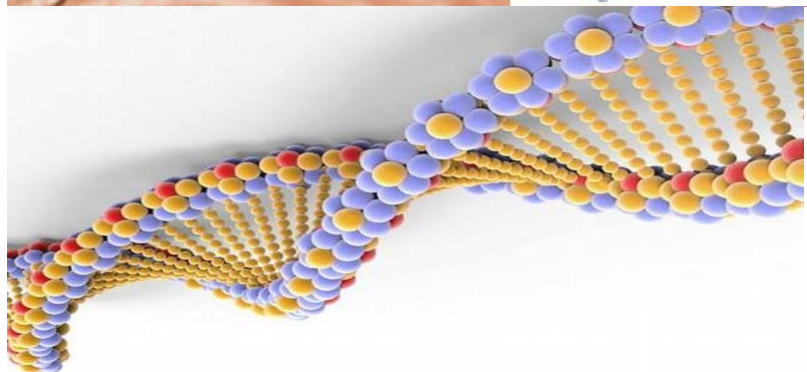
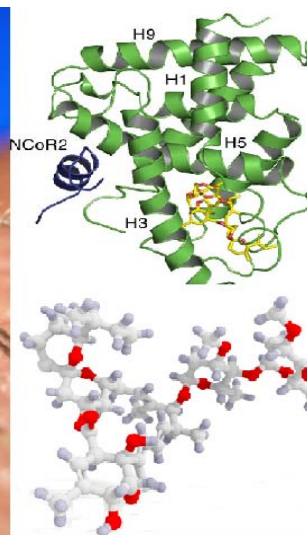


PhytoChem & BioSub Journal

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

ISSN 2170 - 1768



PCBS Journal

Volume 10 N° 2

2016



PhytoChem & BioSub Journal

ISSN 2170 – 1768

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

CAS Source Index (CODEN: PBJHB3)

Editor in Chief

Pr Abdelkrim CHERITI

Phytochemistry & Organic Synthesis Laboratory
08000, Bechar, Algeria

PhytoChem & BioSub Journal (PCBS Journal) is a peer-reviewed research journal published by Phytochemistry & Organic Synthesis Laboratory. The PCBS Journal publishes innovative research papers, reviews, mini-reviews, short communications and technical notes that contribute significantly to further the scientific knowledge related to the field of Phytochemistry & Bioactives Substances (Medicinal Plants, Ethnopharmacology, Pharmacognosy, Phytochemistry, Natural products, Analytical Chemistry, Organic Synthesis, Medicinal Chemistry, Pharmaceutical Chemistry, Biochemistry, Computational Chemistry, Molecular Drug Design, Pharmaceutical Analysis, Pharmacy Practice, Quality Assurance, Microbiology, Bioactivity and Biotechnology of Pharmaceutical Interest). Contributions in all areas at the interface of Chemistry, Pharmacy, Medicine and Biology are welcomed.

Submission of an article to the *PCBS Journal* implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors.

The *PCBS Journal* reserves the right to submit all received manuscripts to *ad hoc* referees, whose names will be kept confidential, and will have the authority to decide on the pertinence for acceptance. Referees may send back manuscripts to Editor-in-Chief, for transmission to the author(s) with suggestions for necessary alterations, which are to be made in order to conform to the standards and editorial rules of the Journal. All manuscripts should be prepared in MS-Word format, and submitted online to **Phytochem07@yahoo.fr**. Upon receipt of paper submission, the Editor sends an E-mail of confirmation to the corresponding author within 1-4 working days. The Editors reserve the right to edit or otherwise alter all contributions, but authors will receive proofs for approval before publication.

Editorial Board

Abou Enein H

Pharm. Med Chem Dept. Research Division,
NRC, Dokki, Giza, Egypt

Allali H.

LASNABIO, Dept. Chemistry,
University of Tlemcen, Algeria

Awad Allah A.

Dept. Chem., Faculty of Science, Islamic
University of Gaza, Gaza, Palestine

Barkani M.

Materials Laboratory, Bedjai University,
Algeria

Benharathe N

Materials Laboratory, USTO university, Oran,
Algeria

Boksha I.

Federal Research Centre for Epidemiology
Microbio., MH, Moscow, Russia

Boukir A.

Lab. Applied Chem., Faculty of Science,
S.M.Ben Abdellah Univ., Fez, Morocco

Boulenouar N.

Biochemical Laboratory, Nour E. University, El
Bayadh, Algeria

Daoud K.

GP- Indus.Pharma Laboratory, USTHB, Algiers,
Algeria

El Abed D.

Fine Organic Chemistry laboratory, Es Senia
university, Oran, Algeria

El Omar F.

Applied Chem. Lab., Faculty of Science
Lebanese University, Tripoli, Lebanon

Govender P.

KwaZulu-Natal Univ., School of Life Sci.
Biochem., Durban, South Africa

Gargouri A. F.

Biotechnology center, CBS
Sfax, Tunisia

Gherraf N.

LRNAMS Laboratory, Larbi ben M'hidi,
University, Oum El-Bouaghi, Algeria

Gouasmia A.

Organic Materials Laboratory, faculty of science,
Tebessa University, Algeria

Kajima J.M

COSNA Laboratory, faculty of science, Tlemcen
University, Algeria

Khelil-Oueld Hadj A.

ECOSYS Laboratory, Ouargla, University,
Ouargla, Algeria

Marouf A.

Biochemistry laboratory, Dept of Biology,
Naama University, Algeria

Laouar H

NRV laboratory, Dept. Biology and plant
ecology, F.A. University, Setif-I, Algeria

Oueld Hadj M.D.

ECOSYS Laboratory, Ouargla, University,
Ouargla, Algeria

Roussel C.

Chirosciences, UMR 7313, Stereo-Dyna.
Chiralty, Aix-Marseille Univ., France

Sidiqi S. K.

Bioorganometallic Lab., Dept. chemistry, AMU
University, New Delhi, India

Tabti B.

LASNABIO, Dept. Chemistry, University of
Tlemcen, Algeria

Youcefi M.

LSF laboratory, faculty of sciences, Laghouat
University, Algeria

Afaxantidis J.

Synerlab Développement,
Orléans, France

Allouch A.

Applied Chem. Lab., Faculty of Science Lebanese
University, Tripoli, Lebanon

Badjah A.Y.

Dept. Chem., College of Science,
King Saud Univ., Riyadh, KSA

Belboukhari N.

LMBSC Lab. Bechar university
Algeria

Bennaceur M.

Biochemical Laboratory, Biology faculty, Es Senia
University, Oran, Algeria

Bouchekara M.

Chemistry Laboratory, Science faculty, University of
Mascara, Algeria

Brada M.

Valuation of Natural Substances Lab., Khemis-
Miliana University, Algeria

Dadamoussa B.

Chemistry Laboratory, Ghardai University,
Algeria

Djebar S.

Materials & mineral laboratory, USTHB, Algiers,
Algeria.

Elachouri M.

Lab. Physiology and Ethnopharma...Sci.Fac Med. I
University. Oujda, Morocco

Ermel G.

Rennes University EA 1254, Beaulieu Campus
Rennes, France

Hacini S.

Fine Organic Chemistry laboratory, Es Senia
university, Oran, Algeria

Ghanmi M.

Medicinal plants division, CRF, Agdal
, Rabat, Morocco

Ghezali S.

IAP, Dept Catalysis, Sonatrach, Algiers,
Algeria

Kabouche Z.

LOST Laboratory, faculty of sciences, Constantine
University, Algeria

Kaid-Harche M.

Biotechnology Laboratory, Faculty of biology,
USTO, Oran, Algeria

Lahreche M.B.

LCO laboratory, faculty of Biology, Djelfa
University, Algeria

Meddah B.

Lab. Pharmaco. Toxic. Faculty of medicine and
pharmacy, Med. V Univ. Rabat, Morocco

Mushfik M.

Natural products laboratory, Dept chemistry, AMU
university, New Delhi, India

Rahmouni A.

LMC laboratory, Dept Chemistry, Saida University,
Algeria

Saidi M.

LPSEZA laboratory, Dept Chemistry, Ouargla
University, Algeria

Soltani Y.

BPO Laboratory, Endocrinology team, Dept. Bio.
Physio., USTHB, Algiers, Algeria,

Taleb S.

Materials Chemistry Laboratory
Dept Chem. UDL Univ., SBA, Algeria

Akkal S.

**Research Unity: VNRBM Lab. Dept. Chem.,
University of Constantine 1, Algeria**

Aouf N.

Lab. Applied Org. Chem. . Dpt. Chem.,
Annaba University, Algeria

Balansard G.

Pharmacognosy Lab., Faculty of pharmacy, Univ.
Aix Marseille II, Marseille, France

Belkhiri A.

Pharmacognosy Laboratory, Faculty of Medicine,
Constantine university, Algeria

Berredjem M.

Lab. Applied Org. Chem. . Dpt. Chem.,
Annaba University, Algeria

Bouklouze A.

Lab. Pharmaco. Toxic. Faculty of medicine and
pharmacy, Med. V Univ. Rabat, Morocco

Bressy C.

iSm2, CNRS UMR6263, Aix-Marseille University,
Marseille, France

Daich A.

URCOM, EA-3221, CNRS FR-3038, UFR Sci.
Tec., Normandie Univ, Le Havre, France

Djebli N.

Pharmacognosy, Api-Phytotherapy Lab.
Mostaganem University, Algeria

El Hatab M.

Natural products Laboratory, Science faculty, Blida
university, Algeria

Esnault M. A.

INRA, UMR 0118 RENN Vegetal Biotechnology
Lab., Rennes, France

Hadj Mahamed M.

BGCMD laboratory, Science Faculty,
Univ. Ouargla, Algérie

Gharabli S.

Chem. Lab., School of App. Med.Sciences,
German Jordanian University, Jordan

Jesus Aizpurua M.

Dept. Organic Chemistry-I, Univ. Basque Country
UPV/EHU, San Sebastian, Spain

Kacimi S.

Materials laboratory, Chemistry dept. Ain
Temouchent University, Algeria

Kessat A.

Analytical Laboratory, Central pharmacy
Rabat, Morocco

Leghseir B.

Phytochemistry laboratory, Faculty of science,
Annaba University, Algeria

Melhaoui A.

LCOMPN-URAC25, Fac. Scie., Mohamed I
University, Oujda, Morocco

Ouahrani M. R.

Faculty of Sciences & Technology, El-Oued
University, Oued Souf, Algeria

Reddy K.H.

Dept. Adv. Res. Center, Narayana Med.College,
Nellore, Andhra Pradesh, India

Salgueiro L.D

Lab. Farmacognosia, Fac. Farmacia, Univ. de
Coimbra, Coimbra, Portugal

Tabcheh M.

Applied Chem. Lab., Faculty of Science Lebanese
University, Tripoli, Lebanon

Villemin D.

LCMT lab., UMR CNRS 6507, ENSICAEN,
Caen, France.

Zyoud A.H.

Dept Chemistry, An-Najah N. University, Nablus,
West Bank, Palestine

Effet des Extraits d'*Acacia raddiana* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, l'agent causal du Bayoud

Noureddine BOULENOUAR^{*1,2}, Abderazzak MAROUF³ & Abdelkrim CHERITI¹

¹Laboratoire de Phytochimie et Synthèse Organique, UTMB, 08000, Algérie.

²Dépt. des Sciences de la Nature et de la Vie, Centre Universitaire Nour Bachir, El-Bayadh 32000, Algérie.

³ Dépt. des Sciences de la Nature et de la Vie, Centre Universitaire Salhi Ahmed, Naama 45000, Algérie.

Received: May 14, 2016; Accepted: October 10, 2016

Corresponding author Email: noureddine.boulenouar@gmail.com

Copyright © 2016-POSL

DOI:10.163.pcbjsj/2016.10.2.64

Effect of *Acacia raddiana* extracts on *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, the causal agent of Bayoud

Abstract. In the present study, a medicinal plant from algerian Sahara (South-West of Algeria), *Acacia raddiana* has been used (leaves, bark) to evaluate its extracts (reflux extraction with four solvents: methanol, ethyl acetate, dichloromethane, hexane) on *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Foa). The Foa is the causal agent of the most dangerous disease of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). The preliminary evaluation has been realized by agar diffusion technique and virulence test on potato tuber tissues. The extracts that present an inhibition or decrease the relative virulence (RV) below 50% undergo phytochemical screening and direct bioautography. The bioautography has been used to localize the antifungal activity on the chromatogram and study the correlation with phytochemical screening data.

Among eight extracts, five has been chosen for phytochemical screening and bioautography (2 leaves extracts and 3 bark extracts). Only six tests among 32 (22.58%) present a detectable effect. The best effect is related to bark extract with ethyl acetate (inhibition diameter: 18mm), which is a moderate effect. Some extracts show an increase in RV. On the other hand, others decrease the RV. The best effect on RV is presented by hexanic extract of bark (RV=48%).

The phytochemical screening highlighted the presence of flavonoids, tannins, coumarins and alkaloids in the studied plant. The direct bioautography has demonstrated no detectable effect. According to realized analyses, we can conclude that this species contains bioactive substances on Foa but need more precise analyses. The reason is simple, in addition to synergy principle in the crude extracts; the quantity of these metabolites is low compared to the detection level.

Key Words: Date palm, Bayoud, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, *Acacia raddiana*, polyphenols, antifungal.

Résumé. Dans la présente étude, une plante médicinale du Sahara algérien (Sud-Ouest d'Algérie); l'*Acacia raddiana* a été utilisée (Feuilles, écorces) pour évaluer leurs extraits (extraction à reflux par quatre solvants: méthanol, acétate d'éthyle, dichlorométhane, hexane) sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Foa). Le Foa est l'agent causal de la maladie la plus grave du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). L'évaluation préliminaire a été réalisée par la technique de diffusion par disque et la virulence sur le tissu des tubercules de pomme de terre. Les extraits présentant une inhibition et/ou diminution de la virulence relative au dessous de 50 % ont subis un criblage phytochimique et une bioautographie directe. La bioautographie a été utilisée pour localiser l'activité antifongique sur le chromatogramme et étudier sa corrélation avec les données du criblage phytochimique.

Parmi huit extraits, cinq ont été choisis pour criblage phytochimique et bioautographie (2 extraits de feuilles et 3 extraits d'écorces). Seulement six tests parmi 32 (22.58 %) ont présenté un effet détectable. Le meilleur effet est lié à

L'extrait par acétate d'éthyle des écorces avec diamètre de zone d'inhibition (\varnothing : 18 mm), c'est un effet modéré. Certains extraits ont montré une augmentation de la virulence relative (VR). Par contre, d'autres ont diminué la VR. Le meilleur effet sur la VR a été présenté par l'extrait hexanique des écorces (VR=48%).

Le criblage phytochimique a mis en évidence la présence de flavonoïdes, tannins, coumarines, et alcaloïdes chez l'espèce étudiée. La bioautographie directe n'a pas montré un effet détectable. D'après les analyses réalisées, on peut conclure que cette espèce contient des substances bioactives sur *Foa* mais nécessite des analyses plus précises. La raison est simple, en plus du principe de synergie dans l'extrait brut, la quantité de ces métabolites bioactives est faible par rapport au seuil de détection.

Mots clés: Palmier dattier, Bayoud, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, *Acacia raddiana*, polyphénols, antifongique.

Introduction

À travers l'histoire, l'humanité a été toujours intéressée par les composés naturels des sources prébiotiques, microbiennes, végétales et animales. Beaucoup de produits naturels, tels que les hormones végétaux, ont un rôle de régulation, alors que d'autres fonctionnent comme défense chimique contre les ravageurs (**Ikan et al., 2008**).

Fusarium oxysporum f. sp. *albedinis* (Killian et Maire) Gordon est un champignon tellurique responsable de la fusariose des palmiers dattiers connu sous le nom de « Bayoud ». Cette maladie continue à détruire les palmeraies en Algérie et au Maroc sans aucun traitement efficace (**Chakroune et al., 2005; OEPP, 2005**).

L'objectif est d'analyser l'effet des extraits d'*Acacia raddiana* sur le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Les extraits les plus efficaces vont subir une bioautographie directe et criblage phytochimique pour évaluer la relation entre l'effet antifongique et classe du composé responsable.

Matériel et Méthodes

1. Description botanique de l'espèce étudiée

Le genre *Acacia* compte environ 600 espèces réparties pour la plupart dans les régions tropicales et subtropicales (**Benzyane et al., 1999**). *Acacia raddiana* est un arbre de 2 à 10 m de hauteur, à rameaux âgés d'un blanc d'ivoire, à longues épines droites. Fleurs blanchâtres ; gousses contournées en spirale (**Ozenda, 2004**) (Figure 1).

2. Utilisation populaire

L'*Acacia raddiana* est utilisée en cas de: allergie, avitaminose, convulsion, dermatose, diarrhée, œdème, entérite, fièvre, troubles gastriques, impotence, infections, ictère, problèmes ophtalmiques, problèmes pulmonaires, traitement des plaies (**Duke, 2007**).

3. Classification

Famille: FABACEAE

Genre: *Acacia*

Espèce: *Acacia raddiana*

Nom vernaculaire: Talh

4. Procédures expérimentales

4.1. Matériel végétal

Les feuilles et écorces d'*Acacia raddiana* ont été récoltées de leur habitat naturel dans la région de Bechar (Sud-Ouest d'Algérie). L'espèce a été identifiée au niveau de l'agence nationale

pour la protection de la nature (Bechar, Algérie) et un spécimen est conservé au niveau de l'herbier du Laboratoire de Phytochimie et de Synthèse Organique (LPSO), Université Tahri Mohamed (Bechar, Algérie) sous le code CA00/37. Les parties fraîches récoltées ont été séchées à l'air et à l'ombre (chaque partie seule).



Figure 1: *Acacia raddiana* dans son milieu naturel (LPSO Data Base).

4.2. Souche fongique

La souche fongique utilisée dans cette étude est de l'espèce *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Foa), l'agent causal de la maladie du Bayoud qui affecte les palmiers dattiers (*Phoenix dactylifera* L). La souche utilisée dans cette étude a été obtenue à partir de l'Institut Technique d'Agronomie Saharienne (ITAS), Adrar, Algérie.

4.3. Préparation des extraits

Le méthanol, l'acétate d'éthyle, le dichlorométhane et l'hexane ont été utilisés en tant que solvants organiques avec leurs polarités différentes pour extraire les substances actives des tissus végétaux en utilisant l'extraction sous reflux. Dans chaque séquence d'extraction, 10 g de chaque partie de plante séchée en poudre ont été mélangées avec 80 mL de solvant dans un ballon de 250 mL surmonté d'un réfrigérant pour refroidissement. La température d'extraction est contrôlée à la température d'ébullition du solvant pendant 2 heures. Les poids secs (après filtration et évaporation) ont été déterminés et les extraits ont été maintenus dans des tubes à 5 °C.

4.4. Test antifongique

Des disques en papier Whatman (6 mm de Ø et 1 mm d'épaisseur) ont été imbibés par les extraits dissous dans un volume approprié de solvant pour avoir un poids bien déterminé dans chaque disque (200, 400, 800 ou 1600 µg) et maintenu à 40 °C à sec. Les disques ont été stérilisés à l'autoclave à 121 °C pendant 15 min, et gardés à 70 °C pendant une nuit pour assurer le séchage.

Une suspension de spores du champignon a été préparée en transférant la culture de 7 jours du Foa sur le milieu PDA (Potatoes Dextrose Agar) vers le milieu SNA (Synthetic Nutrient poor Agar) pour induire la formation de spores. Les boîtes contenant la culture de Foa sur la SNA (10 jours) étaient utilisées pour la récupération des spores. La surface de chaque boîte était submergée avec 10 mL d'eau stérilisée pour déloger les spores fongiques puis l'eau récupérée était filtrée pour éliminer les fragments de mycélium. La concentration des spores de Foa était ajustée à 10^6 spores/mL par dilution et comptage.

Le test antifongique a été réalisé par la technique de diffusion en agar. Des boîtes de Pétri stériles (90 mm Ø) contenant le milieu PDA ont été inoculées avec 100 µL de la suspension de spores de *Foa* (10^6 spores/mL). Les disques stériles (6 mm Ø) contenant les extraits (200, 400, 800, 1600µg) ont été déposés sur le PDA inoculé (incubation à 21°C pendant 5 jours). Les résultats ont été obtenus en tant que diamètre de zone d'inhibition (millimètre) à partir de trois disques pour chaque expérience.

4.5. Effet des extraits sur la virulence de *Foa*

L'analyse de virulence a été réalisée comme décrite par **Herrmann *et al.* (1996)** avec légères modifications (**Boulenouar *et al.*, 2009 ; Boulenouar *et al.*, 2012**).

4.6. Criblage phytochimique et bioautographie

En se basant sur les résultats obtenus du test antifongique et du test de virulence, les extraits qui ont montré un effet d'inhibition ou ont diminué la VR en dessous de 50 % étaient choisis pour le criblage phytochimique et bioautographie. Dans ces conditions, cinq extraits ont été choisis (Tableau 1).

Tableau 1: Les extraits soumis au criblage phytochimique et bioautographie.

Espèce	Parties	Solvant d'extraction
<i>Acacia raddiana</i>	Feuilles	Méthanol
		Hexane
	Les écorces	Méthanol
		Acétate d'éthyle
		Hexane

4.6.1. Criblage phytochimique:

La révélation des Flavonoïdes, Tanins, Coumarines et Alcaloïdes a été réalisée par pulvérisation de réactifs sur les plaques CCM développées (**Boulenouar *et al.*, 2011**). Concernant les saponosides, le test est réalisé par calcul d'indice de mousse (**Dohou *et al.*, 2003**).

4.6.2. Bioautographie

La bioautographie directe a été réalisée comme décrite par **Horvath *et al.* (2004a; b)**.

Résultats

1. Test Antifongique

Concernant l'effet antifongique sur *Foa*, 32 tests ont été réalisés (16 tests pour chaque partie). Quatre sur huit extraits ont montré un effet détectable au moins dans un test ; comme pour l'extrait hexanique des feuilles et l'extrait méthanolique d'écorce à 800 µg confirmant la présence des substances anti-*Foa* chez cette espèce (Tableau 2).

L'analyse des fréquences a démontré que 81,25 % des expériences réalisées ont représenté des effets non détectés. En plus, 15,62 % des résultats ont montré un effet faible sur le *Foa* avec des diamètres des zones d'inhibition (Ø: 8-14 mm). Seulement 3,12 % des résultats ont montré des effets antifongiques modérés sur *Foa* avec des diamètres des zones d'inhibition (Ø: 15-20 mm). Sur 32 expériences réalisées, aucune n'a présenté un effet fort sur *Foa* (diamètre de zone d'inhibition > 20 mm).

Tableau 2: Activité antifongique des extraits d'*Acacia raddiana* sur *Foa* comme diamètre de zone d'inhibition (mm).

Espèce	Partie	Solvant	Poids d'extrait dans le disque (µg)			
			200	400	800	1600
<i>Acacia Raddiana</i>	Feuilles	Méthanol	ND	ND	10	12
		Acétate d'éthyle	ND	ND	ND	ND
		Dichlorométhane	ND	ND	ND	ND
		Hexane	ND	ND	ND	10
	Ecorse	Méthanol	ND	ND	ND	11
		Acétate d'éthyle	ND	ND	13	18
		Dichlorométhane	ND	ND	ND	ND
		Hexane	ND	ND	ND	ND

ND : Non détecté

2. Test de virulence

Après 6 jours d'incubation à l'obscurité, les lésions nécrotiques étaient visibles comparés aux expériences sans culture de *Foa* et/ou extrait. La présence des nécroses dépend des extraits et/ou de l'effet de *Foa*. Les résultats sont présentés en tant que virulence relative (VR) comparée à la virulence de *Foa* sans extrait. (Tableau 3).

L'analyse des fréquences a démontré que 17 tests (53,12%) ont montré une diminution du VR de *Foa* sur le tissu de tubercule de pomme de terre (< 100%). Quinze sur 32 tests (46,88%) ont montré une VR supérieure à celle du *Foa* (> 100 %). La valeur maximale de la VR est présentée par l'extrait hexanique (200 µg) des feuilles (VR = 329 %). La valeur minimale de la VR est présentée par l'extrait hexanique des écorces (800 µg), (VR = 30 %).

Tableau 3: Effet des extraits d'*Acacia raddiana* sur la virulence relative du *Foa*.

Espèce	Partie Utilisée	Solvant	Poids d'extrait par disque (µg)							
			200		400		800		1600	
			PTN (mg)	VR (%)	PTN (mg)	VR (%)	PTN (mg)	VR (%)	PTN (mg)	VR (%)
<i>Acacia raddiana</i>	Feuilles	Méthanol	100.2	151	78.9	119	95.8	144	62.6	94
		AE	73.2	110	49.8	75	38.5	58	44.6	67
		DCM	70.0	106	95.2	144	75.1	113	59.6	90
		Hexane	217.8	329	89.2	135	79.2	119	49.5	75
	Ecorse	Méthanol	94.5	143	51.5	78	60.8	92	86.6	131
		AE	63.6	96	103.4	156	42.0	63	44.9	68
		DCM	131.8	199	82.4	124	52.2	79	34.5	52
		Hexane	55.5	84	42.5	64	32.0	48	33.1	50

AE: Acétate d'éthyle, **DCM:** Dichlorométhane, **PTN:** Poids du tissu nécrosé (mg), **VR:** Virulence relative (%), la virulence relative était comparée à la virulence du *Foa* sans extrait de plante (représenté par 100%, correspond à 66.3±1.7 mg de tissu de pomme de terre nécrosé).

3. Criblage phytochimique

Les tests de flavonoïdes sont positifs pour deux extraits: extrait méthanolique des feuilles et extrait par acétate d'éthyle d'écorces (les Rf dans l'intervalle [0,00-0,76]). Les extraits d'écorces avec l'acétate d'éthyle ont montré une richesse en tannins (Rf: [0,00-0,69]). Les extraits méthanoliques des feuilles et d'écorces ont montré une présence de tannins. La présence de tannins

dans les extraits hexaniques et par dichlorométhane n'est pas détectée. Concernant les coumarines, les tests positifs sont détectés pour les extraits par acétate d'éthyle des écorces (Rf : [0,17-0,38]), et les extraits méthanolique et hexanique des feuilles (Rf : [0,00-0,98]). Les alcaloïdes sont présents presque dans tous les extraits avec différents Rf. L'évaluation de saponosides réalisée par l'indice de mousse (IM) a montré une présence faible au niveau des écorces ($50 < IM < 100$), et une présence non détectée au niveau des feuilles ($IM < 50$).

4. Bioautographie directe

Le test de bioautographie directe n'a pas montré un effet anti-Foa détectable.

Discussion

Dans cette étude, nous avons évalué l'effet des extraits d'*Acacia raddiana* sur l'agent causal du Bayoud «*Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*» (Foa), un microbe pathogène tellurique du palmier dattier «*Phoenix dactylifera* L. ».

Nous avons étudié l'effet direct des extraits de plantes sur le champignon par la technique de diffusion en agar; l'effet de ces extraits sur la virulence du Foa (sur le tissu de tubercule de pomme de terre). Les extraits montrant une inhibition du Foa ou diminuant la VR au-dessous de 50 % ont subi des analyses par bioautographie directe et criblage phytochimique pour les flavonoïdes, tanins, coumarines, alcaloïdes et saponosides.

Tenant compte des extraits ayant montré un effet sur Foa et des meilleures valeurs de zones d'inhibition, les extraits obtenus par l'acétate d'éthyle ont présenté les effets les plus importants. Il est bien connu que l'acétate d'éthyle permet une bonne extraction des composés phénoliques; ainsi l'effet observé peut être lié à la présence de ces composés dans les extraits testés.

Le faible pourcentage des extraits montrant un effet positif signifie que Foa est résistant à la plupart des extraits et/ou quantités utilisées.

Comme présenté par **Amraoui et al. (2005)**, l'effet nécrotique du Foa sur le tissu de tubercule de pomme de terre est dû principalement de la production d'enniatine, mycotoxine non spécifique à l'hôte et l'une des responsables de la phytotoxicité du Foa (**Herrmann et al., 1996**). L'effet des extraits sur la VR du Foa est probablement dû à l'altération de la synthèse et/ou l'action de l'enniatine sur les cellules. Le meilleur effet dépressif sur la VR peut être lié à la diminution de production d'enniatine ou son mode d'action. L'augmentation de la VR au-dessus de 100 % reflète la cytotoxicité.

Comme l'ont démontré **Bosch et Mirocha (1992)** et **Bacon et al. (1996)**, la virulence de l'espèce de *Fusarium* est due à la production de l'acide fusarique, et à d'autres mycotoxines. Le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* produit plusieurs toxines dont l'acide 3-phenyl lactique, acide fusarique, acide succinique et leurs dérivés, marasmins et toxines peptidiques (**El Hadrami et al., 2005**). Ces mycotoxines jouent un rôle majeur dans la pathogénicité et la virulence de Foa, en tant que déterminants primaires quand ils agissent dans le déclenchement de l'infection et le développement des symptômes. Ils sont des causes déterminantes secondaires quand ils modifient seulement l'intensité du symptôme. L'effet possible des extraits de plantes utilisés dans cette étude est d'agir sur un ou plusieurs de ces mycotoxines en modifiant leur métabolisme ou leurs effets.

Les flavonoïdes et tanins ont été détectés principalement dans les extraits d'acétate d'éthyle et de méthanol. Cela concorde avec le fait que ces deux solvants sont souvent utilisés pour leur bonne capacité d'extraction des polyphénols (**Baydar et al., 2003; Goli et al., 2005; Nayab et al., 2006**).

Selon **Magdalena et Anna (2008)**, l'acétate d'éthyle et méthanol sont parmi les solvants utilisés pour extraire les acides phénoliques. Selon leurs structures, certains flavonoïdes sont solubles dans les solvants polaires (eau, méthanol,...), d'autres sont solubles dans des solvants de faible polarité (acétate d'éthyle, chloroforme, ...) (**Marica et al., 2008**).

Pengelly (2004) a signalé que les tanins sont largement présents dans l'écorce des arbres, feuilles, tiges et fruits. Dans notre cas, les écorces ont montré une richesse en tanins. Ce résultat est en accord avec celui de (**Malan et Roux, 1975**) travaillant sur plusieurs espèces du genre *Acacia*.

Contrairement aux flavonoïdes et aux tanins, les coumarines ont montré une présence plus large. Ce résultat est expliqué par le fait que les coumarines ont des structures chimiques différentes et donc diverses propriétés allant de l'hydrophilie à l'hydrophobie, d'où leur extraction par des solvants de polarités différentes (**Monika et Miroslaw, 2008**).

Les alcaloïdes sont les plus diversifiés par rapport aux autres classes de métabolites secondaires (**Magdalena et Anna, 2008**). Cela reflète la diversité des couleurs et des spots présentés par les extraits révélés pour les alcaloïdes. L'existence de certains spots de différents extraits ayant les mêmes R_f et les mêmes couleurs, pourrait être expliquée par leur identité structurale.

Certains extraits ont montré un effet antifongique par la méthode des disques mais n'ont pas présenté un effet par bioautographie. Ce résultat pourrait être lié à l'effet de synergie entre les composés présents dans l'extrait brut. **Cowan (1999)** a montré que parfois l'effet est lié au mélange de composés (synergie).

Conclusion

D'après les résultats obtenus, on peut conclure que l'efficacité de certains extraits dans le test antifongique (diffusion en agar) mais pas dans la bioautographie directe est liée au seuil de détection qui diffère, et au principe de synergie et antagonisme.

En fin, la richesse de cette espèce en métabolites secondaires bioactifs nous pousse à poursuivre les travaux pour la valoriser et permettre d'avoir un traitement efficace contre le Bayoud.

Références

Amraoui H., Lazrek H., Sedra M., Sampieri F., Mansuelle P., Rochat H. et Hamdaoui A. 2005. Chromatographic Characterization and Phytotoxic Activity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* and Saprophytic Strain Toxins. *Journal of Phytopathology*, 153 (4): 203-208.

Bacon C. W., Porter J. K., Norred W. P. et Leslie J. F. 1996. Production of Fusaric Acid by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 62: 4039-4043.

Baydar N. G., Özkan G. et Sagdiç O. 2003. Total Phenolic Contents and Antibacterial Activities of Grape (*Vitis vinifera* L.) Extracts. *Food Control*, 14(5): 335-339.

Benzyane M., Blerot Ph. et Giot P. 1999. *Le Grand Livre de la Forêt Marocaine*. Edition Mardaga. p. 280.

Bosch U. et Mirocha C. J. 1992. Toxin Production by *Fusarium* species from Sugar Beets and Natural Occurrence of Zearalenone in Beets and Beet Fibers. *Applied and Environmental Microbiology*, 58: 3233-3239.

- Boulenouar N., Marouf A., Cheriti A. et Belboukhari N. 2012. Medicinal Plants Extracts as Source of Antifungal Agents against *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Journal of Agricultural Science and Technology, 14: 659-669.
- Boulenouar N., Marouf A. et Cheriti A. 2011. Antifungal Fungal Activity and Phytochemical Screening of Extracts from “*Phoenix dactylifera* L.” Cultivars. Natural Product Research, 25 (20): 1999-2002.
- Boulenouar N., Marouf A. et Cheriti A. 2009. Effect of Some Poisonous Plants on *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Journal of Biological Sciences, 9 (6): 594-600.
- Chakroune K., Bouakka M. et Hakkou A. 2005. Incidence de l'aération sur le traitement par compostage des sous produits du palmier dattier contaminés par *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Canadian Journal of Microbiology, 51: 69-77.
- Cowan M. M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews, 12 (4): 564-582.
- Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L. M., Badoc A. et Gmira N. 2003. Screening Phytochimique d'une Endémique Ibéro-Marocaine, *Thymelaea lythroides*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 142: 61-78.
- Goli A. H., Barzegar M. et Sahari M. A. 2005. Antioxidant Activity and Total Phenolic Compounds of Pistachio (*Pistachia vera*) Hull Extracts. Food Chemistry, 92 (3): 521-525.
- Herrmann M., Zocher R. et Haese A. 1996. Enniatin Production by *Fusarium* strains and its Effect on Potato Tuber Tissue. Applied and Environmental Microbiology, 62 (2): 393-398.
- Horvath G. Y., Botz L., Kocsis B., Lemberkovics E. et Szabo GY. 2004a. Antimicrobial Natural Products and Antibiotics Detected by Direct Bioautography Using Plant Pathogen Bacteria. Acta Botanica Hungarica, 46(1-2): 153-165.
- Horvath G. Y., Szabo GY., Lemberkovics E., Botz L. et Kocsis B. 2004b. Characterization and TLC-Bioautographic Detection of Essential Oils from Some *Thymus* Taxa. Determination of the Activity of the Oils and their Components Against Plant Pathogenic Bacteria. Journal of Planar Chromatography, 17: 300-304.
- Ikan R. 2008. The Origin and the Nature of Natural Products. In: Selected Topics in the Chemistry of Natural Products. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. p. 1-9.
- Magdalena W. K. et Anna O. 2008. Sample Preparation and TLC Analysis of Phenolic Acids. In: TLC in Phytochemistry, CRC Press Taylor & Francis Group, 331-364.
- Malan E. et Roux D. G. 1975. Flavonoids and Tannins of *Acacia* species. Phytochemistry, 14(8): 1835-1841.
- Marica M. Š., Ivona J., Ana M. et Željanić M. 2008. Application of TLC in the Isolation and Analysis of Flavonoids. In: TLC in Phytochemistry, CRC Press Taylor & Francis Group, 405-424.
- Monika W. H. et Mirosław A. H. 2008. Application of TLC in the Isolation and Analysis of Coumarins. In: TLC in Phytochemistry, CRC Press Taylor & Francis Group, 365-404.
- Nayab D., Ali D., Arshad N., Malik A., Choudhary M.I. et Ahmed Z. 2006. Cucurbitacin Glucosides from *Citrullus colocynthis*. Natural Product Research, 20(5):409-413.

Pengelly A. 2004. The Constituents of Medicinal Plants: An introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicines, 2nd Edition, Sun Flower Herbals, p.109

OEPP/EPPO. 2005. Fiche informative sur les organismes de quarantaine N° 70, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. p. 06.

Ozenda P. 2004. Flores et Végétation du Sahara. 3ème édition. Edition CNRS. Paris. p. 662.

PhytoChem & BioSub Journal

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

ISSN 2170 - 1768



*PCBS
Journal*


ISSN 2170-1768



Edition LPSO - **Phytochemistry & Organic Synthesis Laboratory-**

<http://www.pcbsj.webs.com>

<https://sites.google.com/site/phytochembsj/>

Email: phytochem07@yahoo.fr