

Production D'alcaloïdes Et Croissance Des Organes De Balanites Aegyptiaca Del. En Culture In Vitro

Abdoulaye Hassane¹, Issiaka Togola^{1*}, Mamadou A Konaré¹, Nouhoum Diarra¹, Mohamed S Maïga¹ and Seydou Z Maïga¹

¹Faculte des Sciences et des Techniques (FST), Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Mali



Résumé - Ce travail s'inscrit dans le cadre global de l'étude des plantes xérophytes d'intérêt médicinal. Des amandes de graines de *Balanites aegyptiaca* Del. ont été mises en germination *in vitro*. L'objectif était de suivre la croissance des organes et d'évaluer le taux d'alcaloïdes chez des plants de *Balanites aegyptiaca* Del. cultivés hors sol. Ainsi, après germination *in vitro*, elles sont transférées sur du milieu liquide de Murashige et Skoog (MS). L'évolution des vitro-plants est hebdomadairement suivie à travers la mesure des longueurs des racines et feuilles. Un screening a été réalisé pour rechercher les alcaloïdes dans les organes et le milieu MS. Ces alcaloïdes ont été quantifiés par la méthode gravimétrique. Nous avons obtenu un taux de germination de $90,56 \pm 2,55\%$. Les longueurs obtenues ont montré une bonne croissance des vitro plants en milieu MS. Les teneurs en alcaloïdes ont varié selon les organes et selon le milieu (p -value $< 0,05$). Les teneurs maximales ont été enregistrées au niveau des racines : $0,47 \pm 0,01\%$ pour les vitro-plants, $0,58 \pm 0,07\%$ et $0,65 \pm 0,03\%$ pour les plants cultivés sur parcelle respectivement à la 2^{ème} et 4^{ème} semaine. Pour les feuilles ces teneurs étaient de $0,20 \pm 0,02\%$ pour les vitro-plants, $0,22 \pm 0,03\%$ et $0,37 \pm 0,06\%$ au niveau des plants de la parcelle respectivement pour la 2^{ème} et 4^{ème} semaine. Cette richesse en alcaloïdes pourrait justifier les diverses vertus thérapeutiques attribuées à l'espèce. Les données de cette étude montrent que *Balanites aegyptiaca* possède une facilité de régénération et une production considérable d'alcaloïdes *in vitro*. Par conséquent, l'espèce mérite d'être mieux vulgarisée.

Mots clés: *Balanites aegyptiaca* Del, Culture *in vitro*, Alcaloïdes

Abstract - This work is part of the overall study of xerophytic plants of medicinal interest. Almonds of *Balanites aegyptiaca* Del. seeds were germinated *in vitro*. The aim was to monitor organ growth and to evaluate the alkaloid level in *Balanites aegyptiaca* plants grown out of the soil. Thus, after *in vitro* germination, they are transferred to liquid Murashige and Skoog (MS) medium. The evolution of the vitro-plants is monitored weekly by measuring the lengths of the roots and leaves. A screening has been carried out to look for alkaloids in the organs and the MS medium. The alkaloids were quantified using the gravimetric method. We obtained a germination rate of $90.56 \pm 2.55\%$. The lengths obtained showed a good growth of the vitro-plants in the MS medium. The alkaloid contents varied according to the organs and the medium (p -value < 0.05). Maximum levels were recorded at the root level: $0.47 \pm 0.01\%$ for plants grown off-ground, $0.58 \pm 0.07\%$ and $0.65 \pm 0.03\%$ for plants grown on plot respectively in the 2nd and 4th week. For the leaves these contents were $0.20 \pm 0.02\%$ for vitro plants, $0.22 \pm 0.03\%$ and $0.37 \pm 0.06\%$ for the plants in the plot respectively in the 2nd and 4th week. This richness in alkaloids could justify the various therapeutic virtues attributed to the species. The data from this study show that *Balanites aegyptiaca* has a high regeneration rate and a considerable production of alkaloids *in vitro*. Consequently, the species deserves to be better popularised.

Keywords - *Balanites aegyptiaca* Del, *In vitro* culture, Alkaloids.

I. INTRODUCTION

Les ressources végétales sont des sources de nourriture, d'énergie, de médicaments, de matières premières pour certaines industries et activités artisanales. Elles constituent également des sanctuaires de culte et un patrimoine touristique important. Ces ressources sont la base du développement rural en particulier et du développement économique, social et culturel en général (SNPA-DB, 2001). Parmi ces ressources, *Balanites aegyptiaca* Del., tient une place prépondérante au Sahel. C'est une espèce épineuse pouvant atteindre 10 mètres de hauteur, largement distribué dans les zones arides d'Afrique et d'Asie du Sud (Abdoulaye *et al.*, 2017). Au Mali, elle se rencontre surtout dans la zone sahélienne et soudanienne (Berge *et al.*, 2006). Au Sahel, ses feuilles et ses fruits sont utilisés dans l'alimentation humaine en saison sèche et surtout pendant les périodes de soudure (Abdoulaye *et al.*, 2017). Les feuilles constituent un très bon fourrage pour le bétail. L'espèce présente de nombreuses vertus médicinales. Le liquide extrait des fruits est ajouté dans la bouillie consommée par les mères qui allaitent pour stimuler la production de lait, et les noix sont consommées pour traiter les douleurs et les désagréments associées à des motilités intestinales excessives et des ballonnements (Lockett *et al.*, 2000). Les amandes sont utilisées pour traiter des troubles digestifs (Berge *et al.*, 2006). Dans une étude récente, il a été montré que l'espèce est très riche en métabolites secondaires surtout en alcaloïdes (Konaré, Tounkara, Somda, *et al.*, 2019) qui présentent de nombreuses vertus médicinales (propriétés neurosédatives et antispasmodiques) chez l'homme (Wink, 2008). Toutes les parties de la plante sont utilisées dans la prise en charge traditionnelle de l'hypertension artérielle (Dembélé *et al.*, 2020).

Toutefois, cette espèce largement exploitée par les populations locales est menacée par des processus physiques de dégradation des sols. Ceux-ci sont amplifiés par les pressions anthropiques incluant les pratiques agricoles non durables, le surpâturage, les feux de brousse, les besoins croissants en combustibles domestiques et la croissance démographique (Ambé, 2001). Ces différentes pratiques associées aux phénomènes naturels constituent un problème pour la conservation de l'espèce et des savoirs traditionnels liés à elle. C'est pour cela que la communauté internationale ne cesse de tirer sur sonnette d'alerte pour signaler le rythme effréné de la dégradation des forêts, les menaces d'extinction des espèces ainsi que les savoirs qui leur sont associés (Djihounouck *et al.*, 2019). Ce sont surtout les grandes sécheresses des années 1972-1973 et 1984-1985 qui ont donné le déclic pour une prise de conscience nationale pour la conservation des ressources biologiques au Mali. Ainsi de nombreux projets et programmes ont développé des activités orientées vers la conservation de ces ressources (SNPA-DB, 2001). Face à cette situation, il est nécessaire de mettre en place des techniques de germination et de reproduction des espèces végétales.

C'est ainsi que, ce présent s'inscrit dans le cadre des activités du projet Sauvegarde et Développement Durable de certains sites au Mali. Il avait pour objectif d'étudier la croissance des organes et la production d'alcaloïdes chez *Balanites aegyptiaca* Del. en culture *in vitro*.

II. MATERIEL ET METHODES

1.1. Matériel

Le matériel végétal était constitué de graines et de feuilles de *Balanites aegyptiaca* Del. récoltées à Niono (Ségou / Mali) en octobre 2005.

1.2. Méthodes

1.2.1. Production de plants par culture *in vitro*

Des graines de *Balanites aegyptiaca*, préalablement trempées dans l'eau, ont été d'abord débarrassées de leurs coques. Les amandes libérées sont ensuite désinfectées à l'eau de javel à 2% pendant cinq (5) minutes et rincées avec l'eau distillée 3 fois, puis placées dans des boîtes de pétri contenant des papiers filtres (préalablement stérilisé à l'étuve à 120°C pendant 1 heure) à l'aide d'une pince sous la hotte. Dans chaque boîte de pétri sont versés cinq millilitres (5 mL) d'eau distillée stérile. Les boîtes de pétri sont emballées avec du papier aluminium puis placées dans l'étuve à la température ambiante (30-35° C). Leur évolution est quotidiennement suivie jusqu'à la germination et au besoin de l'eau distillée stérile est ajoutée au milieu (figure 2). Sept (7) jours après l'ensemencement, les graines germées et non germées ont été dénombrées. Le taux de germination (%) a été calculé selon la formule ci-dessous (Pascal Danthu *et al.*, 2002).

$$\text{Taux de germination (\%)} = \frac{\text{Nombre de graines germées}}{\text{Nombre total de graines mises en germination}} \times 100 \quad (1)$$

1.2.2. Culture des amandes sur milieu liquide

La germination des amandes proprement dite se fait sur le milieu nutritif Murashige et Skoog (MS). Ce milieu, préparé et ajusté à pH6-7, est stérilisé puis distribué dans les différents tubes en raison de 15 mL par tube. Les tubes contenant le milieu de culture sont couverts avec du papier aluminium puis laissés à la température de la salle pendant 24 heures. Les amandes prégermées sont alors transférées dans les tubes puis incubées sous la hotte. Le contrôle du développement des racines, tiges et feuilles et le taux de contamination est suivi quotidiennement. Pour faciliter le développement des téguments nous avons pris soin de les mouiller avec du papier filtre stérilisé.

1.2.3. Extraction des alcaloïdes totaux

Des jeunes racines produites par culture *in vitro* ont été séchées à la température ambiante. Dix grammes ou millilitres (10g ou 10 mL) de chaque échantillon sont finement broyés. Le broyat est introduit dans un erlenmeyer contenant 50 mL de H₂SO₄ dilué à 5%. Le mélange est hermétiquement fermé et mis en macération pendant 24 heures à la température ambiante (30-35 °C). Le macéré est filtré à l'aide d'un papier Whattman. Ce filtrat est utilisé pour les analyses qualitatives (Sofowora, 1982).

1.2.4. Mise en évidence des alcaloïdes totaux

Les alcaloïdes totaux ont été recherchés dans les organes et le milieu de culture des vitro-plants grâce aux réactions colorées en tubes utilisant les réactifs de Dragendorff et de Mayer. Deux millilitres (2 mL) de chaque extrait ont été traités avec 3 mL d'une solution d'acide hydrochlorique à 1% par bain de vapeur. Quelques gouttes du réactif (Mayer ou Dragendorff) sont ajoutées. L'apparition de précipités orangés (pour Dragendorff) et blanchâtres (pour Mayer) indique la présence des alcaloïdes (Sofowora, 1982 ; Harborne, 1973).

1.2.5. Détermination quantitative des alcaloïdes totaux

La détermination de la concentration en alcaloïdes des extraits (organes et milieu de culture liquide) a été réalisée en utilisant la méthode gravimétrique basée sur la précipitation en milieu alcalin décrite par (Harborne, 1973). 5g de chaque échantillon (poudre de racines) ont été dissous dans 20 mL d'acide acétique à 10% dans de l'éthanol. Le mélange a été laissé pendant quatre (4) heures à température ambiante. Après filtration à travers le papier Whattman (n° 42), le filtrat a été concentré par évaporation sur un bain de vapeur pour retrouver son volume d'origine. Pour précipiter les alcaloïdes, quelques gouttes d'une solution d'ammonium concentrée ont été ajoutées à l'extrait jusqu'à ce qu'il soit en excès. Le précipité d'alcaloïdes résultant a été récupéré par filtration à l'aide de papier filtre préalablement pesé. Après filtration, le précipité a été lavé avec une solution d'ammoniaque à 9% et séché dans le four à 60°C pendant 30 minutes. Il a été refroidi dans un dessiccateur et pesé.

Le processus a été répété trois fois et le taux d'alcaloïdes (en %) a été déterminé par la différence de poids et exprimé en pourcentage du poids de l'échantillon analysé.

$$\% \text{ Alcaloïdes} = \frac{P_2 - P_1}{\text{Prise d'essai (g)}} \times 100 \quad (2)$$

P₁ : Poids du papier filtre (g) ; P₂ = Poids du papier filtre + précipités d'alcaloïdes (g)

1.2.6. Analyse des données

Les données quantitatives sont exprimées en moyennes ± SD. Le logiciel Minitab 18.1 a été utilisé pour l'analyse statistique. Les moyennes ont été comparées à l'aide de l'ANOVA à un facteur utilisant le test de Fischer au seuil de 0,05. Elles sont considérées comme significatives lorsque p-value < 0,05.

III. RESULTATS

1.3. Production de plants par culture *in vitro*

1.3.1. Germination des graines

La figure 1 montre les images des amandes germées dans les boîtes de pétri et le tableau 1 présente les résultats des essais de germination après quatre jours.



Figure 1 : Amandes en germination dans les boîtes de pétri

Un taux moyen de germination de $90,56 \pm 2,55$ % a été enregistré.

1.3.2. Germination des amandes sur milieu liquide :

Les figures 2 et 3 montrent les images des amandes cultivées sur milieu liquide MS.



Figure 2 : Plantules âgées d'une semaine



Figure 3 : Plantules âgées de deux semaines

Les paramètres mesurés sont la taille de la tige et celle de la racine principale des plantules de *Balanites aegyptiaca*. Les résultats des mesures effectuées sont portés par les figures 4 et 5.

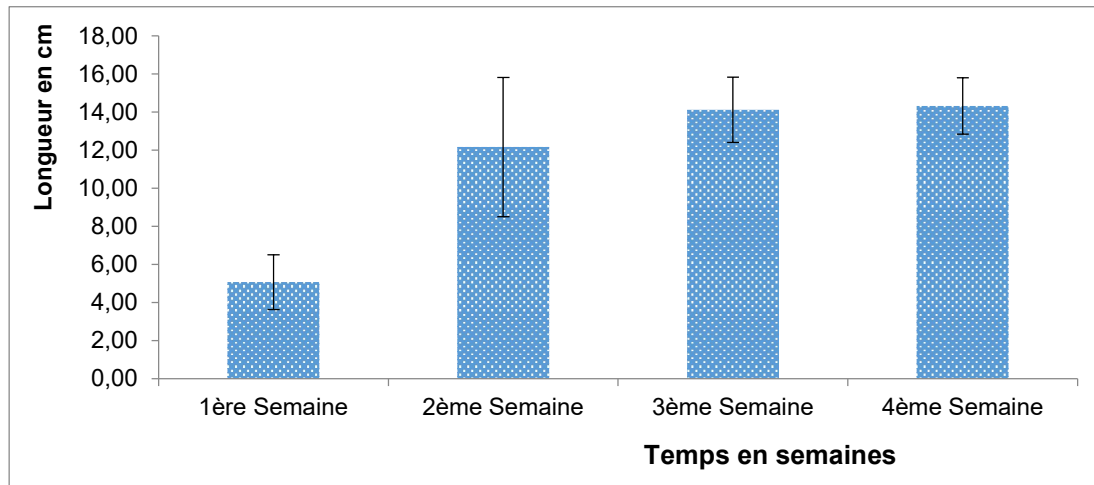


Figure 4 : Longueur de la racine principale des plantules de *Balanites aegyptiaca* par semaine (en cm)

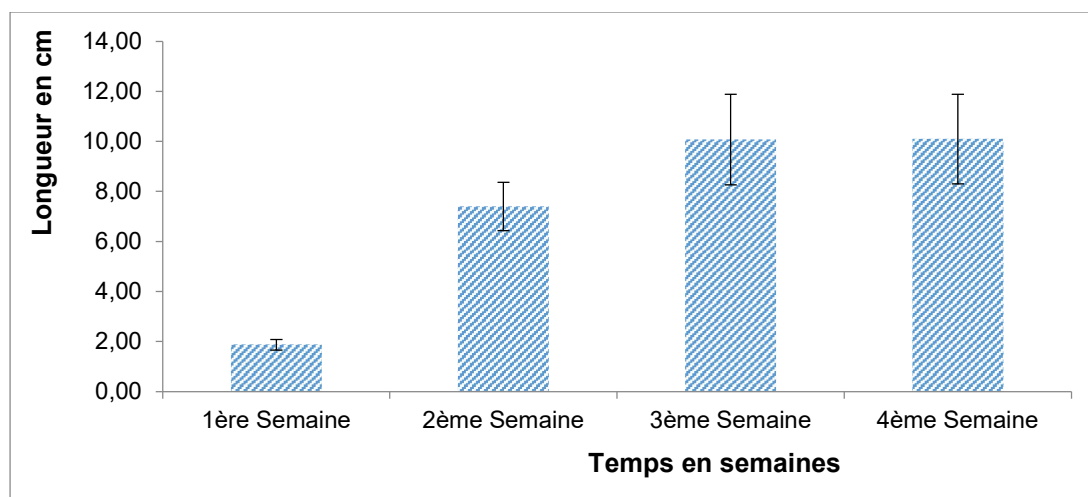


Figure 5 : Longueur de la tige des plantules de *Balanites aegyptiaca* par semaine (en cm)

Les données de ces deux figures montrent une augmentation très importante de la longueur de la racine et celle de la tige de la 1^{ère} à la 2^{ème} semaine. De la 3^{ème} à la 4^{ème} semaine, cette longueur reste constante (p-value > 0,05).

1.4. Mise en évidence des alcaloïdes totaux

Tableau I : Recherche d'alcaloïdes dans le milieu MS et au niveau des racines et feuilles des vitro-plants pendant 4 semaines

Semaines	Milieu de culture MS	Racines	Feuilles
Semaine 1	Absents	Présents	Présents
Semaine 2	Absents	Présents	Présents
Semaine 3	Absents	Présents	Présents
Semaine 4	Absents	Présents	Présents

Les alcaloïdes ont été révélés au niveau des feuilles et racines de nos vitro-plants. Par contre, aucune trace d'alcaloïdes n'a été observée dans les milieux de culture liquide MS.

1.5. Détermination quantitative des alcaloïdes totaux

Les teneurs en alcaloïdes totaux des feuilles et racines provenant des vitro-plants et des plants de la parcelle d'expérimentation sont portées par la figure 6.

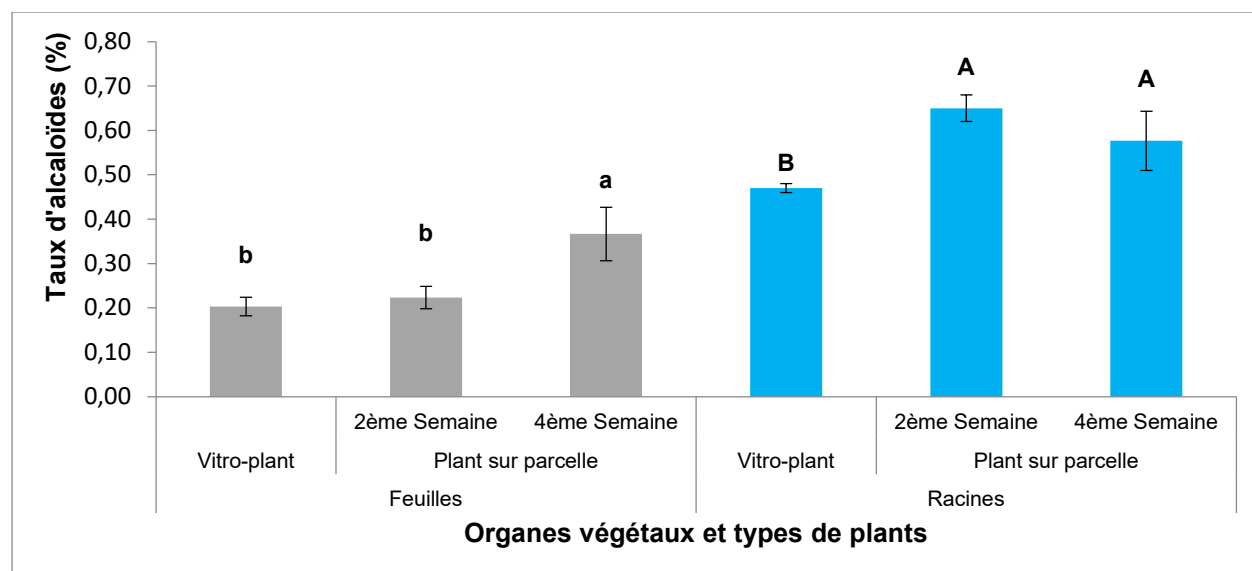


Figure 6 : Teneurs en alcaloïdes des feuilles et racines des vitro-plants et des plants sur parcelle d'expérimentation

*Pour les feuilles, les moyennes qui ne partagent aucune lettre minuscule sont significativement différentes. De même pour les racines, les moyennes qui ne partagent aucune lettre majuscule sont significativement différentes.

Les données de la figure 6 montrent qu'à tous les niveaux, les racines sont plus riches en alcaloïdes que les feuilles (p -value < 0,05). Les plus grandes teneurs ont été enregistrées à la 4^{ème} semaine chez les plants cultivés sur parcelle avec $0,37 \pm 0,06$ % et $0,58 \pm 0,07$ % respectivement pour les feuilles et les racines.

IV. DISCUSSION

Nous avons obtenu un taux moyen de germination de $90,56 \pm 2,55$ % des graines de *Balanites aegyptiaca*. Elfeel et al. (2009) ont obtenu un taux maximal de 60,6 % de germination avec les graines de la même espèce. Travaillant pratiquement dans les conditions expérimentales avec les graines de *Zizyphus mauritiana* Lam., Danthu et al. (1992) et Grice (1996) ont obtenu respectivement des taux de germination de 81 à 91% et de 90% ; ceux qui corroborent nos données. Il a été rapporté dans les travaux de Elfeel et al. (2009) que le taux de germination des graines varie d'une espèce à une autre et au sein de la même espèce et ce taux varie selon la provenance, les conditions de stockage et les facteurs climatiques.

Les alcaloïdes ont été révélés au niveau des feuilles et racines de nos vitro-plants. Par contre, aucune trace d'alcaloïdes n'a été observée dans les milieux de culture liquide MS (tableau I). Des études menées sur des vitro-plants de *Datura innoxia* Mill. avaient montré la présence d'alcaloïdes dans le milieu de culture liquide MS (Togola *et al.*, 2019). Par contre Konaré *et al.* (2019) ont obtenu des résultats similaires aux nôtres avec des vitro-plants de *Zizyphus mauritiana* Lam.

Les données des figures 4 et 5 ont montré une augmentation très importante de la longueur de la racine et celle de la tige de la 1^{ère} à la 2^{ème} semaine. De la 3^{ème} à la 4^{ème} semaine, cette longueur reste constante (p -value > 0,05). Des travaux ont montré qu'il existe une très grande influence de la durée et de l'intensité de l'éclairement sur l'évolution, durant l'ontogenèse de la plante (Cosson, 1969).

Les teneurs obtenues en alcaloïdes diffèrent significativement selon les organes (p -value < 0,05). Nous avons obtenu des taux d'alcaloïdes de l'ordre de $0,20 \pm 0,02$ % et $0,47 \pm 0,01$ % respectivement pour les feuilles et racines des vitro-plants âgés de 4 semaines (figure 6). Togola *et al.*, (2019) ont obtenu des taux similaires avec les feuilles des vitro-plants de *Datura innoxia* : 0,20 à 0,59g/100g. Par contre leurs valeurs obtenues avec les racines (0,09 à 0,30g/100g) sont inférieures aux nôtres. Au niveau des feuilles, nous avons enregistré une évolution significative (p -value = 0,004 < 0,05) de la 2^{ème} à la 4^{ème} semaine (de $0,22 \pm 0,03$ à $0,37 \pm 0,06$ %) des teneurs en alcaloïdes des plantes de la parcelle d'expérimentation. Cependant au niveau racinaire ces teneurs n'ont pas connu d'évolution significative (p -value = 0,08 > 0,05). Les données montrent que pour toutes les provenances, les racines sont plus riches en alcaloïdes que les feuilles. Des travaux antérieurs ont rapporté que les feuilles sont généralement plus riches que les racines en alcaloïdes (Miraldi *et al.*, 2001 ; Togola *et al.*, 2019). Harborne *et al.*, (1999) ont montré que les alcaloïdes sont

synthétisés dans les racines puis transitent dans les parties aériennes de la plante. Il a été également rapporté que les alcaloïdes seraient décomposés et recyclés dans d'autres organes tels que les graines au cours de certains phénomènes physiologiques (floraison par exemple) (Bruneton, 2016). Des travaux ont également montré qu'il existe une très grande influence de la durée et de l'intensité de l'éclairement sur la production d'alcaloïdes (Cosson, 1969).

V. CONCLUSION

Les données issues de ce travail montrent que les amandes de graines de *Balanites aegyptiaca* Del. possèdent un taux élevé de germination *in vitro*. Elles montrent également une production considérable d'alcaloïdes *in vitro* et *in vivo* par les racines et les feuilles. Cependant les racines sont plus riches en d'alcaloïdes que les feuilles. Cette richesse en alcaloïdes pourrait justifier les diverses vertus thérapeutiques attribuées à ces organes. Par conséquent, l'espèce mérite d'être mieux vulgarisée afin d'éviter sa disparition.

REFERENCES

- [1] Abdoulaye, B., Bechir, A., & Mapongmetsem, P. (2017). Utilités socioéconomiques et culturelles du *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. (Famille Zygophyllaceae) chez les populations locales de la Région du Ouaddaï au Tchad. *Journal of Applied Biosciences*, 111(1), 10854-10866.
- [2] Ambé, G. (2001). Les fruits sauvages comestibles des savanes guinéennes de Côte d'Ivoire : état de la connaissance par une population. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 5(1), 43–58.
- [3] Berge, G., Diallo, D., & Hveem, B. (2006). Les plantes sauvages du Sahel malien. Editions Karthala, p.92.
- [4] Bruneton, J. (2016). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. (5ème Edition). Paris: Edition Lavoisier Tec & Doc. Médicales Internationales.
- [5] Cosson, L. (1969). Influence de l'éclairement sur les variations ontogéniques des teneurs en scopolamine et en hyoscyamine des feuilles de *Datura metel*. *Phytochemistry*, 8(11), 2227–2233. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)88187-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)88187-X)
- [6] Danthu, P., Gaye, A., Roussel, J., & Sarr, A. S. (1992). Quelques aspects de la germination des semences de *Ziziphus mauritiana* Lam. *Symposium UIFRO P2.04.00, 23 – 28 Novembre 1992 Ouagadougou, Burkina Faso*, 192–197.
- [7] Danthu, Pascal, Soloviev, P., Totté, A., Tine, E., Ayessou, N., Gaye, A., ... Fall, M. (2002). Caractères physico-chimiques et organoleptiques comparés de jujubes sauvages et des fruits de la variété Gola introduite au Sénégal. *Fruits*, 57(3), 173–182. <https://doi.org/10.1051/fruits>
- [8] Dembélé, A., Sissoko, L., Togola, I., Traoré, N., Sidibé, L., & Diallo, D. (2020). Enquête ethnobotanique de trois plantes utilisées dans la prise en charge traditionnelle de l'hypertension artérielle au Mali : *Balanites aegyptiaca* (L.) Del., *Piliostigma reticulatum* (DC), *Hochst* et *Bauhinia rufescens* (L.). *International Journal of Applied Research*, 6(10), 998–1001. <https://doi.org/https://doi.org/10.22271/allresearch.2020.v6.i10o.7683>.
- [9] Djihounouck, Y., Diop, D., Bassène, C., Mbaye, M. S., Diop, D. R., Faye, B., & Noba, K. (2019). Étude ethnotaxonomique des comestibles chez l'ethnie Diola d'Oussouye (Sénégal). *Vertigo - La Revue Électronique En Sciences de l'environnement*, 19(1), 1–28. <https://doi.org/https://doi.org/10.4000/vertigo.24518>
- [10] Elfeel, A., Warrag, E., & Musnad, H. (2009). Effect of seed origin and soil type on germination and growth of Heglig tree (*Balanites Aegyptiaca* (del.) L.var. *aegyptiaca*). *Journal of Science and Technology*, 10(3), 56–66.
- [11] Grice, A. C. (1996). Seed production, dispersal and germination in *Cryptostegia grandfolia* and *Ziziphus mauritiana*, two invasive shrubs in tropical woodlands of northern Australia. *Australian Journal Of Ecology*, 21(3), 324–331.
- [12] Harborne, J. B. (1973). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. London, UK: Chapman and Hall Ltd, 20–28.
- [13] Harborne, J., Baxter, H., & Moss, G. (1999). *Phytochemical dictionary : A handbook of bioactive compounds from plants*. 2nd Ed. Taylor & Francis, London.
- [14] Konaré, M. A., Tounkara, F., Diarra, N., Togola, I., Keïta, S., Maïga, S. S. Z., ... Sanogo, R. (2019). Étude de l'effet combiné

- de l'acide indole 3-acétique (AIA) et de la 6-Benzyl Amino-Purine (BAP) sur la production de protéines et de métabolites secondaires chez *Zizyphus mauritiana* Lam. dans les conditions de culture in vitro. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 9(2), 210–215.
- [15] Lockett, T., Calvert, C., Grivetti, L., & Cassius. (2000). Energy and micronutrient composition of dietary and medicinal wild plants consumed during drought. Study of rural Fulani, Northeastern Nigeria. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 51(3), 195–208.
- [16] Miraldi, E., Masti, A., Ferri, S., & Comparini, I. . (2001). Distribution of hyoscyamine and scopolamine in *Datura stramonium*. *Fitoterapia*, 72, 644–648.
- [17] SNPA-DB. (2001). - Stratégie Nationale et Plan d'Action en matière de Diversité Biologique : Situation générale de la diversité biologique au Mali-*Tome 1* (Ministère de l'Équipement de l'Aménagement du Territoire de l'Environnement et de l'Urbanisme - 122p.). Retrieved from <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/mli147740.pdf>
- [18] Sofowora, A. (1982). Medicinal plants and traditional medicine in Africa. *1st Edn. USA: John Wiley and Sons Ltd*, 168–171.
- [19] Togola, I., Konaré, M. A., Diakité, M., Diarra, N., Tounkara, F., Sanogo, R., ... Sanogo, R. (2019). Évaluation de la teneur en alcaloïdes totaux à différents stades de développement de *Datura innoxia* Mill., une plante utilisée dans la médecine traditionnelle au Mali. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 9(2), 200–207.
- [20] Wink, M. (2008). Ecological roles of alkaloids. In Fattorusso E et Tagliatela-Scafati O (eds). *Modern alkaloids, structure, isolation, synthesis and biology. ED. Wiley-Vch, Weinheim*, 3–24.