

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 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
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Génétique moléculaire et amélioration des plantes

Présenté par :

DJILLALI Fatiha
KOUCHIH Abdelkader
SALAH Mohamed

Thème

**Analyse du pouvoir réducteur des extraits aqueux des fruits de
quelques populations de jujubier sauvage (*Zizyphus lotus* L.
Desf.) vis-à-vis de *Erwinia carotovora* et *Pseudomonas
aeruginosa***

Soutenu publiquement le 01 Juillet 2018

Jury:

Président : M^{lle} SOUALMI Nadia.
Encadreur: M^{me} DAHLIA Fatima.
Co-encadreur: M^{lle} BAROUAGUI Soria.
Examineur: M^r BOUFARES Khaled.

Année universitaire 2017– 2018



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

À la mémoire de ma très cher mère « K.KHEIRA »

À mon très chère père «SI. CHABANE » qui m'a entouré de son amour et sa gentillesse et qui m'a soutenu par ces valeureux conseils, je te dis « infiniment merci ».

À mes très chers frères : Mourad, Mokhtar, Maarouf,

À mes très chères sœurs : Fatiha et katkouta Bouchra

À mes collègues« Med Salah et Djilali Fatiha » qui ont passés avec moi les moments les plus agréables au laboratoire de Physiologie végétale, biochimie, microbiologie

À mes meilleurs amis : «lakehal Abdelhakim, Med Brahim, Kadda Meknassi, Med Messoussa,

À tous mes enseignants de la faculté SNV

À mon cher enseignante Mme DAHLIA F.

À tous les travailleurs de laboratoire biochimie «Karima», microbiologie « Soraya et Fouzia », Technologie Alimentaire

À tous mes collègues de la promotion de 2^{ème} année Master Biologie, spécialité «Génétique moléculaire et Amélioration des Plantes»

À ceux que je n'ai pas cités mais que je porte toujours dans mon cœur

Abdelkader



Dédicaces

Avant tout chose, je remercie Dieu, Le Tout Puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents pour leur amour, leur soutien et tous leurs sacrifices,

À mes chers frères

À mes chères sœurs pour leurs encouragements ont été ma motivation durant tous ces longues années.

À ma grande famille.

À mes meilleure amies qui m'ont toujours ouvert les portes de l'espoir

À mes trinômes

À mes amies les plus proches sans exception

A Tous mes enseignants et professeurs

À tous ceux que j'aurais oublié de citer mais qui existent au fond de Mon cœur et de ma pensée.

Fatíha



Dédicaces

*Je dédier ce travail à tous ceux qui ont sacrifié leur noble existence pour bâtir la mienne,
qui par leurs précieux conseils et soutien ont su me guider vers la réussite:*

À mes chers frères

À mes sœurs Fatima, Achoura, Layla et Fouzia.

À toute ma famille ; surtout Haythem, Hamza, Kouider et Ali.

À l'ensemble des professeurs qui m'ont suivi durant toutes ses années d'étude ;

*À mes chères amis: Brahim, Abed, Ben Chohra, Houari, Noureddine, Nasser, Aboubaker,
Khalifa, Naçeur, El hadj, Aboubaker Essadik, Fathi, Abdelkader, Abdelghani, Mohamed
Amine, Kamel, Abdelmadjid, Abdelmalek*

À toutes mes amies et toutes personnes qui me connaissent;

À tous ceux qui ont participé pour terminer ce travail.

Mohamed

A decorative flourish at the bottom of the page. It features a quill pen on the left, with a trail of black ink leading to a large, stylized floral and scrollwork design on the right. The design includes several leaves and swirling lines.

Remerciements

Nous remercions Dieu Le Tout Puissant de nous avoir accordé la force, le courage et les moyens à fin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements aux personnes qui ont bien voulu encadrer ce travail : notre promotrice M^{me} DAHLIA F. et notre Co-promotrice M^{lle} BAROUAGUI S. d'avoir accepté de nous encadrer et de nous suivre tout au long de la réalisation de ce mémoire. Par leurs esprits scientifiques de haut niveau, et par leurs caractères de noblesse incomparable, pour leurs générosités et leurs grandes patiences dont elles ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Nos profonds remerciements vont aussi au membre du jury sans exception pour avoir accepté l'examinassions et la discussion de notre travail, pour leurs remarques judicieuses et leurs otiques enrichissantes qui vont valoriser notre mémoire Je remercie vivement M^{lle} SOUALMI N., d'avoir accepté de présider le jury. Je remercie M^r BOUFARES K., d'avoir consacré de son temps pour examiner ce travail.

Merci à tous nos collègues pour tous les bons moments passés, pour leur gentillesse, leurs disponibilités et leurs compétences. Merci du fond du cœur

En fin, A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail,

Trouveront ici l'expression de ma profonde gratitude.

Liste des figures

Figure 1 : Arbuste du jujubier sauvage.....	4
Figure 2 : Feuilles de jujubier sauvage.....	4
Figure 3 : Fleurs de jujubier sauvage.....	4
Figure 4 : Fruit de jujubier sauvage.....	4
Figure 5 : Aire de <i>Zizyphus lotus</i> L. au nord d'Afrique	6
Figure 6 : L'anatomie de la bactérie.....	13
Figure 7 : Illustration des différentes zones d'étude.....	17
Figure 8 : Les différentes parties du fruit de jujubier sauvage.....	18
Figure 9 : les différentes étapes de préparation des extraits aqueux (original 2018).....	21
Figure 10 : le test de teneur en polyphénol (original 2018).....	22
Figure 11 : teneur en flavonoïdes (original 2018).....	23
Figure 12 : la teneur en tanins condensés (original 2018).....	24
Figure 13 : repiquage des bactéries (original 2018).....	25
Figure 14 : préparation de suspensions bactériennes (original 2018).....	27
Figure 15 : les différentes étapes de test antibactérien (original 2018).....	28
Figure 16 : Variation de la teneur en polyphénol totaux des extrais aqueux des pulpes des fruits de <i>Zizyphus lotus</i> L.	30
Figure 17 : Variation de la teneur en flavonoïdes des extrais aqueux des pulpes des fruits de <i>Zizyphus lotus</i> L.	32
Figure 18 : Variation de la teneur en tanins condensés dans extrais aqueux des pulpes des fruits de <i>Zizyphus lotus</i> L.	33
Figure 19 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibitions en mm des extraits aqueux des pulpes des fruits de <i>Zizyphus lotus</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Erwinia carotovora</i> .	35

Liste des tableaux

Tableau 1 : Teneur du fruit de <i>Zizyphus lotus</i> frais en métabolites primaires.....6 (Catoireet al, 1994).	
Tableau 2 : Composition biochimique du <i>Zizyphus lotus</i> en métabolites secondaires.....7	
Tableau 3: Les coordonnées géographiques des stations d'échantillonnage.....18	
Tableau 4 : Matériel et appareillage utilisés lors des différentes expérimentations.....20	
Tableau 05: tableau d'analyse des variances de la teneur en polyphénol totaux29 des extrais aqueux des pulpes des fruits de <i>Zizyphus lotus</i> L.	
Tableau 06 : tableau d'analyse des variances de la teneur en flavonoïdes.....31 des extrais aqueux des pulpes des fruits de <i>Zizyphus lotus</i> L.	
Tableau 07: Tableau d'analyse de la variance pour la teneur en tanins32 des différents extraits aqueux des pulpes des fruits de <i>Zizyphus lotus</i> L.	
Tableau 08 : Tableau d'analyse de la variance pour l'activité antibactérienne.....35	

Table des matières

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Table des matières	
Introduction	1
CHAPITRE I : Synthèse bibliographique	
1. Jujubier sauvage	3
1.1. Généralités sur le jujubier sauvage.....	3
1.2. Description morphologique du jujubier sauvage.....	3
1.3. Situation botanique	4
1.4. Aire géographique.....	5
1.4.1. Dans le monde.....	5
1.4.2. En Algérie.....	5
1.5. Composition biochimique du <i>Zizyphus lotus</i>	6
1.5.1. Métabolites primaires	6
1.5.2. Métabolites secondaires.....	7
1.6. Activités biologiques et thérapeutiques du <i>Zizyphus lotus</i>	7
1.6.1. Activités anti-inflammatoires	7
1.6.2. Activités anti-ulcéro-géniques	7
1.6.3. Activités analgésiques.....	8
1.6.4. Activité antibactérienne.....	8
1.7. Importance et utilisation du jujubier sauvage.....	8
1.8. Exigences de la plante.....	9
1.9. Cycle de développement.....	10
2. Les bactéries	11
2.1. Généralités sur Les bactéries.....	11
2.2. Les types de bactéries.....	11
2.2.1. Les organismes Gram +	12
2.2.2. Les organismes Gram –.....	12
2.3. Les bactéries phytopathogènes.....	13
2.3.1. <i>Erwinia carotovora</i>	13
2.3.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
2.4. Mécanisme d'attaque des bactéries phytopathogènes.....	14
2.5. Lutte contre les bactéries phytopathogènes.....	15
2.5.1. Défense de la plante.....	15
2.5.2. Lutte chimique.....	15

2.5.3.Lutte biologique.....	16
Chapitre 2 : Matériels et méthodes	
1. Zone d'étude.....	17
2. Matériel biologique.....	18
2.1. Matériel végétal.....	19
2.2. Matériel microbiologique.....	19
3. Conditions de réalisation des essais.....	19
3.1. Matériel et produits utilisés.....	20
3.2. Préparation des extraits aqueux.....	20
3.3. Caractérisation des extraits aqueux.....	21
3.3.1.Dosage des composées phénoliques totales.....	21
3.3.2.Dosage des flavonoïdes.....	23
3.3.3.Dosage des tanins condensés.....	24
3.4. Évaluation <i>in vitro</i> de l'activité antimicrobienne des extraits aqueux du <i>Zizyphus lotus</i>	25
3.4.1.Préparation des pré- cultures.....	25
3.4.2.Test antibactérien.....	26
4. Analyses statistiques.....	27
Chapitre 3 : Résultats et discussions	
1. Quantification des composées phénoliques totaux, tanins condensés et des flavonoïdes	29
1.1. Quantification de teneur en polyphénols totaux.....	29
1.2. Teneur en flavonoïdes.....	31
1.3. Teneurs en tanins condensés.....	32
2. Test antibactérien.....	33
3. Discussions.....	36
Conclusion.....	38
Références bibliographiques.....	39
Résumé.....	47

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
AlCl₃	Chlorure d'aluminium
C	Concentration
CM	Carre moyenne
CMI	concentration minimale inhibitrice
CV	Coefficient de variation
Ddl	Degré de liberté
DO	<u>D</u> ensité <u>O</u> ptique
DMSO	Diméthylsulfoxyde
Eq AG/g	Equivalent d'acide gallique par gramme
F	Test de Fisher observé
FC :	Folin-Ciocalteu
Fe₂(SO₄)₃	Sulfate d'ammonium ferrique
G	Grainne
GAE	Acide Gallique Equivalent
GPS	Global Positioning system
H₂O₂	peroxyde d'hydrogène
Ln	Linné
Ls	Lotus
L En	Longueur de l'Endocarpe
LAR	Résistance locale acquise
LF	Longueur de fruit
Moy	Moyen
MPG	Moyen de poids des graines
MVS	matière végétale sèche
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
NG1	Nombre de graine 1
Pids	L'indice de signification
P	Probabilité
PF	Poids de fruit
PI	poids initial
Pop	Population
PS	poids de l'extrait sec
R % :	rendement de l'extraction en pourcent
SAR	résistance systémique acquise
SCE	Somme de la carre de l'écart
tr/min	tour par minute
Z	Zizyphus

Introduction

Introduction

La plupart des médicaments provenant des plantes qui sont traditionnellement utilisés sont devenues très importantes dans la médecine moderne (**Borgi et al. 2007**). Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances (**Salhi.S et al., 2010**).

Certaines espèces possèdent des propriétés pharmacologiques qui leur confèrent un intérêt médicinal (**Jean et Jiri, 1983**). Le jujubier sauvage (*Zizyphus lotus*) est utilisé en médecine traditionnelle (**Abalaka et al. 2010**). Cet arbuste pousse généralement dans les zones arides et semi-arides (**Benammar et al. 2010**). Il est abondamment présent dans la région méditerranéenne, dans toute la Libye au Maroc, en Algérie et dans les pays du sud de l'Europe comme l'Espagne, la Sicile, la Grèce et Chypre (**Pottier et Alapetite, 1981**). Ses graines ont une valeur alimentaire réelle en contenant de l'eau (6%), des protéines (19%), des glucides totaux (41%) et de l'huile (33%) ainsi que des minéraux essentiels tels que calcium, potassium et magnésium (**Chouaibi, 2012**).

Connu sous le nom de «Sedra», le fruit est la partie comestible de la plante par la population locale. Plusieurs parties du *Zizyphus* ont été utilisées par les médecines traditionnelles et ancestrales, tant en Afrique du Nord qu'au Moyen-Orient, pour le traitement de plusieurs pathologies dont les troubles digestifs, la faiblesse, troubles hépatiques, obésité, troubles urinaires, diabète, infections cutanées, fièvre, diarrhée et insomnie (**Adzu et al., 2003, Lahlou et al., 2002**), et en tant qu'antidiabétique, sédatif et hypoglycémique (**Tschesche et al., 1975 ; Anand et al., 1989**).

Les propriétés médicinales dues aux composés bioactifs dépendent de la partie de la plante concernée (racine, pédoncule et pulpe ou fruit) et de l'extrait utilisé (éthanol, butanol, etc.) (**Glombitza et al., 1994**). *Zizyphus lotus* est connu pour sa teneur élevée en polyphénols présentant un antioxydant et antimicrobien avec des propriétés immun-modulatrices (**Benammar et al. 2010**). Des études antérieures ont montré que ses fruits possèdent une activité antifongique, antibactérien et mollusicide (**Lahlou et al. 2002**).

Du fait que les cultures sont menacées par une variété de micro-organismes pathogènes et ravageurs qui réduisent leur durée de vie et les rendre impropre à la consommation humaine et du fait que, la défense des cultures contre ces organismes par soi-

même n'est pas toujours suffisante et que la lutte chimique reste imparfaite à cause de effets négatifs sur les composantes biotiques et même abiotiques, les chercheurs ont recours à l'usage des substances naturelles des plantes parce qu'ils constituent une stratégie phytosanitaire qui ne provoque pas des effets négatifs sur l'environnement : c'est la lutte biologique basée sur des nouvelles molécules extraites naturellement à partir de la flore et c'est la principale approche dans cette thématique.

La large répartition du jujubier sauvage en Algérie est caractérisée par des variations continues ou discontinues entre population. Puisque le génotype a une capacité de produire différents phénotypes lorsqu'il est exposé à différentes conditions environnementales, on peut s'attendre que le métabolisme primaire et secondaire de cette espèce est influencée par l'environnement.

De ce fait, notre travail vise à mettre en évidence l'effet des variations environnementales sur quelques composantes phytochimiques (polyphénols, tanins et flavonoïdes) des extraits aqueux des fruits de jujubier sauvage et sur son activité antibactérienne vis-à-vis de deux bactéries phytopathogènes (*Erwinia carotovora* et *Pseudomonas aeruginosa*).

Chapitre 1 :

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Jujubier sauvage

1.1. Généralités sur le jujubier sauvage

Le jujubier est un arbre probablement originaire de la Chine, où il est cultivé depuis plus de 4000 ans. Il est appelé chez les berbères des Aurès Zi'rur ou Habbat El Roumi (les dattes du roumaine) car il semble que ce soit les romains qui l'aient rapporté de la Syrie (**Mahboubi, 2014**).

Le jujubier sauvage, appelé communément Sedra, N'beg, Zerb, Azzougar ou Tazougart, est une espèce appartenant à la famille des Rhamnaceae (**BabaAissa, 1999**) ;

Il est largement distribué en Europe et en Asie du Sud-Est. Au Pakistan, il est communément connu sous le nom de Bayr et utilisé traditionnellement comme tonique et aphrodisiaque et parfois comme hypnotique-sédatif (**Naz et al. 2012**). Il possède également des propriétés anxiolytiques, anticancéreuses, antifongiques, antibactériennes, antiulcéreuses, anti-inflammatoires, anti-spastiques et cicatrisantes (**Benammar et al. 2010**).

Le jujubier est également considéré comme une espèce pastorale et fruitière appréciée par les ovins, les bovins, les camélidés et les caprins (**Bargougui et al. 1991**).

1.2. Description morphologique

Le jujubier sauvage (*Zizyphus lotus* L.) est un arbuste épineux qui forme des touffes de quelques mètres de diamètre pouvant atteindre 1 à 3 m de haut (**Boudraa et al. 2010**). C'est un arbrisseau à feuilles caduques, très épineux avec des branches gris-blanc (figure 1) poussant en zigzag (**Bayer et al. 1987**). Les feuilles (figure 2) sont alternes, elliptiques, de 1 à 2 cm de long et de 7 mm de large, un peu coriaces, brillantes en dessus avec 3 nervures nettes et stipules transformées en une épine courbe et une épine droite (**Bayer et al. 1987**). Les fleurs (**figure 3**) sont solitaires ou groupées avec un seul pédicelle court; à calice en forme d'entonnoir, pentamère; à petite corolle à cinq pétales; à cinq étamines épi pétales ; à deux styles courts (**Ghedira, 2013**) Elles sont petites, jaunes en pseudo-ombelles petites, aux aisselles des feuilles sépales ouverts en étoiles ; pétales petits (**Bayer et al., 1987**). L'ovaire est supère. Le fruit est une drupe brune-jaune (figure 4), plus ou moins sphérique de 1 à 5 cm de long, comestible (**Bayer, Butter, 2000**). Appelé jujube, il ressemble à une grosse olive (**Hamliche, 2014**).



Figure 1 : Arbuste du jujubier sauvage



Figure 2 : Feuilles de jujubier sauvage

Source : (<http://www.botanic.co.il/a/picschow.asp?qsecur=zizlot2>)



Figure 3 : Fleurs de jujubier sauvage

Source : <http://www.botanic.co.il/a/picschow.asp?qsecur=zizlot2>



Figure 4 : Fruit de jujubier sauvage

Source : <http://www.botanic.co.il/a/picschow.asp?qsecur=zizlot2>

1.3. Situation botanique

Les synonymes de cette espèce décrits dans la littérature sont : *Zizyphus lotus*, Lamé *Zizyphus lotus* Aitch. = *Zizyphus rotundifolia*, *Zizyphus lotus* Blanco, *Zizyphus lotoidea* St. Lag. (Daydon-Jackson, 1945) et *Rhamnus lotus* L. (Penso, 1983).

Embranchement	Magnoliophyta (= Phanérogames)
Sous-embranchement	Magnoliophytina (= Angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Rhamnacées
Famille	Rhamnaceae Tribu Zizyphae
Genre	Zizyphus
Espèce	<i>Zizyphus lotus</i> (L.) Desf. (ghadira, 2013)

1.4. Aire géographique

1.4.1. Dans le monde

L'aire naturelle de la majorité des jujubiers se situant entre 20° et 30° de latitude, zone qui est caractérisée par des climats chauds et secs et où sont localisés la majorité des déserts du globe (**Laamouri et al, 2008**).

Particulièrement Le *Zizyphus lotus* L. (Desf.) est abondamment présent dans les régions méditerranéennes, tropicales et subtropicales du monde (**Mukhtar, 2004**).

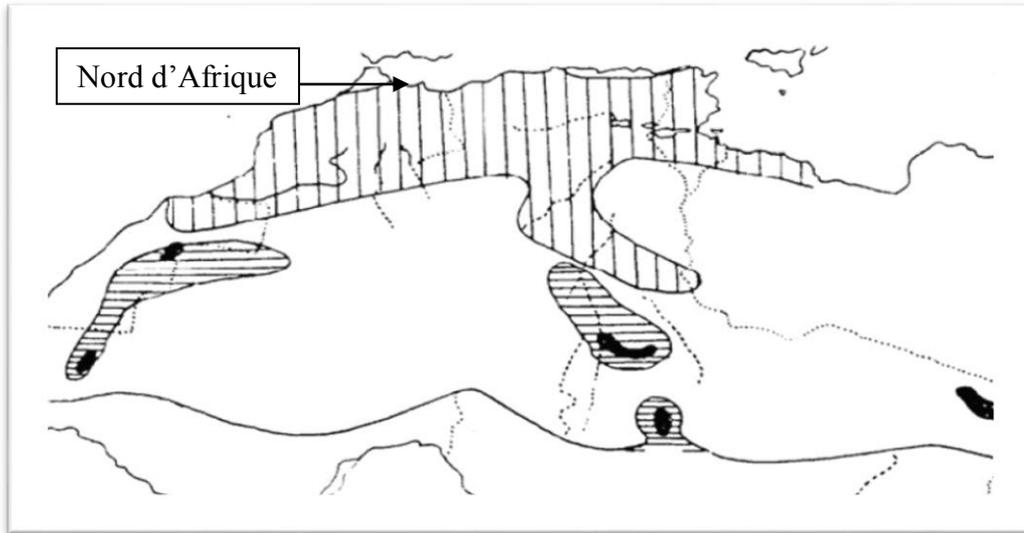
Il apparaît dans toute la Libye au Maroc, en Algérie et dans les pays du sud de l'Europe comme l'Espagne, la Sicile, la Grèce et Chypre (**Pottier et al. 1981**).

Il réapparaît ensuite au Yémen, dans l'île de Socotra, au Moyen-Orient : en Palestine, en Syrie, en Turquie. (**Ghedira, 2013**).

1.4.2. En Algérie

C'est une espèce méditerranéenne et subtropicale très répandue dans les régions arides d'Algérie du Sud (figure 5) : Ain Oussera et Messad (Wilaya de Djelfa) à climat aride et à Taghit (Wilaya de Bechar) au climat saharien (**Boudy, 1952**).

La plante est très commune dans toute l'Algérie sauf dans le tell algéro-constantinois (**Boudy, 1952**).



Aire de *Zizyphus lotus* L.

Figure 5 : Aire de *Zizyphus lotus* L. au nord d'Afrique (Quezel et Santa, 1963)

1.5. Composition biochimique

D'après **Catoire et al. (1994)**, les études phyto-chimiques menées sur le *Zizyphus lotus* montrent la présence de métabolites primaires et secondaires.

1.5.1 Métabolites primaires

Le tableau n° 1 indique le pourcentage des différents métabolites primaires dans le fruit du *Zizyphus lotus*.

Tableau 1 : Teneur du fruit de *Zizyphus lotus* frais en métabolites primaires (**Catoire et al, 1994**).

La fraction de la pulpe du fruit	Le pourcentage
Sucres	20% à 32%
lipides	0,1% à 0,3%
protides	0,8% à 2,1%

1.5.2. Métabolites secondaires

Les études de Borgi et Chouchane(2006) et de Catoire *et al.* (1994) démontrent que le fruit de *Zizyphus lotus* est connu par son contenu en molécules biologiquement actives tels que les polyphénols (flavonoïdes, tanins), et les triterpènes, les anthraquinones, les alcaloïdes (cyclopeptides et isoquinolides) et les saponosides (tableau 2).

Tableau 2 : Composition biochimique du *Zizyphus lotus* en métabolites secondaires

Organe végétal	Composition chimique	Références
Fruits	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Flavonoïdes; ➤ Tannins ; ➤ saponines ; ➤ alcaloïdes 	Borgi et al.(2007)
Feuilles	<ul style="list-style-type: none"> ➤ flavonoïdes, tanins, alcaloïdes. ➤ saponines de type dammarane: <ul style="list-style-type: none"> • jujuboside B • jujubogenin glycoside • dérivé sulfaté de jujubasaponine IV 	Borgi et al.(2007) Macuek et al. (2004)
Ecorce des racines	<ul style="list-style-type: none"> ➤ flavonoïdes, saponines de type damarane, -tanins. ➤ alcaloïde cyclo peptidiques lot usines A-G 	Borgi et al.(2007) Le Crouéour, 2002)

1.6. Activités biologiques et thérapeutiques du *Zizyphus lotus*

Les recherches actuelles sur les différentes activités pharmacologiques de *Zizyphus lotus* ont ressorti plusieurs effets de grande importance pour la médecine moderne. Parmi ces effets on souligne les plus importants :

1.6.1 Activités anti-inflammatoires

Les flavonoïdes et les saponines de l'écorce des racines du *Zizyphus lotus* ont montré une activité anti-inflammatoire significative (**Borgi et al, 2006**).

1.6.2. Activités anti-ulcéro-géniques

Le *Zizyphus lotus* (les feuilles, l'écorce des racines) possède une importante activité anti- ulcéro-géniques attribuée à la présence des tanins et des flavonoïdes connus par leurs effets gastro protecteur (**Borgi et al, 2006**).

1.6.3. Activités analgésiques

Les feuilles du *Zizyphus lotus* possèdent des effets analgésiques attribués à leur contenu en principes actifs ; les flavonoïdes et les saponines (**Borgi et al, 2007 ; Borgi et al, 2008**).

1.6.4. Activité antibactérienne

Les extraits éthanoïques et méthanoïques de la pulpe du *Zizyphus lotus* ont montré une activité antimicrobienne sur différentes espèces de microorganismes telles que : *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonellatyphi*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa* (**Rsaissi et al., 2013**).

1.7. Importance et utilisation du jujubier sauvage

Le *Zizyphus lotus* est une espèce à usages multiples. Depuis l'antiquité, elle est utilisée comme nourriture, ses fruits (n'beg) sont appréciés comme friandise et comme aliment (**Gobert. E, 2003**).

Les feuilles, bien qu'elles soient très épineuses, sont broutées par les animaux, les fruits sont consommés par l'homme, le bois sert de combustible d'excellente qualité, et les fleurs sont butinées par les abeilles qui en produisent un excellent miel (**El Hachimi et al. 2015**). Le jujube est consommé frais, cuit ou séché; la pulpe sèche est parfois transformée en farine (**Mahboubi, 2014**).

L'huile de *Zizyphus lotus* est riche en molécules biologiquement actives telles que les polyphénole, les stérols (**Chouaibi et al, 2012**), l'acide oléique, acide gras mono-insaturé, qui est un acide gras essentiel pour l'alimentation humaine (**El Hachimi et al. 2015**).

Cette espèce est utilisée dans la lutte contre l'ensablement (l'amélioration des sols dégradés). Elle intervient dans la fixation des substrats mobiles par l'émission de ses rameaux en dehors des sols (**Laamouri et al, 2000**). De plus, elle constitue un abri pour les animaux (les rongeurs, les insectes et les reptiles), et permet l'installation d'une flore nitrophile. Ces caractéristiques font de *Z. lotus* un arbuste de valeur universelle aux surfaces écologiques arides et semi-aride.

Par ailleurs, les graines broyées de cette espèce sont traditionnellement utilisées pour le traitement de nombreuses maladies. Elles sont antipyrétiques, toniques, antivirales (**Hseini et al, 2007**) et antimicrobiennes (**Rsaissi et al, 2013**).

Il est traditionnellement employé en décoction comme adoucissant contre la toux, la bronchite, la pneumonie et la rougeole (**Mahboubi, 2014**). La décoction concentrée de feuilles est préconisée, en compresses, sur les furoncles et les plaies, ou absorbée comme antidiarrhéique (**Hammiche, 2014**).

En Tunisie, le jujubier est considéré comme plante médicinale fréquemment utilisée en médecine traditionnelle, et même dans les rites religieux (**Arfaoui et al, 2005**). Des travaux récents ont montré ses activités anti-inflammatoires, les activités analgésiques et antispasmodiques (**Borgi et al, 2008**). Le fruit de cette plante est consommé par la population locale pour le traitement de plusieurs pathologies telles que les troubles digestifs, l'obésité, les troubles urinaires et les infections cutanées (**Adzu et al, 2003**). Les propriétés médicinales de cette plante dépendent de la partie de la plante et de l'extrait utilisé. Par exemple, le fruit a été utilisé pour ses effets émoullients et les feuilles sont connues pour les effets bénéfiques dans les furoncles. Les aboiements racinaires sont connus pour leur propriété antidiabétique (**Glombitza et al, 1994**).

1.8. Exigences de la plante

Le *Zizyphus lotus* est autochtone, rustique et d'une grande plasticité écologique (**Laamouri, 2005**). Concernant sa propagation, le *Z. lotus* se multiplie par voie végétative (drageonnage) qui peut être un facteur limitant sa dispersion et l'occupation du milieu. C'est une espèce à faible propagation par semis (voie sexuée) (**Maraghni, 2009**). Dans des conditions naturelles, sa germination est rare, voire nulle car les semis ne nécessitent le traitement des noyaux par les sucs digestifs des animaux. Des études récentes portant sur la germination de cette espèce, rapportent que son optimum thermique est de 35°C avec un taux de 100% (**Arfaoui, 2005**).

En plus, cet arbuste est relativement tolérant au stress hydrique en phase germinative puisque la valeur limite du potentiel hydrique permettant une germination est de -1MPa (**Gourai et al, 2010**). Des essais de reprise de germination (**Maraghni, 2009**) ont montré que ses semences sont capables de conserver leur viabilité et d'initier la germination suite à leur transfert dans l'eau. Les jujubiers subsistent bien dans les environnements arides grâce à leurs mécanismes physiologique et morphologique d'adaptation (**Reich, 1991; Clifford et al, 1998**).

1.9. Cycle de développement

Selon (Rsaissi et al, 2013), les plantes de jujubier sauvages sont dormantes d'octobre à mars. Les plantes matures fleurissent en juin et en juillet et produisent des fruits de 1 cm de diamètre avec une fine pulpe sucrée. D'abord ces fruits sont lisses et verts, ils mûrissent au début de l'automne et deviennent rouilles et ridés ; Ils renferment un noyau très dur. (Hammiche, 2014). Les fruits peuvent être récoltés, séchés et vendus pour la consommation humaine.

Pour le développement du pivot de *Zizyphus lotus*, trois périodes de développement sont distinguées (Laamouri et al, 2008):

- La première période se caractérise par un développement lent. Elle commence dès la germination jusqu'à la 12^{ème} semaine.
- La deuxième période se caractérise par un développement rapide. De plus, on a noté des pics de croissance. Il est de 15 semaines avec un allongement de pivot variant de 5 à 11,5 cm par semaine.
- La troisième période est caractérisée par une croissance hebdomadaire lente comme pour la première période. La croissance de la partie racinaire est antagoniste avec la partie aérienne. Cet antagonisme se caractérise par une diminution ou un arrêt de la croissance d'une partie lorsque l'autre est en croissance.

La croissance hebdomadaire du système racinaire d'un plant de *Zizyphus lotus* L fait apparaître trois phases importantes (Laamouri et al, 2008):

- Une phase hivernale : elle s'étale jusqu'à mi-mars. Durant cette période, la croissance aussi bien des racines que de la partie aérienne est faible à cause de la diminution de la circulation de la sève brute.
- Une phase printanière : elle s'étale jusqu'à fin juin et est caractérisée par une forte croissance racinaire. La croissance hebdomadaire du pivot atteint son maximum avec des pics de croissance allant de 12 cm.
- Une phase estivale: entre juillet et août, nous remarquons une baisse de croissance des pivots. Cette diminution est probablement liée à une baisse d'humidité.

2. Les bactéries

2.1. Généralités sur Les bactéries

Les bactéries sont des microorganismes typique, dont les démentions sont de l'ordre du micron. Bien qu'il existe des bactéries sphériques en spirale, seule la forme en bâtonnet intéresse la phytopathologie. Certains germes sont caractérisés par un, deux ou plusieurs flagelles qui procurent une certaine mobilité en milieu liquide (**Corbaz, 1990**).

Le nombre des bactéries infectant les végétaux est faible par rapport aux nombreuses bactéries saprophytes et aux bactéries trouvées chez les animaux. Elles pénétrant dans la plante par des blessures ou des ouvertures naturelles-stomates, pores aquifères, lenticelles (**Corbaz ; 1990**).

Les symptômes provoqués par les bactéries se rangent en trois catégories (**Roger, 1990**) :

- **Les taches huileuses** : sur le limbe foliaire (graisse du haricot, feu sauvage du tabac) ou sur des tiges (jambe noire de la pomme de terre) ;
- **Les infections vasculaires** : les bactéries envahissent les vaisseaux et provoquent finalement un flétrissement (flétrissement de la tomate, feu bactérienne sur poirier) ;
- **Les tumeurs** : principalement sur racines (crown Gall du rosier framboisier, vigne, etc.)

2.2. Types de bactéries

La phytopathologie ou phytatrie (en anglais : phytopathologie, plant pathology ou plant disease) est la science qui traite de maladies des plantes. Les études phytopathologiques reposent sur la mise en œuvre de notion de botanique, de microbiologie, de biologie moléculaire, de génétique, de biochimie, de physiologie végétale, d'écologie, de phytotechnie, de toxicologie, d'épidémiologie, elles recouvrent l'ensemble des données biologiques, chimiques et physique d'un écosystème déterminé. (**Semal, 1996**).

Les bactéries constituent une division taxonomique regroupant les procaryotes pourvus d'une paroi, partiellement formée de peptidoglycanes. On y rencontre les bactéries Gram négatif (Gracilicutes) et les bactéries Gram positif (Firmacutes) (**Viseur, 1996**).

2.2.1. Les organismes Gram +

Son paroi est constituée essentiellement d'un peptidoglycane et d'acide téichoïque. La structure de base de ce peptidoglycane est formée de deux sucres : le N-acétylglucosamine (NAG) et l'acide N-acétylmuramique (NAM), liés en alternance par tétrapeptide associé à cinq molécules de glycine. Cette structure caténaire, maintenue par des liaisons covalentes, confère une rigidité élevée à la paroi bactérienne. Les tétra peptides de liaisons sont spécifiques des bactéries ; ils contiennent notamment deux acides aminés de forme D, la D-glutamine et la D-alanine, liés de manière particulière et absents chez les autres organismes vivants. L'acide téichoïque qui recouvre la paroi des bactéries Gram+, est un polymère constitué de molécules de glycérolé (ou de ribitol) liée en alternance par des ponts phosphodiester. Ces molécules sont associées à un sucre (glucose) ou à de l'alanine. Les cellules Gram + peuvent être facilement débarrassées de leur paroi, soit par traitement aux lysozymes, soit par croissance en présence de pénicilline. On obtient dans ces conditions des protoplastes sphériques, très sensibles au choc osmotique, mais dont les activités métaboliques demeurent intactes (**Viseur, 1996**).

2.2.2. Les organismes Gram -

La paroi des bactéries Gram - possède une structure plus complexe comprenant plusieurs feuilletts. Une mince couche interne de peptidoglycane (10% de la m.s) est recouverte par une double couche constituée de molécules hydrophiles (phosphates et saccharides) et de molécules hydrophobe (lipides). Des lipopolysaccharides, situés du côté externe sont associés à des phospholipides situés du côté interne. Les lipopolysaccharides contiennent des sucres particuliers, rarement présentes chez les autres organismes. Des mutations fréquentes affectent la composition de ces saccharides, impliqués dans les phénomènes de reconnaissance. Des protéines sont présentes dans les deux feuilletts ; elles ont un rôle de transporteur spécifique au travers de la paroi ou constituent des canaux de diffusion de petites molécules polaires (purines). En outre, on trouve en abondance une lipoprotéine qui renforce mécaniquement la structure des feuilletts. Les bactéries Gram - possèdent par ailleurs un espace situé entre la membrane cytoplasmique et la couche de peptidoglycane (espace péri plasmique), contenant des protéines actives dans le transport des métabolites (**Viseur, 1996**).

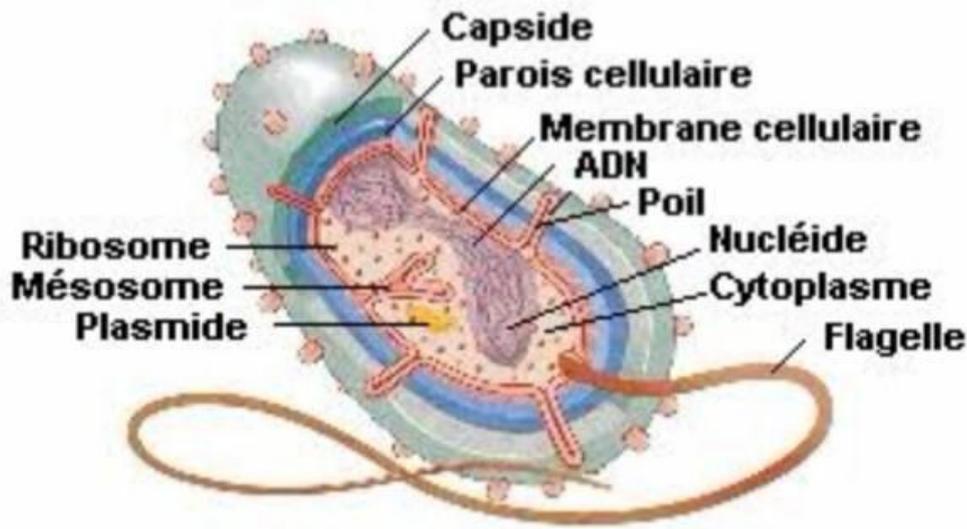


Figure 6 : L'anatomie de la bactérie

2.3. Les bactéries phytopathogènes

La plupart des bactéries phytopathogènes se développent rapidement sur des milieux de culture simple, couramment utilisés en microbiologie et leur isolement à partir de tissus végétaux est dès lors aisé. Un certain nombre cependant (dysphagobactéries), nécessitent des milieux très complexes pour croître *in vitro*, tandis que dans la plante-hôte, leur développement est généralement limité au phloème ou au xylème (Viseur, 1996).

Parmi les bactéries phytopathogènes quelques-unes sont capables d'attaquer un grand nombre d'espèces cultivées appartenant à des familles végétales très différentes en occasionnant des dégâts sérieux (Viseur, 1996), nous citerons : *Erwinia carotovora* et *Pseudomonas aeruginosa*.

2.3.1. *Erwinia carotovora*

Le genre *Erwinia* regroupe les bactéries phytopathogènes Gram -, anaérobies facultatives, en forme de bâtonnet, munies de flagelles péritriches. Ce germe fait partie de la famille des Entérobactériacées, qui contient également plusieurs genres pathogènes pour les mammifères et pour l'homme (Viseur, 1989).

C'est un genre hétérogène se présentant isolement par deux ou en courte chaîne. Par rapport aux autres bactéries phytopathogènes, les bactéries *Erwinia* ont la faculté de pouvoir

se développer en présence ou absence d'oxygène. Les espèces de ces groupes sont douées d'une activité biochimique plus intense. Elles ont en particulier un pouvoir pectinolytique élevé (**Maurin, 1999**).

Le groupe de carotovora comprend deux sous espèces principales :

- ✓ *Erwinia carotovora* subsp. *Carotovora* : Cette sous espèce qui réclame une blessure pour pénétrer est pratiquement capable d'attaquer tous les tissus tendres des végétaux en donnant une pourriture molle et humide qui progresse rapidement (**Maurin, 1999**).
- ✓ *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*: Beaucoup plus spécialisées. Cette sous espèce est responsable de la maladie connue sous le nom de jambe noire de la pomme de terre (notons au passage que ce symptôme peut être dû à d'autres germes). En dehors de la pomme de terre *E.C subspatroseptica* pourrait affecter d'autres plantes comme la betterave, le céleri, les pieds d'alouette, le saintpaulia..... (**Maurin, 1999**).

2.3.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Bacille à gram négatif (-), de 1 à 3µm de long et de 0,5 à 1µm de large. Parfois entouré d'une pseudo-capsule appelée slime qui peut jouer un rôle important dans la pathogénicité de cette bactérie (**Jean loup et al, 1992**). C'est l'espèce la plus connue et la plus répandue du genre *Pseudomonas*. La plus pathogène, elle constitue l'espèce-type du genre.

2.4. Mécanisme d'attaque des bactéries phytopathogènes

Les bactéries vivent en parasites ou en saprophytes et constituent des colonies nombreuses. Elles se reproduisent par division. Elles pénètrent dans les végétaux par les ouvertures naturelles : les stomates, les lésions et les blessures ou encore par l'action de la grêle ou de gel. Pendant la végétation, les plantes attaquées exsudent les gouttelettes chargées de bactéries. La dissémination est assurée par la pluie, le vent, les limaces, les insectes et certains nématodes. Les interventions humaines : taille, multiplication de plantes malades, ébourgeonnage, etc. L'humidité et la chaleur sont des facteurs favorables au développement de ces organismes (**Jean et al, 1979**).

2.5. Lutte contre les bactéries phytopathogènes

La lutte, essentiellement préventive doit être pensée dès avant la plantation en évitant les situations humides ou gélives et en choisissant dans la mesure du possible des variétés résistantes ou peu sensibles (**Schaeffer, 1999**).

2.5.1. Défense de la plante

La cohabitation des plantes avec d'autres organismes (environnement biotique), la plante est capable de mettre en place une grande variété de réactions de défense constituant un ensemble de processus complexes pouvant aller jusqu'à des réactions de type immunitaire. Certains de ces mécanismes de défense sont capables de protéger la plante contre un large spectre d'agresseurs et pendant de longues périodes. Quand une plante est attaquée par un agresseur, elle peut développer des barrières physiques et tout un arsenal de molécules chimiques plus ou moins complexes, globalement appelées molécules de défense. Parmi les défenses physiques les plus couramment mise en œuvre, on peut citer les épines qui sont des formes adaptatives de la feuille et qui permettent à la plante de se défendre notamment contre les herbivores.

La plante peut aussi épaissir sa cuticule (couche cireuse recouvrant les feuilles) afin de la rendre impénétrable mais aussi rendre la feuille beaucoup moins appétent pour les agresseurs. La plante est aussi capable d'épaissir ses parois cellulaires (jusqu'à cent fois) afin d'empêcher un agresseur microscopique de pénétrer dans la cellule et de la détruire (**Lydie, 2010**).

2.5.2. Lutte chimique

La lutte chimique joue un rôle essentiel pour l'obtention de récoltes abondantes et de qualité. Elle constitue un moyen de protection efficace mais qu'il faut utiliser de façon raisonnée en tenant compte de l'opportunité du traitement, de l'efficacité du produit et des effets non intentionnels de cette intervention (**Schaeffer, 1999**).

La lutte chimique, essentiellement a de nombreux abus dûs à la présence des résidus ainsi qu'à une absence de vue globale des différents problèmes, en particulier l'impact sur l'environnement. Les traitements chimiques ont augmenté considérablement, jusqu'à devenir dans certains cas insupportables sur le plan économiques. Si les traitements avec les pesticides (insecticides, acaricides, nématicides, fongicides, bactéricides et herbicides) présentent de

bons résultats à court terme, à long terme leur action secondaire sur l'environnement devient inquiétante (Schaeffer, 1999).

2.5.3. Lutte biologique

La lutte biologique est née d'un certain échec de la lutte chimique. Elle, au contraire, n'a qu'une efficacité relative et demande davantage de connaissances et d'observations, mais à long terme, elle est plus intéressante sur tous les plantes. Dans le cadre des maladies, le premier résultat positif est celui de Sanford pour la lutte contre la galle commune de la pomme de terre par un amendement vert. Il était normal que les parasites du sol, difficilement atteignables par des traitements chimiques usuels, aient joui d'une certaine priorité dans la lutte biologique (Schaeffer, 1999).

Chapitre 2 :

Matériel et méthodes

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

1. Zones d'étude

Cinq stations prospectées (figure 6). Elles se trouvent dans des zones différentes qui s'étalent sur les zones semi-arides, arides et arides secs (Laghouat, El Bayadh, M'Sila, Ghardaïa et Béchar). Les fruits ont été récoltés à maturité aux moins d'Aout, Septembre et Octobre 2016 en utilisant un échantillonnage aléatoire.

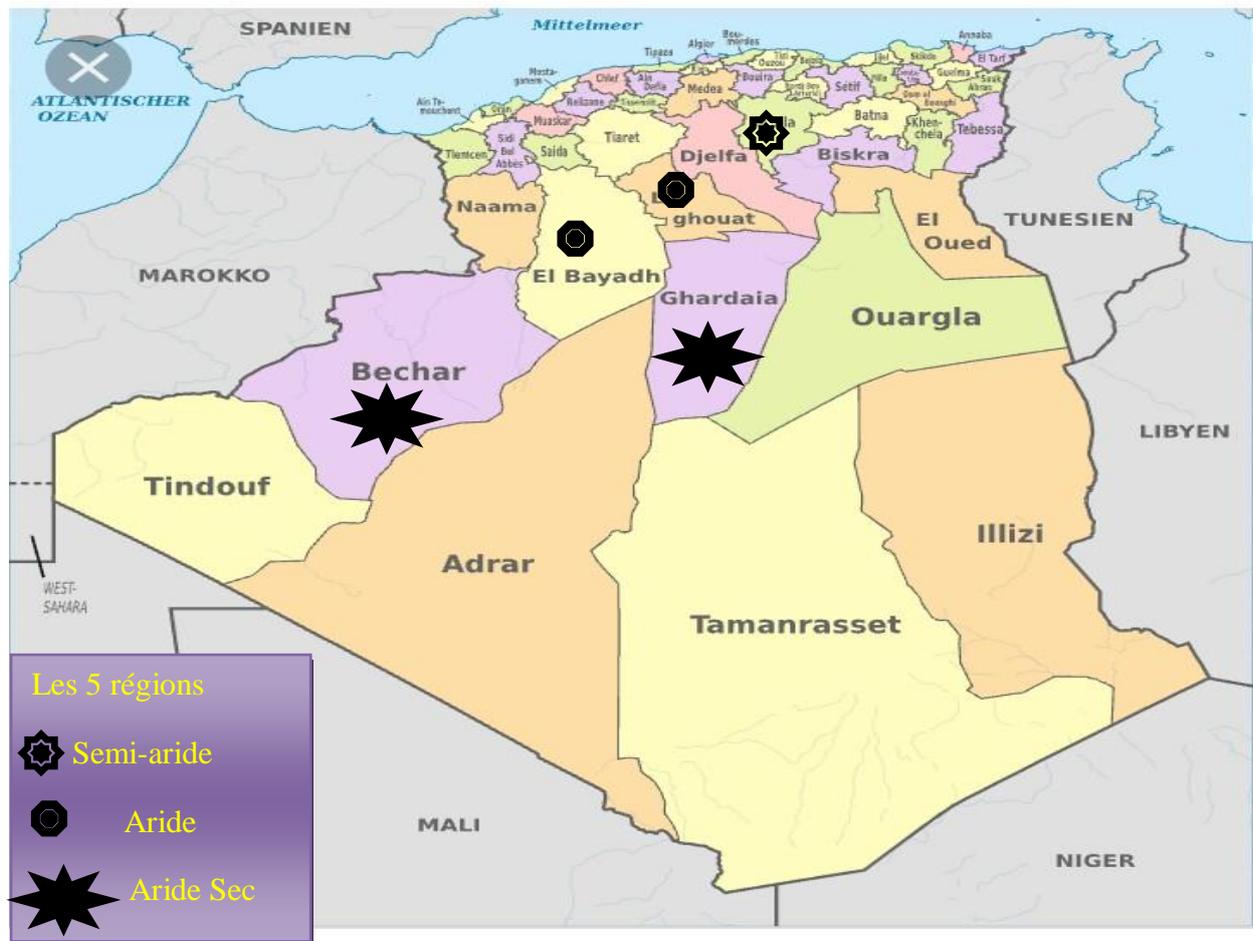


Figure 7 : Illustration des différentes zones d'étude

Le tableau 03 résume l'origine exacte de collecte ainsi que les coordonnées géographiques des différentes régions prospectées.

Seltzer (1946) décrit le climat d'Algérie comme étant un climat à grande diversité. Le climat de l'Atlas saharien se distingue de celui des Hautes Plaines par un abaissement général de la température, et une augmentation de la pluviosité, celle-ci assez faible en réalité par suite de la grande distance à la mer. L'abaissement de la température a pour corollaire l'augmentation de la niviosité et de la fréquence des chutes de grêle.

La transition de l'Atlas saharien au Sahara est rapide. L'amplitude diurne reste considérable, et les gelées sont plus fréquentes dans cette partie du Sahara que sur le littoral. La moyenne annuelle des pluies décroît vers le Sud, et de longues périodes de sécheresse s'observent en toute saison (Seltzer, 1946).

Tableau 3: Les coordonnées géographiques des stations d'échantillonnage.

Population	Origine	Longitude	Latitude	Altitude
Béchar	Moughoul	2°12 O	32°1 N	1023 m
El Bayadh	Bougtob	0°7 E	33°59 N	1038 m
Ghardaïa	Metlili	3°33 E	32°18 N	526 m
Laghouat	Khneg	2°59 E	33°49 N	772 m
M'Sila	Maarif	4°18 E	35°22 N	410 m

2. Matériel biologique

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal étudié est constitué des pulpes des fruits de jujubier sauvage (*Zizyphus lotus*). Les fruits ont été récoltés à maturité à partir de cinq régions arides (Laghouat, El Bayadh, M'sila) et arides secs (Ghardaïa, Bechar) au mois d'août et septembre 2016.

Les fruits ont été d'abord triés et dénoyautés (**figure 7**), ensuite la partie comestible a été séchée à l'ombre à température ambiante. Après séchage elle a été broyée pour obtenir une poudre fine et conservées dans des boites sombres et hermétiquement fermées dans un endroit frais jusqu'au jour de leur utilisation.



Figure 8 : Les différentes parties du fruit de jujubier sauvage

2.2. Matériel microbiologique

Les germes utilisés pour évaluer l'activité antibactérienne sont fréquentes en phytopathologie. Il s'agit de :

- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853): Est un bacille Gram négatif en forme de bâtonnet, mobile, aérobic strict. Il s'agit d'un microorganisme saprophyte de l'environnement, notamment au niveau de l'eau, des sols humides et des végétaux. Il est également un commensal de l'homme, en particulier au niveau intestinal, considéré comme une bactérie opportuniste, provoquant des infections chez des patients ayant une diminution de leur système de défense immunitaire mais également physique. Ainsi, il est responsable, pour une large part, d'infections nosocomiales, notamment des sites respiratoires et urinaires (**Hafiane et Ravaoarino, 2008; Minchella et al, 2010**).
- *Erwinia carotovora* : est une bactérie à Gram négatif, en forme de bâtonnet, qui vit seule ou se regroupe en paires et en chaînes. Non spores formant et flagellé péritrichement, c'est un anaérobie facultative qui est catalase négatif et oxydase positive. *Erwinia carotovora* produit un certain nombre d'enzymes dégradant la paroi des cellules végétales extracellulaires telles que les enzymes pectiques qui dégradent la pectine, la cellulase qui dégrade la cellulose, les hémicellulases, les arabanases, les cyanosés et une protéase. En tant que bactérie mésophile, *Erwinia carotovora* se développe le plus dans la plage de température entre 27 et 30 degrés Celsius. (**Perombelon, Graham and Harrison, 1975**) *Erwinia carotovora* est une bactérie en forme de bâtonnet qui doit son nom à la culture des carottes dont elle a été isolée pour la première fois. La bactérie infecte une variété de légumes et de plantes, y compris les carottes, les pommes de terre, les concombres, les oignons, les tomates, la laitue et les plantes ornementales comme l'iris (**Wood, 1998**). Ces microbes répandus peuvent être trouvés dans le sol, les tripes d'insectes, l'eau et les aérosols en suspension dans l'air (**Wood, 1998**).

3. Conditions de réalisation des essais

3.1. Matériel et produits utilisés

Le tableau 4 résume l'ensemble de matériel et de produits utilisés pour la réalisation des différents protocoles expérimentaux.

Tableau 4 : Matériel et appareillage utilisés lors des différentes expérimentations

Appareillages	Produit	Autres
<ul style="list-style-type: none"> • Agitateur «Ikamag» • Autoclave «Wolf Weskzeug- Vorrichtungenun 7340 Geislingen» • Bain marie «Memmert» • Balance magnétique «Kern 440-45N » • Four Pasteur «Heraeus» • Incubateur «Memmert 854 Schwabach W- Germany» • Spectrophotometre Vortex «Techno kartell» 	<ul style="list-style-type: none"> • Acide gallique • Carbonate de sodium • Chlorure de fer • DMSO • Eau distillé stérile • Eau physiologie • Folin-Ciocalteu • HCL • Hypochlorite de sodium • Méthanol • Milieux de culture <ul style="list-style-type: none"> ○ Citrimide gélose ○ King B ○ Mueller Hinton • NACL • n-Butanol • Sulfate ferreux 	<ul style="list-style-type: none"> • Barreau magnétique • Bec Bunsen • Béchers • Boîtes de Pétri • Cristallisoir • Ecouvillons • Éprouvettes graduée • Flacons • Les basses fins • Micropipette • Mortier • Papier filtre • Pipette pasteur • Pissettes • Portoir de tube a essais • Règle graduée • Spatule • Tubes à essai • Verre de montre

3.2. Préparation des extraits aqueux

La préparation des extraits aqueux a été effectuée selon le protocole de (**Hossein zadeh et Younssi, 2002**). Après l'opération de décortication et du séchage des fruits, les pulpes ont été broyées à l'aide d'un mortier en porcelaine afin d'obtenir une poudre fine. La macération aqueuse a été utilisée pour l'obtention des extraits aqueux. Elle consiste à mettre 25 g de pulpe de chaque population avec 250 ml d'eau distillée stérile dans des flacons hermétiques sous agitation horizontale à la température ambiante du laboratoire pendant 72h. Après, une première filtration a été effectuée en utilisant de la gaze stérile suivie par une deuxième filtration avec du papier filtre et l'extrait liquide a été placé dans une étuve ventilée à 40°C pendant plusieurs jours pour évaporer l'eau distillée et l'obtention d'une poudre sèche.



Figure 9 : les différentes étapes de préparation des extraits aqueux (original 2018)

3.3. Caractérisation des extraits aqueux

3.3.1. Dosage des composés phénoliques totaux

◆ Principe

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode décrite par **Singleton et Rossi (1965)** en utilisant le réactif folin-ciocalteu. Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstène ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdène ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Son principe est basé sur l'oxydation des composés phénoliques en milieu alcalin par le réactif Folin ciocalteu. Cette réaction entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu présentant un maximum d'absorption à une longueur d'onde ≈ 760 nm et dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de composés phénolique présent dans l'échantillon. Le dosage des composés phénoliques a été effectué par la comparaison de la densité optique observé à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue.

◆ **Technique**

Dans des tubes à essai, 0,5 ml de chaque extrait a été ajouté à 2,5 ml de Folin-Ciocalteu (RFC) (dilué dix fois). Après incubation de 3 minutes, on ajoute 1 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à (20%), le nouveau mélange qui obtenu a été incubé pendant 15 minutes à température ambiante et à l'obscurité (**Singleton et Rossi, 1965**).

La lecture des absorbances a été faite à longueur d'onde $\lambda = 760$ 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 d'extrait, selon la formule suivante (**Gaouar, 2011**):

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

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

C: Concentration des polyphénols en équivalent d'acide gallique déduite de la courbe;

D: Facteur de dilution;

P: Poids de l'échantillon (g);

V: volume de la solution analysée (ml).



Figure 10 : le test de teneur en polyphénol (original 2018)

3.3.2. Dosage des flavonoïdes

◆ Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation de complexes entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium. Ceci traduit le fait que le métal perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygènes de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons. Les complexes produits sont de couleur jaune absorbant dans le visible à 415 nm (Alyafi, 2007).

◆ Technique

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 vigoureusement agité, puis l'ensemble a été 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 quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage (voir annexe III) réalisée avec un flavonoïde de référence (la Quercitrine). La teneur en flavonoïde est exprimée en microgramme équivalent de Quercétine / milligramme d'extrait ($\mu gEq/mg$ d'extrait).



Figure 11 : teneur en flavonoïdes (original 2018)

3.3.3. Dosage des tanins condensés

◆ Principe

Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A d'acide gallique pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500nm (Schofield *et al.*, 2001).

◆ Technique

A 250µl de chaque extrait, sont ajoutés 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)). Après une incubation à 95 °C dans un bain marie pendant 50 min, l'absorbance est mesuré à 530 nm.

La concentration des tanins condensés (proanthocyanidines) est déduite à partir de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique et sont exprimées en microgramme d'équivalent acide gallique par un milligramme d'extrait (μg EqAG/mg d'extraits) (Schofield *et al.*, 2001).



Figure 12 : la teneur en tanins condensés (original 2018)

3.4. Évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits aqueux des *Zizyphus lotus* L.

Comme il a été précédemment cité, les composés phénoliques sont doués d'un effet inhibiteur sur la croissance bactérienne. Dans cette optique, les extraits préparés de *Zizyphus lotus* ont été mis en contact avec quelques souches bactériennes phytopathogènes.

La mise en évidence et l'évaluation de la bioactive des différents extraits a été réalisé par une méthode très répandue dans ce domaine.

Les souches à leur arrivée ont été conservées à 4°C dans des tubes contenant 10ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive).

3.4.1. Préparation des pré-cultures

À partir de la gélose nutritive de conservation, un prélèvement des souches a été effectué à l'aide d'une anse de platine, puis mis dans 5 ml de bouillon nutritif et incubé à 28°C pendant 18 heures. Après ce temps d'incubation, les souches ont subi un repiquage par la méthode de stries en milieu solide correspondant à chaque souche : cétrimide pour *Pseudomonas aeruginosa* et King B pour *Erwinia carotovora*. Ces ensemencement ont été suivis d'une incubation de 24h à 28°C et ce afin d'obtenir des cultures jeunes.



Figure 13 : repiquage des bactéries (original 2018)

3.4.2. Test antibactérien

La méthode a été effectuée pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits aqueux issus des cinq populations de jujubier sauvage, a été : la méthode de diffusion sur gélose (disques).

◆ Principe

Cette méthode est très courante dans les laboratoires de microbiologie. Elle est peu coûteuse et facile à réaliser. Elle est très informative, elle permet la détermination de la résistance ou la sensibilité des souches microbiennes vis-à-vis les composés testés et/ou les extraits qui les contiennent.

Le principe de cette technique est le même que celui du test d'antibiogramme, dont les disques sont chargés des extraits et déposés à la surface des milieux de cultures solides ensemencés par des espèces bactériennes bien déterminées (**Celiktas et al., 2007**)

Les extraits commencent à diffuser dès son application sur le milieu de culture, et pour favoriser la croissance bactérienne, les boîtes sont incubées dans l'étuve pendant 24 heures ou plus selon la bactérie.

L'effet des extraits sur la croissance bactérienne se traduit par l'apparition d'une zone appelée « zone inhibition » dépourvue des bactéries, claire et facilement mesurable.

◆ Technique

Les extraits aqueux issus des différentes populations du *Zizyphus lotus* sont reconstitués en les solubilisant dans l'eau distillée.

A partir d'une culture jeune de 18h d'incubation, une suspension bactérienne a été réalisée dans de l'eau physiologique stérile et ce pour chaque souche. La turbidité de cette suspension a été ajustée à 0,5 Mac Farland puis diluée au 1/100. On obtient alors un inoculum estimé à 10^6 germes/ml. Par la suite, cet inoculum a été ensemencé à l'aide d'un écouvillon par le technique des stries sur tout la surface des boîtes de Pétri contenant la gélose Mueller-Hinton. Les boîtes de Pétri ainsi ensemencées ont été laissées sécher à l'aire libre pendant 30 minutes.

Cinq boîtes sont utilisées pour chaque souche. Des disques de papier Whatman N°3 (Ø 5 mm) stérilisés à 120°C pendant 30 min ont été imbibés de 10µl d'extraits de cinq populations M'Sila, Laghouat, El Bayadh, Ghardaïa et Béchar en deux concentrations dans

chaque boîte (0,1g/ml, 0,05g/ml). Chaque concentration a été répétée trois fois. Puis ces disques ont été déposés à la surface de la gélose ensemencée.

Dès l'application des disques imprégnés, l'extrait diffuse de manière uniforme et après 24 heures d'incubation, l'apparition, autour des disques, d'une zone d'inhibition circulaire dans laquelle il n'y a pas de croissance de microorganismes dénote la sensibilité de ceux-ci à cet extrait. Plus la zone d'inhibition est grande, plus le germe est sensible.

L'activité antibactérienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque la lecture des boîtes a été faite après 24h d'incubation à une température de 28°C.

Parallèlement, des boîtes dites témoins négatifs avec des disques contenant du DMSO diméthylsulfoxyde (DMSO) dilué 3 /10, ont été préparées. Ce test a été réalisé en duplicate.

Après incubation, la sensibilité des bactéries cibles envers les différents extraits 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. Analyses statistiques

La partition de la variance est estimée entre chaque extrait et entre les souches bactériennes par l'analyse statistique de la variance (ANOVA) en utilisant le Type III (SPSS V. 16) pour le calcul de la sommes des carrés. Les groupes homogènes de provenances concernant chaque trait mesuré sont séparés par le test de *Tukey*.

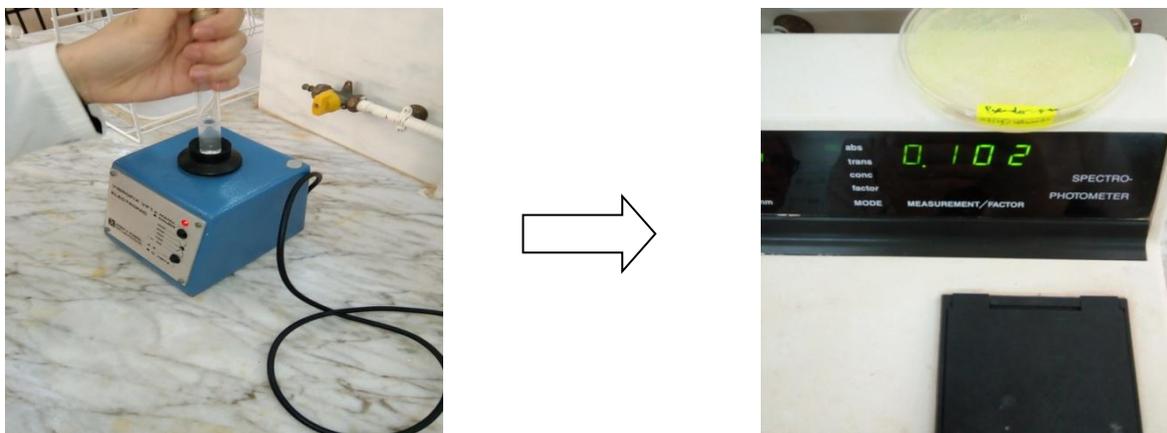


Figure 14 : préparation de suspensions bactériennes (original 2018)

Les différentes étapes de test antibactérien

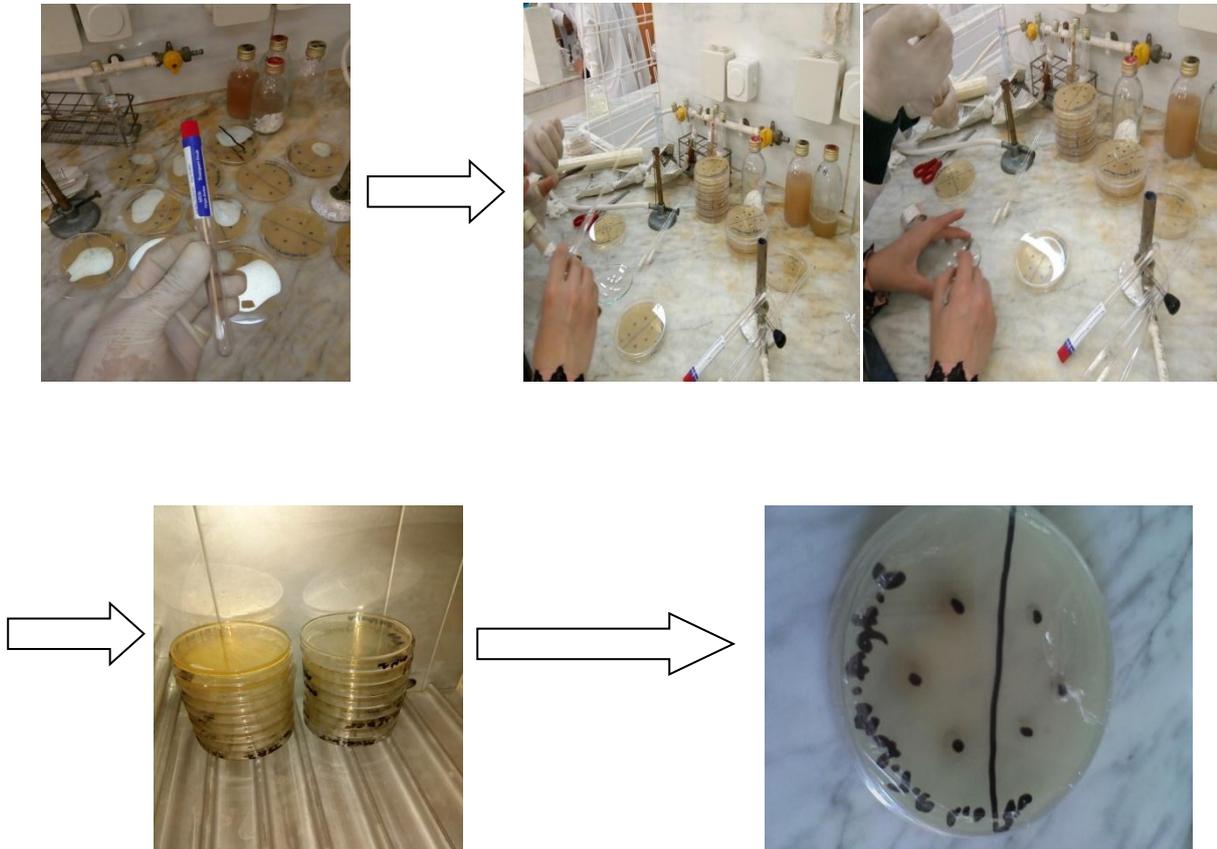


Figure 15 : les différentes étapes de test antibactérien (original 2018)

Chapitre 3 :

Résultats et discussion

Chapitre 3 : Résultats et discussion

1. Quantification des composés phénoliques totaux, tanins condensés et des flavonoïdes

Un dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes ainsi que des tanins condensés a été effectué afin de caractériser la teneur des extraits aqueux préparés à partir des pulpes du *Zizyphus lotus*.

1.1. Quantification de teneur en polyphénols totaux

Les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent que la pulpe des fruits de *Zizyphus lotus* est riche en polyphénols. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 05. L'analyse quantitative des teneurs en composés phénoliques des extraits aqueux des pulpes de *zizyphus lotus L* est déterminée à partir des moyennes \pm écart type et exprimée en (mgEq AG/ g MS). Les résultats obtenus de cette analyse sont représentés en histogrammes sur la figure N° 8.

L'analyse de variance montre qu'il y a une différence très hautement significative entre les extraits aqueux de jujubier sauvage ($P < 0,01$), cela veut dire que la quantité des polyphénols totaux diffère d'une population à l'autre.

Tableau 05: tableau d'analyse des variances de la teneur en polyphénol totaux des extrais aqueux des pulpes des fruits de *Zizyphus lotus L*.

Sources de variation	Ddl	SCE	CM	F	P
Extraits	4	3218215,837	804553,96	28,492	0***
Résiduelle	20	564756,569	28237,828		
Total	24	3782972,406			

La concentration en composés phénoliques de chaque extrait de plante a été calculée à partir de l'équation de la droite de régression de courbe d'étalonnage d'acide gallique ($y=0,0056x+1,0519$) et la teneur en polyphénols est exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg Eq AG/g MS) selon la formule suivante :

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

Avec **T** : Teneur en polyphénols

C : Concentration en polyphénols déduite de la courbe d'étalonnage ;

V : Le volume de la prise d'essai ;

D : nombre de dilution (20 fois) ;

P : Prise d'essai initiale (1gramme).

Ces résultats indiquent que l'extraction par la technique de de macération en utilisant de l'eau distillé aboutit à des teneurs en polyphénols totaux qui varient en fonction de la nature de l'extrait utilisé.

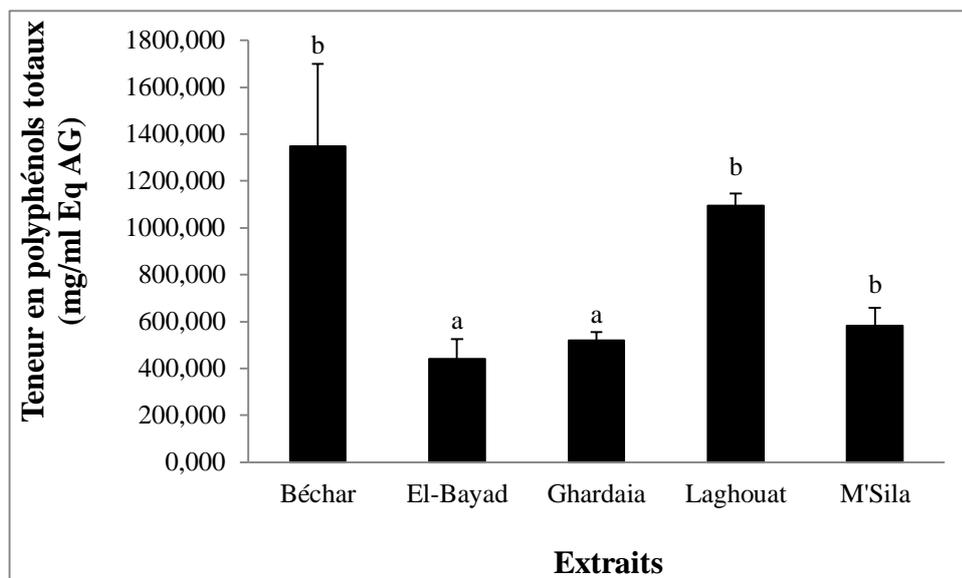


Figure 16: Variation de la teneur en polyphénol totaux des extrais aqueux des pulpes des fruits de *Zizyphus lotus* L.

Les extraits aqueux des pulpes des fruits des populations de Béchar et Laghouat présentent des teneurs élevées en polyphénols totaux. Elles sont de l'ordre de $1349,46 \pm 351,789$ mg Eq AG/g MSet $1094,11 \pm 53,222$ mg Eq AG/g MS respectivement. Cependant, les extraits aqueux des pulpes des fruits de la population d'El Bayadh et Ghardaïa présentent des teneurs faibles en composés phénoliques. Elles sont de l'ordre de $439,465 \pm 85,434$ mg Eq AG/g MS et $520,893 \pm 35,549$ mg Eq AG/g MS respectivement.

Le test de classification des moyennes de *Tukey* sépare deux groupes homogènes. Le groupe homogène (a) regroupe des extraits aqueux des fruits de *Zizyphus lotus* qui contiennent les teneurs les plus faibles en polyphénols totaux. Ces extraits aqueux sont ceux en provenance de Ghardaïa, El Bayadh et M'sila. Les deux extraits aqueux des fruits de jujubier sauvage qui proviennent de Béchar et Laghouat sont groupés ensemble dans le groupe homogène (b) et ils représentent les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux.

1.2. Teneur en flavonoïdes

Les résultats de dosage montrent la présence des flavonoïdes dans tous les extraits aqueux testés (quatre populations). Cela confirme la richesse du fruit de *Zizyphus lotus* par les flavonoïdes.

D'après le tableau d'analyses de la variance (tableau 06), les résultats obtenus pour la teneur en flavonoïdes montrent qu'il n'y a pas une différence significative entre les extraits ($P > 0,05$), donc les cinq populations contiennent des quantités similaires de flavonoïdes.

Tableau 06 : tableau d'analyse des variances de la teneur en flavonoïdes des extrais aqueux des pulpes des fruits de *Zizyphus lotus* L.

Sources de variation	ddl	SCE	CM	F	P
Extraits	4	742,402	185,6	1,598	0,214 ns
Résiduelle	20	2323,218	116,161		
Total	24	3065,619			

La concentration en flavonoïdes de chaque extrait de plante a été calculée à partir de l'équation de la droite de régression de courbe d'étalonnage de Quercitine ($y = 75,13x - 0,10475$) et la teneur en flavonoïdes est exprimée en milligrammes équivalent de Quercitine par gramme de la matière végétale sèche (mg Eq AG/g MS) selon la formule suivante :

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

L'analyse quantitative des teneurs en flavonoïdes des extraits aqueux de *Zizyphus lotus* (L.) est déterminée à partir des moyennes \pm écart type et exprimée en (mgEq Q/ g MS). Les résultats obtenus de cette analyse sont représentés dans la figure N° 08.

Ces résultats indiquent que l'extraction par la technique de macération en utilisant de l'eau distillée aboutit à des teneurs en flavonoïdes voisines pour l'ensemble des populations. Ces teneurs varient de $83,908 \pm 9,586$ mg Eq Q/ g MS à $98,259 \pm 1,444$ mg Eq Q/ g MS.

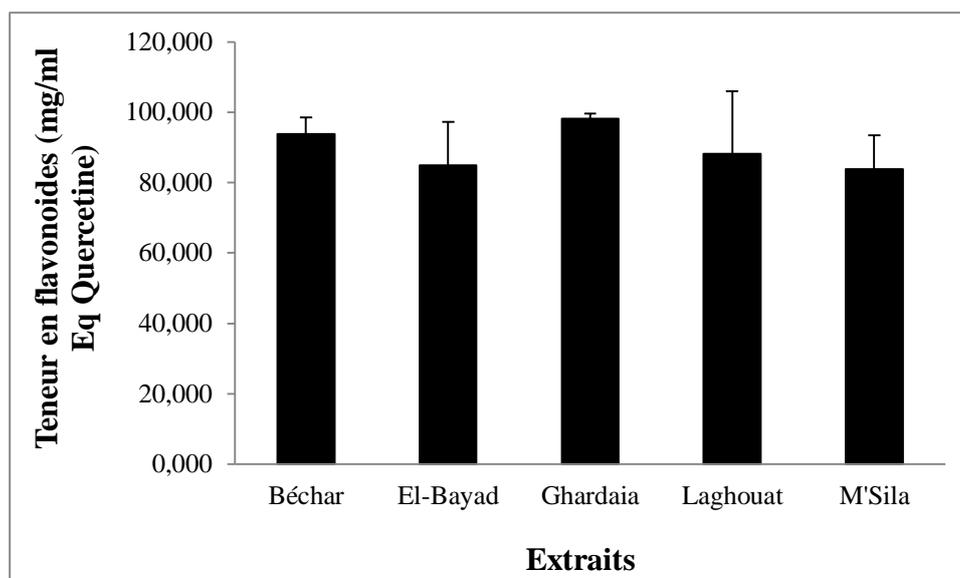


Figure 17: Variation de la teneur en flavonoïdes des extraits aqueux des pulpes des fruits de *Zizyphus lotus* L.

1.3. Teneur en tanins condensés

Il ressort de l'analyse phytochimique que les extraits aqueux de la pulpe des fruits de jujubier sauvage contiennent des tanins.

Le tableau d'analyse de la variance (tableau 7) révèle un effet hautement significatif ($P=0,001$) entre les différents extraits analysés. Cette variation explique que les quantités en tanins diffèrent d'une population à l'autre.

Tableau 07: Tableau d'analyse de la variance pour la teneur en tanins des différents extraits aqueux des pulpes des fruits de *Zizyphus lotus* L.

Sources de variation	ddl	SCE	CM	F	P
Extraits	4	151461,044	37865,261	7,454	0,001**
Résiduelle	20	101596,404	5079,82		
Total	24	253057,448			

La concentration en tanins condensés de chaque extrait de plante a été calculée à partir de l'équation de la droite de régression de courbe d'étalonnage d'acide gallique ($y=0,0056x+1,0519$) et la teneur en tanin condensée est exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg Eq AG/g MS) selon la formule suivante :

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

L'analyse quantitative des teneurs en tanins condensés des extraits aqueux de *Zizyphus lotus* est déterminée à partir des moyennes \pm écart type et exprimée en (mg EqAG/ g MS). Les résultats obtenus de cette analyse sont représentés dans la figure 10.

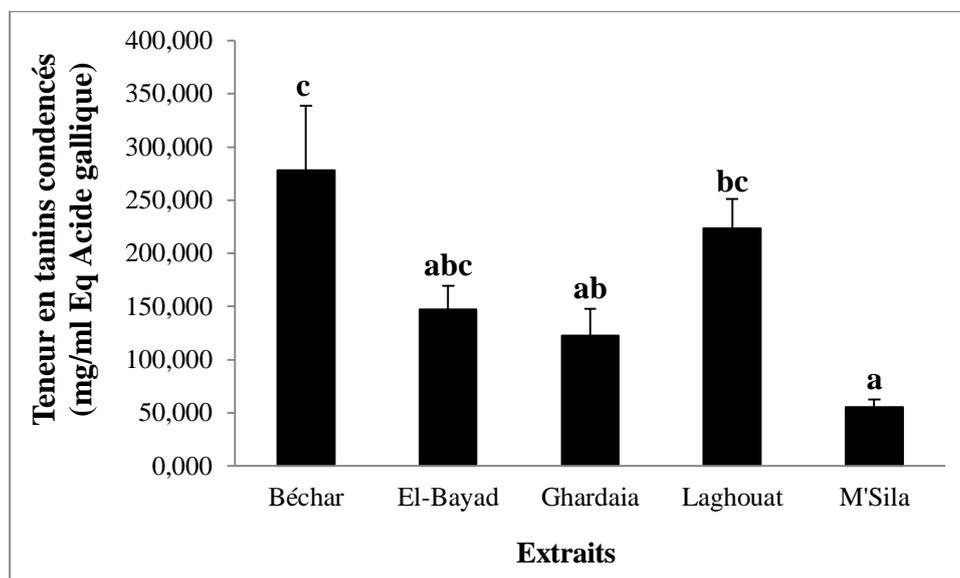


Figure 18: Variation de la teneur en tanins condensés dans extraits aqueux des pulpes des fruits de *Zizyphus lotus*

Les résultats ont indiqué que les teneurs en tanins condensés des extraits aqueux des pulpes des fruits de la population de Béchar présente la valeur la plus élevée estimée à 277,946 \pm 60,803mg EqAG/ g MS. Cependant, l'extrait aqueux des pulpes des fruits de la population de M'sila présente la teneur la plus faible en tanins condensés. Elle est estimée à 55,268 \pm 7,572 mg EqAG/ g MS.

Le test de classification des moyennes de *Tukey* sépare deux groupes homogènes (a) et (c) et trois groupes intermédiaires (ab), (abc) et (bc). L'extrait aqueux des fruits de *Zizyphus lotus* de la population en provenance de M'sila et qui représente la teneur la plus faible en tanins condensés, caractérise le groupe homogène (a). Alors que le groupe homogène (c) renferme uniquement l'extrait aqueux des fruits de *Zizyphus lotus* de la population en provenance de Béchar et qui est caractérisé par la teneur la plus élevée en tanins condensés.

2. Test antibactérien

L'activité antibactérienne des extraits aqueux des pulpes du *Zizyphus lotus* a été évaluée par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé solide (Muller Hinton). Après 24h d'incubation à une température adéquate de 28°C, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance des différentes souches à Gram négative : *Pseudomonas*

aeruginosa et *Erwinia carotovora* autour des disques contenant les échantillons à tester (Extrait aqueux), les résultats montrent que les extraits ont des activités antimicrobiennes à des degrés variables contre les souches des micro-organismes testés.

La lecture des zones d'inhibition se fait au dos des géloses sur un fond noir, puis la mesure des diamètres d'inhibition en millimètre se fait au moyen d'un pied à coulisse.

Les résultats du traitement des souches par les extraits aqueux différents montrent que ces extraits des cinq populations ont réagi de manière positive et presque similaire sur les deux bactéries utilisées *Pseudomonas aeruginosa* et *Erwinia carotovora*.

La sensibilité des bactéries cibles envers les différents extraits est classée selon les diamètres des halos d'inhibition déterminés par (Ponce et al., 2003). Selon cette échelle, et à la concentration de 0,05 g/ ml, les deux bactéries *Pseudomonas aeruginosa* et *Erwinia carotovora* semblent être non sensibles ou résistantes (≤ 8 mm) aux extraits aqueux des pulpes des fruits des populations de M'Sila, Béchar et El Bayadh. *Erwinia carotovora* est, en revanche, sensible ou intermédiaire (9 à 14 mm) à l'extrait aqueux des pulpes des fruits de la population de Laghout et *Pseudomonas aeruginosa* est très sensible à ce dernier extrait (15 à 19 mm). A la concentration 0,1 mg/ml, les deux bactéries sont résistantes à l'extrait aqueux des pulpes des fruits de la population de M'sila (≤ 8 mm) et sensibles ou intermédiaires (9 à 14 mm) à l'égard des autres extraits aqueux. *Pseudomonas aeruginosa* est très sensible à ce dernier extrait (15 à 19 mm).

Le tableau d'analyse de la variance (tableau 08) pour l'activité antibactérienne révèle des effets très hautement significatif entre les extraits aqueux ($P < 0,001$), non significatifs entre les bactéries ($P > 0,05$) et hautement significatifs entre les concentrations ($P < 0,01$). Cela indique que les extraits sont différents et que leurs effets sur les différentes bactéries ne sont pas similaires. De même, les bactéries ne répondent pas de la même manière aux différentes concentrations utilisées.

Au vu de l'ensemble de ces résultats, les extraits des cinq populations se révèlent actifs avec à des degrés différents, et le pouvoir antibactérien n'est pas le même, sachant que les mêmes concentrations des extraits sont appliquées pour les deux bactéries.

Tableau 08 : Tableau d'analyse de la variance pour l'activité antibactérienne

Sources de variation	ddl	SCE	CM	F	P
Extraits	4	319,067	79,767	9,685	0***
Bactéries	1	21,6	21,6	2,623	0,112 ns
Concentrations	1	64,067	64,067	7,779	0,008 **
Extraits * Bactéries	4	55,733	13,933	1,692	0,167 ns
Bactéries * Concentrations	1	21,6	21,6	2,623	0,112 ns
Résiduelle	48	395,333	8,236		
Total	59	877,4			

L'effet inhibiteur observé est dose-dépendant. Les résultats obtenus montrent clairement la diminution du diamètre des zones d'inhibitions correspondant à une diminution de la concentration de l'extrait aqueux appliqué.

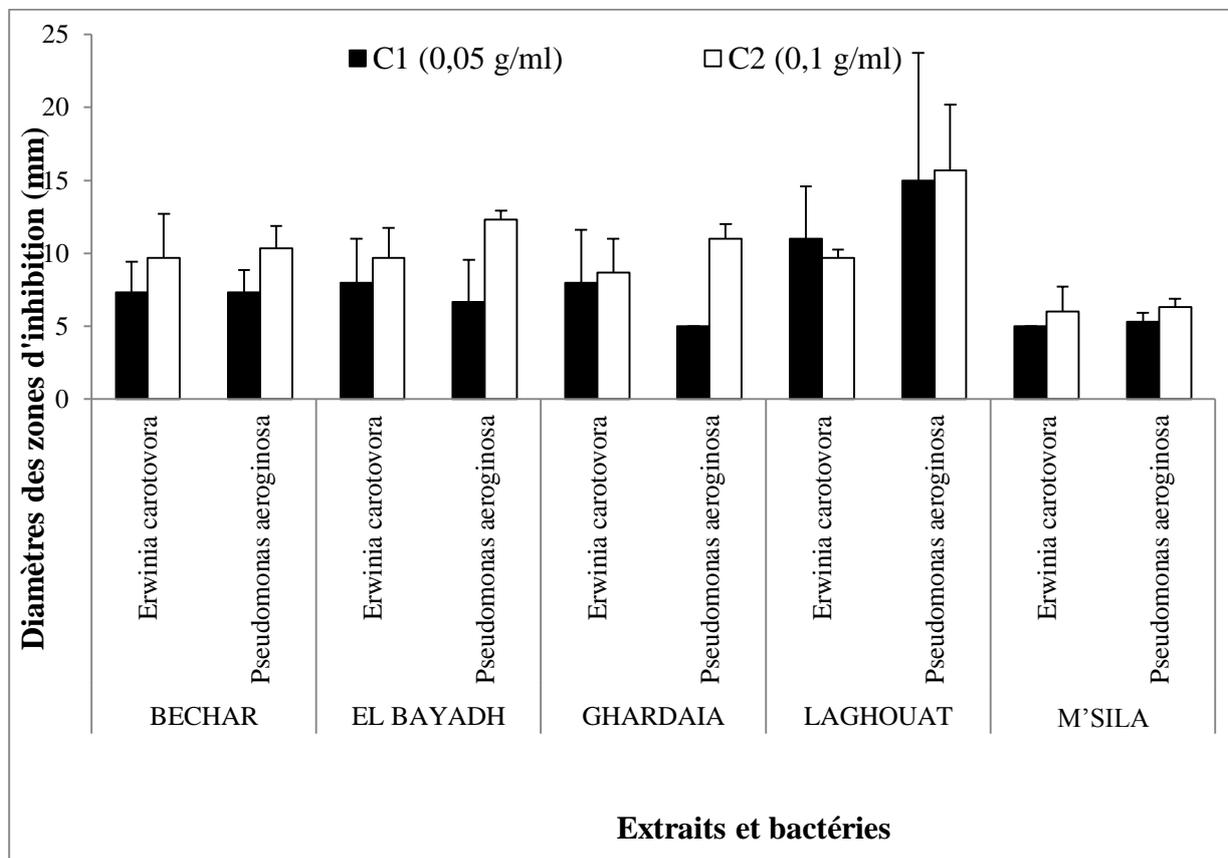


Figure 19 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibitions en mm des extraits aqueux des pulpes des fruits de *Zizyphus lotus* sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Erwinia carotovora*.

3. Discussions

Le pouvoir antibactérien des pulpes des fruits de jujubier sauvage ainsi que sa variation en fonction de l'environnement ont été évalué dans cette étude. Les résultats enregistrés révèlent une grande diversité entre les extraits et entre les souches bactériennes.

Le rendement d'extraction semble être lié à différents facteurs intrinsèques tel que : les propriétés génétiques des plants et extrinsèques tels que : l'origine géographique, ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée (à chaud ou à froid), affectent tous le contenu total en métabolites secondaires, et par conséquent affecte les activités biologiques méditées par ces métabolites (**Lee et al., 2003**).

Les résultats de dosage montrent la présence des polyphénols, des tanins condensés et des flavonoïdes dans l'extrait aqueux des pulpes des fruits de jujubier sauvage (*Zizyphus lotus*). Ces extraits appartiennent à une riche en flavonoïdes, polyphénols et en tanins condensés.

Si on compare nos résultats avec ceux obtenus par **Ghalem et al. (2014)** qui indique que les phénols étaient présents dans les racines de *Zizyphus lotus*, au taux de 20,09 mg/g, on peut dire que tous nos extraits sont très riches en substances phénoliques.

Chez d'autres espèces, telles que le figuier de barbarie et le *Zizyphus mauritiana*, les polyphénols étaient présents à des taux de 6,91 mg EAG / g (**Rsaissi et al. 2013**) et de 12,8 mg /g (**Memon et al, 2012**) dans les tiges et les fruits, respectivement. En effet, les teneurs rapportées par **Bakchiche et al. (2013)** sur le dosage des polyphénols dans la partie aérienne de *Zizyphus lotus* (36,30ug Eq AG/mg), ont démontrés que les pulpes apparaissent plus riches en polyphénols.

Nos résultats ont révélé des concentrations plus élevées en Flavonoïdes par rapport à celles rapportées par **Lee et al. (2003)** qui ont trouvé que la teneur en flavonoïdes du jujube rouge de trois zones différentes dans la chine était de l'ordre de 65,1 à 158,6 mg /100 g

Cette augmentation des teneurs phénoliques résulte vraisemblablement du fait que le dosage par le réactif Folin-Ciocalteu n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec ce réactif comme les protéines, les sucres, donnant un taux phénolique apparent élevé (**Boulanouar Bakchiche and Abedelaziz Gherib 2014**).

Les variations des teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés peuvent s'expliquer par le fait que la quantité des composés phénoliques des

extraits de la plante étudiée dépend essentiellement : de son origine (**Ebrahim zadeh et al., 2008**), de facteurs génotypiques (**El-Waziry, 2007**), de la variété, de la saison de culture, de la saison de récolte, des conditions climatiques et environnementales, de la localisation géographique, les conditions biotiques (espèce, organe et l'étape physiologique) et abiotiques (facteurs édaphiques) (**Ksouri et al., 2008**), des différentes maladies qui peuvent affecter la plante, de la maturité de la plante (**Park et Cha, 2003**) et de la durée de conservation .

Globalement, nos extraits sont révélés riches en polyphénols, on peut dire alors que l'activité antimicrobienne de ces extraits est due, au moins partiellement, à la présence des polyphénols, cela est confirmé par l'étude de (**King et al, 1999**) qui ont attribué l'activité antibactérienne à la présence des polyphénols. Ce qui est confirmé par (**Aziz et al, 1998**) qui ont démontré que l'activité antibactérienne du *Zizyphus lotus* semble être méditée par la teneur en composées phénoliques. D'autres études sur les alcaloïdes ont montré qu'un alcaloïde de cette espèce présente une activité antimicrobienne significative (**Ghedira, 1995**).Le *Zizyphus lotus* contiennent de nombreux composés dotés d'une action antimicrobienne, ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes...etc. (**Rojas et al, 1992**), le pouvoir antimicrobien des extraits de plante est tributaire de leurs compositions biochimiques.

Généralement, l'absence d'une zone d'inhibition ne signifie pas nécessairement l'inactivité de l'échantillon testé, parfois certains produit diffusent plus lentement dans le milieu de culture (**Bensizerara et al., 2013**).

Conclusion

Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapies a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale; une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des produits chimiques.

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits chimiques. Les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites secondaires dont la fonction est loin de faire l'humanité. De nombreux métabolites secondaires sont des «antibiotiques » au sens large, car ils protègent les plantes contre les champignons, les bactéries, les animaux et même les autres plantes.

Toutefois, il ne s'ensuit pas nécessairement que les mêmes composés sont aussi toxiques ou bénéfiques lorsqu'ils se trouvent dans la plante que lorsqu'ils en sont extraits, car il peut y avoir des effets synergiques des composés chimiques dans la plante.

L'étude de propriétés antibactériennes des extraits de la pulpe du *Zizyphus lotus* nous a permis d'obtenir des résultats intéressants.

L'analyse des résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux a révélé une présence de polyphénols, flavonoïdes, tanins avec des quantités important. En effet les extraits aqueux ont montré une activité inhibitrice vis-à-vis des deux souches bactériennes à des degrés divers. En effet, l'extrait aqueux de la population de Laghouat est celui qui a donné les meilleurs résultats

Il serait donc, intéressant d'étendre l'éventail des tests antibactériens, ainsi que l'isolement et la caractérisation des composés actifs dans les extraits aqueux de différents population à différents étages bioclimatiques, en vue d'identifier les éléments responsable des activités biologiques de cette plante, récoltée dans des différents régions, afin d'analyses l'incidence de l'environnement sur la composition chimique de *Z. lotus* et par conséquent, sur la taux de substance naturelle ayant un pouvoir antibactériennes.

Références bibliographiques

Référence bibliographique

- Abd el-Zaher A.O, Salim S.Y, Assaf M.H, Abdel-Hady.R.H, 2005. Antidiabetic activity and toxicity of *Zizyphus spina-christi* leaves. *J Ethnopharmacol*, 101: 129-138.
- Adzu B., Amos S., Amizan M.B., Gamaniel K. 2003. Evaluation of the antidiarrhoeal effects of *Zizyphus spina-christi* stems bark in rats. *Acta Trop* 87: 245-250.
- Ahn, M; Kumazawa, S; Usui, Y; Nakamura, J; Atsuka, M; Zhu, F., Nakayama, T. (2007) Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry*. 101: 1400-1409.
- Anand KK, Singh B, Chand D, Chandan BK, Gupta V: Effect of *Zizyphus sativa* leaves on blood glucose levels in normal and alloxan-diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 1989, 27:121-125.
- ARDNT, S.K., CLIFFORD, S.C. & POPP, M. 2001. *Zizyphus*- a multipurpose fruit tree for arid regions. In: sustainable land-use in deserts. Br
- Arfaoui et al., 2005 (Arfaoui I., 2005.- Contribution à l'étude du polymorphisme chez le genre *Zizyphus* cas de l'espèce *Zizyphus lotus* (L) Lank, DEA, FST, 98 p.)
- Baba Aissa F., 1990. Les plantes médicinales en Algérie. Ed. Bouchène et Addiwen, Alger, Algérie, 159 p.
- Baba Aissa F., 1999. Encyclopédie des plantes utiles, flores d'Algérie et du Maghreb", Ed. Librairie d'Alger, Algérie, 368 p.
- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunete C., Dine T., Vasseur J., Gazin J.C., Pinkas M., Luycky M., Gazin M., 1996. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneim.Forsch.*, 46 : 1086-1089.
- Bakchiche B., Gherib A., Smail A., Cutodia G., Graca M., 2013. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*, 46: 85-96.
- Bargougui M. S., 1991.- *Zizyphus lotus* : Aspects biologiques, Ecologiques et points de réflexion sur sa conservation. Rapport de stage de fin d'étude, IRA Médenine, Tunisie, 48 p.

- Bayer. E, K. P. Butter, X. Finkenzeller, J. Gram (1987) .Guide de la flore méditerranéenne. Page 96.
- Benammar C., Baghdad C., Belarbi M., Subramaniam S., Hichami A. and Khan Naim A. 2014. Antidiabetic and antioxidant activities of *Zizyphus lotus*, Aqueous extracts in wistar rats. Journal Nutrition and food sciences. S8:004. doi:10.4172/2155-9600.S8-004.
- Benammar et al, 2010 (Benammar C, Yessoufou AHA, Simonin AM, Belarbi M, Allali H, Khan NA (2010). *Zizyphus lotus* L. (Desf.) modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. Biomed. Centre Complem. Altern. Med. 10:54-56.
- Boizot N. et Charpentier J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre fougère. Le cahier des techniques de l'Inra. pp 79-82.
- Borgi W et Chouchane N.(2006). Activité anti-inflammatoire des saponosides des écorces de racines de *Zizyphus lotus* (L.).Revue des Régions Arides ,283-286.
- Borgi W, Ghedira K, Chouchane N. (2007), Antiinflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks. Fitoterapia 78:16-19.
- Borgi W., Bouraoui A., Chouchane N.(2007(b)). Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts, Journal of Ethnopharmacology,12:228-231.
- Borgi W., Chouchane N., 2009. Anti-spasmodic effects of *Zizyphus lotus*L. Desf. Extracts on isolated rat duodenum. *Journal of Ethnopharmacology*, 126: 571-573.
- Borgi W., Recio M.C., Rios J.L., Chouchane N., 2008. Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam. *South African Journal of Botany*, 74: 320-324.
- BOUATTOURA N., 1988 - Les ressources phylogénétiques. Importance- Préservation- Utilisation. Annales, INA, El Harrach-Alger, vol 12 (1), T 1: pp. 43-63.
- Boudraa S., Hambaba L., Zidani S., Boudraa H. **2010** Composition minérale et vitaminique des fruits de cinq espèces sous exploitées en Algérie : *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus*L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Zizyphus lotus* L. Fruits, vol. 65, p. 75–84

- Boudy L., 1952. Guide du forestier en Afrique du Nord. Ed : La Maison Rustique, Paris, France, 505 p.
- Catoire, V., Lesclaux, R., Lightfoot, P. (1994) D. and Rayez, M.-T.: J. Phys. Chem. P 98, 89, 28
- Catoire. C., Zwang. H., Bouet. C., 1999. Les jujubiers ou le Zizyphus. *Fruits oubliés*, 1°.
- Celiktas O.Y., Kocabas E.E.H., Bedir E., Vardar Sukan F., Ozek T., Baser K.H.C., 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100: 553-559.
- Chaib M. et Boukhris M., 1998.- Flore succin ite et illustrée des zones arides et sahariennes de la Tunisie. Edit. l'Or du Temps pour le compte de l'Association pour la Protection de la Nature et de l'Environnement, Sfax, Tunisie, 290 p.
- Choi Y-M., Noh D-O., Cho S-Y., Suh H-J., Kim K-M., Kim J-M. ; 2006. -Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT*, 756-761.
- Chouaibi M, Mahfoudhi N, Rezig L, et al. (2012) Nutritional composition of *Zizyphus lotus* L. seeds. *J Sci Food Agric* 92(6): 1171–7
- CLIFFORD, S.C., ARNDT, S.K., CORETT, J.E., JOSHI, S., SANKHALA, N. & POPP, M. 1998. The role of solute accumulation, osmotic adjustment and changes in cell wall elasticity in drought tolerance in *Zizyphus mauritiana* Lamk. *Journal of experimental Botany*, 49 (323): 967-977.
- Cronquist A (1981) An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York
- Daydon-Jackson B (1945) *Index Kewensis*, Vol. II. Clarendon Press, Oxford
- DJEBAILI S., 1984 - Steppe algérienne. *Phytosociologie et écologie*. Ed. OPU, Ben-Aknoun, Alger, 177 p.
- Ebrahim zadeh M.A., Pourmmorad F., Hafezi S., 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish journal of biology*, 32 :43-49.
- El Hachimi F, El Antari A., Boujnah M. Bendrisse A., Alfaiz C., (2015). Comparaison des huiles des graines et de la teneur en acides gras de différentes populations marocaines de jujubier, de grenadier et de figuier de barbarie. *J. Mater. Environ.* 1488-1502

- El Hachimi F., Alfaiz C., Bendriss A., Cherrah Y., Alaoui K., 2016. Activité anti-inflammatoire de l'huile des graines de *Zizyphus lotus* (L.) Desf. Phytothérapie, DOI 10.1007/s10298-016-1056-1
- El Hassani.M., DouiriE. M.1, Bammi. J., Zidane. L., Badoc. A., DouiraA.1 Plantes médicinales de la Moyenne Moulouya (Nord-Est du Maroc) Ethnopharmacologia, n°50, juillet 2013
- El Waziry A.M., 2007.Nutritive value assessment of ensiling or mixing Acacia and Atriplex
- Eugène Schaeffer (1991). Guide pratique de défense des cultures. Page 35.36.37.38.80
- Ghalem M., Merghache S., Belarbi M., 2014. Study on the antioxidant activities of root extracts of *Zizyphus lotus* from the western region of Algeria. J Pharm. 6:32–42.
- Gast. M et S. Chaker, 2004. Jujubier Encyclopédie berbère 26 | Judaïsme – Kabylie
- Ghedira K., 2005. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie. 4: 162-169.
- Ghedira, K ; 2013 *Zizyphus lotus* (L.)Desf.(Rhamnaceae): jujubier sauvage Phytothérapie 11:149-153
- Ghedira,K.,Chemli,R.,Caron,C.,Nuzillard,J.,andZeches,M.(1994).Fourcyclopeptide alkaloidsfrom *Zizyphus lotus*.Phytochemistry,38:767-772
- Glombitza K.W., Mahran G.H., Mirhom Y.W., Michel K.G., Motawi T.K., 1994.Hypoglycémie and ant hyperglycemic effects of *Zizyphus spina-christi* in rats. *PlantaMed* 60: 244-247.
- Gobert E.G., 2003.- Usages et rites alimentaires des tunisiens. Ed. SAHAR., Tunisie, 196 p.
- Gaouar N., 2011.Etude de la valeur nutritive de la caroube de différentes variétés Algériennes. Thèse de magistère en Nutrition. Université Abou BakrBelkaid.Tlemcen, 95p.
- Gorai. M, Maraghni. M, Neffati. M. (2010) .TPED relationship between phenological traits and water potential patterns of the wild jujube *Zizyphus lotus* (L.) Lam. In southern Tunisia. *Plant Ecology and Diversity*; 3(3): 273–280.
- Hammiche. V (2014). Traitement de la toux à travers la pharmacopée traditionnelle kabyle. Phytothérapie DOI 10.1007/s10298-014-0910-2
- Hossein, Z.H et Younesi,H.M (2002). Antinociceptiqueand anti-inflammatory effect of *corcus sativas* L. stigma and petol extracts in mice *BMC pharmacology*, 2:1-8

- Hseini et al. 2007 Hseini, S. & Kahouadji, A. —2007—Etude ethnobotanique de la flore médicinale dans la région de Rabat (Maroc occidental) — *Lazaroa* 28: 79-93.
- Jean loup Avril ; Henry Dabernat ; François Denis ; Henri Monteil (1992). Page 270
- Jean mimaud et michel pelossier (1979). La protection des plantes horticoles contre leurs ennemis. Page 45
- JEAN V. et JIRI S., 1983 - Plantes médicinales. 250 illustrations en couleurs. Ed. Larousse, Paris, 319 p.
- King A., Young G ; 1999 - Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. - *Journal of the American dietetic association*, 213-218.
- Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A., Abdelly C., 2008. Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content.
- Laamouri A., 1999.- Identification et multiplication des espèces à usage multiples- cas de Jujubier. Rapport PNM, Ministère d'agriculture, IRESA, INRGREF, Laboratoire des productions pastorales et agroforesterie, 25 p.
- Laamouri A., Zine El Abidine A., 2000. Multiplication des jujubiers en Tunisie. *Annales de la Recherche Forestière au Maroc*, 33: 37-49.
- Laamouri.A., Ammari.Y., Albouchi.A., Sghaier.T., MguisK. Akrimi.N., 2008 Étude comparative de la croissance et du développement du système racinaire de trois espèces de jujubier en Tunisie. *Geo-Eco-Trop*, 32: 37 - 46
- Lahlou M., El Mahi M., Hamamouchi J., 2002. Evaluation of antifungal and molluscicidal activities of Moroccan *Zizyphus lotus* (L.) Desf. *Ann PharmFr.*, 60: 410-414.
- Lam. *South African Journal of Botany*, 74: 320-324.
- Le Croueour G, Thepenier P, Richard B, Petermann C, Ghedira K, ZechesHanrot M: Lotusine G (2002) : a new cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus lotus*. *Fitoterapia*, 73:63-68.
- Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J., Lee C.Y., 2003. Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.*, 51: 7292-7295.
- Lydie Sutty (2010), la lutte biologique. Page 44, 150, 151

- Maciuk A. Lavaud C ., Thépentier P., Jacquier M-J ., Ghédira K ., Zèche-Hanrot. (2004). Four New Dammarane Saponins from *Zizyphus lotus* .*Journal of Natural Products*, 67 :1639-1643.
- Mahboubi. moussoui, 2014. *Plantes médicinales*, page 79
- MAIZAK K., BRAC De La PERRIERE et HAMMICHE V., 1993 - *Pharmacopée traditionnelle: Sahara septentrional. Actes du 2e colloque européen d'ethnopharmacologie*, Heidelberg, pp 169-181.
- Maraghni M, 2009- *Comportement écophysiological de Zizyphus lotus (L.) Desf. En réponse à une contrainte hydrique, mémoire de mastère en Gestion des ressources naturelles, Ecole supérieure d'agriculture de Mograne, Tunisie*, 98 p.
- Maraghni, M. Gorai, and M. Neffati, 2010 “Seed germination at different temperatures and water stress levels, and seedling emergence from different depths of *Zizyphus lotus*,” *South African Journal of Botany*, vol.76, no.3, pp.453–459
- Maurin .G, 1999 *Guide pratique de défense des cultures* .Page11.111
- Memon A., Memon N., Luthria D.L., Pitafi A., Bhangar M.I., 2012. Phenolic compounds and seed oil composition of *Zizyphus Mauritiana* L. fruit. *Pol J Food Nutr Sci.* 62:15-21.
- Mukhtar H. M., 2004 Ansari S. H., Ali M., Naved T., *J. Pharm. Biol.* 42 (2004) 508 - 511.
- Naz.S , Bushra Sultana, Muhammad Shahid and Khalil-ur-Rehman (2013). Alteration in antioxidant and antimicrobial attributes of leaves of *Zizyphus* species in response to maturation. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 7(2), pp. 61-70, 10
- Park H.J., Cha H.C., 2003. Flavonoids from leaves and exocarps of the grape *Kyoho*. *Korean journal of biological society*, 7 :327-330.
- Penso G (1983); *Index plantarum medicinalum totius mundi orumque synonymorum*. OEMF, Milan
- Ponce A.G., Fritz R ., del Valle C.E. & Roura S.I ., 2003- *Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel – Wissenschaft und –Technologie*, 36:684.
- Pottier P., Alapetite G., 1981. *Flore de la Tunisie. Programme Flore et Végétation Tunisiennes*, Publications Scientifiques Tunisiennes, Tunis. Nombre de pages.

- Quezel. P., Santa. S., Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome 1, CNRS Ed., Paris, Fr., 1962, 566 p.
- REICH, L. 1991. Uncommon fruits worthy of attention. Reading. Mass. Addison-Wesley, pp. 139-146.
- Roger corbaz ; (1990). Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes . Page 8 .9.10
- Rsaissi N., Bouhache M. (2002); la lutte chimique contre le jujubier. Transfert de technologie en agriculture. 94
- RSAISSI N., BOUHACHE M., BENCHARKIB (2012). Importance et impact agro-économique du jujubier (*Zizyphus Lotus*) dans la Chaouia. Revue Marocaine de Protection des Plantes, N° 3: 13-27
- Rsaissi et al. 2013 Rsaissi N, Bouhache M, Bencharki B. 2013. Allelopathic potential of Barbary fig *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill on the germination and growth of wild jujube *Zizyphus lotus* (L.) Desf. *Int J Innov Appl Stud.* 3:205–214.
- Seltzer (1946). Le climat de l'Algérie hors-série, Université d'Alger. Impr. " La Typo-litho" & J. Carbonal. 219 p.
- Semal jean (1996), *Traité de pathologie végétale.* Page 144-145
- SOFOWORA, (1993). *Medicinal plants and traditional medicine in Africa*, 2 — Spectrum Books Limited, Ibadan, Nigeria, 289.
- Salhi. S, et al ; 2010). Souad Salhi, Mohamed Fadli, Lahcen Zidane & Allal Douira Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *LAZAROA* 31: 133-146.
- Schofield P., Mbugua D.M., Pell A.N., 2001. Analyses of condensed tannins: a review. *Animal Food and Technology*, 91:21-40.
- Stéphane Fontanay, Marie-Eugénie Mougnot, Raphaël E. Duval, 2015. Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires. [10.4267/2042/56635](https://doi.org/10.4267/2042/56635).
- Tabuti, J.R.S., Lye, K.A. & Dhillon, S.S. —2003—Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration — *J. Ethnopharmacol.* 88: 19-44.

Tschesche, R. and Kaudmann, E. U. (1975) in *The Alkaloids* Vol. XV (Manske, R. H. F. ed.), pp. 165-205. Academic Press, New York.

Tschesche, R., Kaudmann, E. U. and Fehlhaber, H. W. (1972) *Chem. Ber.* 105, 3094.

Viseur(1996) *Traité de pathologie végétale*. page 128

Wood M., 1998. Ubi7-new tool for potato breeders. *Agricultural Research/January 1998*, pp. 12-13.

Zouaoui R., Ksontini M., Ferchichi A., 2013.Effet de l'intensité de la contrainte hydrique sur la germination de *Zizyphus lotus* (L.) Lam. Des régions arides de la Tunisie. *Algerian journal of arid environment*. Vol. 3, n° 1, Juin: 35-49

Résumé

Les extraits naturels de plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques.

La présente étude porte sur l'analyse de l'effet de la variabilité environnementales sur les extraits aqueux des pulpes des fruits de cinq populations de jujubier sauvage (*Ziziphus lotus* L. Desf.) de climat aride et aride sec. Les extraits de cette plante sont étudiés pour déterminer leurs contenus en substances bioactifs et d'évaluer leurs teneur en composées phénoliques et leur pouvoir antibactérienne sur deux bactéries : *Pseudomonas aerogénosa* et *Erwinia carotovora*. La teneur la plus élevée des composés phénoliques et des tanins condensés des extraits aqueux de *Z. lotus* a été enregistré chez les populations de Béchar et Laghouat. L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits aqueux a montré que tous les extraits testés sont actif sur les deux souches bactériennes à des degrés déferents avec une supériorité remarquable de l'extrait de Laghouat.

Mots clés : *Zizyphus lotus* L, activité antibactérienne, composés phénoliques, flavonoïdes, tannins condensée, environnement.

نبذة مختصرة:

تحتوي المستخلصات النباتية الطبيعية على مجموعة متنوعة من المركبات الفينولية التي تعزى إليها الأنشطة البيولوجية المختلفة. تبحت الدراسة الحالية في تأثير التغير البيئي على المستخلصات المائية للفاكهة من خمسة عشبة بريّة (*Zizyphus lotus* L. Desf) في المناطق القاحلة والجافة القاحلة. تمت دراسة مستخلصات هذا النبات لتحديد محتواها في المواد النشطة بيولوجيا ولتقييم محتواها من المركبات الفينولية وقوتها المضادة للبكتيريا على نوعين من البكتيريا: *Pseudomonas aerogénosa* و *Erwinia carotovora*. تم تسجيل أعلى محتوى من المركبات الفينولية والتانينات المكثفة في مستخلصات مائية من نبات اللوتس *Z.* في عشائر بشار والأغواط. أظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات المائية أن جميع المستخلصات التي تم اختبارها نشطة على السلالتين البكتيريتين على مستويات مختلفة مع تفوق ملحوظ في مستخلصات الأغواط. كلمات البحث: *Zizyphus* لوتس L، والنشاط المضاد للبكتيريا، والمركبات الفينولية، الفلافونويد، التانينات المكثف، والبيئة

Abstract:

Natural plant extracts contain a variety of phenolic compounds to which various biological activities are attributed.

The present study investigates the effect of environmental variability on aqueous extracts of fruit from five wild jujube (*Sisyphus lotus* L. Desf.) populations in arid and dry arid climates. The extracts of this plant are studied to determine their content in bioactive substances and to evaluate their content of phenolic compounds and their antibacterial power on two bacteria: *Pseudomonas aerogénosa* and *Erwinia carotovora*. The highest content of phenolic compounds and condensed tannins in aqueous extracts of *Z. lotus* was recorded in the Béchar and Laghouat populations. The evaluation of the antibacterial activity of the aqueous extracts showed that all the extracts tested are active on the two bacterial strains at different levels with a remarkable superiority of the Laghouat extract.

Keywords: *Zizyphus lotus* L, antibacterial activity, phenolic compounds, flavonoids, condensed tannins, environment.