

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun–Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie (D04)

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie et sécurité alimentaire

Présenté par :

MAROUF Nadjjet

MELIANI Bakhta

SIYOUCEF Ichraq

Thème

**Etude comparative entre quelques activités biologiques
de *Nigella Sativa* et *Nigella Damascena***

Soutenu publiquement le 29 Juin 2019

Jury:

Président: Mr RAHMOUN B.

Encadreur: M^{me}DAHLIA F

Co-encadreur: M^{me}BAROUAGUI S.

Examineur: M^{me} ABDI F.

M.C.B.

M.A.A.

M.A.A.

M.A.A.

Faculté SNV

Faculté SNV

Faculté SNV

Faculté SNV

Année universitaire 2018/2019

Remerciement

En premier lieu et avant tout, nous remercions Dieu, le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage et la patience pour réaliser ce travail.

Nous tenons à exprimer nos profondes gratitudee à notre promotrice M^{me} DAHLIA. F et notre co-promotrice M^{lle} BAROUAGUI. S, d'avoir accepté de nous encadrer, nous guider dans la réalisation de ce travail et pour leurs conseils.

Nos vifs remerciements aux membres de jury : M^{me}. ABDI. F et Mr. RAHMOUNE. B, d'avoir accepté de juger notre travail.

Un grand merci à notre responsable de spécialité M^{me}. BOUBKER, B et la famille de promotion : toxicologie et sécurité alimentaire 2018-2019.

Nous remercions également tous les membres du laboratoire qui nous ont beaucoup aidés à réaliser ce travail dans des bonnes conditions.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire de fin d'étude :

*A mes parents : les êtres les plus chers du monde, l'exemple du sacrifice
d'affection et de patience que Dieu les bénisse et garde à mois.*

*A mon très cher époux WADEH avec qui je souhaite vivre une très
heureuse vie.*

*A mes sœurs particulièrement : MOKHTARIA, NACERA, GHALIA
et leurs enfants*

A mes particulièrement frères : TAHER, MANSOUR

A mes amies NADJET, KHALIDA, ICHRAQ, NACERA, AMEL

A mes familles MELIANI ET MECHRI.

BAKHIA

Dédicaces

Je remercie tout d'abord mon dieu le tout puissant qui m'a donné la volonté, la force et le courage pour réaliser ce travail.

Je dédie ce travail à :

Mes parents, Le plus beau cadeau que le Bon Dieu m'a offert, qu'Allah les garde pour nous.

Ma très chère sœur : Sarah, que Dieu la soutient au bon chemin et la protège.

Mon cher neveu : Ahmed, Que dieu les garde et les protège.

Mes très chers frères : Moussab, Oussama, Yasser, Taha Alaa El Din pour leur patience, leur aide et ses encouragements. Que dieu les garde et les protège.

Mes chères amies : Hanan, Abir, Nadjet, sarah, Anissa et Ahlem.

Toute ma famille SIYOUCEF.

Je prie ALAH de nous rassembler dans son paradis et à côté de son prophète (satisfaction et salut de Dieu sur lui).

ICHAQ

Dédicaces

Allah le bénéfique soit loué et qu'il nous guide sur la bonne voie

Je dédie ce mémoire

Les plus chers au monde, mes parents

A mon frère Houcine et mes sœurs

*Et mes chers amis Ichraq, Sarah, Nacera, Amel, Khaleda, Nacera et
mon fiancé AbdElbasset Abdelsamade.*

NADJET

Liste des abréviations

ATCC :	American Type Culture Collocation.
Al :	Aluminium.
AlCl₃ :	Chlorured'aluminium.
Fe₂ (SO₄)₃ :	Sulfated'ammoniumferrique.
GAE:	Acide Gallique Equivalent.
Gram⁺:	Gram positive.
Gram⁻:	Gram négative.
Na₂CO₃ :	Carbonate de Sodium.
ONPG :	Ortho-Nitro-Phényl-β-Galactoside.
PDA :	Potato dextrose agar (gélose dextrosée à la pomme de terre).
Ps:	Poids de l'extrait sec.
PI :	Poids initial.
R% :	Rendement d'extraction en pourcent.
T :	Teneur.

Liste des figures

Figure 1 : Graines de <i>Nigella sativa</i> et <i>Nigella damascena</i>	8
Figure 2: Schéma du protocole expérimental	10
Figure 3: Quelques étapes de préparation des extraits	12
Figure 4: Différents couleurs des graines de <i>N. sativa</i> et <i>N. damascena</i>	17
Figure 5: Forme des graines de <i>N. sativa</i> et <i>N. damascena</i>	18
Figure 6: Texture des graines de <i>N. sativa</i> et <i>N. damascena</i>	18
Figure 7: Variations des longueurs des graines entre <i>N. sativa</i> et <i>N. damascena</i>	19
Figure 8: Variation des largeurs des graines entre <i>N. sativa</i> et <i>N. damascena</i>	20
Figure 9: Variation des poids des graines entre <i>N. sativa</i> et <i>N. damascena</i>	20
Figure 10: Variation de poids de mille graines entre <i>N. sativa</i> et <i>N. damascena</i>	21
Figure 11: Variation du poids volumique des graines entre <i>N. sativa</i> et <i>N. damascena</i>	22
Figure 12: Rendements d'extraction chez les deux espèces de Nigella.....	22
Figure 13: Variations des teneurs en polyphénols totaux au niveau des différents extraits chez <i>N. Sativa</i> et <i>N. damascena</i>	23
Figure 14: Variations des teneurs en flavonoïdes au niveau des différents extraits chez <i>N. Sativa</i> et <i>N. damascena</i>	24
Figure 15: Variations des teneurs en tanins condensés au niveau des différents extraits chez <i>N. Sativa</i> et <i>N. damascena</i>	25
Figure 16: Témoins positifs (a) sur <i>S. aureus</i> et (b) sur <i>E .coli</i>	27
Figure 17 : Activité antibactérienne des différents extraits de <i>N. sativa</i> et <i>N. damascena</i>	28
Figure 18: Activité antifongique des différents extraits de <i>N. sativa</i> et <i>N. damascena</i>	29

Liste des tableaux

Tableau 1: Provenances des souches microbiennes	9
Tableau 2: Résultats des caractères morphologiques des germes étudiés.	26
Tableau 3: Diamètres des zones d'inhibition (mm) provoqués par les antibiotiques sur les deux souches bactériennes.	27

Table des matières

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Table des matières	
Introduction générale.....	Error! Bookmark not defined.
Matériel et méthodes	7
1. Objectifs.....	7
2. Lieu et période de travail	7
3. Matériel.....	7
3.1. Matériel végétal	7
3.2. Matériel microbien	7
3.3. Matériel de laboratoire et produits utilisés	9
4. Méthodes.....	10
4.1. Analyses morphologiques.....	11
4.2. Analyses phytochimiques	11
4.2.1. Préparation des extraits	11
4.2.2. Détermination du rendement d'extraction.....	12
4.2.3. Dosage des polyphénols totaux	12
4.2.4. Dosage des flavonoïdes	13
4.2.5. Dosage des tanins condensés.....	13
4.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne	14
4.4.1. Préparation des extraits	14
4.4.2. Préparation des souches	14
4.4.3. Standardisation de l'inoculum bactérien	14
4.4.4. Diffusion en milieu gélosé	15
4.2.6. Evaluation de l'activité antifongique	15
5. Analyses statistiques	16
Résultats et discussions	17
1. Caractères morphologiques.....	17

1.1.	Caractères qualitatifs	17
1.1.1.	Couleur des graines	17
1.1.2.	Forme des graines.....	17
1.1.3.	Texture des graines.....	18
1.2.	Caractères quantitatifs	19
1.2.1.	Longueur des graines	19
1.2.2.	Largeurs des graines.....	19
1.2.3.	Poids des graines	20
1.2.4.	Poids de mille graines	21
1.2.5.	Poids volumique.....	21
2.	Caractères biologiques	22
2.1.	Caractérisation des extraits.....	22
2.1.1.	Rendement d'extraction	22
2.1.2.	Teneur en polyphénols totaux	23
2.1.3.	Teneur en flavonoïdes	24
2.1.4.	Teneur en tanins condensés.....	25
2.2.	Activité antibactérienne	25
2.2.1.	Caractéristiques des souches bactériennes utilisées.....	25
2.2.2.	Test antibactérien	26
2.3.	Activité antifongique	28
3.	Discussion	30
	Conclusion.....	Error! Bookmark not defined.
	Références bibliographiques	Error! Bookmark not defined.
	Annexes	
	Résumé	

Introduction Générale

Depuis les temps les plus reculés, les plantes jouent un rôle important dans la vie humaine, elles s'en servent pour nourrir, se vêtir et s'en servent pour se soigner. Les plantes médicinales sont connues depuis 5000 ans avant J.C en Inde. Le premier texte connu sur les vertus médicinales des plantes n'a été gravé que 2000 ans plus tard, sur des tablettes d'argile par les Sumériens, en basse Mésopotamie. Depuis l'homme cherche inlassablement à percer leurs mystères et à en découvrir l'ensemble des qualités thérapeutiques (Darconseil, 1960).

Les plantes médicinales sont les plantes utilisées pour ses propriétés thérapeutiques. Environ 80% de la population mondiale se soigne exclusivement avec des plantes médicinales, dont une de ses parties (feuille, racine, graines, fruits et fleurs) peut être employée dans le but de guérir. Aujourd'hui, les plantes médicinales sont la base de la phytothérapie et de l'homéopathie et plus de 50% des médicaments en vente libre sont à base de plantes médicinales (Gagnon, 2016).

Le monde végétal comme le monde animal n'est pas à l'abri des agressions microbiennes, de nombreuses plantes résistent aux d'agents pathogènes en les empêchant de pénétrer dans leurs tissus. Les bactéries et les champignons profitent de la moindre occasion pour pénétrer de façon passive dans la plante et ils prennent avantage des blessures et des stomates ouverts pour atteindre l'intérieur des feuilles afin de se propager dans tout le végétal. Ils ont développé au cours de leur évolution un système offensif très performant grâce à la production d'enzymes susceptibles de digérer les barrières structurales de défense de la feuille ou autres organes de la plante hôte (Jean et *al*, 2016).

Lorsque la plante ne peut pas se défendre, on passe à d'autres moyens pour les combattre. Il y a deux méthodes de lutte : la lutte chimique qui consiste à effectuer des traitements à base de produits chimiques, des fongicides synthétiques et des pesticides. Actuellement, la lutte chimique est le moyen le plus utilisé pour la défense des végétaux. En moyenne 4 à 5 kg de pesticides sont épandus par hectare. La deuxième méthode, la lutte biologique qui est en essor car elle présente une alternative à la lutte chimique souvent dangereuse pour l'homme. Elle est basée sur d'utilisation d'organismes vivants ou de leur produit (Asdrubal, 2010).

La plupart de ces plantes contiennent des composants antimicrobiens utiles contre les bactéries pathogènes ou opportunistes résistantes aux antibiotiques (*Escherichia coli*, *Campylobacter spp*, *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* etc.).

Il existe de nombreuses études qui ont porté sur l'extraction des principes actifs de ces plantes médicinales, leur impact et leurs vertus bienfaites sur la santé humaine. Parmi ces plantes, on a choisi de travailler sur la Nigelle. Cette plante a été utilisée par la médecine traditionnelle depuis des millénaires pour lutter contre de très nombreuses affections. Des archéologues ont trouvé une fiole d'huile de graine noire dans le tombeau du Pharaon Toutankhamon (-1353 à -1343). Le secret du teint royal de Néfertiti serait attribué au beurre de karité et à l'huile de nigelle (Saidi, 2011), elle était considérée par les Egyptiens de l'Antiquité comme une panacée (Ghedira et Le Jeune, 2010).

Au 1^{er} siècle après J.C., la médecine Discorde indiquait que les graines du cumin noir soulagent les maux de tête et de dents, éliminent les sécrétions nasales et les vers intestinaux, et à fortes doses, favorisent la sécrétion urinaire et la montée de lait (Khadr, 2008).

Au Moyen-âge dans le monde Arabo-musulmane, le prophète Mohamed « PSL » comme il est écrit dans son la ouvre hadith, connaissait cette plante et ses qualités : « *Soignez-vous en utilisant la graine noire, c'est un remède contre tous les maux, à l'exception de la mort* » (Al-Boukhari, Mouslim) (Paquereau, 2016).

L'érudit musulman Al-Biruni (973-1048) rédigea un traité sur les premières origines indiennes pour cette plante, sa valeur nutritive et sanitaire. Dans la médecine Gréco-Arabe, fondée par Hippocrates, Galie et Avicenne considèrent la *Nigella* comme un remède contre les désordres digestifs et hépatiques. Dans son livre de « *Al- Qanun fi al-tibb* », Avicenne déclare que la graine noire agit comme un expectorant, elle stimule l'énergie du corps et aide à récupérer de la fatigue et du découragement (Khadr, 2008).

Nigella dérive du mot latin *niger*, noir, à cause de ses graines noires. Elle est connue sous plusieurs noms selon les pays et les régions dans lesquelles elle était utilisée. On la nommait *black caraway*, *black seed* en anglais. Dans les pays arabes, on lui compte plusieurs noms : *habba sawda*, *habbet el baraka*, *sanouj ou kammun aswad*. En Inde on l'appelle *kalonji*, *Ach-Choniz*, en Iran, *Ach-chinqat*. Puis en France, elle est connue sous les noms de *Nigella cultivé*, *cumin noir*, *nigelle des jardins*, *herbe aux épices* (Khan, 1999 ; Ghedira et Le Jeune, 2010 ; Khadr, 2008)

Le genre *Nigella* appartient au règne de *Plantae*, sous règne : *Tracheobionta*, division : *Magnoliophyta*, de la classe de *magnoliopsida*, ordre de *Ranunculaceae* (Ghedira et Le Jeune, 2010). La nigelle est une plante herbacée appartenant à la famille des *Renonculacées*. Elle comprend 14 espèces. Certains d'entre elles étant d'une importance économique, par exemple

les épices, les plantes aromatiques, médicinales et ornementales. Les plus connues sont *Nigella sativa* (Nigella cultivée), *Nigella arvensis* (Nigelle des champs), *Nigella damascena* (Nigelle de Damas) et *Nigella orientalis* (Nigelle orientale) (Premysl et al., 2006).

Elle est originaire du Moyen-Orient, de l'Europe centrale et de l'Ouest de l'Asie. Maintenant, elle est cultivée dans plusieurs régions du monde surtout dans le bassin méditerranéen et en Inde. Elle se développe sur les terres semi-arides au sein de communautés naturelles où prédominent les thérophytes (Kehili et al., 2017). Elle est cultivée très largement en Russie, Turquie, Egypte, Arabie Saoudite, Ethiopie, Afrique du nord, Syrie, dans les Balkans, en Moyen et Extrême orient, Inde, Bangladesh, au Srilank. Elle est très rare en Europe (champs du Midi en France), quelque fois dans les jardins (Ghedira et Le Jeune, 2010).

La nigelle (*Nigella sativa*) est une plante annuelle herbacée, atteignant 30 à 60 cm de hauteur, de croissance rapide, à tige dressée ramifiée et plus ou moins velue et à racine principale persistante et allongée. Les feuilles sont très découpées (tri-pennatiséquées, à segments lancéolés à linéaires), d'aspect plumeux et de couleur gris-vert. Il n'y a pas de feuilles réunies en involucre immédiatement autour de la fleur, contrairement à *Nigella damascena* (Teuscher et al., 2005).

Les fleurs sont petites, solitaires et terminales, bisexuées, radiales, très riches en nectar, à pétales blanchâtres et sépales pétaloïdes et présentent de nombreuses étamines insérées sur le réceptacle. Le périanthe de type 5 est coloré dans diverses nuances claires : blanc laiteux, blanc verdâtre ou blanc bleuté et verdâtre ou bleuté à l'extrémité. Le calice comporte 5 sépales simulant des pétales et qui sont assez brusquement rétrécis à leur base. La corolle est formée de 5 pétales beaucoup plus petits que les sépales et ayant chacun la forme d'un cornet à 2 lèvres, dont la lèvre supérieure est divisée en deux. Les pétales portent à leur sommet deux petits renflements arrondis, non amincis à leur base. Chaque fleur possède 8 cornets nectarifères, une lèvre inférieure bilobée dont les lobes se terminent en une protubérance émoussée, et une lèvre supérieure poinçonnée. Les étamines sont nombreuses et leurs anthères ne se terminent pas en pointe ; les 5 styles sont de même longueur et disposés à la verticale (Ghedira et Le Jeune, 2010 ; Teuscher et al., 2005).

Le fruit mûr constitué de follicule enflé, à peu près aussi large que long ; il est formé de 5 carpelles soudés s'ouvrent par une fente interne, renferment de nombreuses graines noires, ovoïdes, mesurant de 2 à 3.5 mm de long, trigones, disposées sur 2 rangées. La face

supérieure est finement granuleuse et réticulée (Ghedira et Le Jeune, 2010 ; Teuscher et *al.*, 2005).

La Nigelle de Damas "*Nigella damascena*" tire son nom de la capitale Syrienne en référence à son origine géographique. C'est une plante annuelle, dressée, glabre, peu ramifiée, peut atteindre jusqu'à 50 cm de haut. Elle se distingue nettement de l'espèce précédente par l'involucre qui entoure ses fleurs et par ses carpelles divisés. Ses feuilles sont alternes, finement divisées 2-3 fois. Les fleurs mesurent 1,5 à 3 cm de diamètre, elles sont de couleur bleu ciel, à la base avec une couronne de bractées divisées filiformes. Le Périanthe est simple, à 5 pétales étroits elliptiques, à courte tige. A l'intérieur, se trouvent 5 feuilles de nectaire foncées à 2 lèvres avec de nombreuses étamines et 1 ovaire à 5 styles. Le fruit est une capsule en boule entourée de bractées, où les 5 compartiments intérieurs contenant les graines qui sont entourés de 5 compartiments extérieurs vides (Bayer et *al.*, 1998), ses graines sont plus grosses que celle de l'espèce précédente, noires, à faces bombées et munies de plis transversaux, saillants, nombreux. Leur odeur est très agréable ; elle est surtout sensible quand on les écrase (Lanessan, 1885).

Les graines de nigelle sont riches en antioxydants. En effet, celle-ci permet une augmentation d'anticorps, les graines vont renforcer les défenses immunitaires, en prévention des maladies hivernales, dans les cas de mononucléoses infectieuses et de certaines maladies auto-immunes. Cette épice apaise le corps et aussi jouer un rôle essentiel dans le traitement des problèmes de peau, elle aide à lutter contre l'eczéma, le psoriasis, les dermatites, brûlures, gerçures et encore les coups de soleil (Benoit, 2017).

Des études *in vitro* montrent que l'extrait de graine de *N.sativa* induit une inhibition des activités hémolytiques des venins de serpents et de scorpions et protège les érythrocytes contre la peroxydation des lipides et la dégradation des protéines (Salem, 2005). D'autre part, l'extrait aqueux des graines de la Nigelle exerce des actions anti-inflammatoires et analgésiques significatives chez les souris (Ghedira, 2006).

Généralement les graines de Nigelle présentent une action préventive des cancers (Ghedira, 2006) et des effets anti-tumoraux contre la leucémie et le carcinome de poumon (Salem, 2005). L'extrait méthanolique présente une importante action cytotoxique sur le carcinome ascitique (Ghedira, 2006).

Les graines de Nigelle ont aussi une activité antidiabétique. Des études ont montré que l'extrait du mélange des graines noires avec d'autres plantes comme l'aloès, et myrrhe était un facteur thérapeutique utile dans le traitement du diabète insulino-dépendant (Khan, 1999).

La plupart des activités biologiques des graines de Nigelle sont principalement dues au constituant majeur de l'huile essentielle qui est la thymoquinone. Différents extraits, l'huile essentielle et la thymoquinone sont responsables de diverses propriétés pharmacologiques, particulièrement des activités antioxydantes, anti-inflammatoire, analgésique, antimutagène et antidiabétiques. L'huile fixe et la thymoquinone inhibent aussi la lipoperoxydation lipidique non enzymatique dans les liposomes. Elle est responsable aussi d'une importante activité analgésique (Ghedira, 2006). L'huile de *N.sativa* a un effet antiviral, il est associé à l'amélioration de la réponse des cellules CD4, CD8 (Salem, 2005), outre l'amélioration de l'immunité ; son extrait a eu un certain effet inhibiteur sur la protéase du virus de l'immunodéficience humaine mais les principes actifs responsables de cette activité n'ont pas été identifiés. (Aljabre et al., 2015).

L'huile essentielle de *Nigella sativa* a une activité antibactérienne contre plusieurs souches bactériennes, y compris : *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* ainsi que contre la levure pathogène *Candida albicans* (Khan, 1999).

L'extrait méthanolique et l'extrait aqueux des graines de *Nigella* ont montré une activité très efficace contre *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumonia* (Abdallah, 2017). L'extrait à l'éther éthylique a une inhibition dépendante de la concentration des bactéries à gram positive *Staphylococcus aureus*, des bactéries à gram négative *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. De plus, l'extrait d'éther a montré un effet synergique avec plusieurs antibiotiques et plus efficace contre les bactéries résistantes, notamment les souches *Vibrio choléra*, *Escherichia coli* et *Shigella dysenteria*. L'extrait alcoolique présente une activité contre *Micrococcus pyogenes*, *Shigella dysenteria*, *S.sonnei*, *S.boydii*, *Vibrio cholerae* et *Escherichia coli* (Gilani et al., 2004).

Le principe actif majeur responsable de l'activité antibactérienne de *Nigella sativa* L. est la thymoquinone (Aljabre et al., 2015). L'huile fixe présente également une excellente activité antifongique, notamment à l'égard d'*Aspergillus niger*, *Aspergillus species* et *Curvularia lunata*, ainsi que le *Candida albicans* (Gilani et al., 2004; Ghedira, 2006). Par ailleurs, la thymoquinone a un bon effet antifongique sur *Aspergillus species* et *Fusarium solani*. L'extrait à l'éther inhibe la croissance de la levure *Candida albicans* et exerce une

activité inhibitrice vis-à-vis des espèces de dermatophytes ; trichophyton, epidermophyton et microsporium (Aljabre et *al.*, 2015 ; Ghedira, 2006).

La diversification biologique et morphologique de la nigelle nous amène à poser la question suivante : quelle est la différence entre les deux espèces couramment utilisés dans notre région du point de vue morphologique, phytochimique et biologique (*N. Sativa* et *N. Damascena*) ?

Notre travail est une étude comparative entre deux espèces de Nigelle : *Nigella sativa* et *Nigella damascena*. Nous avons procédé d'une part, à l'extraction des composés phénoliques des graines de ces espèces, d'une autre part, nous avons étudié les activités antibactériennes et antifongiques des extraits obtenues. Ce travail a pour but :

- Evaluer de quelques caractéristiques morphologiques et biochimiques des graines de chaque espèce.
- Estimer l'effet antimicrobien des ces espèces de *Nigella* sur la croissance de deux souches bactériennes (*E. coli* et *S. aureus*) et deux champignons phytopathogènes.

PARTIE
EXPERIMENTALE

CHAPITRE –I–

Matériel & Méthodes

Matériel et méthodes

1. Objectifs

Notre travail est une étude comparative entre deux espèces de Nigelle : *Nigella sativa* et *Nigella damascena*. Il s'est axé sur certains points :

- ✓ Détermination de quelques caractéristiques morphologique des graines de chaque espèce ;
- ✓ Détermination des propriétés biochimiques ;
- ✓ Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique de ces espèces vis-à-vis deux souches bactériennes *E. coli* et *S. aureus*, deux champignons (*Fusarium oxysporum f.sp albedinis* et *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici*).

2. Lieu et période de travail

Notre travail a été réalisé dans les laboratoires de physiologie et de Microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie – Université Ibn Khaldoun – Tiaret. Il a été effectué sur une période de deux mois (17 février au 25 avril 2019).

Notre travail se divise en trois parties :

- La première partie consiste à préparer deux extraits aqueux et méthanolique à partir des graines des deux espèces de *Nigella*.
- La deuxième partie concerne la préparation de milieu de culture et l'isolement des différentes bactéries.
- La troisième partie est l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits obtenus.

3. Matériel

3.1. Matériel végétal

Les graines (figure 01) de *Nigella sativa*, d'origine Saoudite, et de *Nigella damascena* (500 g pour chacune des espèces), d'origine syrienne, ont été achetées chez un arboriste de Tiaret (Algérie) en Décembre 2018.

3.2. Matériel microbien

Deux souches bactériennes de référence ATCC (American type culture collection) et deux souches fongiques ont été choisi pour mener cette étude. Il s'agit de :

- *Escherichia coli* (*E.coli* ATCC 25923) est une espèce appartenant de la famille Enterobacteriaceae, bacille à Gram-, aéro-anaérobie facultative, on le trouve dans le tube digestif de l'être humain et des animaux à sang chaud. La plupart des souches peuvent provoquer une maladie grave d'origine alimentaire.
- *Staphylococcus aureus* (*S.aureus* ATCC 25922) est un coccus, de forme arrondie qui se présente sous la forme d'amas, Gram+, elle est également très présente au niveau des fosses nasales. Il est responsable d'infections cutanées et d'intoxication alimentaires.
- *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* est agent pathogène d'origine végétale appartenant à la classe des hyphomycètes, provoquent chez la tomate.
- *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* est l'agent d'un flétrissement vasculaire du palmier-dattier, appelé maladie du Bayouhd.

Les provenances de ces souches microbiennes sont illustrées dans le tableau 01.



(a)



(b)

Figure 1: Graines de *Nigella sativa* (a) et *Nigella damascena* (b)

Tableau 1: Provenances des souches microbiennes

Souches microbiennes	Provenance
<i>Escherichia coli</i>	Laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie-Tiaret.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie-Tiaret.
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	Laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie-Oran.
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i>	Laboratoire de physiologie végétale de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie-Tiaret.

3.3. Matériel de laboratoire et produits utilisés

La verrerie, les appareils et les produits chimiques utilisés pour l’accomplissement de notre travail sont illustrés dans le Tableau (Annexe 01).

4. Méthodes

Les différentes étapes réalisées lors de ce travail sont résumées dans l'organigramme suivant (figure 02) :

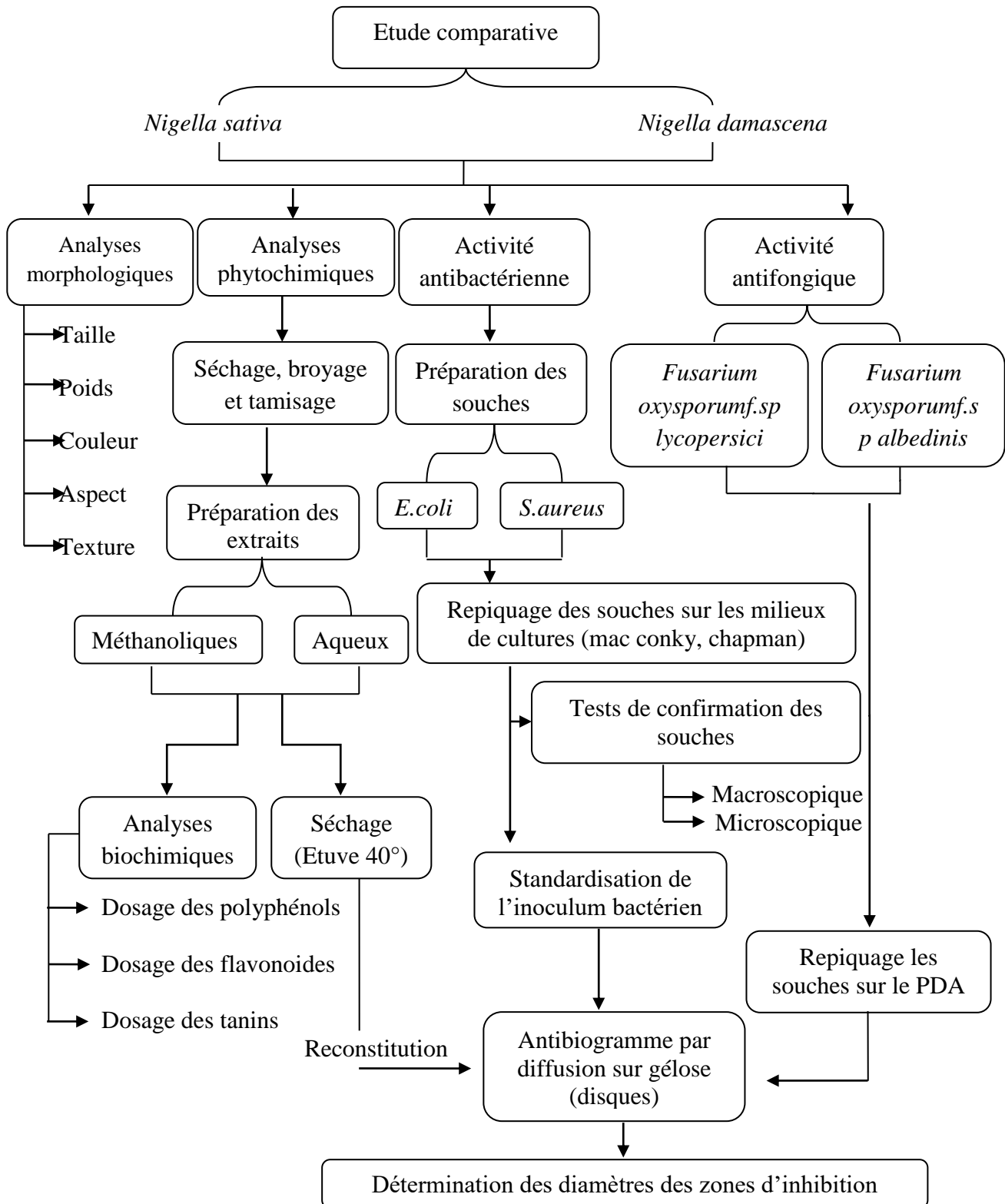


Figure 2: Schéma du protocole expérimental

4.1. Analyses morphologiques

Pour chacune des deux espèces étudiées du genre *Nigella*, les caractéristiques morphologiques ont été notées.

Vingt graines de chaque espèce ont été retenues pour les mensurations des longueurs, largeurs et poids des graines, ont été déterminées à l'aide d'un pied à coulisse et d'une balance de précision. La couleur, l'aspect et la texture de ces graines ont été aussi notés.

Le poids de mille graines de *N.sativa* et *N.damascena* ont été pesés. Cette opération a été répétée cinq fois.

Le poids volumique de chacune des espèces a été mesuré comme suit : un bécher de 100ml vide a été pesé et taré de la balance, puis a été remplis de graines de chacun des deux espèces et le poids a été note, l'opération a été répétée cinq fois.

4.2. Analyses phytochimiques

Les graines de *N.sativa* et *N.damascena* ont été séchés dans une étuve à 80 °C pendant 72h heures. Les graines séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamisées à travers d'un tamis de 1 mm de granulométrie afin de récupérer une poudre fine.

4.2.1. Préparation des extraits

Les extraits aqueux ont été obtenus en suivant le protocole de (Ennadir et al, 2014). 50 g du broyat de chaque espèce a été macéré avec 500 ml d'eau distillée et ont été placées sous agitation pendant 72 h à température ambiante dans un endroit sombre. L'extrait macéré a été filtré à travers d'un papier filtre puis a été centrifugé à 4000 tours par minute pendant 10 minutes. Le filtrat obtenu a été débarrassé de son solvant par évaporation à 40°C dans une étuve ventilée et ce afin d'obtenir un extrait sec. Ce dernier est ensuite reconstitué avec l'eau distillée.

Les extraits méthanoliques ont été obtenus en suivant le protocole de (Ennadir et al, 2014). 20 g du broyat de chaque espèce a été macéré avec 200 ml de méthanol dilué (80%) et ont été placés sous agitation pendant 72 h. L'extrait a été filtré à travers un papier filtre. Le filtrat obtenu a été séparé du solvant (méthanol) par évaporation en utilisant un évaporateur rotatif à 70°C. La solution résultante a été versée dans des verres à montre et placée dans une étuve ventilée à 40°C afin d'obtenir un extrait sec.



Figure 3: Quelques étapes de préparation des extraits

4.2.2. Détermination du rendement d'extraction

Le poids de l'extrait sec (PS), a été calculé par la différence entre le poids de la boîte pétri en verre contenant l'extrait et le poids la boîte de pétri vide. Le rendement de l'extraction (R %) est le rapport entre le poids de l'extrait sec (PS) et le poids initial (PI), est calculé par la formule suivante:

$$R\% = (PS/PI) \times 100$$

4.2.3. Dosage des polyphénols totaux

➤ Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été estimé selon la méthode colorimétrique basée sur l'utilisation le réactif de Folin-Ciocalteu, ce dernier est formé par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

➤ Technique

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Singleton et Ross, 1965) avec quelques modifications. Dans des tubes à essai, un volume de 0,5 ml de chaque extrait a été ajouté, et un mélangé avec 2,5 ml de réactif Folin-Ciocalteu (RFC) dilué 10 fois, et 1 ml d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à (20%). Les tubes ont été incubés pendant 15 minutes à température ambiante. L'absorbance a été lue à 760 nm contre un blanc sans extrait.

La concentration en composés phénoliques totaux a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage (Singleton et Rossi, 1965).

➤ Expression des résultats

La teneur en composés phénoliques est exprimée en milligramme d'Acide Gallique Equivalent (GAE)/100g MS d'extrait, selon la formule suivante (Gaouar, 2011):

$$T = [(C \times V \times D) / P] \times 100$$

Dont:

T: Teneur en polyphénols totaux (mg GAE /100g d'extrait).

C: Concentration des polyphénols en équivalent d'acide gallique déduit de la courbe.

D: Facteur de dilution.

P: Poids de l'échantillon (g).

V: volume de la solution analysée (ml).

4.2.4. Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

Le dosage des flavonoïdes s'effectue par la méthode du trichlorure d'aluminium. Cette méthode est basée sur l'oxydation des flavonoïdes par ce réactif ($AlCl_3$), le complexe résultant à une coloration jaunâtre mesurable à 420 nm. Ceci est dû au fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux oxygènes de la molécule phénolique agissant comme donneurs d'électrons (Dif et *al*, 2015).

➤ Technique

Dans des tubes à essai, 1,5 ml de la solution de chaque extrait ont été ajoutés à 1 ml de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 2% (dissout dans le méthanol pur). Le mélange a été agité puis incubé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 10 minutes. L'absorbance a été lue à une longueur d'onde de 430 nm. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligrammes équivalent de Quercitine par gramme de la matière végétale sèche (mg Eq Q/100 g MS) selon la formule précédente.

4.2.5. Dosage des tanins condensés

➤ Principe

Cette méthode de détermination du taux des tanins condensés est basée sur la condensation des composés poly-phénoliques avec la vanilline en milieu acide qui donnera un composé brun. L'absorbance est lue à une longueur d'onde (λ) de 500 nm (Dif et *al*, 2015).

➤ Technique

Pour le dosage des tanins condensés, 250 μ l de chaque extrait ont été ajoutés à 2,5 ml de la solution de sulfate ferreux (77 mg de sulfate d'ammonium ferrique $Fe_2(SO_4)_3$ dissous

dans 500 ml de (3 :2 n_butanol : HCl). Le mélange est placé dans un bain marie à 95 °C pendant 50 min, l'absorbance a été mesuré à 530 nm. La teneur en tanin condensée est exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg Eq AG/100 g MS) selon la formule suivante :

$$T = [(C \times V \times D) / P] \times 100$$

4.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne

4.4.1. Préparation des extraits

Les différents extraits que obtenus pour les deux espèces de *Nigella* ont été reconstitués dans l'eau distillée stérile pour, les extraits aqueux, et le méthanol (80%) pour les extraits méthanoliques à une concentration de 200 mg/ ml.

4.4.2. Préparation des souches

Afin de déterminer la forme des bactéries et la nature de leur paroi, un frottis bactérien a été préparé à partir de chaque souche puis coloré par la coloration de gram et examiné sous microscope au grossissement ($\times 100$).

Une suspension de chaque souche bactérienne (*E. coli* et *S. aureus*) a été préparée puis inoculée dans un tube à essai contenant 5ml de bouillon nutritif, à l'aide d'une anse de platine et incubée à 37°C pendant 18 heures. Les deux souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries en milieu solide correspondant à chaque souche (En milieu Chapman pour *S. aureus* et en milieu Mac Conkey pour *E. coli*). Par la suite, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures afin d'obtenir des cultures jeunes.

Les souches fongiques ont été repiquées en milieu PDA et incubées à 28°C pendant 7 jours pour d'obtenir des cultures jeunes.

4.4.3. Standardisation de l'inoculum bactérien

A partir des cultures jeunes de 18h d'incubation, pour chaque souche, deux à trois colonies bien isolées ont été prélevées et ont été placées dans un tube à essai stérile contenant 8 ml d'eau physiologique stérile. L'ensemble a été agité à l'aide de vortex pendant quelques secondes.

Selon Mac Farland, la standardisation de la suspension de 10^6 UFC/ml a été réalisée par un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 625 nm. La densité optique doit être comprise entre 0,08 et 0,13, l'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de bactérie s'il est trop faible, ou bien l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

4.4.4. Diffusion en milieu gélosé

➤ Principe

L'antibiogramme est une méthode de travail microbiologique, utilisant un milieu gélosé en boîte de pétri et des disques imprégnés d'antibiotiques à des concentrations déterminées. Cette méthode permet d'évaluer la sensibilité d'une bactérie pathogène vis-à-vis d'antibiotiques.

➤ Technique

La gélose de Mueller a été coulé dans sept boîtes de Pétri pour chaque souche, après la solidification du milieu, l'inoculum standardisé a été ensemencé en stries à l'aide d'un écouvillon sur toute la surface des boîtes de pétri qui ont été laissées à l'air libre pour les sécher pendant quelques minutes.

A l'aide d'une micropipette, les disques de papier Whatman N°3 stérilisés ont été imbibés de 60 µl d'extrait de *Nigella sativa* et *Nigella damascena* (méthanolique et aqueux) puis ont été déposés à la surface de la gélose ensemencée, Chaque boîte a comporté une seule concentration qui a été répétée trois fois. L'incubation des boîtes a été effectuée à 37°C pendant 24h.

Des témoins négatifs ont été préparés en imbibant les disques par 60 µl d'eau distillée ou de méthanol à la place des extraits, et des témoins positifs ont été utilisés. Il s'agit de disques antibiotiques (Tétracycline, céftazidime, oxacilline, colistin sulfate, Nalidixique, Métronidazole).

➤ Expression des résultats

L'activité antibactérienne a été déterminée par la mesure, à l'aide d'un pied à coulisse, des diamètres des zones d'inhibition (mm) qui ont été formées autour de chaque disque. La sensibilité des bactéries cibles envers les différents composés est classée selon les diamètres des halos d'inhibition déterminés par (Ponce, et al, 2003) :

- 0 à 8 mm : bactérie non sensible ou résistante.
- 9 à 14 mm : bactérie sensible ou intermédiaire.
- 15 à 19 mm : bactérie très sensible.
- 20 mm ou + : bactérie extrêmement sensible.

4.2.6. Evaluation de l'activité antifongique

L'activité antifongique de nos extraits de *Nigella sativa* et *Nigella damascena* a été testée sur deux souches fongiques (*Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*, *Fusarium*

oxysporum f.sp albedinis). À l'aide d'une anse de platine, un disque à partir les cultures jeunes de ces champignons a été prélevé et déposé sur le milieu de culture PDA. A la surface de la gélose des disques contenant 60µl d'extrait de *N.damascena* et *N.sativa* ont été déposés. L'incubation des boites a été effectuée à 28°C pendant 7 jours.

Des témoins négatifs ont été préparés en imbibant les disques par 60 µl d'eau distillée ou de méthanol à la place des extraits.

L'activité antifongique a été évaluée en mesurant le diamètre de la croissance de champignon et comparer avec une boite de témoin négatif. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$I \% = \frac{Dc - De}{Dc} * 100$$

Avec : **I %** : Pourcentage d'inhibition.

Dc : Diamètre des colonies dans les boites témoins.

De : Diamètre des colonies dans les boites qui contiennent l'extrait.

5. Analyses statistiques

L'étude statistique des résultats obtenus sont exprimés en moyenne ± écart type. La comparaison entre *N.sativa* et *N. damascena* est effectuée selon les différents paramètres étudiés et est déterminée par le test ANOVA (analyse de la variance). Ces analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel (SPSS V. 21) Type III. Les groupes homogènes de provenances concernant chaque trait mesuré sont séparés par le test de *Tukey*.

CHAPITRE – II – Résultats & discussion

Résultats et discussions

1. Caractères morphologiques

Pour les deux espèces : *Nigella sativa* et *Nigella damascena*, la couleur, la forme, la texture, la longueur, la largeur et le poids des graines ont été déterminé.

1.1. Caractères qualitatifs

1.1.1. Couleur des graines

La figure 04 montre que la couleur noire est la couleur dominante chez les deux espèces avec 70% chez *N.damascena* et 100% chez *N.sativa*, contrairement à la couleur marron qui est présente uniquement chez *N.damascena* avec un faible taux de 30%.

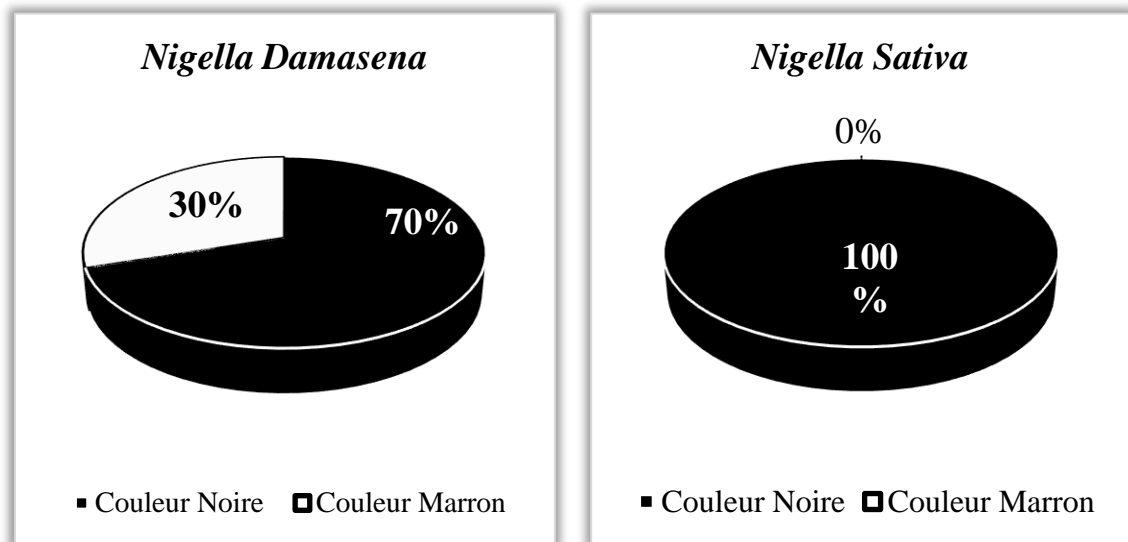


Figure 4: Différents couleurs des graines de *N.sativa* et *N.damascena*.

1.1.2. Forme des graines

Les graines de *N.sativa* et *N.damascena* prennent plusieurs formes, qui sont la forme allongées, semi-allongées ou rondes. La figure 05 illustre la fréquence des différentes formes chez les deux espèces.

Concernant les formes des graines, on constate que chez *N. sativa*, la majorité des graines ont une forme allongée (70%). Tandis que, 25% ont une forme semi-allongée et 5% seulement ont une forme ronde.

Chez *N. damascena*, la forme des graines est soit semi-allongée soit ronde (40%). Par contre les graines de forme allongée sont rares (20%).

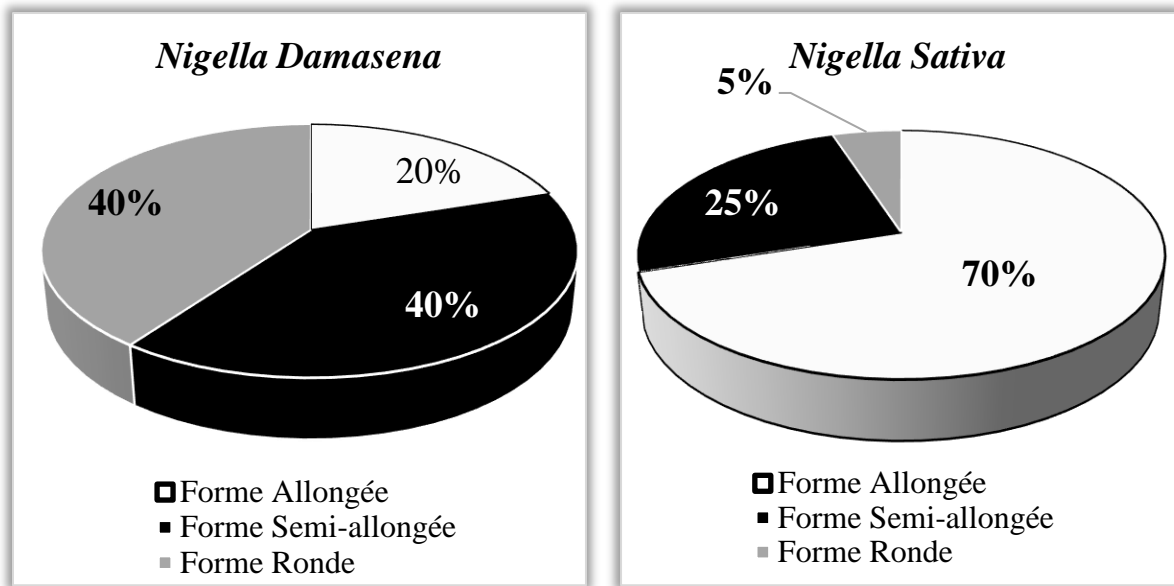


Figure 5: Forme des graines de *N.sativa* et *N.damascena*.

1.1.3. Texture des graines

Selon les résultats obtenus, la plupart des graines de *N.damascena* ont une texture lisse (65%) et 35% des graines de texture ridée. Par contre chez *N.sativa* toutes ces graines sont ridées (figure 06).

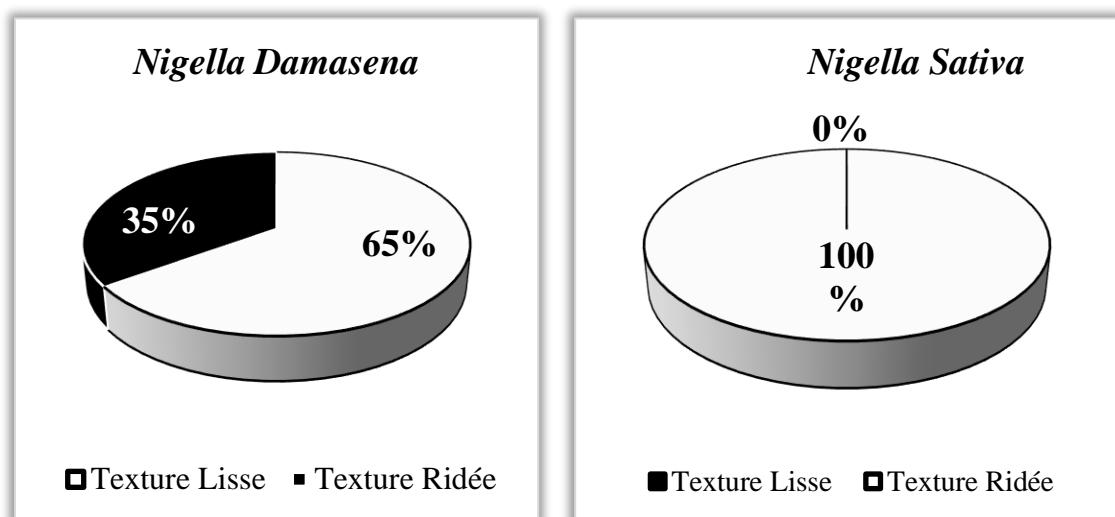


Figure 6: Texture des graines de *N.sativa* et *N.damascena*.

1.2. Caractères quantitatifs

1.2.1. Longueur des graines

D'après le tableau d'analyse des variances (Annexe 02), les valeurs obtenues pour la longueur des graines varient de façon très hautement significative ($P \leq 0,001$) d'une espèce à l'autre. Cette variation de longueur explique la variabilité des formes des graines de *N.sativa* et *N.damascena*.

A partir de la figure 07, on remarque une différence importante entre la longueur des graines de *N. sativa* et *N. damascena*. Les graines de cette dernière sont plus longues ($5,0265 \pm 0,505\text{mm}$) par rapport aux graines de l'autre espèce qui sont moins longues ($2,918 \pm 0,232\text{mm}$). Les longueurs des graines varient de 4,28mm à 5,027 mm chez *N. damascena* et de 2,42mm à 2,918mm chez *N. sativa*.

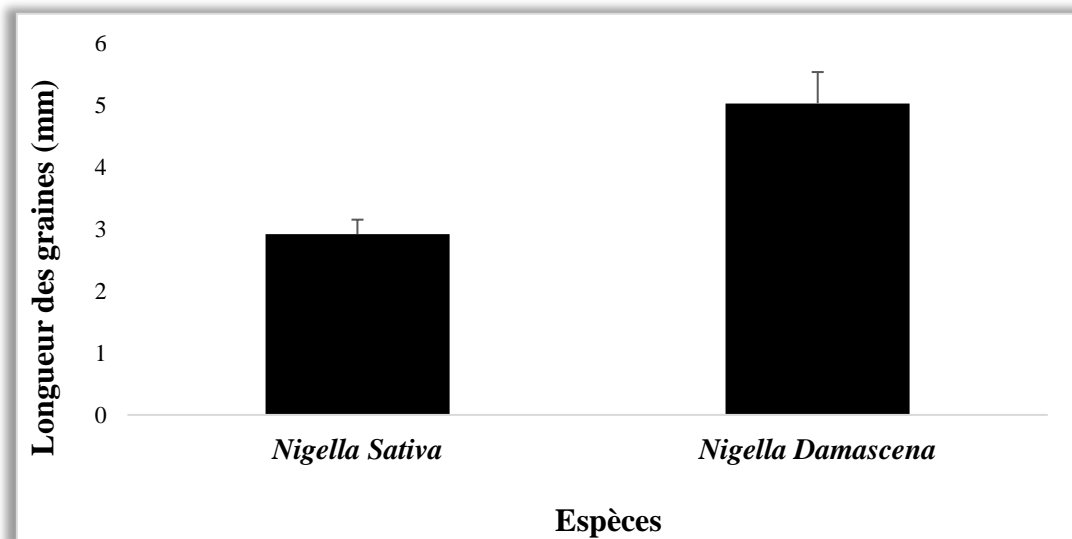


Figure 7: Variations des longueurs des graines entre *N.sativa* et *N.damascena*.

1.2.2. Largeurs des graines

Le tableau d'analyses de la variance (Annexe 02) montre qu'il y a une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) entre la largeur des deux espèces.

On constate que l'espèce de *N. damascena* est plus large que *N. sativa*. Les moyennes de largeur de *N. damascena* et *N. sativa* sont de 4,118 et 1,543 mm d'ordre respectif (figure 08).

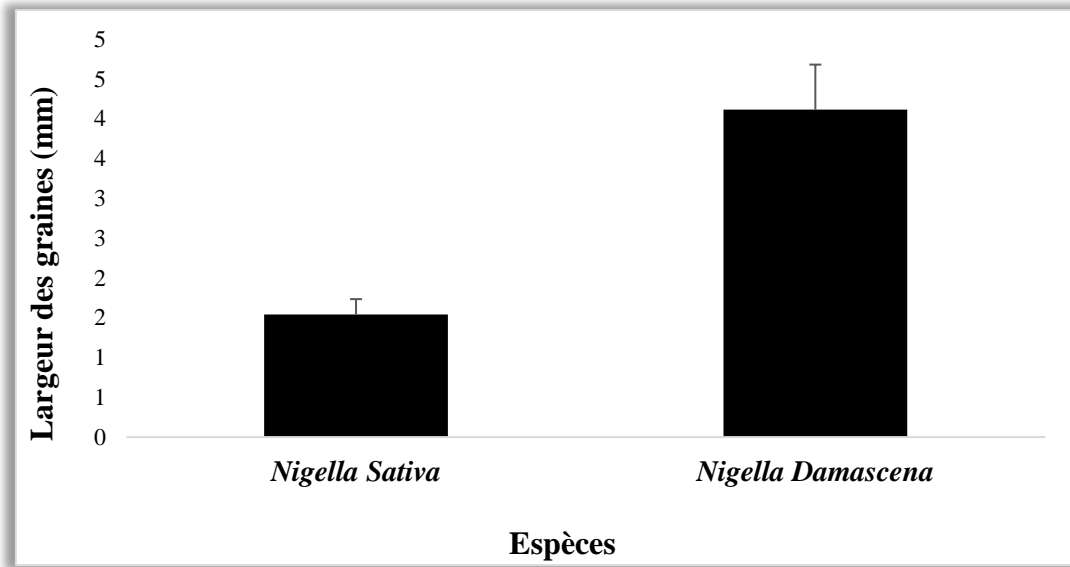


Figure 8: Variation des largeurs des graines entre *N.sativa* et *N.damascena*.

1.2.3. Poids des graines

La Figure 09 montre que le poids le plus important est enregistré chez *N.damascena* avec une moyenne de $0,022 \pm 0,005$ g. Une graine de *N.sativa* a un poids moyen de 0,003g. Cette variation entre les poids d'une graine de chacune des deux espèces est vérifiée par l'analyse de la variance qui révèle une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) entre les deux espèces (annexe 02).

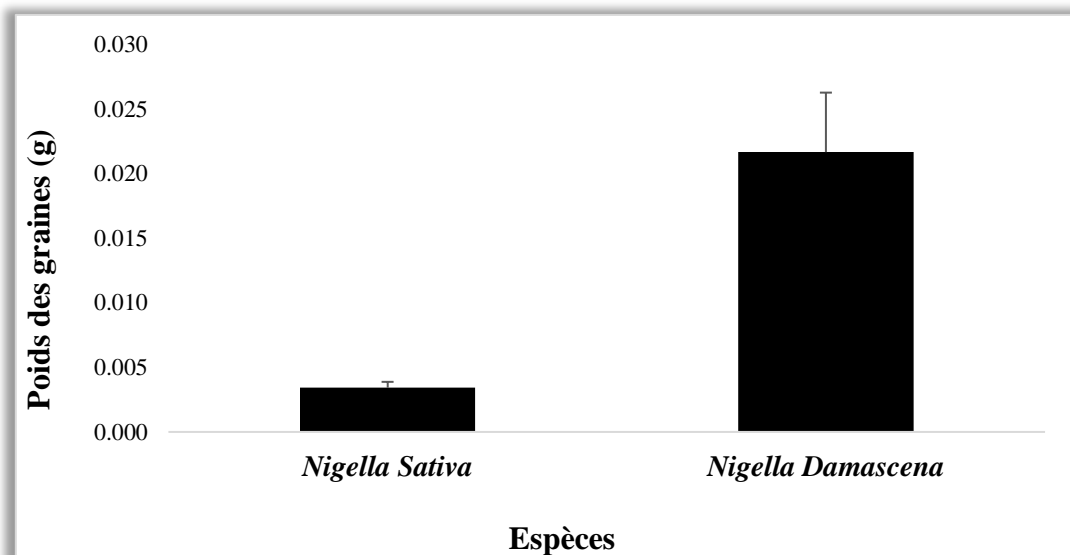


Figure 9: Variation des poids des graines entre *N.sativa* et *N.damascena*.

1.2.4. Poids de mille graines

Selon les résultats obtenus par l'analyse des variances (annexe 02), on constate qu'il y'a une différence de poids de mille graines entre ces deux espèces de *Nigella*. Cette différence est très hautement significative ($P \leq 0,001$).

Le poids de mille graines était plus élevé chez *N. damascena* qui a présenté un poids moyen de $18,625 \pm 1,621$ g. Ce poids a varié entre 17,292g et 21,680g. Contrairement à *N.sativa*, le poids de mille graines était faible et avait varié entre 2,98 g et de 2,99 g (figure 10).

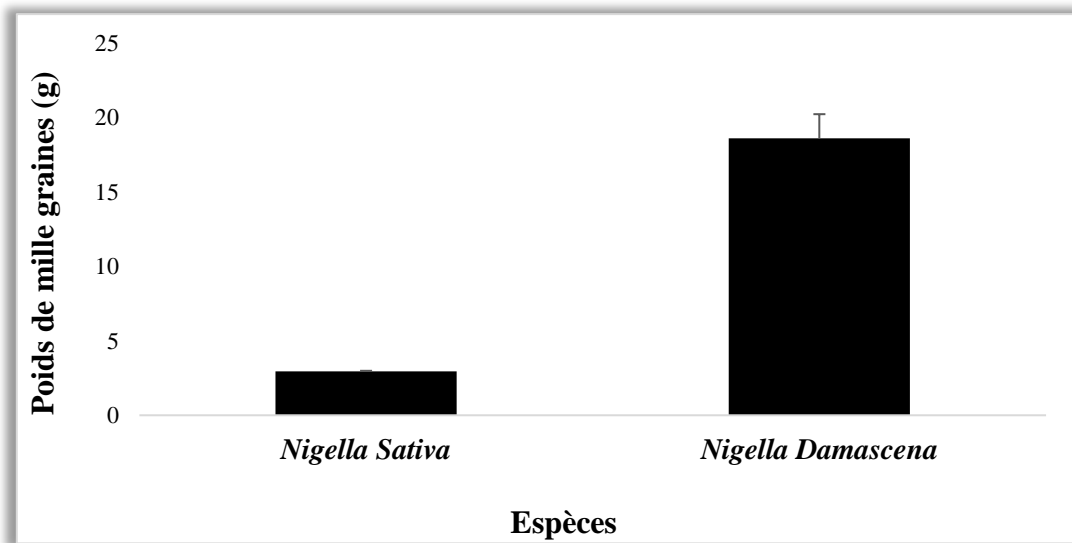


Figure 10: Variation de poids de mille graines entre *N.sativa* et *N.damascena*.

1.2.5. Poids volumique

D'après l'étude statistique, les valeurs obtenues (Annexe 02) indiquent que le poids volumique varie d'une façon très hautement significative ($P \leq 0,001$) entre les deux espèces.

L'histogramme dans la figure 11 montre que *N. damascena* a un poids volumique plus élevé avec une moyenne de $833,04 \pm 8,784$ g que *N. sativa* ($597,56 \pm 12,925$ g).

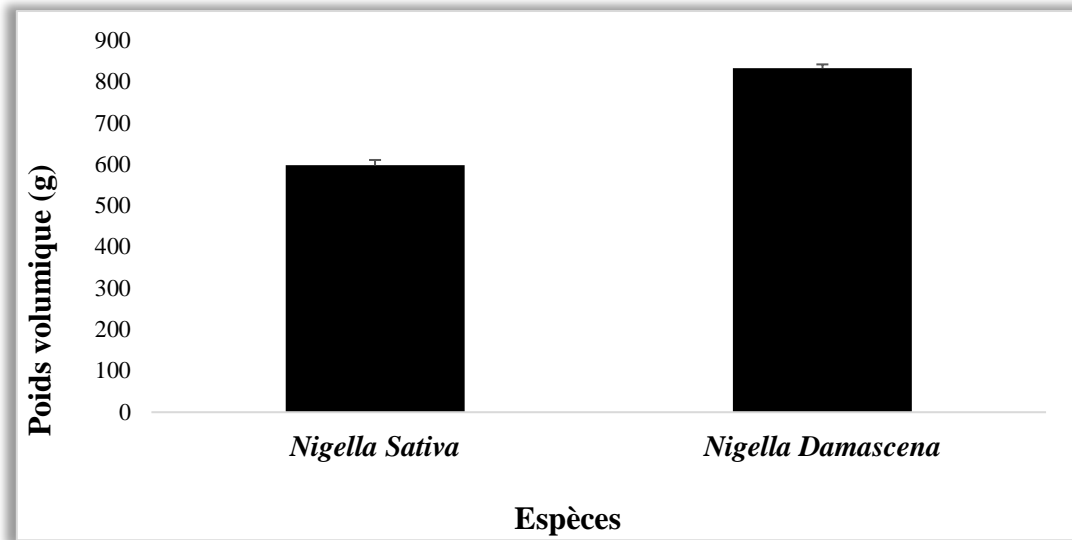


Figure 11: Variation du poids volumique des graines entre *N.sativa* et *N.damascena*.

2. Caractères biologiques

2.1. Caractérisation des extraits

2.1.1. Rendement d'extraction

Les valeurs obtenues pour les rendements d'extraction des deux solvants (eau distillée et méthanol) chez les deux espèces *N. sativa* et *N. damascena* sont représentées dans la figure suivante.

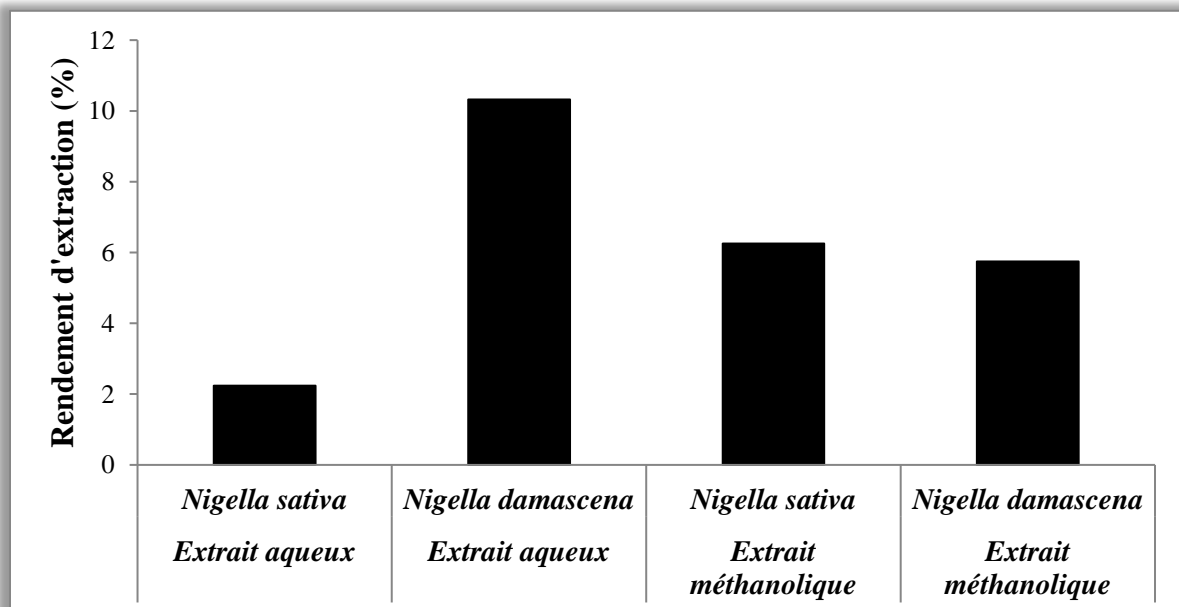


Figure 12: Rendements d'extraction chez les deux espèces de *Nigella*.

D'après les résultats obtenus, le meilleur rendement d'extraction a été enregistré chez l'extrait aqueux de *N.damascena* (10,32%). En revanche, l'extrait aqueux de *N.sativa* a un faible rendement d'extraction de 2,24%. L'extrait méthanolique enregistre des rendements d'extraction similaires chez les deux espèces. Il est de 6,25 % chez *N.sativa* et de 5,75% chez *N.damascena*.

2.1.2. Teneur en polyphénols totaux

L'analyse de variance (annexe 02) montre qu'il y a une différence très hautement significative ($P=0,001$) entre les deux espèces et entre les extraits méthanolique et aqueux ($P\leq 0,001$), mais il n'existe pas une différence significative ($P\geq 0,5$) pour l'interaction entre les espèces et les extraits.

D'après l'histogramme illustré dans la figure 13, nous avons constaté que l'extrait méthanolique qui est groupé dans le groupe homogène (b) a une teneur en polyphénols plus élevées que l'extrait aqueux de groupe homogène (a).

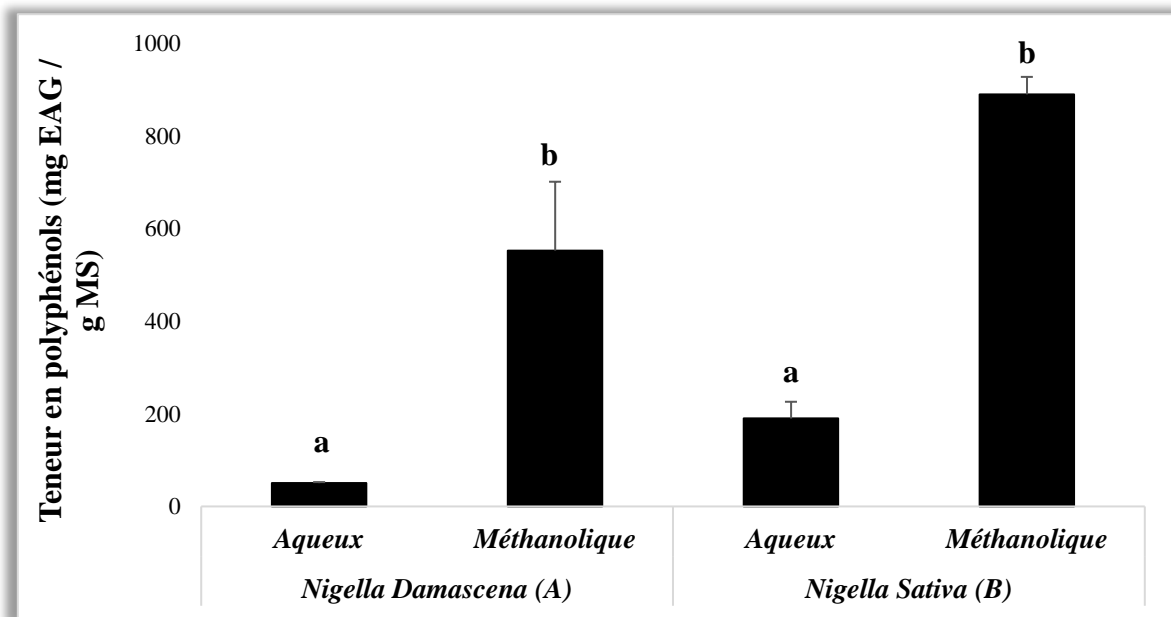


Figure 13: Variations des teneurs en polyphénols totaux au niveau des différents extraits chez *N. Sativa* et *N. damascena*.

La teneur en polyphénols de l'extrait méthanolique de *N.sativa* est élevée ($890,268\pm 37,701$ mg EAG/g MS) par rapport à celle de l'extrait méthanolique de *N.damascena* ($552,768 \pm 18,730$ mg EAG/g MS).

L'extrait aqueux de *N.sativa* a une teneur en polyphénols élevée ($189,970 \pm 36,162$ mg EAG/g MS) par rapport à celui de *N.damascena* ($50,387 \pm 148,730$ mg EAG/g MS). Donc entre ces espèces, la *N.sativa* est plus riche en polyphénols que *N.damascena*.

2.1.3. Teneur en flavonoïdes

Selon les valeurs obtenues, nous avons enregistré des différences très hautement significatives ($P \leq 0,001$) entre les deux espèces, entre les extraits méthanolique et aqueux et même entre les interactions entre les espèces et les extraits (annexe 02).

La figure 14 représente la teneur en flavonoïdes en fonction des extraits de chaque espèce.

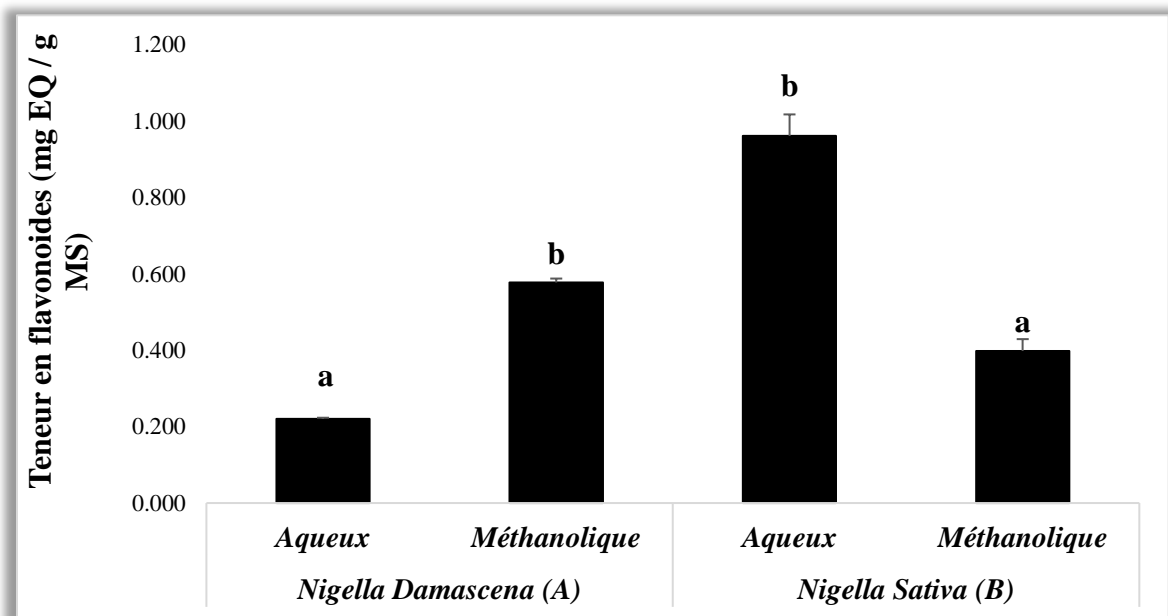


Figure 14: Variations des teneurs en flavonoïdes au niveau des différents extraits chez *N. Sativa* et *N. damascena*.

L'histogramme ci-dessus montre que l'espèce de *N.sativa* possède une quantité de flavonoïdes importante que l'espèce de *N.damascena*. Les teneurs en flavonoïdes les plus élevées sont enregistrées dans l'extrait aqueux de *N.sativa* et l'extrait méthanolique de *N.damascena* (groupe homogène b) avec $0,961 \pm 0,057$ mg EQ/g MS et $0,577 \pm 0,010$ mg EQ/g MS respectivement. Les teneurs les plus faibles sont enregistrées dans l'extrait méthanolique de *N.sativa* et l'extrait aqueux de *N.damascena* (groupe homogène a) avec $0,398 \pm 0,031$ mg EAG/g MS et $0,220 \pm 0,003$ mg EAG/g MS respectivement.

2.1.4. Teneur en tanins condensés

D'après l'étude statistique (Annexe 02), il n'y a pas une différence significative ($P \geq 0,5$) entre les espèces, ni entre les extraits, ni entre les interactions entre les espèces et les extraits.

D'après les résultats obtenus illustrés dans la figure 15, nous avons constaté que la quantité des tannins la plus importante est enregistrée chez l'extrait aqueux de *N. sativa* et *N. damascena* avec des teneurs moyennes de $101,384 \pm 38,919$ mg EAG/g MS et de $93,943 \pm 6,819$ mg EAG/g MS d'ordre respective. Des teneurs moins importantes sont marquées dans l'extrait méthanolique de *N. damascena* et de *N. sativa* avec $83,527 \pm 4,464$ mg EAG/g MS et $70,134 \pm 4,464$ mg EAG/g MS respectivement.

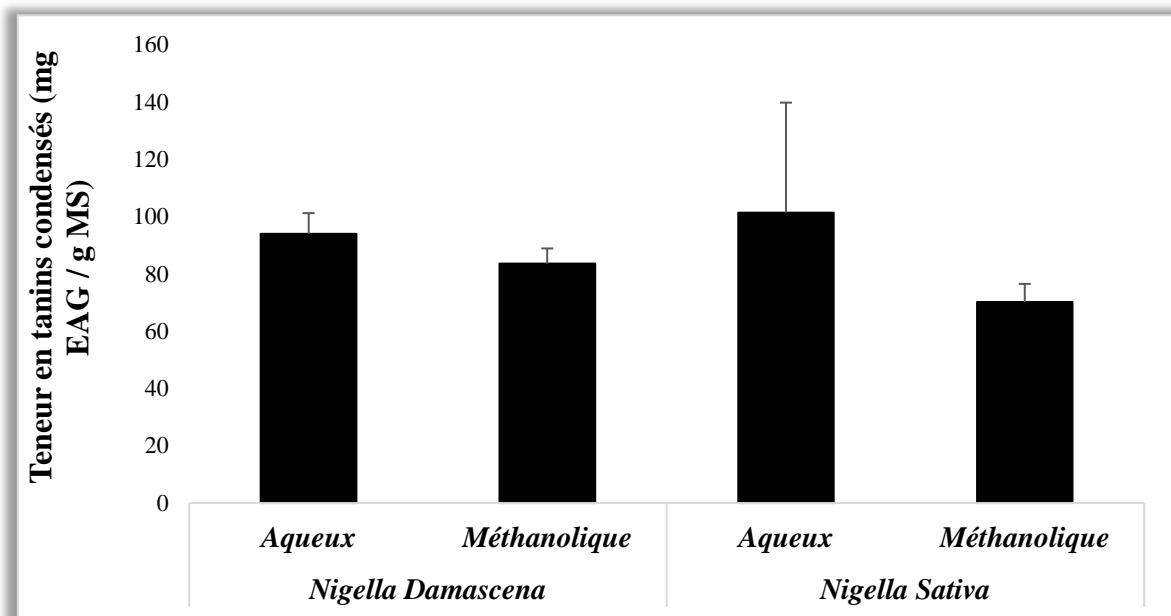


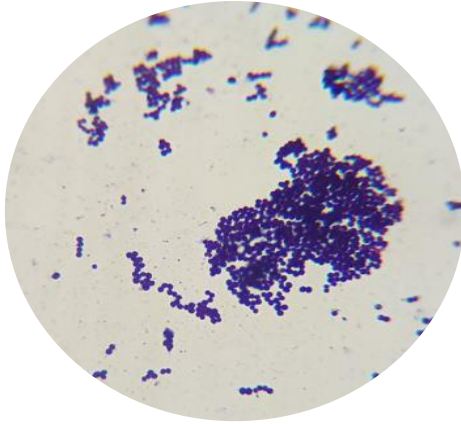
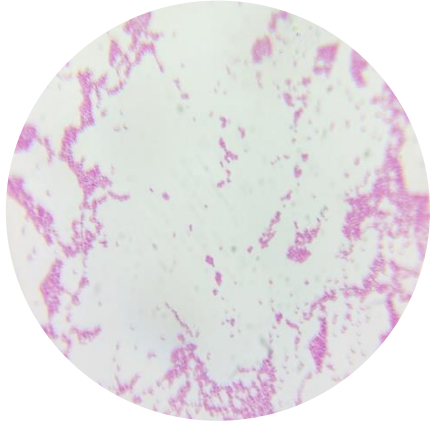
Figure 15: Variations des teneurs en tanins condensés au niveau des différents extraits chez *N. Sativa* et *N. damascena*.

2.2. Activité antibactérienne

2.2.1. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

Les résultats des caractères morphologiques des germes étudiés sont présentés dans le tableau 02.

Tableau 2: Résultats des caractères morphologiques des germes étudiés.

Caractères morphologiques	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Caractère macroscopique	Sur le milieu Chapman, les colonies de <i>S. aureus</i> ont des couleurs jaunes ou dorées.	Sur le milieu Mac Conkey, les colonies d' <i>E.coli</i> ont une couleur rose.
Caractères microscopique	 <p>Coques en grappe de raisin Gram+</p>	 <p>Coccobacilles Gram-</p>

2.2.2. Test antibactérien

Pour évaluer l'activité antibactérienne de *N.sativa* et *N.damascena*, nous avons utilisé deux extraits différents (aqueux et méthanolique). Cette activité a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (disques), après 24h d'incubation, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne vis-à-vis deux souches (*S.aureus* et *E. coli*).

Afin de mieux évaluer l'activité antimicrobienne des différents extraits, nous avons effectué des tests pour le témoin négatif qui est l'eau distillée, pour l'extrait aqueux, et le méthanol, pour l'extrait méthanolique. Nous avons utilisé les antibiotiques (Tétracycline, celtazidine, oxacillin, colistin sulfate, Nalidixicacid, Métronidazole) comme témoin positif (figure 16). Les résultats des témoins positifs sont mentionnés dans le tableau 03.



Figure 16: Témoins positifs (a) sur *S.aureus* et (b) sur *E .coli*

Tableau 3: Diamètres des zones d’inhibition (mm) provoqués par les antibiotiques sur les deux souches bactériennes.

Antibiotique	Tetracycline	celftazidine	oxacillin	colistin sulfate	Nalidixicacid	Métronidazole
Souches						
<i>S. aureus</i>	30	-	15	-	20	-
<i>E. coli</i>	13	-	12	10	30	-

L’activité antibactérienne des deux extraits de *N.sativa* et *N.damascena* est présentée dans la figure 17. Les figures de l’effet des extraits sur la croissance bactérienne sont présentées dans l’annexe 03.

Selon le tableau d’analyse des variances, nous avons remarqué un effet non significatif ($P \geq 0,5$) entre les deux bactéries, entre les deux espèces de *Nigella* et entre les extraits (méthanolique et aqueux).

D’après les résultats obtenus, on note que tous les extraits de *N. sativa* et *N. damascena* ont une activité inhibitrice sur les bactéries testées avec des degrés différents.

Chez *S.aureus*, la zone d’inhibition le plus important est enregistré chez l’extrait aqueux de *N.sativa* ($12,667 \pm 0,577$ mm), tandis que, la zone d’inhibition la moins importante est enregistrée chez l’extrait aqueux de *N. damascena* ($5 \pm 4,359$ mm). En revanche, chez

E.coli, les extraits de *N.damascena* (méthanolique et aqueux) ont un effet efficace par rapport aux extraits de *N.sativa*.

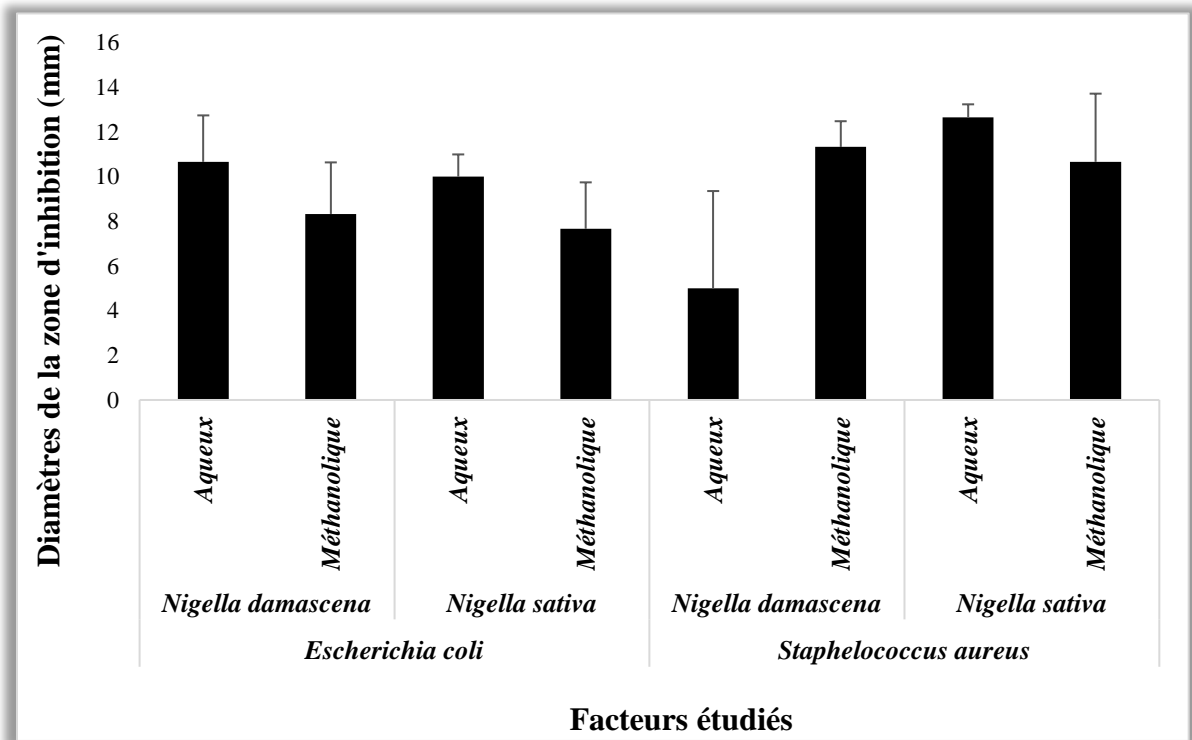


Figure 17 : Activité antibactérienne des différents extraits de *N.sativa* et *N.damascena*.

A partir des normes données par Ponce, et al. (2003), on conclue que *E.coli* est une bactérie non sensible ou résistante car les diamètres des halos d'inhibition de la croissance bactérienne n'ont pas dépassé les 08 mm. Alors que, *S.aureus* est une bactérie moyennement sensible car elle présente des diamètres de zones d'inhibition comprises entre 8 et 14 mm.

2.3. Activité antifongique

L'activité antifongique des extraits de *N.sativa* et *N.damascena*, a été évaluée sur deux champignons par la méthode de diffusion en milieu gélosé (disques), après 7 jours d'incubation, en mesurant le diamètre de la croissance de champignon et comparer avec une boîte de témoin négatif (**Annex 03**). Les résultats sont présentés dans la figure 18.

D'après les analyses statistiques, il n'y a pas une différence significative ($P \geq 0,5$) entre les deux champignons même entre les deux espèces de *Nigella*, mais il existe un effet significatif ($P \leq 0,005$) entre les extraits de chaque espèce.

Les deux espèces de *Nigella* ont un effet hautement significatif ($P \leq 0,01$) sur *F.oxysporum f.sp. lycopersci* et *F.oxysporum f.sp. albedinis*.

La figure 18 montre que l'effet de l'extrait méthanolique de *N.sativa* sur *F.oxysporum f.sp.albedinis* est plus important car on a enregistré un fort pourcentage d'inhibition de la croissance fongique qui est de 50%, par contre, l'effet de l'extrait aqueux de *N.sativa* sur *F.oxysporum f.sp.lycopersici* enregistre un faible pourcentage de $8,750 \pm 5,303\%$ révélant ainsi la résistance de ce champignon à l'égard de cet extrait.

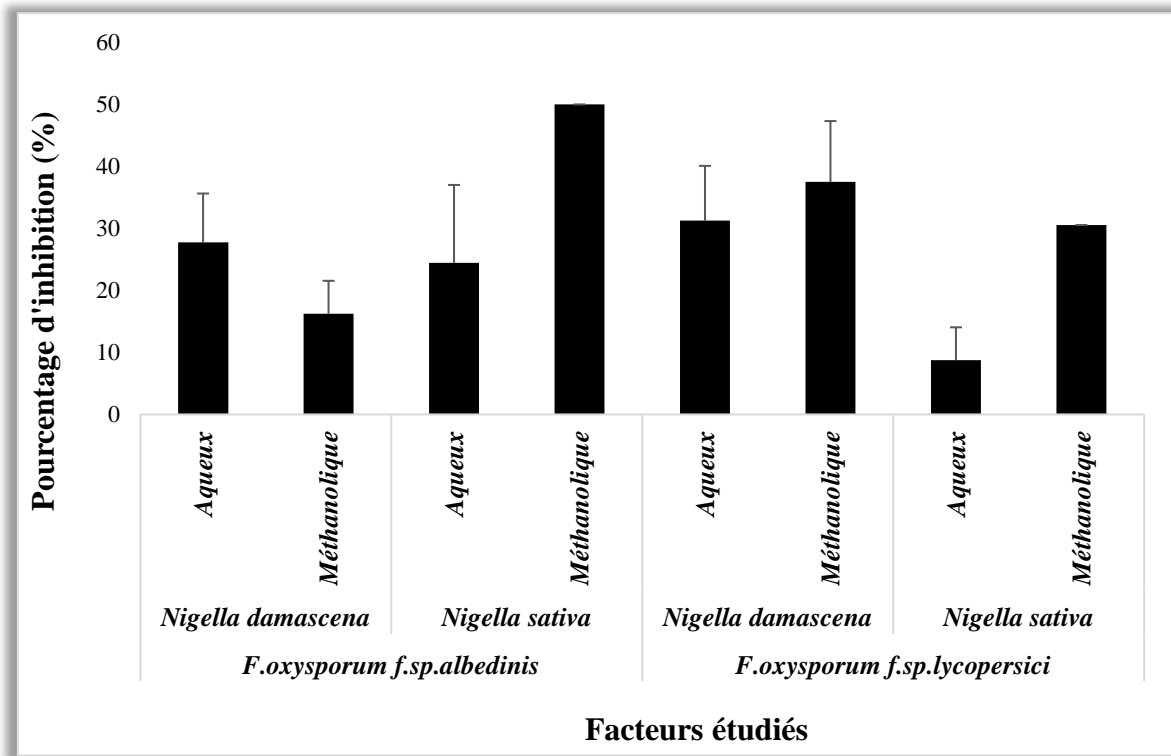


Figure 18: Activité antifongique des différents extraits de *N.sativa* et *N.damascena*.

F.oxysporum f.sp.lycopersici est sensible aux extraits de *N.damascena* qui ont un effet d'inhibiteur important par rapport aux extraits de l'autre espèce.

L'extrait méthanolique de *N.sativa* est plus efficace que l'extrait méthanolique de *N.damascena* ($16,250 \pm 5,303\%$) sur la croissance de *F.oxysporum f.sp.albedinis*, par contre l'extrait aqueux de *N.damascena* ($27,778 \pm 7,847\%$) est peu efficace par rapport l'extrait aqueux de *N.sativa* ($24,445 \pm 12,570\%$).

3. Discussion

Les plantes du genre *Nigella* sont connues par leurs importances et leur richesse en éléments bioactifs. Les espèces *Nigella sativa* et *Nigella damascena* sont les deux espèces du genre *Nigella* les plus utilisées en Algérie quel que soit en cuisine ou en médecine traditionnelle. Les deux espèces du même genre présentent des différences morphologiques et sont utilisées pour des vertus médicinales différentes.

Notre travail vise à mettre en évidence, les différences qui existent entre ces deux espèces. Pour les caractéristiques morphologiques, *N.sativa* étaient noire ridées et de forme allongée, alors que les graines de *N.damascena* étaient majoritairement lisses et noire ou marron et présentant trois formes (allongée, semi-allongée ou ronde). Pour cette raison, nous trouvons une différence importante dans la taille et le poids des graines.

Nos résultats sont proches à ceux trouvés par Iqbal et *al.* (2015) pour *N.sativa*. Ils ont trouvé que la plupart de ces graines ont une couleur noire, mais la forme varie entre la forme allongée et ronde. La taille des graines sont variables et présentent des longueurs allant de $2,83\pm 0,021$ à $3,01\pm 0,021$ mm et des largeurs de $1,5\pm 0,163$ à $2\pm 0,081$ mm. Le poids de mille graines atteint de $2,40\pm 0,016$ g.

Le rendement d'extraction des extraits méthanoliques de *N.damascena* était plus élevé que celui des extraits de *N.sativa*. Chez *N.sativa*, les valeurs trouvées (l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux avaient des rendements d'extraction de 6,25% et de 2,24% respectivement) sont inférieures à celle trouvée par Ennadir et *al.* (2014) qui y'a trouvé un rendement d'extrait méthanolique égale à 12,48% et un rendement d'extrait aqueux de 8,1%. Les variations des rendements peuvent être dues à la diversité de maturité des graines, la qualité, l'origine et les conditions du stockage de ces graines. (Atta, 2003)

Concernant les composé phénoliques, les extraits méthanoliques ont une teneur en polyphénol élevé par rapport l'extrait aqueux. *N.sativa* est très riche en polyphénols que *N.damascena*. on compare nos résultat avec ceux obtenus par Mariod et *al* (2009), qui sont trouvé une teneur en polyphénols de $27,07\pm 0,58$ mg/g pour l'extrait méthanolique de *N.sativa*. Thippeswamy et *al.* (2005), sont trouvé une teneur en polyphénols de 4,1mg/g dans l'extrait méthanolique à 80%.

Pour la teneur en flavonoïdes, l'extrait aqueux de *N.sativa* et l'extrait méthanolique de *N.damascena* enregistrent des concentrations les plus élevé. Par contre, *N. sativa* est l'espèce la plus riche en flavonoïde puisqu'elle représente les concentrations les plus élevé

pour les deux types d'extraits. La teneur en flavonoïdes de l'extrait aqueux de *N.sativa* obtenue est supérieure à celle trouvée par Meziti et al. (2012) qui est de l'ordre de $3,80 \pm 0,34 \mu\text{g GAE/mg}$. Concernant *N.damascena*, la concentration la plus élevée en flavonoïdes a été enregistrée dans l'extrait méthanolique. Toma et al. (2015) ont trouvé une teneur en polyphénols et en flavonoïdes de $23,83 \pm 2,02$ et de $14,53 \pm 0,51 \text{mg/g MS}$ respectivement. La teneur en tanins chez les deux espèces est différente selon les deux extraits, l'extrait aqueux de *N.sativa* est riche que l'extrait aqueux de *N.damascena* et le contraire est remarqué pour les extraits méthanoliques.

N.sativa et *N.damascena* ont un effet inhibiteur sur la croissance bactérienne qui varie selon la bactérie testée. *E.coli* est plus sensible aux extraits de *N.damascena* par rapport aux extraits de *N.sativa*. Par contre, *S.aureus* est plus sensible à l'extrait aqueux de *N.sativa*. Nos résultats sont similaires à d'autres travaux de recherche qui ont révélé que ce genre possède une forte activité antibactérienne. Agrawal et al. (1979) ; Aljabre et al. (2005), Mashhadian et al. (2005) et Ennadir et al. (2014) ont rapporté que l'extrait méthanolique de *Nigella sativa* exerce une importante activité antimicrobienne sur des germes à Gram positif et à Gram négatif.

Selon Benlafya et al. (2014), l'extrait aqueux de *N.sativa* a une activité inhibitrice contre *E.coli*, mais aucun effet remarqué contre *S.aureus*. En revanche, l'extrait méthanolique de la même espèce a un effet opposé sur les mêmes souches bactériennes. Morsi (2000) a démontré que les différents extraits bruts issus de la graine de nigelle inhibent la croissance *in vitro* de diverses souches bactériennes. Ces travaux ont porté sur l'étude de l'effet antibactérien des différentes parties de la plante de *Nigella sativa*. (Feuille, fleur, tige, graine) sur les mêmes germes. Le meilleur potentiel antimicrobien a été observé au niveau des graines.

Aljabre et al. (2005), ont mentionné que le principe actif majeur responsable de l'activité antibactérienne de *Nigella sativa* est la thymoquinone, ce qui suggère que cette activité ne serait pas due à un effet de synergie entre les différents constituants des extraits. Benlafya et al. (2014), Ani et al. (2004) ont démontré que les composés phénoliques des extraits sont responsables de l'activité antibactérienne.

Les deux extraits des deux espèces de *Nigella* étudiés ont une activité antifongique contre les champignons testés. Le pouvoir antifongique le plus puissant est enregistré dans l'extrait méthanolique de *N.damascena* et de *N.sativa* respectivement. Ces derniers ont une quantité en polyphénols la plus élevée. Par contre, l'extrait aqueux de *N.sativa* a une activité

antifongique plus faible. Zahra et *al.* (2011) ont démontré que les extrait de *N.sativa* ont un effet inhibiteur contre *Aspergillus niger* et ont attribué l'effet antifongique de ses extraits aux composés phénoliques.

Conclusion

Dans ce travail, nous avons comparé deux espèces de *Nigella* ; *Nigella sativa* et *Nigella damascena* par la détermination des caractéristiques morphologiques et la caractérisation phytochimique (les teneurs en composés phénoliques), afin d'évaluer l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de ces espèces.

Concernant les caractéristiques morphologiques ; la plupart des graines de ces espèces ont une couleur noire, mais la forme et la texture sont différents d'une espèce à l'autre, presque toutes les graines de *N.sativa* ont une forme allongée de texture ridée. Les deux espèces présentent une différence très hautement significative pour le poids et la taille (longueur, largeur).

Pour les caractérisations des extraits préparés, *N.damascena* a un rendement d'extraction plus élevé par rapport *N.sativa*. Les deux espèces de nigelle ont présenté une différence très hautement significative en ce qui concerne leur teneur en polyphénols et en flavonoïdes. L'espèce *N.sativa* enregistre les concentrations les plus élevées des composés phénoliques.

L'activité antibactérienne des extraits de *N.damascena* et de *N.sativa* a été évaluée sur deux souches bactériennes impliquées dans les pathologies humaines et sur deux champignons phytopathogènes. On note que toutes les souches testées sont sensibles aux extraits de *N.damascena* et de *N.sativa*. L'extrait aqueux a une activité inhibitrice forte par rapport à l'extrait méthanolique chez les bactéries. Par contre chez les champignons, l'extrait méthanolique a un effet inhibiteur plus puissant.

L'étude comparative entre les deux espèces : *Nigella damascena* et *Nigella sativa* montre que ces plantes sont différentes du point de vue morphologique, biochimique et biologique, chaque espèce a un caractère spécifique à elle-même. On conclue que les variations de l'activité antimicrobienne entre les deux espèces sont différentes et cela est dû aux conditions de culture, la qualité des graines.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Abdallah E.M., 2017.** Black Seed (*Nigella sativa*) as antimicrobial drug: A Mini-Review. *Nov Appro Drug Des Dev* 3(2): 555-603.
- Agrawal R, Kharya MD, Shrivastava R (1979)** Antimicrobial anthelmintic activities of the essential oil of *Nigella sativa* L. Linn. *Indian J Exp Biol* 17: 1264–5
- Aljabre S.H.M., Alakloby M.O., Randhawa M.A., 2015.** Dermatological Effects of *Nigella Sativa* ». *Journal of Dermatology & Dermatologic Surgery* 19(2): 92-98.
- Aljabre SHM, Randhawa MA, Akhtar N, et al. (2005)** Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* L. and its active principle, thymoquinone. *J Ethnopharmacology* 101:116–9
- Ani V, Varadaraj MC and Naidu KA, 2006.** Antioxidant and antibacterial activities of polyphenolic compounds from bitter cumin (*Cuminum nigrum* L.). *European Food Research and Technology* 224(1):109-115.
- Asdrubal M., 2010.** La défense des cultures. Editions Educagri, France. Pp : 81-83
- Atta M.B. 2003.** « Some characteristics of nigella (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile ». *Food chemistry* 83 (1): 63–68.

B

- Bayer E., Buttler K.P., Finkenzeller X., et Grau J., 1998.** Guide de la flore méditerranéenne : caractéristiques, habitat, distribution et particularités de 536 espèces. Ed. Delachaux et Niestlé, France. 287 p.
- Benlafya K, Khalid K, Charkaoui Y, El Karbane M, et Ramli Y. 2014.** « Antimicrobial activity of aqueous, ethanolic, methanolic, cyclohexanic extracts and essential oil of *Nigella sativa* seeds ». *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 6 (8): 9–11.
- Benoit. 2017.** « La nigelle, quels sont ses bienfaits pour notre santé ? » *Cookme* (blog). 7 novembre 2017. <https://www.cookme-shop.com/blog/article-les-bienfaits-de-la-nigelle/>.

Boizot N. et Charpentier J.P. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers*, N° spécial : 79-83.

D

Darconseil B., 1960. Les plantes médicinales des zones arides : Histoire des plantes médicinales. Ed. UNESCO, 99 p.

Dif, M. M., H. Benchiha, Z. Mehdadi, F. Benali-Toumi, M. Benyahia, et K. Bouterfas. 2015. « Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L. » *Phytothérapie* 13 (5): 314-19.

E

Ennadir, J., R. Hassikou, F. Bouazza, M. Arahou, G. Al Askari, et K. Khedid. 2014. « Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques des graines de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. » *Phytothérapie* 12 (5): 302-8.

G

Gagnon, É. 2016. L'importance des plantes Pages 1 - 50 - Text Version | FlipHTML5.
Consulté 4 mai 2019, à l'adresse <http://fliphtml5.com/nntu/dptc/basic>

Gaouar N. 2011. Etude de la valeur nutritive de la caroube de différentes variétés algériennes. Mémoire de magistère en Nutrition. Université Abou Bakr Belkaid. Tlemcen, 95p.

Ghedira K., 2006. La nigelle cultivée : *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae) ». *Phytothérapie* 4(5) : 220-26.

Ghedira K., Le Jeune R., 2010. Huile de nigelle cultivée, *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Phytothérapie* 8(2): 124-28.

Gilani A.U., Jabeen Q, Khan M.A.U., 2004. A review of medicinal uses and pharmacological activities of *Nigella sativa*. *Pak J Biol Sci* 7(4) : 441-51.

I

Iqbal M .S, Ansari M.I, Iqbal Y, et Pandey B. 2015. « Morpho-physiological characterization of seeds and seedlings of *Nigella sativa* Linn.: study on Indian germplasm ».

J

Jean .P. et Yan .C. 2016.*Stratégie de défense des plantes contre les maladies et les parasites (et: quelques applications prat.* Editions Publibook.

K

Kehili N., Saka. S., Aouacheri. O.,2017.L’effet phytoprotecteur de la nigelle (*Nigella sativa*) contre la toxicité induite par le cadmium chez les rats ». *Phytothérapie* : 1–10.

Khan M.A., 1999. Chemical Composition and Medicinal Properties of *Nigella Sativa* Linn. *Inflammopharmacology*, 7(1) : 15-35.

Khadr, s. 2008.معجم الأعشاب والنباتات الطبية. groupe du nil arabep 137-153

L

Lanessan, J.L.,1885.Manuel d’histoire naturelle médicale : Botanique médicale et zoologie médicale (Tome 2). Ed. Doin, Lyon, France.971 p.

M

Mariod A. A, Ramlah M. I, Maznah I, et Norsharina I. 2009. « Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake ». *Food Chemistry* 116 (1): 306–312.

Meziti A, Meziti H, Boudiaf K, Benboubetra M, et Hemama B. 2012. « Polyphenolic profile and antioxidant activities of *Nigella sativa* seed extracts in vitro and in vivo ». *World Academy of Science, Engineering and Technology* 64 (6): 24–32.

Mashhadian NV, Rakhshandeh H,2005.Antibacterial and antifungal effects of *Nigella sativa* L. extracts against *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *C. albicans*. *Pak J Med Sci* 21-47

Morsi NM, 2000. Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* L. on multiple antibiotic resistant bacteria. *Acta Microbiol Polonica* 49:63–74

P

Premysl L., Marsik P., Vanek T., Rada V., Kokoska L.,2006.In vitro anti-microbial activity of extracts from the callus cultures of some *Nigella* species. *Biologia*, 61/3: 285—288 .

Ponce, A. G., R. Fritz, C. Del Valle, et S. I. Roura. 2003. « Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard ». *LWT-Food Science and Technology* 36 (7): 679–684.

Paquereau J.,2016. Au jardin des plantes de la Bible : botanique, symboles et usages. Ed. Forêt privée française. 416 p.

S

Saidi B.,2011. .La graine de Nigelle: Remède sacré ou sacré remède .Ed.La Ruche, Paris.137 p.

Salem M.L.,2005. Immunomodulatory and Therapeutic Properties of the *Nigella Sativa* L. Seed ». *International Immunopharmacology* 5 (13-14): 1749-1770.

Singleton V.L. et Rossi J.A. (1965).Colorimetry of total phenolics with phosphormolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology Viticulture*, (10) : 44-158.

T

Teuscher E., Anton R., Lobstein A.,2005. Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles.Ed. Tec & Doc Lavoisier, France. 521 p.

Thippeswamy, N.B.; Akhilender Naidu, K, 2005. Antioxidant potency of cumin varieties—Cumin, black cumin and bitter cumin—On antioxidant systems. *Eur. Food Res. Technol.*, 220, 472–476.

TomaC.C, NeliK .O, Laurian V, Cristina M, et Andrei M. 2015.« Comparative studies on polyphenolic composition, antioxidant and diuretic effects of *Nigella sativa* L.(black

cumin) and *Nigella damascena* L.(lady-in-a-mist) seeds ». *Molecules* 20 (6): 9560–9574.

Z

Zahra, N., N. Jahan, S. Nosheen, et K. Rehman. 2011. « Antimicrobial activity of aqueous, ethanolic extracts and crude extracted phytoconstituents of *Nigella sativa* seeds ». *Bioscience Research* 8 (1): 19–25.

Annexe

Annexes

Annexe 01

Tableau01: Produits et appareillages utilisés

Appareillages	Verreries et autres	Produits et milieux de culture
<ul style="list-style-type: none"> • Pied à coulisse (STAINLESS HARDENED) • Broyeur électrique • Balance de précision (SARTORIUS) • Balance analytique (KERN) • Agitateur magnétique(STUART) • Centrifugeuse (SIGMA 203) • Etuve (HERAEUS) • Autoclave (MEMMERT) • Spectrophotomètre (BIOCHROM) • Vortex (TECNO KARTELL) • Bec Bunsen • Microscope optique (B-350 OPTIKA) 	<ul style="list-style-type: none"> • Mortier en porcelaine • Bêchers • Erlenmeyer • Fioles jaugées • Eprouvettes • Tubes à essai • Barreaux magnétiques • Spatules • Entonnoirs • Portoirs • Boites de Pétri • Pipettes Pasteur • Dessiccateur • Lames • Pipettes graduées • Papiers filtre • Ecouvillons 	<ul style="list-style-type: none"> • Carbonate de sodium(NaCO₃) • Eau distillée (H₂O) • Eau physiologique • Fuschine(C₂₀H₂₀ClN₃) • Huile d'immersion • Lugol • Disques d'ONPG <ul style="list-style-type: none"> ✓ Nalidixicacid ✓ Tetracycline ✓ Bioanalyse ✓ Oxacillin ✓ Colistinsuffate • Méthanol • Folin ciocalteu • Chlorure d'AL • Sulfate de ferreux • Butanol • Acide chlohydrique • Chlorure de sodium • Agar agar • Succhroses • Bouillon nutritif • Gélose Chapman • Gélose MacConkey • Muller Hinton • PDA

Annexe 02 : Tableaux d'analyse des variances

Tableau 01 : Analyse des variances des longueurs des graines de *N.sativa* et *N.damascena*.

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Espèces	44,458	1	44,458	287,372	0***
Résiduelle	5,879	38	0,155		
Total	50,336	39			

n.s ; non significatif ($P \geq 0,05$), * ; significatif ($P \leq 0,05$), ** ; hautement significatif ($P \leq 0,01$), *** ; très hautement significatif ($P \leq 0,001$).

Tableau 02 : Analyse des variances des largeurs des graines de *N.sativa* et *N.damascena*.

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Espèces	66,306	1	66,306	372,015	0***
Résiduelle	6,773	38	0,178		
Total	73,079	39			

n.s ; non significatif ($P \geq 0,05$), * ; significatif ($P \leq 0,05$), ** ; hautement significatif ($P \leq 0,01$), *** ; très hautement significatif ($P \leq 0,001$).

Tableau 03 : Analyse des variances des poids des graines de *N.sativa* et *N.damascena*.

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Espèces	0,003	1	0,003	310,039	0***
Résiduelle	0	38	0,000011		
Total	0,003	39			

n.s ; non significatif ($P \geq 0,05$), * ; significatif ($P \leq 0,05$), ** ; hautement significatif ($P \leq 0,01$), *** ; très hautement significatif ($P \leq 0,001$).

Tableau 04 : Analyse des variances des poids de mille graines de *N.sativa* et *N.damascena*.

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Espèces	2453,91	1	2453,91	1868,271	0***
Résiduelle	49,912	38	1,313000		
Total	2503,822	39			

n.s ; non significatif ($P \geq 0,05$), * ; significatif ($P \leq 0,05$), ** ; hautement significatif ($P \leq 0,01$), *** ; très hautement significatif ($P \leq 0,001$).

Tableau 05: Analyse des variances des poids volumique de *N.sativa* et *N.damascena*.

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Espèces	554508,304	1	554508,304	4540,746	0***
Résiduelle	4640,496	38	122,118000		
Total	559148,8	39			

n.s ; non significatif ($P \geq 0,05$), * ; significatif ($P \leq 0,05$), ** ; hautement significatif ($P \leq 0,01$), *** ; très hautement significatif ($P \leq 0,001$).

Tableau 06 : Analyse des variances de teneur en polyphénols totaux des extraits de *N.sativa* et *N.damascena*.

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Espèces	170706,38	1	170706,38	27,473	0,001***
Extraits	1084826,81	1	1084826,81	174,587	0***
Espèces * Extraits	29378,255	1	29378,255	4,728	0,061 ns
Résiduelle	49709,29	8	6213,661		
Total	1334620,735	11			

n.s ; non significatif ($P \geq 0,05$), * ; significatif ($P \leq 0,05$), ** ; hautement significatif ($P \leq 0,01$), *** ; très hautement significatif ($P \leq 0,001$).

Tableau 07 : Analyse des variances de teneur en flavonoïdes des extraits de *N.sativa* et *N.damascena*.

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Espèces	0,236	1	0,236	220,751	0***
Extraits	0,032	1	0,032	29,736	0,001***
Espèces * Extraits	0,635	1	0,635	593,456	0***
Résiduelle	0,009	8	0,001		
Total	0,912	11			

n.s ; non significatif ($P \geq 0,05$), * ; significatif ($P \leq 0,05$), ** ; hautement significatif ($P \leq 0,01$), *** ; très hautement significatif ($P \leq 0,001$).

Tableau n° 08 : Analyse des variances de teneur en tanins condensés des extraits de *N.sativa* et *N.damascena*.

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Espèces	26,573	1	26,573	0,066	0,803 ns
Extraits	1302,063	1	1302,063	3,253	0,109 ns
Espèces * Extraits	325,531	1	325,531	0,813	0,393 ns
Résiduelle	3202,078	8	400,26		
Total	4856,245	11			

n.s ; non significatif ($P \geq 0,05$), * ; significatif ($P \leq 0,05$), ** ; hautement significatif ($P \leq 0,01$), *** ; très hautement significatif ($P \leq 0,001$).

Tableau 09 : Analyse des variances d'activité antibactérienne des extraits de *N.sativa* et *N.damascena*.

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Bactéries	3,375	1	3,375	0,6	0,45 ns
Especies	12,042	1	12,042	2,141	0,163 ns
Extraits	0,042	1	0,042	0,007	0,932 ns
Bactéries * Espèces	26,042	1	26,042	4,63	0,047*
Bactéries * Extraits	30,375	1	30,375	5,4	0,034*
Especies * Extraits	26,042	1	26,042	4,63	0,047*
Bactéries * Espèces * Extraits	26,042	1	26,042	4,63	0,047*
Résiduelle	90	16	5,625		
Total	213,96	23			

n.s ; non significatif ($P \geq 0,05$), * ; significatif ($P \leq 0,05$), ** ; hautement significatif ($P \leq 0,01$), *** ; très hautement significatif ($P \leq 0,001$).

Tableau 10 : Analyse des variances d'activité antifongique des extraits de *N.sativa* et *N.damascena*.

Sources de variation	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Champignons	27,123	1	27,123	0,482	0,507 ns
Especies	0,237	1	0,237	0,004	0,95 ns
Extraits	442,766	1	442,766	7,862	0,023*
Champignons * Espèces	895,835	1	895,835	15,906	0,004**
Champignons * Extraits	49,196	1	49,196	0,874	0,377 ns
Especies * Extraits	692,716	1	692,716	12,3	0,008**
Champignons * Espèces * Extraits	115,853	1	115,853	2,057	0,189 ns
Résiduelle	450,551	8	56,319		
Total	2674,277	15			

n.s ; non significatif ($P \geq 0,05$), * ; significatif ($P \leq 0,05$), ** ; hautement significatif ($P \leq 0,01$), *** ; très hautement significatif ($P \leq 0,001$).

Annexe 03

a. Témoin négatif sur *S.aureus*

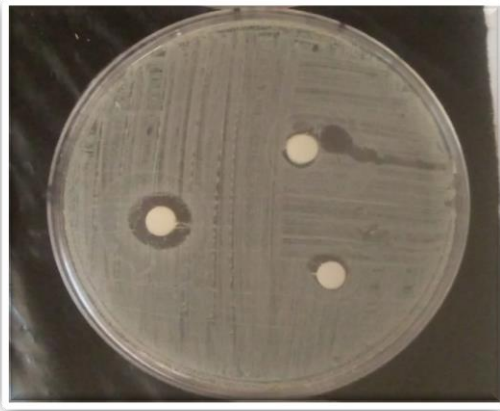


Figure 01 : Témoin de méthanol

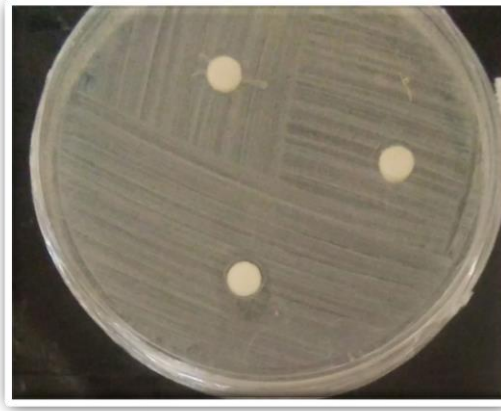


Figure 02 : Témoin de l'eau distillé

b. Témoin négatif sur *E.coli*



Figure 03 : Témoin de méthanol



Figure 04 : Témoin de l'eau distillé

c. Témoin sur *F.oxysporum f.sp.albedinis*



Figure 05 : Témoin de l'eau distillé

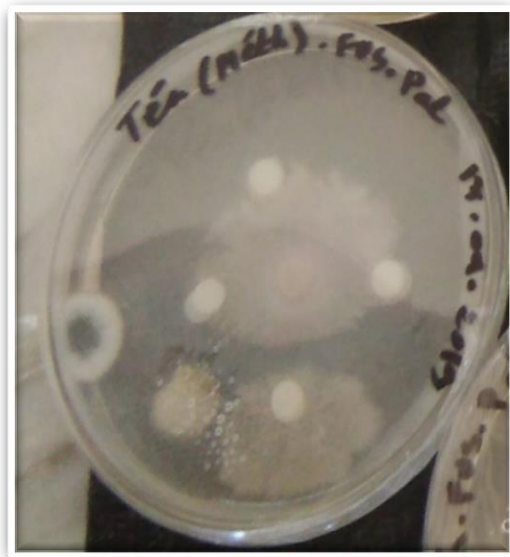


Figure 06 : Témoin de méthanol

d. Témoin sur *F.oxysporum f.sp.lycopersci*

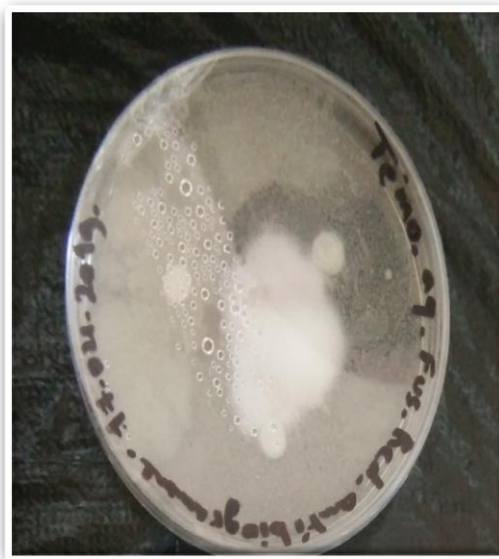


Figure 07 : Témoin de l'eau distillé



Figure 08 : Témoin de méthanol

e. **Antibiogramme des d'extraits méthanoliques des espèces de *Nigella* testés vis-à-vis *S. aureus***

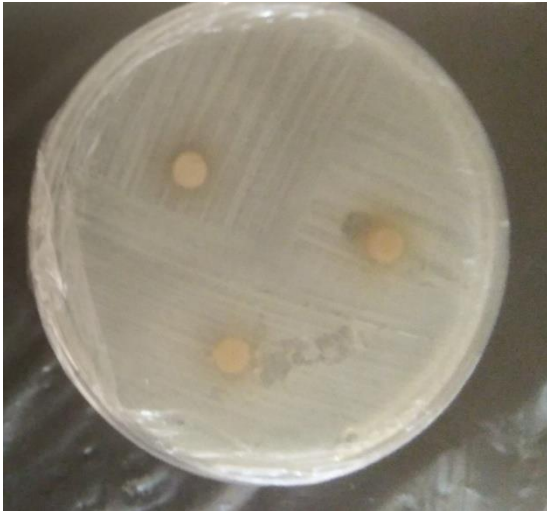


Figure 09 : l'extrait méthanolique de *N.sativa*

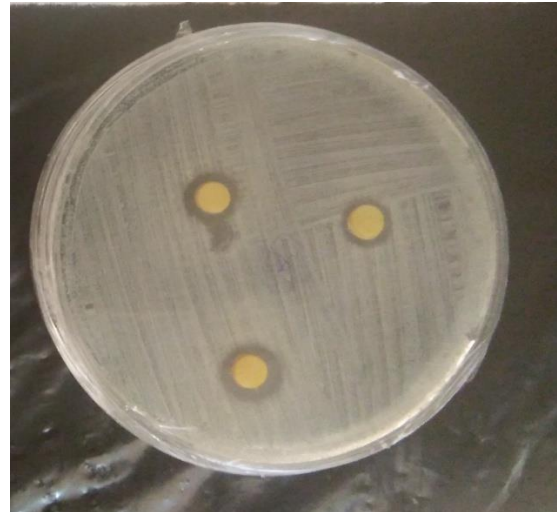


Figure 10 : l'extrait méthanolique de *N.damascena*

f. **Antibiogramme des d'extraits aqueux des espèces de *Nigella* testés vis-à-vis *S. aureus***



Figure 11 : l'extrait aqueux de *N.sativa*



Figure 12 : l'extrait aqueux de *N.damascena*

g. Antibiogramme des d'extraits méthanoliques des espèces de *Nigella* testés vis-à-vis *E.coli*

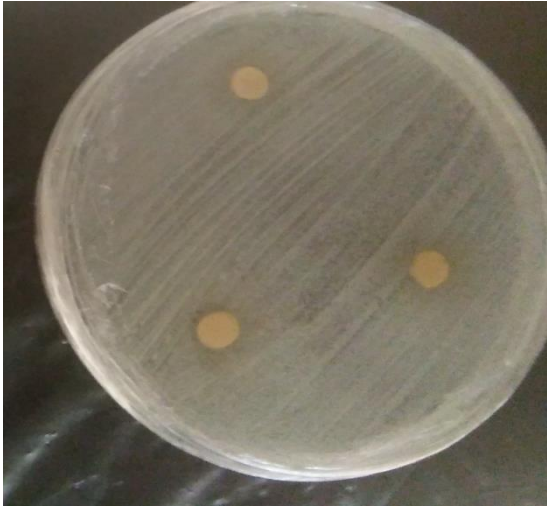


Figure 13 : l'extrait méthanolique de *N.sativa*

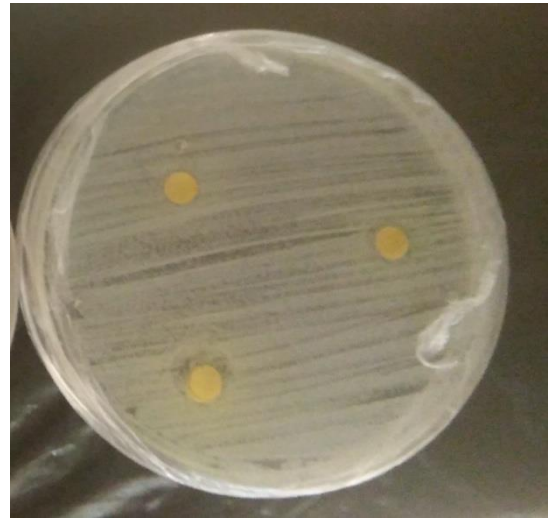


Figure 14 : l'extrait méthanolique de *N.damascena*

h. Antibiogramme des d'extraits aqueux des espèces de *Nigella* testés vis-à-vis *E.coli*

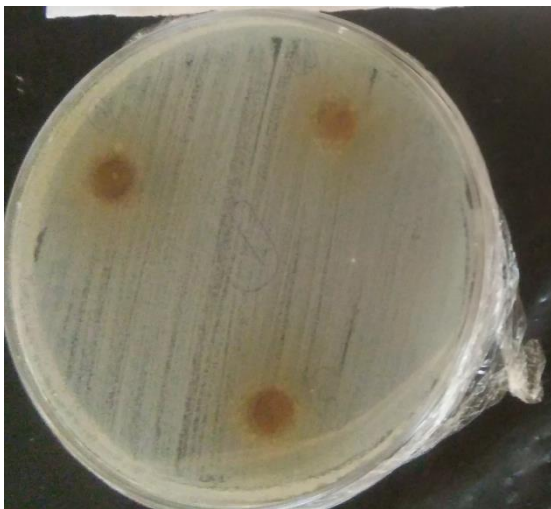


Figure 15 : l'extrait aqueux de *N.sativa*

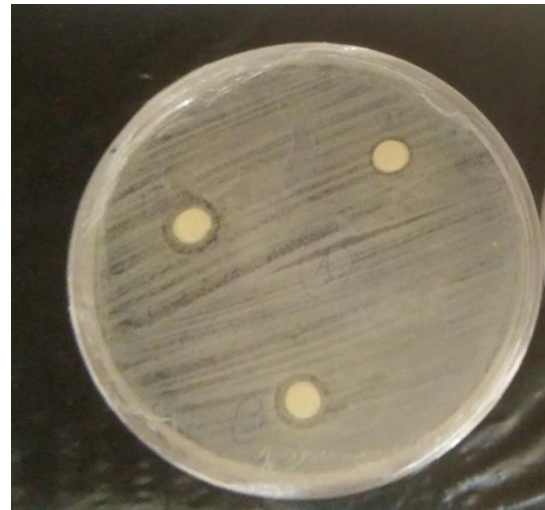


Figure 16 : l'extrait aqueux de *N.damascena*

Résumé

N.sativa et *N.damascena* sont des plantes herbacées appartenant à la famille de Ranunculaceae, sont largement utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement et la prévention de nombreuses maladies. Notre étude vise à comparer ces deux espèces du point de vue morphologique, phytochimique et biologique. L'analyse morphologique a révélé que les deux espèces présentent la même couleur mais sont différentes pour les autres caractères. Concernant les composés phénoliques, *N.sativa* est beaucoup plus riche que *N.damascena*. L'évaluation de l'activité biologique antimicrobienne a révélé une activité puissante de l'extrait aqueux de *N.sativa* et l'extrait méthanolique de *N.damascena* sur les bactéries. Par contre l'extrait méthanolique des deux espèces est plus puissant sur les deux espèces des champignons testés de type *fusarium*.

Mots clés : *N.sativa*, *N.damascena*, activité antimicrobienne, les composés phénoliques.

Abstract

N.sativa and *N.damascena* are herbaceous plants belonging to the Ranunculaceae family, are widely used in traditional medicine for the treatment and prevention of many diseases. Our study aims to compare these two species morphologically, photochemically and biologically. Morphological analysis revealed that the two species have the same color but are different for the other characters. For phenolic compounds, *N.sativa* is much richer than *N.damascena*. The evaluation of the antimicrobial biological activity revealed an important activity of the aqueous extract of *N.sativa* and the methanolic extract of *N.damascena* on the bacteria. On the other hand, the methanolic extract of the two species is more powerful on the species of *fusarium* tested mushrooms.

Key Words: *N.sativa*, *N.damascena*, phenolic compounds, antimicrobial activity.

ملخص

السانوج وحبّة البركة نباتات عشبية تنتمي إلى عائلة الحوذان وتستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي لعلاج والوقاية من العديد من الأمراض. تهدف دراستنا إلى مقارنة هذين النوعين من الناحية الشكلية، الكيميائية والبيولوجية. كشف التحليل المورفولوجي أن النوعين لهما نفس اللون ولكنهما مختلفان في الصفات الأخرى. بالنسبة للمركبات الفينولية، السانوج غني مقارنة بحبة البركة. كشف تقييم النشاط البيولوجي لمضادات الميكروبات عن نشاط قوي للمستخلص المائي للسانوج والمستخلص الميثانولي لحبة البركة على البكتيريا. من ناحية أخرى، المستخلص الميثانولي لكلا النوعين هو أكثر فعالية على الفطريات المدروسة.

الكلمات المفتاحية: السانوج، حبة البركة، المركبات الفينولية، النشاط الميكروبي.

