

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Ecologie Végétale

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم فيزيولوجيا النبات

Mémoire présenté dans le de l'arrêté ministériel 1275
En vue de l'obtention du diplôme de Master
Et diplôme startup –diplôme brevet

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie Végétale

Spécialité : Biologie et physiologie de reproduction végétale

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Les saponines végétales en tant qu'insecticide et antifongique naturels (fabrication d'un bio insecticide)

Présenté par : REDJAMA Wafa

Le 13/06/2024

BENHAMADI Fatima

Jury d'évaluation :

Encadreur : BOUCHAREB Radia (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Président : ZEGHAD Nadia (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur : HARRAT Wahiba (chercheur laboratoire INRAA Constantine).

Incubateur : BENKAHOUL Malika (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Cati : BETINA Sara Iman (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Sécateur Socioéconomique : ABDENNOUR Chafia (CATALIS LAB)

Année universitaire
2023 - 2024

Remerciements :

*Tous nos remerciements vont d'abords à **Dieu**, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail. Ce travail de thèse atteint son terme grâce à l'assistance et à la collaboration de nombreuses personnes.*

*Nous tenons tout d'abord à remercier notre encadreur de mémoire, **Mme BOUCHAREB Radia** pour avoir accepté d'encadrer ce travail, ainsi que pour sa gentillesse, ses conseils constructifs, son attention, son aide, ses encouragements et sa disponibilité tout au long de travail. Que Dieu vous récompense et te donne santé, merci et mille mercis.*

*Nous tenons également à remercier **Mme HARRAT Wahiba** qui a bien voulu nous*

*Honorer de sa présence dans ce jury et d'examiner notre travail. Et nous la Remercions vraiment pour ses efforts et son soutien pendant la période de stage et pour nous avoir accueillis à l'institut national de la recherche agronomique d'Algérie (**INRA**) de Constantine.*

*En guise de reconnaissance, Je remercie **Mlle SEMMAR Rania Narimane** et **Mlle KIFADJI Amani** pour leur aide et leurs conseils.*

*À **Dr. ZEGHAD Nadia**, qui accepté de présider ce mémoire.*

À toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Mon tenon à remercier :

-mon cher papa : A celui qui a été toujours mon support dans cette vie qui me donne le courage éclatant pour continuer à chaque fois que j'ai l'impression de reculer.

-beaucoup ma chère et tendre maman : source d'affection de courage et d'inspiration qui a sacrifié pour me voir atteindre ce jour.

*-Rien ne saurait égaler ce grand bonheur ; le bonheur de prononcer ce simple mot : **mon fils Yazen***

-ma grande mère Mbarka : qui m'a encouragé

*-mes chères sœurs : **Hanane** (grâce à toi j'ai pu progresser), **Nesrine** (ma raison de la joie)*

*-la source de tendresse ;oui mes chers frères: **Fares, Mohamed et Ahcene.***

*-A l'homme de ma vie : **mon mari Brahim.***

*-merci à ceux restés dans ma vie grâce à eux je vis une amitié sincère : **Faiza.***

*-mes remerciements vont également à qui a contribué de près à réalisation de ce travail **Fatima Benhamadi.***

Wafa Redjama

DEDICACE

*Louange à **Allah** tout puissant, de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce*

Modeste travail et je le dédie

*À Mes très chers parents **Fairouz** et **Ali** : que j'aime le plus au monde pour leur amour, encouragement illimité, et pour leur sacrifice énorme. Aucun mot ne serait suffisant pour les remercier, qu'**ALLAH** leur accorde longue vie, bonne santé et les protège.*

*À mes adorables oncles **Tarek** et **Brahim** : qui m'ont soutenu financièrement et moralement.*

*À mon cher frère mon bras droit : **Mohamed Al Salah***

*À mes chères sœurs : **Riham** ; **Souheila** et **Ranim***

A mes tantes à l'étranger

*À mes **grands-parents** et toute **ma famille***

FATIMA

LISTE DES ABREVIATION

FAO: Food and Agriculture Organisation of the United Nations.

APG III : classification phylogénétique, est la troisième version de classification botanique des angiospermes.

PDA: potato dextrose agar.

Fus: fusarium.

NaOH : l'hydroxyde de sodium.

Hcl : Acide chlorhydrique.

Nacl : chlorure de sodium.

Na₂HPO₄-2H₂O : phosphate acide de sodium dihydraté.

Kcl : chlorure de potassium.

KH₂PO₄ : phosphate dihydrogène de potassium.

PBS : solution saline tamponnée au phosphate.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

ST : l'extrait de saponine.

S : saponine poudre.

HT : hémolyse totale.

LISTE DES FIGURES

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Répartition mondiale de la production de quinoa..... | 5 |
| Figure 2 : Culture et phénologie de quinoa | 7 |
| Figure 3 : Classifications des saponines..... | 11 |
| Figure 4 : Poudre de saponine | 18 |
| Figure 5 : Taux d'inhibition (%) de la croissance de (ST et S) à la concentration 100 µg/ml a fonction des espèces de fusarium sp par rapport au témoin. | 23 |
| Figure 6 : Activité antifongique contre Fusarium sp. du blé. (A) Fus 1 ; (B) Fus 2 ; (C) Fus 3. (1) Témoin (PDA); (2) Extrait; (3) Poudre. | 23 |
| Figure 7 : Taux d'hémolyse (%) des différentes concentrations de Saponine poudre et extrait par rapport à l'hémolyse totale. | 26 |
| Figure 8 : Mortalité observée en fonction de la saponine poudre(S) et extrait (ST) par rapport au témoin(T) pendant 7 jours. | 27 |

LISTE DES TABLEAUX :

| | |
|---|----|
| Tableau I : Classification scientifique de quinoa..... | 6 |
| Tableau II : Classification de fusarium..... | 15 |

Table des matières

Remerciements

Dédicace

LISTE DES ABREVIATION

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

Table des matières

Introduction.....1

Partie 01 : Synthèse Bibliographique

1) L'origine du quinoa :..... 4

2) Domestication..... 5

3) Classification scientifique de quinoa 6

4) Phénologie de quinoa..... 6

5) Valeur nutritionnelle et antinutritionnelle du quinoa : 9

5-1 Valeur nutritionnelle : 9

5-2 Valeur antinutritionnelle : 10

5-2-1 Les saponines : 10

6) Les activités biologiques 13

6-1. Activité antifongique..... 13

6-1-1- les champignon pathogènes : 14

6-2 Activité hémolytique 15

6-3 Activité insecticide..... 16

Partie 02 : Matériel et Méthodes

1-Matériel 18

1-1 Matériel végétale : 18

1-2 Matériel biologique : 18

2-Méthodes : 18

2-1 Extraction des saponines : 18

2-1-1 Extraction alcalin : 18

| | |
|--|----|
| 2-2 les activités biologiques : | 19 |
| 2-2-1 L'effet antifongique : | 19 |
| 2-2-2 l'effet hémolytique : | 20 |
| 2-2-3 L'effet insecticide : | 21 |

Partie 03 : Résultat et discussion

| | |
|---------------------------------------|-----------------------------|
| 1-L'effet antifongique : | 23 |
| 2-l'effet hémolytique: | 25 |
| 3-L'effet insecticide : | 27 |
| Conclusion Générale : | 30 |
| Bibliographie | Erreur ! Signet non défini. |
| RESUME: | Erreur ! Signet non défini. |
| LES ANNEXES | |

INTRODUCTION

Introduction

Introduction

La culture du quinoa indigène (*C. quinoa*) est une des plus anciennes, originaire de la région des Andes en Amérique du Sud, principalement au Pérou, en Équateur, au Chili, en Bolivie et en Colombie (**García M. A et al., 2018**), où cette dernière a une superficie plantée de 2 600 hectares et une production de 4 781 tonnes par an (**Ministry of Agriculture and Rural Développement, MADR. 2018. July 2021**). L'essor de ce cultivar est dû à ses propriétés nutritionnelles, à son adaptabilité à différentes conditions environnementales et à sa variabilité génétique, qualités qui en font une culture prometteuse pour la sécurité et la souveraineté alimentaires (**FAO, 2011**).

Cependant, le quinoa contient dans le péricarpe (86 %) des composés antinutritionnels, appelés saponines (**Rafik S et al., 2021**), qui donnent au grain un goût amer. Ces composés peuvent être très toxiques, ils sont ingérés en grandes quantités, c'est pourquoi ils doivent être éliminés avant d'être consommés (**Ahumada A et al., 2016**). Les saponines sont des métabolites secondaires qui jouent un rôle important dans la défense des plantes contre les attaques des herbivores, des ravageurs et des maladies (**Ruiz K et al., 2017**) et se trouvent dans différents organes végétaux, tels que les feuilles, les tiges, les fleurs et les racines. Environ 31 saponines triterpéniques ont été rapportées pour le quinoa, avec une teneur comprise entre 0,1 et 5 %, réparties dans toutes les parties de la plante, mais avec une concentration élevée principalement dans les graines (**Ahumada A et al., 2016**). (**Kilinc O et al., 2016**).

Les saponines présentes dans les graines de quinoa peuvent être utilisées dans l'industrie cosmétique et pharmaceutique car elles ont des propriétés biologiques anti-inflammatoires, anticancéreuses, antioxydantes, antifongiques, antibactériennes et hémolytiques (**Lin M et al., 2019**). En outre, elles sont utilisées dans divers produits agro-industriels, tels que les détergents, les savons, les shampooings, les biopesticides (**Han Y et al., 2019**), (**Velásquez M et al., 2020**).

Actuellement, les agriculteurs extraient ces métabolites des graines de quinoa en raison de leur goût amer, en utilisant de grands volumes d'eau, en générant une grande quantité de déchets solides et en contaminant les sources d'eau naturelles. Il existe différentes méthodologies pour l'extraction des saponines, l'extraction physique ou scarification étant la plus utilisée, qui produit un sous-produit riche en saponines et autres nutriments par friction mécanique (**Rafik S et al., 2021**).

Introduction

D'autre part, en raison de la nature amphiphile des saponines, d'autres techniques sont utilisées, telles que le Soxhlet et la macération, qui sont basées sur la solubilité du soluté (saponines), en les extrayant avec un solvant (par exemple, un mélange d'alcool et d'eau), où des facteurs tels que l'agitation et l'augmentation de la température améliorent considérablement le processus d'extraction (**Cheok et al., 2014**).

Notre étude a pour objectifs d'étude activités biologique des saponines de l'espèce Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*). Activité antifongique, Activité hémolytique et activité insecticide.

Cette étude a été divisée en trois parties :

- La première partie, est consacrée à une synthèse bibliographique concernant le thème de travail.
- La deuxième partie est la partie expérimentale, elle est formée de Matériel et méthodes.
- La troisième parties Résultats et discussion.

Partie 01 : Synthèse

Bibliographique

Partie 01 : synthèse bibliographique

1) L'origine du quinoa :

Le quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) et l'amarante (*Amaranthus cruetus* L.) sont originaires de la région andine d'Amérique du Sud appartiennent tous deux à la famille des chénopodiacées, le quinoa et l'amarante sont des plantes à large feuilles (non graminées) et leurs graines ont été incorporées dans les aliments habituels à base de céréales. Les graines de quinoa et d'amarante en tant que pseudo-céréales, ne contiennent pas de gluten. Sont exemptes de gluten et ont fait l'objet d'une grande attention ces dernières années en raison de leur valeur nutritionnelle exceptionnelle et de leurs bienfaits potentiels pour la santé et leurs effets bénéfiques potentiels sur la santé. C'est pourquoi la nation unies FAO a également déclaré l'année 2013 "Année internationale du quinoa", promouvoir la plantation, le développement et la recherche sur le quinoa, l'amarante et leurs produits dérivés. La grande variabilité génétique du quinoa et l'amarante est un avantage se s'adapter à la plupart des régions arables du monde. Des climats tropicaux aux climats tempérés, dans différentes conditions environnementales (**Sustain Dev, 2013**)

D'après les témoignages historiques, Le quinoa aurait été domestiqué il y a plus de 7000 ans par les peuples andins. Le quinoa a été cultivé par les agriculteurs dans l'Amérique latine et les plus anciens vestiges de quinoa ont été retrouvés à Ayacucho au Pérou et dataient de plus de 5000 avant J-C (**Bhargava et al., 2013**) ;(**Herbillon, 2015**)

Le Pérou et la Bolivie sont les principaux producteurs suivis par l'Equateur, Chili, Colombie et l'Argentine. Le Mexique produit essentiellement cette plante pour la consommation locale. Les autres pays sont en train d'élaborer des projets sur le quinoa (**FAO, 2011**).

Partie 01 : synthèse bibliographique

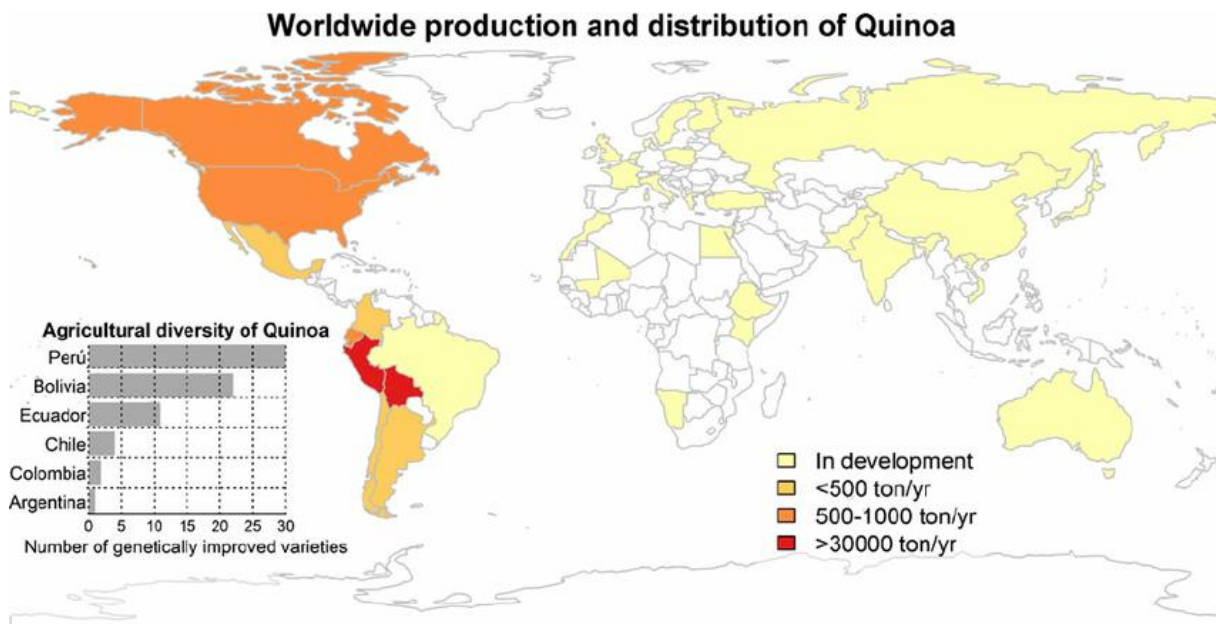


Figure 1 : Répartition mondiale de la production de quinoa (FOA 2011)

2) Domestication

Avant sa domestication, le quinoa sauvage servait probablement déjà de nourriture pour ses feuilles et ses graines. Des preuves de sa morphologie ont été retrouvées sur des poteries Tiahuanaco, représentant la plante du quinoa avec plusieurs panicules le long d'une même tige, ce qui suggérerait une des souches les plus primitives (FAO, 2014).

Du point de vue de sa variabilité génétique, le quinoa est une espèce oligocentrique avec un centre d'origine très vaste et une diversification multiple. La région andine et les rives du Lac Titicaca, en particulier, présentent la plus grande diversité et variation génétiques (FAO, 2014). Le quinoa a subi de nombreuses transformations morphologiques durant sa domestication et comme produit des activités humaines, notamment une inflorescence plus compacte à l'extrémité de la plante, une augmentation de la taille de la tige et des graines, la perte des mécanismes de dispersion des graines et de hauts niveaux de pigmentation (FAO, 2014).

Durant la domestication, les populations andines ont manifestement sélectionné les génotypes en fonction de leur utilisation et de leur tolérance aux facteurs biotiques et abiotiques adverses, pour aboutir aux plantes et écotypes d'aujourd'hui, dotés de différentes caractéristiques : le Chullipourles soupes, le Pasankalla à griller, le Coytos pour la farine, le Reales pour la pissara, l'Utusayapoursa résistance à la salinité, le Witullas et l'Achachinos pour leur résistance au froid, le Kcancollas pour sa résistance à la sécheresse, le Quellus ou graine jaune pour son rendement élevé, le Chewecas pour sa résistance à l'humidité excessive, l'Ayaras pour sa

Partie 01 : synthèse bibliographique

valeur nutritionnelle (bon équilibre acides aminés essentiels-protéines) et le ratuquis pour sa précocité (FAO, 2014).

3) Classification scientifique de quinoa

Le quinoa appartient au genre *Chenopodium* qui contient environ 250 espèces. On connaît environ 1800 variétés de quinoa (Sophie Foucault, 2014).

Depuis 2009, une nouvelle classification dite phylogénétique (APG III) range le quinoa dans la famille des Amaranthaceae.

Tableau I : Classification scientifique de quinoa.

| Classification de Cronquist (1981) | |
|--|----------------|
| Règne | Plantae |
| Division | Magnoliophyta |
| Classe | Magnoliopsida |
| Sous-classe | Caryophyllidae |
| Ordre | Caryophyllales |
| Famille | Chenopodiaceae |
| Genre | Chenopodium |
| Classification APG III (2009) | |
| Ordre | Caryophyllales |
| Famille | Amaranthaceae |
| Nom binomial | |
| <i>Chenopodium quinoa</i> Willd., 1798 | |

4) Phénologie de quinoa

Les grains germent en une dizaine d'heures environ et au champ les cotylédons apparaissent généralement vers le 7ème jour après l'émergence. La croissance racinaire est en rapport étroit avec celle de la partie aérienne (Del Castillo et al., 2008).

L'échelle de développement a été décrite par Mujica et Canahua (1989) en 12 phases, les durées indiquées de chaque phase sont des nombres des jours moyens.

Partie 01 : synthèse bibliographique

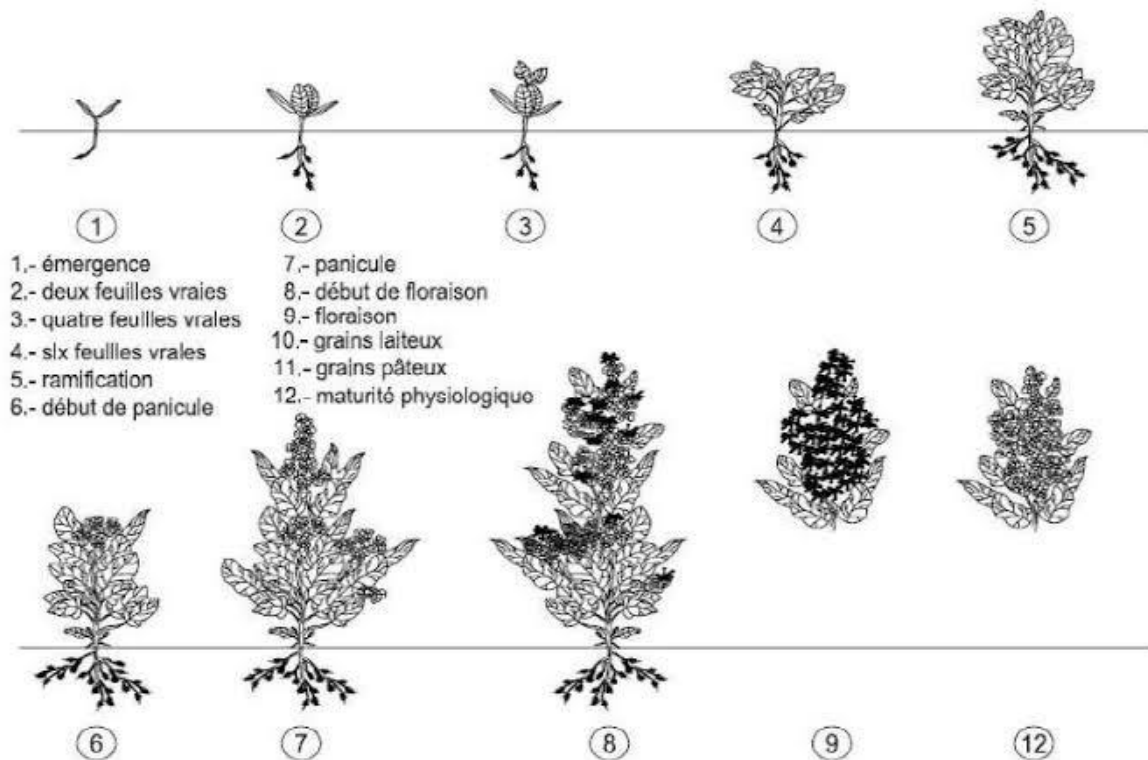


Figure 2 : Culture et phénologie de quinoa (FAO 2001)

- Stade Levée

Elle correspond à la sortie de la plantule et au déploiement des feuilles cotylédonaires (germination épigée). Elle se produit entre sept et dix jours après le semis, en conditions de germination optimales.

- Deux feuilles vraies

Les deux premières feuilles vraies apparaissent 15 à 20 jours après le semis, conjointement à une croissance rapide des racines. Elles sont de forme rhomboïdale au contraire des feuilles cotylédonaires, lancéolées. Elles sont très sensibles aux attaques d'insectes.

- Quatre feuilles vraies

La deuxième paire de feuilles vraies se déploie 25 à 30 jours après le semis. Les feuilles cotylédonaires sont toujours vertes. La plantule montre dans cette phase une assez bonne résistance au froid et à la sécheresse, mais ses feuilles tendres constituent une alimentation de choix pour les ruminants.

Partie 01 : synthèse bibliographique

- Six feuilles vraies

L'apparition de la troisième paire de feuilles vraies se produit 35 à 45 jours après le semis, alors que les feuilles cotylédonaire commencent à se flétrir. L'apex végétatif est nettement protégé par les feuilles les plus âgées, en particulier lorsque la plante est soumise à un stress (thermique, hydrique ou salin).

- Ramification

A partir du stade huit feuilles, soit 45 à 50 jours après le semis, on peut observer pour les variétés qui ramifient la présence de bourgeons axillaires jusqu'aux troisièmes nœuds. Les feuilles cotylédonaire jaunies, tombent et laissent une cicatrice sur la tige. L'inflorescence n'est pas encore visible recouverte et protégée par les feuilles.

- Début de formation de la panicule

L'inflorescence commence à apparaître à l'apex de la plante au bout de 55 à 60 jours, entourée d'une agglomération de feuilles de toute petite taille qui la recouvrent encore partie. Parallèlement, la première paire de feuilles vraies jaunit et n'est plus photosynthétiquement active. La tige s'allonge et son diamètre augmente.

- Panicule

L'inflorescence est désormais clairement visible au-dessus des feuilles, ainsi que les glomérules qui la composent. Des boutons floraux individualisés apparaissent, 65 à 70 jours après le semis.

- Début de floraison

Les premières fleurs s'ouvrent 75 à 80 jours après le semis. La plante commence à être plus sensible au froid et à la sécheresse.

- Floraison

L'ouverture de 50% des fleurs de l'inflorescence se produit aux environs du 90ème ou 100ème jour. Cette observation doit se faire à la mi-journée, les fleurs se refermant pendant la nuit. C'est durant cette phase que la plante est la plus sensible aux gelées. Les feuilles inférieures, flétries, tombent.

Partie 01 : synthèse bibliographique

- Grain laiteux

Le grain est qualifié de laiteux 100 à 130 jours après le semis, car un liquide blanchâtre en sort lorsqu'une pression est exercée sur le fruit. Un déficit hydrique pendant cette phase peut entraîner une forte diminution du rendement.

- Grain pâteux

L'intérieur des fruits devient d'une consistance pâteuse, toujours de couleur blanche, 130 à 160 jours après le semis.

- Maturité physiologique

Le grain, plus résistant à la pression, est à maturité au bout de 160 à 180 jours, avec une teneur en eau inférieure à 15%. Pendant le remplissage des grains depuis la floraison, la plupart des feuilles ont jauni et sont tombées si bien que la défoliation est presque complète à maturité.

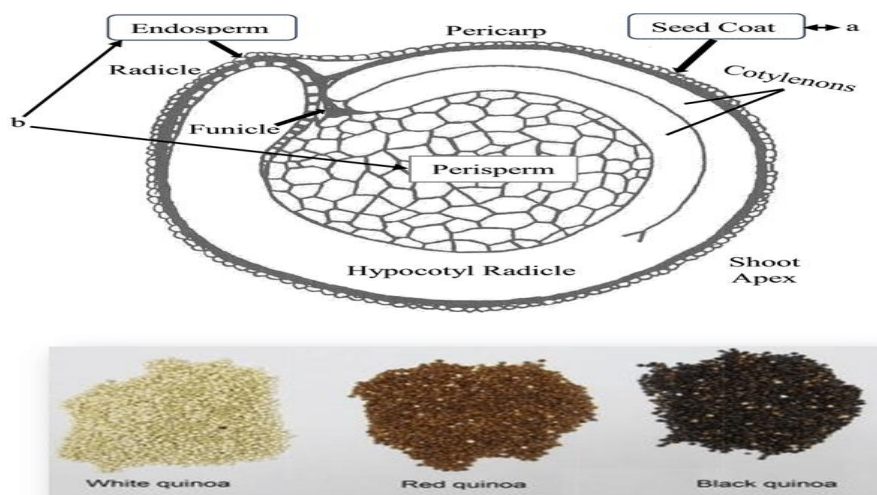


Figure 4 : Structure du grain de Quinoa (Beatriz et al. 2012).

5) Valeur nutritionnelle et antinutritionnelle du quinoa :

5-1 Valeur nutritionnelle :

Les graines de quinoa (QS) sont compactes, digestes, et constituent également une riche source de protéines, de lipides, de fer, de magnésium, de fibres et de vitamines (JAgronTechnol et al., 2024).

Partie 01 : synthèse bibliographique

5-2 Valeur antinutritionnelle :

5-2-1 Les saponines :

Selon (Savarino P et al., 2022), les saponines sont des métabolites spécifiques abondamment présents dans les plantes et plusieurs animaux marins. Leur cytotoxicité élevée est associée à leurs propriétés membranolytique, c'est-à-dire à leur propension à perturber les membranes cellulaires lors de leur incorporation. En tant que telles, les saponines sont très intéressantes pour de nombreuses applications, à condition que la relation entre leurs structures moléculaires et leur activité biologiques soit comprise au niveau moléculaire. Dans la présente étude, nous nous sommes concentrés sur les saponines bidesmosidiques extraites de l'enveloppe du quinoa, dans les chaînes saccharidiques sont ajoutées à l'aglycone par deux liaisons différentes, une liaison glycosidique et une fonction ester. Cette dernière position est sensible aux modifications chimiques, telles que l'hydrolyse et la méthanolyse. Nous avons préparé et caractérisé trois ensembles de saponines en utilisant la spectrométrie masse :

- ❖ Des saponines bidesmosidiques directement extraites de l'enveloppe broyée
- ❖ Des saponines monodesmosidiques avec un group acide carboxylique
- ❖ Des saponines monodesmosidiques avec une fonction ester méthylique

L'impact des modifications structurelles sur l'activité membra-nolytique des saponines a été évalué sur la base de la détermination de leur activité hémolytique. Les saponines bidesmosidiques naturelles ne présentent aucune activité hémolytique, même à la plus forte concentration testée (500 Lg-ml). Les saponines hydrolysées dégradent déjà les érythrocytes à 20 µg-ml, alors qu'il faut 100 µg-ml de saponines transestérifiées pour induire une activité détectable. L'observation que les saponines monodesmosidiques, hydrolysées ou transestérifiées, sont beaucoup plus active contre les érythrocytes que les saponines bidesmosidiques sont probablement la forme dormante des saponines dans les plantes.

a) Classification et structure :

L'hydrolyse des saponines produit un glycon (sucre) et un aglycone (sapogénine). Selon la structure de l'aglycone ou de la sapogénine, Les saponines sont classées en deux catégories : les saponines neutres et les saponines acides. Les saponines neutres sont dérivées de stéroïde avec des chaînes latérales spirocétales qui sont presque exclusivement présentes dans les angiospermes monocotylédones et les saponines acides qui possèdent une structure de type

Partie 01 : synthèse bibliographique

triterpénoïde, qui est la plus courante et qui se trouve principalement dans les angiospermes dicotylédones (www.friedli.com/herbs/phytochem/saponin).

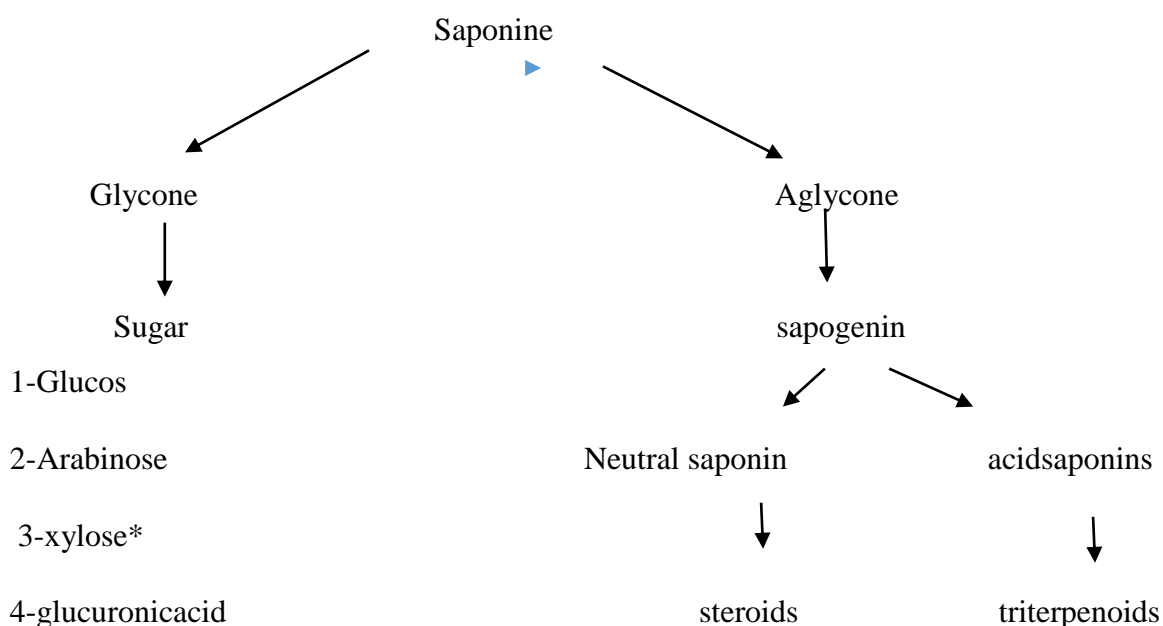


Figure 3 : Classifications des saponines.

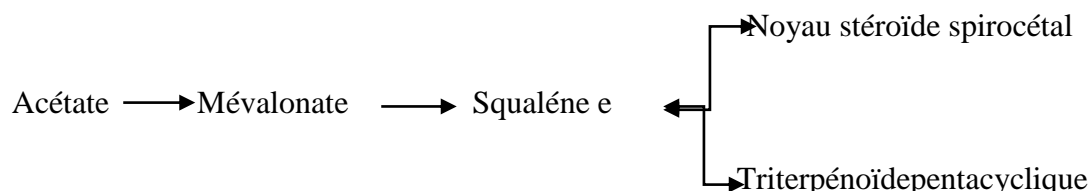
Les sapogénines sont constituées d'un aglycone polycyclique, par exemple une stéroïde choline ou un triterpénoïde. L'aglycone peut contenir une ou plusieurs liaisons C-C insaturées. La chaîne d'oligosaccharides est normalement attachée en position C 3 (monodesmosidiques), mais de nombreuses saponines ont une fraction de sucre supplémentaire en position C26 ou C28 (bidesmosidiques). La grande complexité de la structure des saponines provient de la variabilité de la structure de l'aglycone, de la nature des chaînes latérales et de la position d'attachement de ces moitiés sur l'aglycone. Le troisième group est celui des amines stéroïdiennes, également connues sous le nom d'alcaloïdes stéroïdiens (Sparg S.G, 2004).

Selon (Francis G, 2002) les saponines sont constituées d'une fraction de sucre contenant généralement du glucose, du galactose, de l'acide glucuronique, de la xylose, du rhamnose ou du méthylpentose, liée de manière glycosidique à un aglycone hydrophobe (sapogénine) qui peut être de nature triterpénoïde ou stéroïdienne.

La capacité d'une saponine à mousser est due à la combinaison de la sapogénine non polaire et de la chaîne latérale soluble dans l'eau. Les saponines sont amères réduisent l'appétence des aliments pour le bétail.

Partie 01 : synthèse bibliographique

La voie principalement aux deux types de sapogénines est similaire et implique le couplage tête-queue d'unités d'acétate. Cependant, après la formation de l'hydrocarbure triterpénoïde le squalène, une branche apparaît qui mène aux stéroïdes dans une direction et aux triterpénoïdes cycliques dans l'autre.



b) Rôle des saponines dans les plantes :

Les saponines ont de multiples effets sur les cellules animales, les champignons et les bactéries, mais peu d'études se sont intéressées à leur fonction dans les cellules végétales. De nombreuses saponines sont connues pour être antimicrobiennes, pour inhiber les moisissures et pour protéger les plantes contre les attaques d'insectes. Les saponines peuvent être considérées comme faisant partie des systèmes de défense des plantes et à ce titre, elles ont été incluses dans un vaste groupe de molécules protectrices trouvées dans les plantes et appelées 'phytoanticipines' ou 'phyto-protecteurs' (Benie T et al., 1990)

c) Rôle des saponines chez les êtres vivants

La membrane des globules rouges, riche en acides in N-acétyl-neuraminique, est globalement chargée négativement (Muramatsu N et al., 1990), (Stuardo M et al., 2008). Cette charge négative globale permanente est indispensable pour empêcher les globules rouges de s'agréger et pour créer une forte concentration d'ion positifs tout autour des globules rouges (Kawasaki H et al., 1990) (San Martin et al., 2008). La plus grande activité des saponines hydrolysées qui présentent une charge négative nette peut être liée à cette accumulation de charges positives autour des globules rouges. Nous avons récemment montré que la désulfatation des saponines sulfatées charge négativement extraites de *holothuriscabra* génère des saponines neutres dont l'AH ne peut plus être détecté (Savarino et al., 2022).

Partie 01 : synthèse bibliographique

6) Les activités biologiques

Outre leur intérêt nutritionnel, les graines de quinoa offrent une large gamme de composés chimiques dont les propriétés thérapeutiques sont activement étudiées depuis quelques années. En effet, le milieu scientifique prend conscience de la valeur du quinoa dans la problématique De la santé humaine et évalue son potentiel en tant que ressource pour le développement d'aliments fonctionnels.

Les précurseurs de ce concept apparu dans les années 1980 sont les autorités japonaises qui réalisent qu'une amélioration de la qualité de vie était primordiale au sein de la population âgée croissante, sans que cela n'empiète considérablement sur le coût des soins de santé. Ce concept alimentaire a ensuite été adopté par les américains puis les européens, cependant sa définition fait l'objet de nombreuses contradictions. En résumé, « un aliment peut être considéré comme fonctionnel s'il a été démontré de façon satisfaisante qu'il exerce un effet bénéfique sur une ou plusieurs fonctions cibles de l'organisme, au-delà des effets nutritionnels de base, de manière à améliorer la santé et le bien-être et/ou à réduire le risque de maladie » (**définition proposée par l'ILSI Europe en 1998**).

Par ailleurs, certains composés bioactifs ont montré des propriétés pharmacologiques intéressantes, laissant entrevoir de possibles applications dans le domaine pharmaceutique. Ce constat concerne également des composés initialement destinés à être éliminés, ce qui permettrait à terme d'utiliser ces sous-produits. L'exemple le plus flagrant est celui des saponines contenues dans l'enveloppe des graines. Responsables de leur amertume, réputées toxiques et reconnues comme étant les principaux facteurs antinutritionnels du quinoa, elles présentent néanmoins un grand nombre d'activités biologiques (**Herbillon Marie, 2015**).

Précisons que dans certains cas, et en particulier concernant les saponines, les activités rapportées n'ont pas systématiquement été étudiées avec le quinoa, toutefois il existe suffisamment de preuves de leurs effets dans d'autres végétaux (**Herbillon Marie, 2015**).

6-1. Activité antifongique

Les saponines du quinoa présentent une activité antifongique importante puisqu'elles inhibent la croissance de *Candida albicans* à 50 µg/ml. Cet effet a été observé avec un mélange brut de saponines, tandis que les saponines individuelles pures ont montré peu ou pas d'activité, ce qui suggère un effet synergique (**Woldemichael et Wink, 2001**).

Partie 01 : synthèse bibliographique

Plus récemment, les saponines contenues dans l'enveloppe des graines de quinoa ont également montré une activité contre *Botrytis cinerea*. Comme pour l'activité molluscicide, les extraits de saponines non traités n'ont montré qu'une activité minimale, tandis qu'après un traitement alcalin, la croissance mycélienne et la germination des conidies étaient significativement inhibées. On suppose encore que cette opération entraîne la formation de dérivés de saponines plus hydrophobes ayant une plus grande affinité pour les stérols présents dans les membranes cellulaires (Stuardo et San Martín, 2008).

6-1-1- les champignons pathogènes :

a) Les champignons phytopathogènes

Les champignons phytopathogènes sont des espèces de champignons parasites qui provoquent des maladies cryptogamiques chez les plantes. Ces champignons appartiennent au règne des eumycocètes, regroupant un large éventail de groupe des organismes pluricellulaires qui sont les moisissures. Les champignons restent de potentiels producteurs de mycotoxines (Quillien J.F, 2002) et elles sont moins sensibles que les bactéries aux conditions du milieu et résistent bien aux conditions acides du sol (Delahaye et al., 2011).

Plusieurs moisissures, notamment les genres *Acremonium*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Stachybotrys*, *Trichoderma* et *Fusarium* sont connus pour être des contaminants des produits agricoles et/ou pour leur capacité à produire des métabolites toxiques. (Cahagnier B et Richard-Molar D, 1998).

A-1) Le *Fusarium*

Les *Fusarium* sont parmi les champignons telluriques les plus agressifs, causant des flétrissements et des pourritures sur de nombreuses espèces végétales cultivées (Benhamou N et al., 1997). Ces champignons contaminent les céréales, les légumes, les arbres fruitiers provoquant des maladies nommées fusarioses. Ils sont responsables des fontes de semis et contaminent les sols (Trenholm H et al., 1988).

Partie 01 : synthèse bibliographique

A-2) Classification

Le système Saccardo de classification des champignons imparfaits « fungi imperfecti » (**Henni J.E, 1998**) classe Fusarium comme suit :

Tableau II : Classification de fusarium.

| | |
|---------------|--|
| Embranchement | Thallophytes |
| Classe | Deutéromycètes |
| Ordre | Monodiales |
| Famille | Tuberculariacées |
| Genre | Fusarium |
| Espèces | - Fusarium graminearum - Fusarium oxysporum |

6-2 Activité hémolytique

Les saponines ont tendance à altérer la perméabilité cellulaire et, par conséquent, exercent une toxicité générale sur tous les tissus organisés. Il a été avancé comme hypothèse que les différentes saponines pouvaient produire différentes modifications structurales dans les lipides des membranes cellulaires mais il reste à élucider la relation exacte de ces changements structurels avec l'hémolyse.

Cette propriété a été étudiée sur des cellules saines et néoplasiques et aucune différence de comportement n'a été établie (**Basu et Rastogi, 1967**).

Nous avons vu précédemment que les saponines monodesmosidiques ont montré une activité hémolytique supérieure aux saponines de type bidesmosidique car seuls les monodesmosides agissent comme détergents et peuvent lyser les biomembranes (**Woldemichael et Wink, 2001**). L'activité hémolytique est représentée comme dépendante de la longueur des chaînes glucidiques, ainsi que de la présence d'une chaîne glucidique en C3 ou de groupes fonctionnels sur la sapogénine (**Voutquenne et al., 2002**), ce qui suggère que l'augmentation du caractère lipophile de la saponine via l'estérification des groupements carboxyliques tend à faciliter

Partie 01 : synthèse bibliographique

l'interaction avec les membranes cellulaires. En outre, la présence d'un acide carboxylique libre en C28 semble essentielle pour la cytotoxicité (Quetinleclercq et al., 1992); (Oda et al., 2000); (Woldemichael et Wink, 2001).

6-3 Activité insecticide

Comme la consommation de quinoa augmente en raison de sa valeur nutritionnelle, les chercheurs sont intéressés par le développement de nouvelles technologies. L'innovation la plus importante dans la transformation du quinoa concerne les opérations unitaires pour l'élimination des saponines ; comme mentionné précédemment, les saponines donnent un goût amer au produit et doivent donc être éliminées pour obtenir des propriétés organoleptiques souhaitables, mais ce sous-produit du quinoa peut être utilisé dans d'autres industries.

Les propriétés physiologiques et biologiques de la saponine l'ont rendue utile pour des applications commerciales dans l'agriculture, telles que la préparation de bio-insecticides et d'aliments, ainsi que dans le secteur des cosmétiques et des produits pharmaceutiques.

Des études ont suggéré que les substances phytochimiques, telles que les saponines, peuvent être transformées si la méthode de transformation alcaline est utilisée lors d'une expérience, il a été observé que les saponines simples de quinoa transformées par la méthode alcaline présentaient une activité inhibitrice remarquable contre les bactéries. (APrajapati et al., 2024)

Partie 02 :

Matériel et Méthodes

Partie 02 : Matériel et Méthodes

1-Matériel

1-1 Matériel végétale :

Le matériel végétal utilisé est la poudre des saponines de *Chenopodium quinoa* Willd.



Figure 4 : Poudre de saponine.

1-2 Matériel biologique :

Les souches fongiques :

| | | |
|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Fusarium 1 : <i>F. graminearum</i> | Fusarium 2 : <i>F. oxysporum</i> 1 | Fusarium 3 : <i>F. oxysporum</i> 2 |
|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|

2-Méthodes :

2-1 Extraction des saponines :

2-1-1 Extraction alcalin :

Le quinoa a été traité avec de l'alcalin (**San martin, 2007**). Dans le but de convertir les saponines bidesmosidiques en saponines monodesmosidiques, en se basant sur les conditions d'hydrolyse rapportées pour études structurales des saponines de quinoa.

Le mélange réactionnel contenait 1 part de coques de quinoa (en poids) et 5 parties de 0,5 N NaOH. Le mélange a été maintenu à 95-100 °C pendant 2 h sous agitation et à reflux. Ces conditions se sont avérées maximiser la disparition des saponines originales du quinoa été séché à 70°C pour atteindre une teneur en humidité d'environ 8-10% p/p.

Partie 02 : Matériel et Méthodes

2-2 les activités biologiques :

2-2-1 L'effet antifongique :

a) Préparation du PDA :

La gélose glucosée à l'extrait de pomme de terre est recommandée pour le dénombrement des levures et moisissures dans denrées alimentaires ainsi que les produits cosmétiques et pharmaceutiques.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée : 200g de l'Extrait de pomme de terre, 20g de Glucose., 20g d'Agar.

- Mettre en suspension 200 grammes dans 1 litre d'eau pure. Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant au moins 1minute.

- Répartir en tubes ou flacons.

-Autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

La gélose stérile bouillie dans un bain-marie pendant environ 1h du temps pour devenir liquide, puis il sera coulé dans des boîtes de pétrie avec une épaisseur de 4 à 5mm dans une zone stérile par le Bec benzène puis laissées séchera température ambiante près du bec benzène pour éviter leurs contaminations avec les bactéries de l'air. **(Emanfo et al., 2013).**

b) Protocol expérimentale

Inhibition de la croissance mycélienne :

La capacité de l'extrait végétal à inhiber la croissance mycélienne est évaluée, des disques mycéliens de 5 mm provenant d'une culture de 7 jours de chaque souche de *Fusarium* testée sont ensemencés sur des boîtes de Pétri contenant un milieu PDA additionné d'un volume de l'extrait végétal pour obtenir une dilution de 10 % (la solution mère est préparée en diluant 10mg/100ml de DMSO). Les boîtes sont incubées à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 5 jours et la croissance mycélienne est déterminée par le diamètre de croissance moyen. Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Inhibition de la croissance (\%)} = (\text{Dc-Dt}) / \text{Dt} \times 100$$

Dc : diamètre de croissance du témoin (mm) et Dt : diamètre de croissance en présence de l'extrait végétal (mm).

Partie 02 : Matériel et Méthodes

2-2-2 l'effet hémolytique :

a) Préparation PBS :

En dissolvant 8g de (NaCl), 1,45g de (Na₂HPO₄-2H₂O), 0,2g de (KCl), 0,2g de (KH₂PO₄) dans un volume de 1 L d'eau Milli-Q ; le pH de la solution a été ajusté à 7,4.

b) Evaluation de l'effet hémolytique

Le test de l'effet hémolytique des extraits (saponines de quinoa) a été réalisé, in vitro, sur une suspension érythrocytaire du sang humain incubée dans un tampon phosphate salin (PBS), pH 7,4.

c) Préparation de la suspension érythrocytaire

Du sang fraîchement prélevé d'un donneur sain unique dans un tube d'héparine, est centrifugé à 2500 tours/minutes pendant 10 minutes. Après élimination du plasma, le culot est lavé 2 fois avec une solution de PBS, le culot ainsi obtenu est suspendu à nouveau dans le même volume du plasma éliminé, la suspension érythrocytaire ainsi obtenue est diluée 20 fois par PBS.

d) Préparation des extraits

Les différents extraits des saponines (poudre et avec traitement alcalin) de quinoa sont dilués dans du tampon phosphate salin (PBS). Pour obtenir les différentes concentrations (25 mg/ml, 75 mg/ml)

e) Test d'hémolyse

Mettre dans chaque tube à hémolyse 1950µl de la suspension érythrocytaire préparée, avec 20µl de l'extrait à différentes concentrations (25 mg/ml, 75 mg/ml). Incuber les tubes dans l'incubateur à 37°C durant 60 min. Puis arrêter la réaction avec un bain glaçon.

La lecture de l'absorbance (Abs) de chaque tube est effectuée à 548nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible contre le blanc contenant du PBS après leur centrifugation à 2500 tour/minute durant 20 min.

Un tube témoin négatif est préparé dans les mêmes démarches expérimentales. Il est composé de 250µl de suspension érythrocytaire et 750µl du tampon phosphate (PBS), en absence d'extrait.

Partie 02 : Matériel et Méthodes

Dans les mêmes conditions et les mêmes démarches expérimentales, nous avons préparé un tube d'hémolyse totale qui contient 100µl de la suspension érythrocytaire et 1900µl d'eau distillée et en absence d'extrait.

Le taux d'hémolyse des différents extraits est calculé en pourcentage (%), selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'hémolyse (\%)} = (\text{A}_{\text{extrait}} - \text{A}_{\text{témoin négatif}}) / \text{A}_{\text{témoin positif}} \times 100$$

2-2-3 L'effet insecticide :

a) Test insecticide :

Le test insecticide à base de saponine et d'extrait a été effectué sur des pucerons en utilisant une solution préparée dans des conditions appropriées. Les boîtes de pétris ont été apportées et des trous ont été creusés au niveau des couvercles des boîtes, disposer deux feuilles de plantes dans chaque boîte de pétris, en recouvrant la côte de la feuille par un coton imbibé d'eau.

-Disposer les pucerons dans les boîtes contenant dix (10) pucerons, puis distribuer la solution préparée à distance aux insectes.

Fermez les boîtes et attendez le résultat en prenant en compte les conditions précédentes.

Après 24 heures, Comptez-la quotidiennement les insectes vivants pendant une période de 7 jours (Abohts, 1925) :

$$\text{Taux de mortalité (\%)} = (\text{Témoin} - \text{App (jour 1)}) / \text{Témoin} \times 100$$

Partie 03 :

Résultat et discussion

Partie 03 : Résultat et discussion

1-L'effet antifongique :

L'évaluation de l'activité antifongique de saponine de *Chenopodium quinoa* Willd (poudre et extrait) par le *Fusarium graminearum* et les 2 *Fusarium oxysporum* 1 et 2 montre une efficacité aux extraits de saponine de quinoa vis-à-vis des champignons phytopathogène *Fusarium* sp.

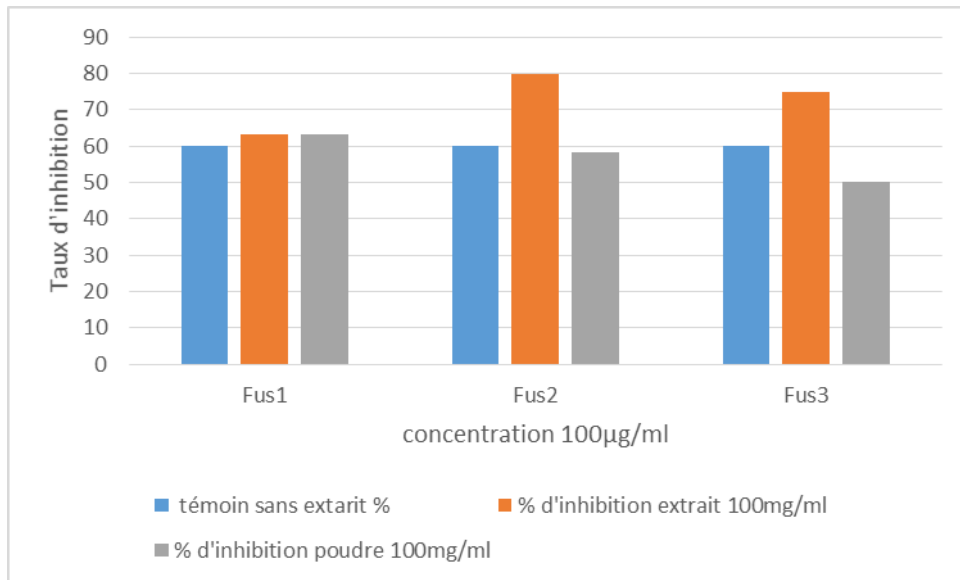


Figure 5 : Taux d'inhibition (%) de la croissance de (ST et S) à la concentration 100 µg/ml a fonction des espèces de fusariums par apport au témoin.

Fus 1 : *F. graminearum*

Fus 2 : *F. oxysporum*

Fus 3 : *F. oxysporum*

Les figures (5,6) ci-dessus représentent les taux d'inhibition de la croissance de (ST et S) à la concentration 100µg/ml (mm) en fonction des espèces de Fusarium par rapport au témoin.

Les résultats obtenus montrent : L'effet inhibiteur de ST et S sur la souche *Fusarium graminearum* été pratiquement similaire à celui du témoin (63,33%) (63,33%) (60%).

Partie 03 : Résultat et discussion

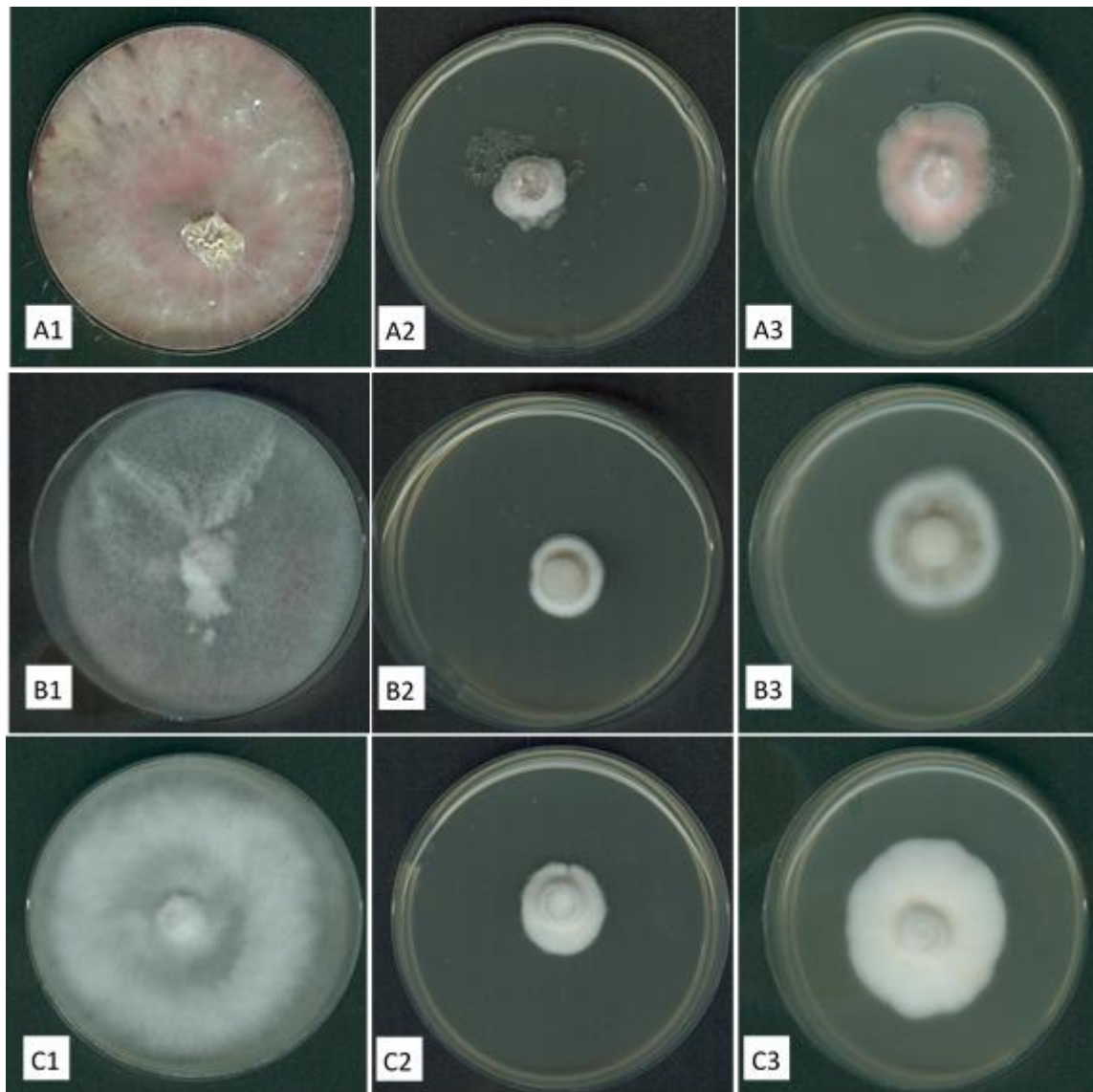


Figure 6 : Activité antifongique contre *Fusarium* sp du blé. (A) Fus1; (B) Fus 2; (C) Fus 3.

(1) Témoin (PDA) ; (2) Extrait ; (3) Poudre

L'effet inhibiteur de **ST** sur la souche *fusarium oxysporum* 1 est meilleur que celui du témoin et **S** qui exerce une inhibition moins sensible (80%) (60%) (58,33%) respectivement.

L'effet inhibiteur de la souche *fusarium oxysporum* 2 **ST** est plus grand que celui du témoin et **S** (75%) (60%) (50%) respectivement.

Donc l'effet inhibiteur dépend de l'extrait utilisé et de la souche testée. Ce qui a été démontré par (Woldemichael et Wink., 2001), que la fraction de saponine totale de *Chenopodium quinoa* présente une activité antifongique contre la croissance de *Candida Albicans*, et que le traitement alcalin a un effet similaire contre *Cinéria*, mais l'effet est légèrement supérieur à celui de l'extrait purifié.

Partie 03 : Résultat et discussion

Il a également été rapporté, comme cité par (Macarena et Ricardo, 2008) ; que les saponines de quinoa ont une activité antifongique contre d'autres champignons et que le quinoa a une activité antifongique contre *Botrytis Cineria* et que cette activité est renforcée par un traitement alcalin.

Les saponines de quinoa présentent peu ou pas d'activité antifongique, sauf lorsque le mélange brut des saponines appliqué à *Candida Albicans* est de 50µg/ml (**Woldemichael et Wink , 2001**), bien que l'activité fongique soit généralement inférieure ou non égale à l'activité des aglycones seuls, la présence de chaînes glucidique en C3 renforce l'effet antifongique des saponines, mais aussi sur la perméabilité membranaire (**Stuardo et San Martin, 2008**), selon (**Woldemichael et Wink, 2001**) et l'effet sur la croissance mycélienne est probablement plus prononcé pour les saponines monodesmosides que pour les chaînes glucidiques.

2-l'effet hémolytique :

Partie 03 : Résultat et discussion

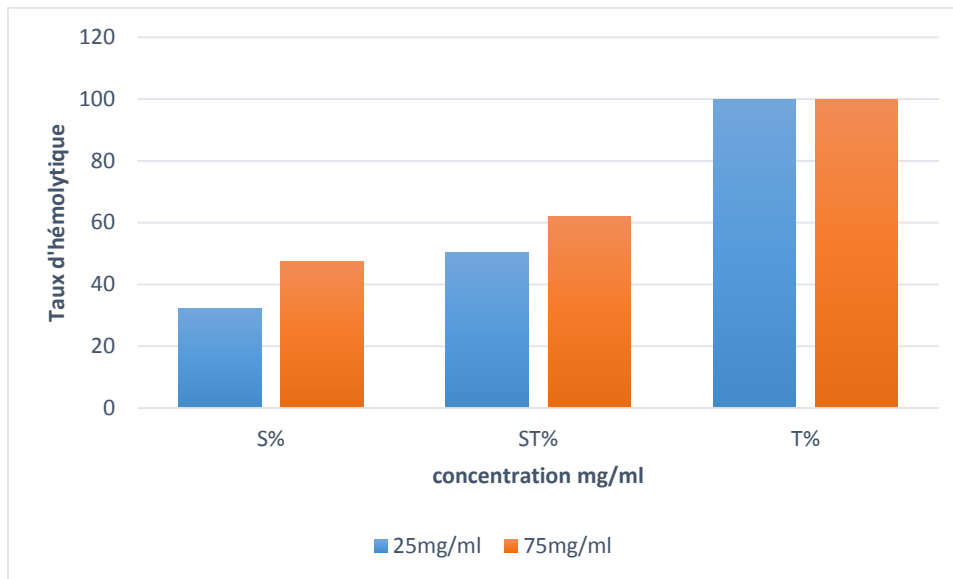


Figure 7: Taux d'hémolyse (%) des différentes concentrations de Saponine poudre et extrait par apport à l'hémolyse totale.

Les résultats relatifs aux taux d'hémolyse induit par les différentes concentrations des saponines de quinoa (extrait et poudre) sont présentés dans la figure (7).

D'après les résultats nous avons noté un taux d'hémolyse bas (32,32%) par apport à l'hémolyse totale pour la concentration de 25mg/ml de **S**.

Par contre le taux d'hémolyse de **ST** (50,25%) par apport a ce dernier pour la même concentration.

Pour la concentration 75mg/ml, le taux d'hémolyse à l'effet de **ST** est le plus élevé (61.86%).

Alors que le taux d'hémolyse obtenu avec la **S** est égale (47.44%) par apport l'hémolyse totale.

L'hémolyse maximale obtenue de **ST** (61,86%) à la concentration 75mg/ml est considéré comme étant le plus toxique vis-à-vis des globules rouges.

En revanche, à une concentration maximale de 75mg /ml, la **S** de saponine présente un taux d'hémolyse de 47,44%.

Donc **S** de saponine présente une faible toxicité même à une concentration élevée 75mg/ml par apport à l'extrait qui donne une forte toxicité après le contact avec les érythrocytes humains.

Partie 03 : Résultat et discussion

Les saponines sont des composants terpéniques, l'effet hémolytique peut être expliqué par la présence de ces molécules qui ont la capacité d'induire la formation des pores à travers les membranes cellulaires, entraînant l'hémolyse et la libération de l'hémoglobine dans le plasma (Makkar et al., 1997).

La constatation que les saponines monodesmosiques, hydrolysées ou transestérifiées, sont beaucoup plus actives contre les érythrocytes que les bidesmosiques. De plus, l'observation selon laquelle les saponines chargées négativement, c'est-à-dire que les hydrolysés sont plus hémolytiques que les neutres, cela pourrait être lié à la structure de la membrane cellulaire.

3-L'effet insecticide :

L'effet insecticide a permis de déterminer l'efficacité de l'insecticide à base de S et ST est évalué à partir de mortalité enregistrée chez les pucerons pendant 7 jours.

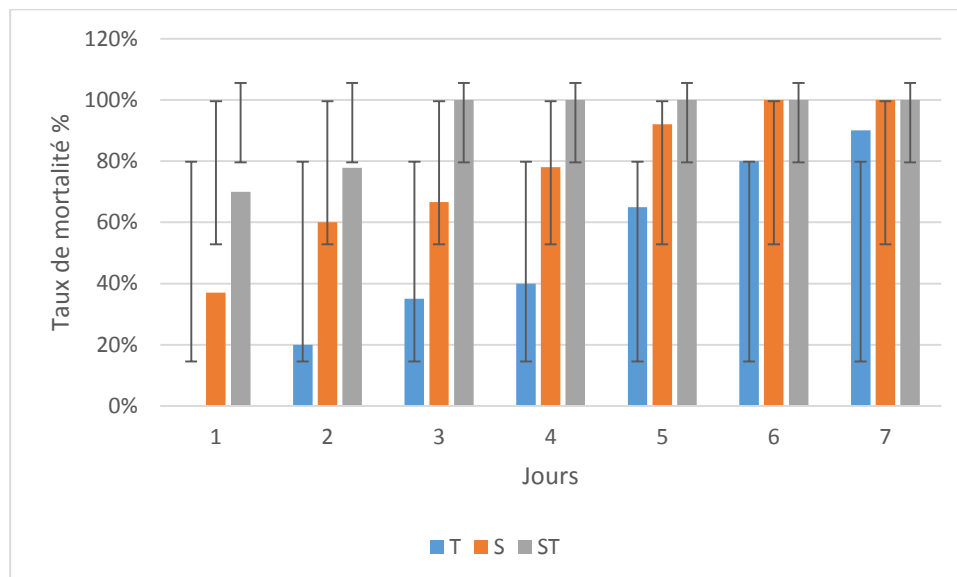


Figure 8: Mortalité observée en fonction de la saponine poudre(S) et extrait (ST) par rapport au témoin(T) pendant 7 jours.

Dans la présente étude nous avons testé l'efficacité de la S et de ST de la plante quinoa contre les pucerons.

La figure (8) montre que le taux de mortalité des insectes qui dépend de saponine (S et ST) par rapport au témoin (T) et la durée d'exposition (7 jours).

Partie 03 : Résultat et discussion

En effet nous avons estimé un taux de mortalité 37% pendant 24 h (1jour) qui a atteint 100 % après 5 jours par apport au témoin avec la **S**.

Pour **ST**, le taux a monté jusqu'à 70% durant 24 h (1 jour) et atteint 100% dans 72 h (3ème jour) par apport au témoin.

Ce qui explique l'efficacité du **ST** et qui présente un bon effet insecticide que la **S** car il provoque une mortalité de 100% des pucerons pendant 3 jours par contre la **S** atteint 100% après 5 jours.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenu par autres chercheurs qui ont mis en évidence l'effet insecticide.

D'après (**Regnault-Roger et al., 2002**), l'analyse chromatographique des résidus botaniques hydrodistillés indique la présence de nombreux composés phénoliques, acides phénols et flavonoïdes qui provoquent la perturbation de la motricité de l'insecte ; de plus la toxicité des polyphénols est corrélée positivement avec le pouvoir attractif du composé.

Conclusion Générale

Conclusion générale

Conclusion Générale :

Le quinoa est une plante d'origine d'Amérique du sud ; considéré à tort comme une céréale.

Il y a une quarantaine d'année, le monde redécouvert cette plante qui s'est introduite récemment en Algérie et commence à s'intéresser de la composition chimique exceptionnelle de ses graines, elles renferment de haut valeur nutritionnelles (protéines, acides aminés, calcium...) et des substances antinutritionnels dans la graine qui menace de diminuer la biodisponibilité de tous ces nutriments. Les saponines sont des composés amers et particulièrement toxiques, localisés dans les couches externes de la graine et peuvent donc facilement être éliminés par lavage ou abrasion mécanique. Le présent travail s'inscrit donc, dans le cadre d'une valorisation et évaluation des activités antifongique et anti hémolytique, effet insecticide des extraits de saponine et les saponines brute. Notre étude avait clairement montré que les extraits des saponines pour cette étude sont efficaces à réduire l'effet biologique. Toutefois, ce potentiel s'est manifesté surtout important pour l'extrait que la poudre.

Cette étude a montré que l'extrait de saponine était efficace contre plusieurs souche des champignons phytopathogènes tel que « *Fusarium graminearum* et 2 *fusarium oxysporum* » plus que la poudre. L'extrait pouvait inhiber la croissance de certains champignons.

L'effet antifongique est dû à la présence des composés bioactifs dans les saponines telles que les flavonoïdes et les acides phénoliques, ces composés peuvent aider à perturber la membrane cellulaire des microorganismes ce qui entraîne leur mort ou leur incapacité à se reproduire.

L'effet hémolytique d'extrait montre que les saponines monodesmosiques, hydrolysées sont plus actives contre les globules rouges que les saponines bidesmosiques (saponine poudre), en plus les composants terpéniques qui ont la capacité d'induire la formation des pores à les membranes cellulaires et entraînant l'hémolyse.

L'extrait de saponines à un effet insecticide bio sur les insectes tels que les pucerons, cet extrait montre une toxicité élevée comparativement à la poudre de saponine car la présence des composés phénoliques et les flavonoïdes provoquent la perturbation de la motricité de l'insecte.

En perspective, il est prévu de tester les graines du *Chenopodium quinoa* Wild sur des plusieurs différents agents phytopathogènes et des insectes nuisibles pour repérer le spectre

Conclusion générale

d'action afin de développer une alternative par rapport à l'utilisation des fongicide et pesticide (insecticide) d'origine synthétique dans le but les remplacer par des traitements biologiques à base des extraits des plantes.

Bibliographie

Bibliographie

Bibliographies

A

1. **Arajapati, AK** Singh - Pseudocereals: Production, Processing ..., 2024
2. **Ahumada A.**, Ortega A., Chito D., Benítez R. Saponins of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): a by-product with high biological potential. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas* .2016; 45:438–469.

B

3. **Basu N.**, Rastogi R.P. (1967). Triterpenoid saponins and sapogenins. *Phytochemistry*, 6(9), 1249-1270.
4. **Beatriz V.** and Suzana C. 2012. Application of quinoa (*Chenopodium quinoa* wild) and Amaranth (*Amaranthus* spp.) and their influence in the nutritional value of cereal-based foods. *Food and public health*. Vol 2(6):265-275.
5. **Benhamou, N.**, Rey P., Cherif, M., Hockenhull J., Tirilly, Y., 1997. Treatment with the mycoparasite *Pythium oligandrum* triggers induction of defence-related reactions in tomato roots when challenged with *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Phytopathology* 87,108–121.
6. **Benie T.**, El-Izzi A., Tahiri C., and Duval J & Thieulant M.L.T. Combretum dendronum bark extract as an antifertility agent: Estrogenic effects in vivo and LH release by cultured gonadotrope cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 1990, 29 : 13-23

C

7. **Cahagnier, B.**, Richard-Molard, D., 1998. Analyse mycologique in Moisissures des aliments peu hydratés, Ed. Tec & Doc, Paris, 140-158.
8. **Cahagnier, B.**, Richard-Molard, D., 1998. Analyse mycologique in Moisissures des aliments peu hydratés, Ed. Tec & Doc, Paris, 140-158.
9. **Cheok C.**, Abdel H., Salman K., Sulaiman R. Extraction and quantification of saponins: review. *Food Research International* .2014; 59:16–40.

D

10. **Del Castillo C**, Mahy G, Winkel T., 2008. La quinoa en Bolivie : une culture ancestrale devenue culture de rente « bio-équitable ». *Biotechnol. Agron. Soc. Environ. Bolivie*. 12(4) :421-435.
11. **Delahaye, N. F.**, Rusakiewicz, S., Martins, I., Ménard, C., Roux, S., Lyonnet, L., Minard Colin, V. 2011. Alternatively spliced NKp30 isoforms affect the prognosis of gastrointestinal stromal tumors. *Nature medicine*, 17(6), 700.

Bibliographie

F

12. **FAO**, Quinoa. Regional Office for Latin America and the Caribbean. Proinpa; 2011. Ancient crop to contribute to global foodsecurity
13. **FAO, 2011** : Quinoa ; An ancient crop to contribute to word food security. Latin America and the Caribbean, pp : 3-14
14. **FAO. (2014)**. Assessment of the International Year of Quinoa 2013. [http : //www.fao.org/docrep/meeting/030/mk172E.pdf](http://www.fao.org/docrep/meeting/030/mk172E.pdf), consulté le 9 mai 2015.
15. **FAO. (2014)**. Assessment of the International Year of Quinoa 2013. [http : //www.fao.org/docrep/meeting/030/mk172E.pdf](http://www.fao.org/docrep/meeting/030/mk172E.pdf), consulté le 9 mai 2015.
16. **Ferrigo, D.**; Raiola, A.; Causin, R. Fusarium Toxins in cereals: Occurrence, legislation, factors promoting the appearance and their Management. *Molecules* 2016
17. **Francis G.**, Zohar Kerem., Harinder P. S., Makkar& Klaus Becker. The biological action of saponins in animal systems. *British Journal of Nutrition*. 2002

G

18. **García M. A.**, Plazas N., Carvajal D., Ferreira S., Parra J. Description of saponins in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) with relation to the soil and the climate: review. *Informador Técnico* .2018; 82:241–249.

H

19. **Han Y.**, Chi J., Zhang M., et al. Changes in saponins, phenolics and antioxidant activity of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) during milling process. *LWT - Food Science and Technology* .2019; 114:108381–108387.
20. **Henni, J.E.**, 1998. Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* sp. *Lycopersici*. Thèse de doctorat d'état. Université d'Oran, 171.
21. **Herbillon M., 2015-** Le Quinoa : Intérêt nutritionnel et perspectives pharmaceutique. Thèse doctorat en pharmacie. Université de Rouen u.f.r. r de médecine et pharmacie. France, pp : 27-50.
22. **Hof, H.** Mycotoxins: Pathogenicity factors or virulence factors? *Mycoses* 2008,

K

23. **Kilinc O.**, Ozgen S., Selamoglu Z. Bioactivity of triterpene saponins from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) *Research & Reviews: Research Journal of Biology*. 2016; 4(4):25–28.

L

24. **Lin M.**, Han P., Li Y., Wang W., Lai D., Zhou L. Quinoa secondary metabolites and their biological activities or functions. *Molecules* .2019; 24(13):1–47.

Bibliographie

M

25. **Makkar, H.**, and Becker, K., 1997. Degradation of quillaja saponine by mixed culture of rumen microbes. *Letters in Applied Microbiology*, 25(4), 243-245.
26. **Ministry of Agriculture** and Rural Development, MADR. In the last 4 years, quinoa has had a growth of more than 150% in production areas. *Mining agriculture*. 2018. July 2021,
27. **Munkvold, G.P.** Fusarium species and their associated mycotoxins. *Methods Mol. Biol.* 2017,
28. **Muramatsu, N.**; Kawasaki, H.; Onoe, F.; Ohshima, H.; Kondo, T. Hemolysis by Amphoteric Surfactants. *J. Jpn. OilChem. Soc.* 1990, 39, 555–559.

O

29. **Oda K.**, Matsuda H., Murakami T., Katayama S., Ohgitani T., Yoshikawa M. (2000). Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derived from medicinal and food plants. *Biol. Chem.*, 381(1), 67- 74.

Q

30. **Quetinleclercq J.**, Elias R., Balansard G., Bassleer R., Angenot L. (1992). Cytotoxic activity of sometriterpenoid saponins. *Planta Med.*, 58(3), 279-281.
31. **Quillien, J.F.**, 2002. Les mycotoxines in “programme 5th Framework Programme under the Quality of Life and Management of Living Resources, key Action 1”. Paris: INRA. 24p.

R

32. **Rafik S.**, Rahmani M., Rodriguez J., et al. How does mechanical pearling affect quinoa nutrients and saponin contents *Plants* .2021; 10(6):1–22.
33. **Regnault-Roger C.**, Bernard J.R., Philogene C. V (2002). *Biopesticides d'origine végétale*. Ed. Tec et Doc. Lavoisier, Paris, pp.20-37.
34. **Ruiz K.**, Khakimov B., Engelsen S., Bak S., and Biondi S., Jacobsen S. Quinoa seedcoats as an expanding and sustainable source of bioactive compounds: an investigation of genotypic diversity in saponin profiles. *Industrial Crops and Products* .2017; 104:156–163.

S

35. **San Martin R.** (2007). *Revista Iberoamericana de Filosofia, Politica y Humanidades*, vol.9, num.18, 2007, pp.319-337.
36. **Savarino, P.**; Colson, E.; Caulier, G.; Eeckhaut, I.; Flammang, P.; Gerbaux, P. Microwave-Assisted Desulfation of the Hemolytic Saponins Extracted from *Holothuriscabra Viscera*. *Molecules* 2022, 27, 537.

Bibliographie

37. **Savarino, P.**; Contino, C.; Colson, E.; Cabrera-Barjas, G.; De Winter, J.; Gerbaux, P. Impact of the Hydrolysis and Methanolysis of Bidesmosidic Chenopodium quinoa Saponins on Their Hemolytic Activity. *Molecules* 2022,
38. **Sparg S.G.**, Light M.E & Van Staden J. Biologicalactivities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*. 94, 2004:
39. **Sophie Foucault A., 2014**-Effets d'un extrait de quinoa enrichi en 20-hydroxyecdysone dans un modèle d'obésité nutritionnelle : application clinique. Thèse doctorat Médecine humaine et pathologie. AgroParisTech. Français, p : 112.
40. **Stuardo M.**, San Martín R. (2008). Antifungalproperties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) alkali treated saponins against *Botrytis cinerea*. *Ind. Crop Prod.*, 27(3), 296-302.

T

41. **Trenholm, H. L.**, Prelusky, D. B., Young, J. C. and Miller, J. D., 1988. « Reducing Mycotoxins in Animal Feed», Publication 1827E, No. A63-1827/1988E, Agriculture Canada Ottawa, p 22.

V

42. **Velásquez M.**, Vélez Y. Conceptual design or a plant of extraction of saponins presents in the fique's juice. *Ingeniería* .2020; 25:50–67.
43. **Voutquenne L.**, Lavaud C., Massiot G., le Men-Olivier L. (2002). Structure–activity relationships of haemolytic saponins. *Pharm. Biol.*, 40(4), 253-262.

W

44. **Woldemichael G.**, Wink M. (2001). Identification and biologicalactivities of triterpenoid saponins from *Chenopodium quinoa*. *J. Agric. Food Chem.*, 49(5), 2327-2332.

Résumé :

Cette étude est réalisée au niveau de laboratoire de l'institut national de la recherche agronomique d'Algérie (INRAA) de Constantine El Khroub et les laboratoires de la faculté des sciences de la nature et la vie Université des frères Mentouri Constantine.

L'objectif de cette étude est d'évaluer les effets biologiques de l'extrait et la poudre des saponines des graines de quinoa.

L'activité antifongique est réalisée sur PDA sous les effets de l'extrait et la poudre de saponine avec une concentration de 100µg/ml, les souches utilisées sont *Fusarium graminearum* et 2 *fusarium oxysporum*.

Les résultats obtenus indiquent que le test antifongique de saponine sur les souches du *fusarium* précédentes a montré une activité inhibitrice efficace et hautement significative de l'extrait (63.33% ; 80%,75%) par rapport à la poudre (63.33% ; 68% ; 50%) respectivement.

Pour l'effet hémolytique, les résultats montrent que le taux hémolyse de l'extrait à concentration de 75mg/ml (61,86%) est plus élevé que le taux d'hémolyse de saponine poudre à la même concentration (47,44%). Le test avait montré que l'extrait de saponine a un effet hémolytique élevé contre les érythrocytes.

Pour l'effet insecticide, les résultats obtenus pendant 7 jours ont montré que l'extrait a provoqué un taux de mortalité maximal avec une valeur de 100% pendant 72h (3jour) en comparaison avec le taux maximal de mortalité par la poudre est de 100% après 5 jours.

Enfin les résultats confirment que l'effet de l'extrait a une grande efficacité par rapport à la poudre.

Mots clés : saponine, extrait, antifongique, hémolyse, insecticide.

ABSTRACT :

This study is carried out at the laboratory level of the National Institute of Agricultural Research of Algeria (INRAA) of Constantine El Khroub and the laboratories of the Faculty of Natural Sciences and Life University of the Mentouri Brothers Constantine.

The objective of this study is to evaluate the biological effects of quinoa seed saponin extract and powder.

The antifungal activity is carried out on PDA under the effects of the extract and saponin powder with a concentration of 100µg/ml, the strains used are *Fusarium graminearum* and 2 *fusarium oxysporum*.

The results obtained indicate that the saponin antifungal test on the previous *fusarium* strains showed an effective and highly significant inhibitory activity of the extract (63.33%; 80%,75%) when added to the powder (63.33%; 68%; 50%) respectively.

For the haemolytic effect, the results show that the haemolysis rate of the extract at a concentration of 75mg/ml (61.86%) is higher than the haemolysis rate of saponin powder at the same concentration (47.44%). The test had shown that saponin extract has a high hemolytic effect against erythrocytes.

For the insecticidal effect, the results obtained for 7 days showed that the extract caused a maximum mortality rate with a value of 100% for 72 hours (3 days) compared to the maximum mortality rate by the powder is 100% after 5 days.

Finally, the results confirm that the effect of the extract is highly effective when added to the powder.

Key words : saponin, extract, antifungal, hemolysis, insecticide.

الملخص:

يتم إجراء هذه الدراسة على المستوى المختبري للمعهد الوطني للبحوث الزراعية في الجزائر (INRAA) بقسنطينة الخروب ومختبرات كلية العلوم الطبيعية والحياة بجامعة الأخوة منتوري قسنطينة.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الآثار البيولوجية لمستخلص ومسحوق صابونين بذور الكينوا.

يتم تنفيذ النشاط المضاد للفطريات على PDA تحت تأثيرات المستخلص ومسحوق الصابونين بتركيز 100 مجم/مل، السلالات المستخدمة هي *Fusarium graminearum* و *Fusarium oxysporum*.

تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن اختبار الصابونين المضاد للفطريات على سلالات الفيوزاريوم السابقة أظهر نشاطاً مثبطاً فعالاً ومهماً للغاية للمستخلص (63.33%؛ 80%، 75%) عند إضافته إلى المسحوق (63.33%؛ 68%؛ 50%) على التوالي.

بالنسبة لتأثير انحلال الدم، تظهر النتائج أن معدل انحلال الدم للمستخلص بتركيز 75 مجم/مل (61.86%) أعلى من معدل انحلال الدم لمسحوق الصابونين بنفس التركيز (47.44%). أظهر الاختبار أن مستخلص الصابونين له تأثير انحلالي عالي ضد كريات الدم الحمراء.

بالنسبة لتأثير المبيدات الحشرية، أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها لمدة 7 أيام أن المستخلص تسبب في الحد الأقصى لمعدل الوفيات بقيمة 100% لمدة 72 ساعة (3 أيام) مقارنة بالحد الأقصى لمعدل الوفيات بواسطة المسحوق هو 100% بعد 5 أيام.

وأخيراً، تؤكد النتائج أن تأثير المستخلص فعال للغاية عند إضافته مقارنة بالمسحوق.

الكلمات المفتاحية: صابونين، مستخلص، مضاد للفطريات، انحلال الدم، مبيد حشري.

LES ANNEXES

Tableau (1) : les résultats de l'activité antifongique.

| | Témoin sans extrait (mm) | Extrait 100mg/ml (mm) | % d'inhibition | Poudre 100mg/ml (mm) | % d'inhibition |
|--------------|---|--------------------------------------|---------------------------|-------------------------------------|---------------------------|
| Fus 1 | 60 | 11 | 63,33 | 22 | 63,33 |
| Fus 2 | 60 | 12 | 80 | 25 | 58,33 |
| Fus 3 | 60 | 15 | 75 | 30 | 50 |

Tableau (2) : Evaluation des absorbances des tubes contenant une suspension érythrocytaire en présence de la poudre et l'extrait de saponine du quinoa, incubé à 37C° durant 60 minutes à 548 nm.

| Concentration mg/ml | Saponine poudre(S) | L'extrait (ST) |
|----------------------------|---------------------------|-----------------------|
| 25 | 0.86 | 0.15 |
| 75 | 0.99 | 0.05 |

Témoin positif=0.582

Témoin négatif=0.86

Tableau (3) : Evaluation de taux d'hémolyse (%) de la poudre et l'extrait de saponine par apport à l'hémolyse totale.

| Concentration mg/ml | Taux d'hémolyse% de saponine poudre(S%) | Taux d'hémolyse% de l'extrait (ST%) | Taux d'hémolyse totale %(témoin) |
|--------------------------------|--|--|---|
| 25 | 32.32 | 50.25 | 100 |
| 75 | 47.32 | 61.86 | 100 |

Tableau (4) : Evaluation le nombre des pucerons vivants pendant 7 jours à l'effet de saponine poudre par apport au témoin.

| Jours | Témoin(T) | Répétition1(R1) | Répétition2(R2) | Répétition3(R3) |
|--------------|------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 1 | 10 | 7 | 8 | 3 |
| 2 | 10 | 5 | 6 | 1 |
| 3 | 7 | 4 | 2 | 1 |
| 4 | 6 | 3 | 0 | 1 |
| 5 | 4 | 1 | 0 | 0 |
| 6 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 1 | 0 | 0 | 0 |

Tableau (5) : Evaluation le nombre des pucerons vivants pendant 7 jours à l'effet de saponine extrait par apport au témoin.

| Jours | Témoin(T) | Répétition1(R1) | Répétition2(R2) | Répétition3(R3) |
|--------------|------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 1 | 10 | 4 | 3 | 2 |
| 2 | 6 | 2 | 1 | 1 |
| 3 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 1 | 0 | 0 | 0 |

Tableau (6) : Mortalité (%), pendant 7 jours des pucerons à l'effet de saponine poudre.

| Jours | Témoin % | Répétition (1) % | Répétition (2) % | Répétition (3) % |
|--------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 1 | 37 | 30 | 20 | 60 |
| 2 | 60 | 50 | 40 | 90 |
| 3 | 66.66 | 42.85 | 71.42 | 85.71 |
| 4 | 78 | 50 | 100 | 83.33 |
| 5 | 92 | 75 | 100 | 100 |
| 6 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 7 | 100 | 100 | 100 | 100 |

Tableau (7) : Mortalité (%), pendant 7 jours des pucerons à l'effet de saponine extrait.

| Jours | Témoin % | Répétition (1) % | Répétition (2) % | Répétition (3) % |
|--------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 1 | 0 | 60 | 70 | 80 |
| 2 | 40 | 66.66 | 83.33 | 83.33 |
| 3 | 40 | 100 | 100 | 100 |
| 4 | 40 | 100 | 100 | 100 |
| 5 | 30 | 100 | 100 | 100 |
| 6 | 30 | 100 | 100 | 100 |
| 7 | 90 | 100 | 100 | 100 |

Tableau (8) : Effet de la poudre et l'extrait de saponine du quinoa sur le taux de mortalité des pucerons.

| Jours | Témoin | Saponine poudre(S) | L'extrait (ST) |
|--------------|---------------|---------------------------|-----------------------|
| 1 | 0% ±0 | 37% ±21 | 70% ±10 |
| 2 | 20% ±0,28 | 60% ±26 | 77,7% 11,79 |
| 3 | 35% ±0,071 | 66,6% ±21,81 | 100% ±0 |
| 4 | 40% ±0 | 78% ±25 | 100% ±0 |
| 5 | 65% ±0,071 | 92% ±14 | 100% ±0 |
| 6 | 80%±0,141 | 100% ±0 | 100 ±0 |

| | | | |
|---|--------|---------|--------|
| 7 | 90% ±0 | 100% ±0 | 100 ±0 |
|---|--------|---------|--------|

BUSINESS MODEL

CANVAS

(BMC)

| | | |
|--|--|--|
| <p>PROPOSITION DE VALEUR</p> <p>Un insecticide naturel, biologique et dégradable, qui lutte efficacement contre l'ensemble des insectes, non toxiques pour les êtres humains et animaux.</p> | <p>ACTIVITÉS CLÉS</p> <ul style="list-style-type: none"> -Recherche et développement - Production et extraction de la matière première. -Formulation et conditionnement de l'insecticide -Vente de distribution et marketing -Gestion logistique | <p>PARTENAIRES</p> <ul style="list-style-type: none"> -Incubateur - Le producteur -Les entreprises -Agriculteur |
| <p>RELATION CLIENTS</p> <ul style="list-style-type: none"> -Services client -Conseil technique et agronomique -La formation et démonstration et programme de fidélité. | <p>DISTRIBUTION</p> <ul style="list-style-type: none"> -Vente direct (agriculteur ; jardinier -Vente en ligne (partenariat) | <p>STRUCTURE DE COÛTS</p> <ul style="list-style-type: none"> -Coûts de recherche et développement -Coûts de production et extraction d'insecticide. -Coûts de formulation et conditionnement. -Coûts des marketings ; salaire ; factures ; eau ; électricité ; gaz... |
| <p>RESSOURCES CLÉS</p> <ul style="list-style-type: none"> -Partenariat avec des producteurs -Savoir-faire de matière - Extraction de l'insecticide -Les équipes de recherche et développement -Les équipes de marketing et vente. -Réseaux de distribution. | <p>SOURCES DE REVENU ET MODÈLE DE PRICING</p> <ul style="list-style-type: none"> - Vente directe du produit aux agriculteurs et aux jardiniers. -Vente en ligne -Distribution via points des ventes. | <p>SEGMENTS DE Client</p> <ul style="list-style-type: none"> -Agriculteur Jardinier et entreprises. |

Année universitaire : 2023/2024

Réalisé par : REDJAMA Wafa / BENHAMADI Fatima

Les saponines végétales en tant qu'insecticide et antifongique naturels (fabrication d'un bio insecticide)

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique Et de l'obtention du diplôme Startup-Brevet dans le cadre de l'arrêté ministériel 1275

Spécialité : Biologie et physiologie de reproduction végétale

Résumé

Cette étude est réalisée au niveau de laboratoire de l'institut national de la recherche agronomique d'Algérie (INRAA) de Constantine El Khroub et les laboratoires de la faculté des sciences de la nature et la vie Université des frères Mentouri Constantine.

L'objectif de cette étude est d'évaluer les effets biologiques de l'extrait et la poudre des saponines des graines de quinoa.

L'activité antifongique est réalisée sur PDA sous les effets de l'extrait et la poudre de saponine avec une concentration de 100µg/ml, les souches utilisées sont Fusarium graminearum et 2 fusarium oxysporum.

Les résultats obtenus indiquent que le test antifongique de saponine sur les souches du fusarium précédentes a montré une activité inhibitrice efficace et hautement significative de l'extrait (63.33% ; 80%,75%) par apport à la poudre (63.33% ; 68% ; 50%) respectivement.

Pour l'effet hémolytique, les résultats montrent que le taux hémolyse de l'extrait à concentration de 75mg/ml (61,86%) est plus élevé que le taux d'hémolyse de saponine poudre à la même concentration (47,44%). Le test avait montré que l'extrait de saponine a un effet hémolytique élevé contre les érythrocytes.

Pour l'effet insecticide, les résultats obtenus pendant 7 jours ont montré que l'extrait a provoqué un taux de mortalité maximal avec une valeur de 100% pendant 72h (3jour) en comparaison avec le taux maximal de mortalité par la poudre est de 100% après 5 jours.

Enfin les résultats confirment que l'effet de l'extrait a une grande efficacité par apport à la poudre.

Mots clés : saponine, extrait, antifongique, hémolyse, insecticide.

Laboratoires de recherche :

- 1- Laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie Université des Frère Mentouri Constantine1
- 2- L'institut national de la recherche agronomique d'Algérie (INRA) de Constantine(Khroub).

Encadrante : BOUCHARÉB Radia (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Présidente : ZEGHAD Nadia (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur : HARRAT Wahiba(chercheur labo INRAA constantine)

