

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

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 alimentaires

Spécialité : Agroalimentaire et contrôle de qualité

Présenté par :

BENGOUMANE Ichrak

CHERGUI Asma

SAADOUN Nacira

Thème

« Conception et évaluation d'un milieu de culture pour la culture *in vitro* à base d'extraits végétaux (cas *Aloe vera* L.) »

Soutenu le : 16 / 06 / 2022

Devant le jury composé de :

Président M. BENBEGUARA Mourad

Promoteur M. BOUFARES Khaled

Examinatrice Mm. BENGUIAR Rachida

Année universitaire 2021 - 2022

Remerciements

Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à remercier notre promoteur M. BOUFARES Khaled, pour avoir accepté de nous encadrer et pour ses conseils qui nous ont permis d'évoluer dans notre vision de la recherche et de la façon de la mener, qu'il trouve ici l'expression de notre profonde gratitude

Nous avons l'honneur de formuler notre vive gratitude et profonde reconnaissance à l'égard du M. BENBEGUARA Mourad d'avoir accepté de présider le jury de notre soutenance.
Nous sommes également reconnaissants à Mm. BENGUIAR Rachida d'avoir manifesté de l'intérêt pour ce travail en nous faisant l'honneur de juger et d'examiner ce manuscrit.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance envers les personnes qui ont contribué directement ou indirectement à ce travail.

Nos remerciements également à :

L'ensemble des personnels de la faculté des sciences de la nature et de la vie nos enseignants du fondamentale à l'université.

Dédicace

A mes chers parents : Belkacem et Souàd pour leur amour et leur soutien continu.

A mes frères : Faysal et Anes

A mes sœurs : Safa, wafa .

A mes amis et toutes les personnes qui me connaissent ...

Asma

Dédicace

A mon père, Ahmed

A ma mère khayra , merci pour tout ce que tu as fait pour moi, merci pour l'amour et le soutien continu, merci d'être à mes côtés.

A mon frère : Khaled ; A Mes sœurs : Razika .

Nacira

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à ceux qui ont fait de moi ce que je suis et ne cessent de me soutenir et de m'encourager : ma mère et mon père pour tout l'appui et soutien qu'ils m'avaient offert,

A mes chers frères et sœurs

A tous mes amies et collègues de promotion de 2^{ème} année Master Agroalimentaire et contrôle de qualité (2021-2022)

Enfin, à toutes les personnes qui me sont chères...

Ichrak

Resume

L'objectif du travail effectué était la recherche de nouvelles substances bioactives issues de la flore locale, présentant un intérêt pharmaceutique et industriel comme milieu nutritif *in vitro*. Dans ce contexte, la poudre de cladode d'Aloe vera a été utilisée pour formulation d'un nouveau milieu de culture *in vitro*. La première partie du travail a permis de mettre en évidence une composition assez riche en nutriments de base (source de carbohydrate, acides aminées et éléments minéraux) qui sont indispensables à la survie des micro-organismes. La deuxième partie du travail, le diagnostic de la croissance des deux souches bactérienne et fongique a permis de montrer que le milieu **B** à base de poudre de cladode sans peau était plus performant et a permis un bon développement des différentes souches validant ainsi la possibilité de l'utiliser comme un milieu ordinaire recommandé pour la culture de certaines bactéries et champignons n'ayant pas d'exigence nutritive particulière. pourrait être envisagé comme une alternative prometteuse au milieu de culture de synthèse

Mots clés : milieu nutritif, culture *in vitro*, composition chimique, E-coli, Staphylococcus aureus, substances naturelles, Fusarium oxysporum, Aspergillus niger

الملخص :

الهدف من العمل الذي تم تنفيذه هو البحث عن مواد نشطة بيولوجيا جديدة من النباتات المحلية ، وتقديم فائدة صيدلانية وصناعية كوسيط مغذي في المختبر . في هذا السياق ، تم استخدام مسحوق Cladode Aloe Vera لصياغة وسط جديد الزراعة في المختبر .

أتاح الجزء الاول من العمل إبراز تركيبة غنية جدا بالمغذيات الاساسية (مصدر الكربوهيدرات والأحماض الامنية والعناصر المعدنية) الضرورية لبقاء الكائنات الحية الدقيقة . الجزء الثاني من العمل ، هو تشخيص نمو السلالتين البكتيريتين والفطريتين ، جعل من الممكن إظهار أن الوسط B للقيام على مسحوق cladode بدون قشور كان أكثر كفاءة وسمح بتطور جيد للسلالات المختلفة وبالتالي التحقق من صحة إمكانية استخدامه كوسيط عادي موصى به لزراعة بعض البكتيريا والفطريات التي لا تحتوي على متطلبات غذائية معينة . يمكن اعتباره بديلا واعدا لوسط الاستزراع التركيبي .

الكلمات المفتاحية : وسط المغذيات ، الزرع في المختبر، لتركيب الكيميائي ، E- coli ,Staphylococcus aureus , Fusarium Oxysporum, Aspergillus niger ، الموارد الطبيعية ،

Abstract

The objective of the work carried out was the search for new bioactive substances from the local flora, presenting a pharmaceutical and industrial interests as an in Vitro nutrient medium. In this context, Aloe Vera cladode powder was used for the formulation of a new in vitro culture medium. The first part of the Work made it possible to highlight a composition quite rich in basic nutrients (source of carbohydrate, amino acids and mineral elements) which are essential for the survival of micro-organisms. The second part of the Work, the diagnosis of the growth of the two bacterial and fungal strains made it possible to show that medium B based on cladode powder without skin was more efficient and allowed a good development of the different strains thus validating the possibility of use it as an Ordinary medium recommended for the cultivation of certain bacteria and fungi having no particular nutrient requirement. could be considered as a promising alternative to synthetic culture medium .

Keywords: nutrient medium , in vitro culture , chemical composition , E-coli , Staphylococcus aureus , natural substances , Fusarium Oxysporum , Aspergillus niger .

Table des matières

Liste des abréviations.....	i
Liste des tableaux	ii
Liste des figures	iii
INTRODUCTION.....	1
Synthèse bibliographique	3
Chapitre 01 : Généralité sur l’Aloe vera	3
1. Généralité sur l’Aloe vera	3
1.1. Systématique	4
1.2. Origine et historique	5
1.3. Description morphologique	5
1.4. Physiologie d’Aloe vera L.....	6
2. Principales vertus et intérêt industriel	8
2.1. Vertus thérapeutiques.....	8
2.2. Vertus nutritionnelles.....	8
2.3. Produits cosmétiques.....	9
3. Composition chimique de l’Aloe vera.....	9
4. Multiplication	11
Chapitre 02 : Généralité sur les milieux de culture	12
1. Généralité sur les milieux de culture	12
1.1. Définition des milieux de culture.....	12
1.2. Classification des milieux de culture	12
1.2.1. Classification d’après l’utilisation.....	12
1.2.1.a) Milieux usuels « de base »	12
1.2.1.b) Milieux d’isolement	13
1.2.1.c) Milieux différentiels	13
1.2.1.d) Milieux de conservation.....	13

1.2.2. Classification d'après le mode de stérilisation	14
1.2.2.a) Milieux autoclavables	14
1.2.2.b) Milieux non autoclavables	14
1.3. Principaux ingrédients des milieux de cultures.....	15
1.3.1. Pour les milieux solides.....	15
1.3.2. Pour les milieux liquides.....	15
Partie expérimentale.....	18
Chapitre 01 : Matériel et méthodes	18
1. Matériel	18
1.1. Matériel végétal	18
1.2. Matériel biologique	18
1.3. Matériel de laboratoire	19
2. Principales étapes pour les essais in vitro	19
2.1. Préparation du substratum d'Aloe vera.....	20
2.2. Préparation des milieux de cultures	21
2.3. Analyses physico-chimiques et organoleptique	22
2.3.1. Détermination des propriétés d'hydratation :	24
3. Evaluation de croissance dans le milieu de culture	24
3.1. Ensemencement et mise en culture des bactéries	25
3.1.1. Préparation de la suspension bactérienne	25
3.1.2. Ensemencement bactérien.....	25
3.1.1. Evaluation de la croissance	26
3.2. Ensemencement fongiques	26
3.2.1. Evaluation de la croissance fongique	27
Chapitre 02 : Résultats et discussion.....	29
1. Analyses des propriétés physico-organoleptiques.....	29
2. Effet des différents milieux sur la croissance bactérienne	31
3. Effet des différents milieux sur la croissance fongique	32

Conclusion	35
Références bibliographiques.....	37

Liste des abréviation

CE: Conductibilité électrique

E. coli : *Escherichia coli*.

F : Facteur de dilution

I R : Indice de réfraction

J : Jour

N: Nombre de colonie

pH : Potentiel Hydrogène

S. aureus: *Stafelucoccus aureus* .

T° : Température

TC : Le taux de cendre

UFC : Unité Formant Colonies

V : Volume de dilution

Liste des tableaux

Tableau 1 : Synthèse des deux principales classifications botaniques utilisées aujourd'hui	5
Tableau 2 : Résumé de la composition chimique des feuilles d'Aloe vera.	10
Tableau 3 : Classification des milieux de culture selon leur composition.	14
Tableau 4 : Principaux ingrédients des milieux de culture.....	16
Tableau 5 : Caractéristiques physico-organoleptiques.....	29

Liste des figures

Figure 1: Plante Aloe Vera L.	4
Figure 2 : Morphologie générale et la coupe transversale d'une feuille.	6
Figure 3 : Principe de la photosynthèse chez l'Aloe vera.	7
Figure 4 : Schéma des ingrédients de base d'un milieu solide.	15
Figure 5 : Protocole expérimental.	20
Figure 6 : Principales étapes pour la préparation des milieux de culture.	22
Figure 7 : Mise en culture et évaluation de la croissance bactérienne.	26
Figure 8 : Mise en culture et évaluation de la croissance fongique.	27
Figure 9 : Représentation graphique de la croissance bactérienne.	31
Figure 10 : Photo de la croissance bactérienne.	32
Figure 11 : Evolution de la croissance radiale durant les 7 jours.	32
Figure 12 : Représentation graphique de la croissance fongique.	33

Introduction

INTRODUCTION

Depuis toujours les plantes ont été très largement utilisées par l'homme, d'abord comme sources alimentaires, mais aussi comme matériaux, objets décoratifs et pour se soigner. De nombreuses plantes synthétisent des substances chimiquement actives qui leur permettent notamment de se défendre contre leurs agresseurs. Ces molécules sont actuellement très exploitées par l'homme en médecine, en parfumerie et en cuisine (Akinyele ,et al .,2005).

Le continent africain est un continent doté d'une biodiversité la plus riche dans le monde, avec une avalanche de beaucoup de plantes utilisées comme herbes, aliments naturels et pour des buts thérapeutiques, c'est en grande partie due à sa géographie vaste (Catherine,et al.,2018). Le territoire algérien par sa situation géographique jouit d'une grande diversité biologique et écologique. Les milieux, les paysages et les habitats naturels, très variés, s'étendent selon un gradient de plus de 2.000 km des rives de la Méditerranée jusqu'aux confins du sahel africain au sud (Catherine ,et al., 2018).

A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore Algérienne, on s'est intéressé à l'Aloe vera, une espèce qui a un intérêt social, économique et environnemental. La plante est particulièrement intéressant pour la valorisation de certaines terres marginales inadaptées à d'autres cultures à raison de sa tolérance et son adaptation à différents types de sols (Guilloteau , 1954).

L'apport de l'Aloe vera est encore plus édifiant en tant que source de produits pharmaceutiques, diététiques et cosmétiques, les vertus de cette plante et la demande sans cesse croissante des produits issus de sa sève et de son gel ont suscité un nouveau intérêt (Witte , et al ., 1990).

Les mots « substances naturelles » ne renvoient pas seulement aux médecines douces ou à la diététique, mais aussi à l'industrie pharmaceutique et à sa cousine la cosmétologie. Ces industries commercialisent des molécules de synthèse qui n'ont toujours pas de meilleurs modèles que les molécules produites par les organismes vivants, depuis quelques années, la tendance est à un retour au naturel, plus particulièrement vers les matières végétales. Trois étapes, la prospection de la flore et de la faune, l'étude en laboratoire, l'enquête ethnobotanique, scandent la recherche sur

les substances naturelles (ABES,2014). Toutes les trois ont connu d'importantes évolutions méthodologiques, voire des révolutions théoriques.

Les substances naturelles d'origine végétale, en général, constituent un atout considérable grâce à la découverte progressive de nouvelles applications dans divers domaines, qui aujourd'hui utilise majoritairement des substances issues de la chimie de synthèse, notamment les produits pharmaceutiques destinés à la culture et croissance des organismes sensibles (culture *in vitro* de : méristème, bactérie et champignon...etc.).

Avec le développement des cultures de *in vitro*, divers milieux de base comprenant des sels inorganiques, des composés organiques (sucres, vitamines et régulateurs de croissances) ont été progressivement utilisés. Certains milieux proposés dans un but donné sont en fait utilisables d'une manière beaucoup plus étendue.

Les milieux de culture sélectionnés doivent être le plus parfaitement adaptés aux besoins nutritifs de l'organisme soumis à l'étude afin de laisser s'exprimer pleinement son potentiel génétique. Il est donc nécessaire d'articuler différentes disciplines pour réduire les produits chimiques utilisés dans ce domaine, tout en veillant, à satisfaire les besoins nutritifs des organismes en culture (Contributors,2021).

La présente étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation de la Flore locale, dans ce contexte l'*Aloe vera* L. a été choisi comme modèle pour formuler un nouveau milieu nutritif pour la culture *in vitro*, à base d'extraits de la plante, et d'évaluer les propriétés et les capacités de ce nouveau milieu de culture à satisfaire les besoins nutritifs des organismes en culture.

Notre étude sera donc répartie en cinq chapitres, initiés par un recueil bibliographique ou nous apportons dans le premier chapitre la présentation de la plante. Le second chapitre sera consacré à la culture *in vitro* et aux milieux de culture. La partie pratique est composée par un troisième chapitre sur le matériel et les méthodes d'étude et le quatrième chapitre abordera les différents résultats et leurs discussions. Enfin, une conclusion générale sera présentée en dernier.

***Synthèse* bibliographique**

Généralité sur l'*Aloe vera* L.

Synthèse bibliographique

Chapitre 01 : Généralité sur l'Aloe vera

1. Généralité sur l'Aloe vera

L'Aloe barbadensis Miller, plus connue sous le nom d'Aloe vera, est souvent classé parmi les 420 espèces de la famille des Liliaceae (comme les oignons ou les asperges) mais il a aussi été désigné comme ayant sa propre famille, les Aloaceae, qui regroupe actuellement plus de 360 espèces d'Aloe. Son nom botanique officiel est : *Aloe vera* (L.) Burm. F. mais de nombreuses autres appellations peuvent être trouvées. Il s'agit d'une plante grasse pouvant atteindre de 2 à 3 mètres de haut. La plante d'Aloe vera a une durée de vie d'approximativement douze ans. Mature après quatre ans, elle se caractérise par des feuilles vertes charnues, pointues, et épineuses sur les bords (entre douze et seize feuilles par plantes) pouvant atteindre entre 60 et 90cm de long et disposée en rosette sur une tige robuste. Les fleurs d'Aloe vera sont jaunes (contrairement à d'autres espèces d'Aloe), tubulaires et réunies en grappes.

Originaires d'Afrique du Sud, la plante est adaptée aux habitats les plus secs et elle est capable de stocker une très grande quantité d'eau dans ses tissus afin de l'utiliser au besoin.

Aujourd'hui, elle est adaptée à la plupart des climats tropicaux voire chauds et est cultivée principalement au Mexique ainsi que dans toute l'Amérique du sud mais aussi en Chine, en Thaïlande et aux Etats-Unis. (Laura ,20160).



Figure 1: Plante Aloe Vera L.

1.1. Systématique

En botanique, il existe plusieurs systèmes de classification, la classification traditionnelle étant à distinguer de la classification APG (Angiosperm Phylogeny group).

L'Aloe vera n'appartient pas à la même famille selon le système de classification utilisé. En parcourant la littérature botanique et scientifique, on remarque que l'Aloe vera est une plante classée dans des familles différentes : Asphodélacées, Aloécées, Xanthorrhoeacées et Liliacées. Cette dernière est celle que l'on rencontre le plus souvent.

Tableau 1 : Synthèse des deux principales classifications botaniques utilisées aujourd'hui

Classification Conquist (1981)		Classification APG III (2009)
Règne :	Plantae	Clade : Angiospermes
Division :	Magnoliophyta	Clade : Monocotylédones
Classe :	Liliopsida	Ordre : Asparagales
Sous- classe :	Liliidae	Famille : Xanthorrhoeaceae
Ordre :	Liliales	Sous famille : Asphodeloideae
Famille:	Aloeaceae	Espèce : <i>Aloe vera</i>
Genre:	Aloe	
Espèce:	<i>Aloe vera</i>	

1.2. Origine et historique

Les origines d'Aloe Vera L. sont imprécises, certains auteurs affirment que la plante est originaire de la péninsule arabique et d'Afrique orientale, d'autres, avancent qu'elle est probablement originaire d'Afrique du nord et des îles Canaries. Cependant, il y a très longtemps que cette plante est naturalisée dans les régions arides du globe et répandue de par le monde y compris les régions froides où elle est utilisée comme plante d'intérieur. (Taoufik ,2013).

1.3. Description morphologique

Aloe Vera L. est une plante vivace, succulente, qui peut atteindre une hauteur de 60 à 80 cm, la tige très courte et semi-ligneuse porte des feuilles disposées mais souples puisqu'elles sont très charnues. Elles sont disposées en 2 à 3 cercles. La feuille d'Aloés, de section triangulaire, est composée de deux parties principales, à savoir l'écorce externe comprenant les faisceaux vasculaires et le parenchyme aquifère, et interne incolore contenant le gel. (Taoufik ,2013).

Du centre de la rosette de feuilles s'élève une inflorescence en épi portant de nombreuses fleurs jaunes en forme de tube. L'inflorescence terminale est une grappe cylindrique, érigée, en général non ramifiée, de 100-150 cm de haut. L'axe (ou rachis) porte des écailles parcourues par 3 veines pourpres proéminentes confluentes à l'extrémité. Les hampes florales portant plusieurs dizaines de fleurs pendantes et tubuleuses en forme de petites trompettes de couleur jaunâtre, apparaissent successivement.

La tige à base ligneuse, est courte (au plus 50 cm de haut) et porte à l'extrémité des feuilles alternes, enchâssées les unes dans les autres, distiques (particulièrement pour les jeunes plants) puis en vieillissant en rosette.

Les racines, fasciculées, sont peu profondes. (Taoufik,2013).

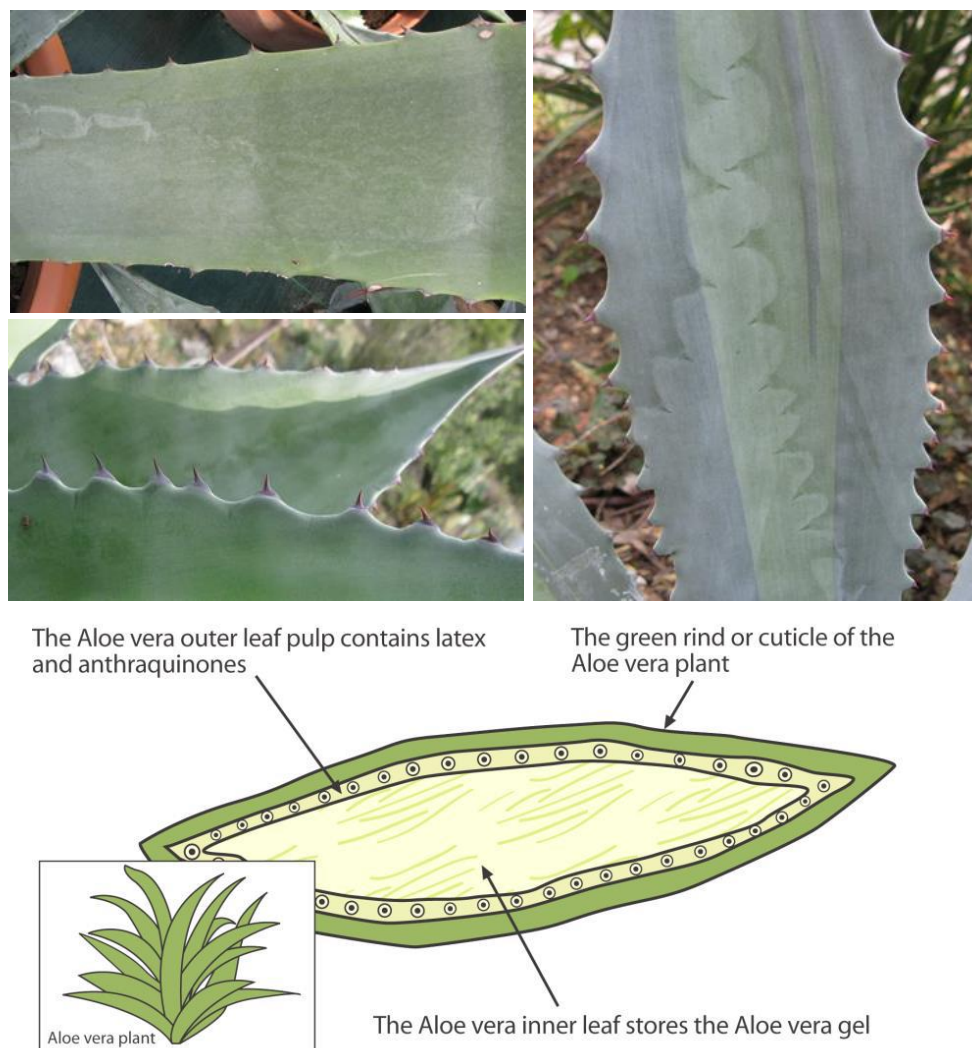


Figure 2 : Morphologie générale et la coupe transversale d'une feuille.

1.4. Physiologie d'Aloe vera L.

L'aloès est une plante xérophile. Les Aloe vera naturalisées croissent en région sèche sur des sols arides. Sur le plan physiologie, l'Aloe vera se présente comme une plante de type CAM (Crassulacean Acid Metabolism). Elle a la particularité de fixer le CO_2 pendant la nuit et de fermer ses stomates pendant le jour. Une telle stratégie avec l'épaisseur et l'imperméabilité de l'épiderme permet à la plante de réduire de façon importante les pertes d'eau par évapotranspiration pendant la journée.

L'eau absorbée se lie au mucilage composé hydrophile des feuilles. Le mucilage en retenant l'eau, permet selon (Evêque, 1995) aux organes de résister aux hautes températures.

D'après (Mulas, 1993) et (Michel, 1998) la photosynthèse se déroule selon les étapes résumées ci-après et par la figure 03 :

Carboxylation après décomposition des hydrates de carbone ce qui aboutit à la synthèse d'acide organique (acide Malique) pendant la nuit ce qui explique l'augmentation de l'acidité. La décarboxylation du malate et fixation du CO_2 libre et concentré, durant le jour au moment où les stomates sont fermés, ce processus se termine par la synthèse des glucides (dont glucanes et amidon). Une forte réduction de la photo respiration est observée chez ces plantes.

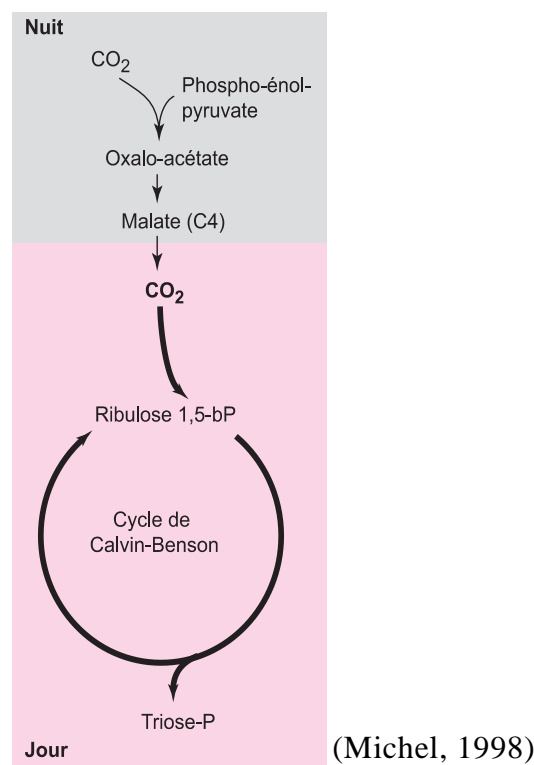


Figure 3 : Principe de la photosynthèse chez l'Aloe vera.

2. Principales vertus et intérêt industriel

Depuis l'antiquité Aloe vera L. est connue, dans plusieurs civilisations pour ses innombrables vertus. Aujourd'hui, cette plante qualifiée de magique est utilisée pour ses propriétés cosmétologiques, nutritionnelles, médicinales en plus de ses qualités ornementales. Seules les propriétés confirmées par des recherches scientifiques sont citées dans ce texte :

2.1. Vertus thérapeutiques

En médecine, Aloe vera L. est considérée comme une plante médicinale astringente grâce à une bonne partie de ses composantes agissant en synergie et ayant des propriétés cicatrisante et anti-inflammatoire, hémostatique, anesthésique et bactéricide qui permettent une guérison rapide d'une partie importante de la pathologie cutanée comme les blessures, les irritations et les brûlures. La multitude d'enzymes que contient la pulpe d'Aloès donne à cette plante un rôle non négligeable dans la digestion des aliments, la détoxification des tissus, une action apéritive et une régularisation du transit intestinal encore favorisé par une action laxative. En plus de ses vertus thérapeutiques reconnues, la médecine traditionnelle donne à l'Aloès des propriétés anti-ulcéreuse gastrique, anti-diabétique...(Jerus ,2017).

2.2. Vertus nutritionnelles

La pulpe d'Aloe vera L. est utilisée comme additif alimentaire à raison de sa richesse qualitative en sels minéraux, acides aminés et en vitamines. Cette richesse nutritionnelle qualitative offre à l'organisme humain une meilleure résistance aux agressions microbiennes et un équilibre lui permettant d'atténuer les stress.

La pulpe de la feuille d'Aloès peut être utilisée, sans aucune crainte selon les modalités recommandées, à l'état frais ou sous forme de produits stabilisés. Ces produits sont dépourvus de toute toxicité, ne provoquent pas d'effets secondaires. Toutefois, avec des cas rarissimes chez les allergiques à ce genre de produits une petite allergie cutanée . (Audrey ,2018).

2.3. Produits cosmétiques

C'est l'une des espèces d'aloès les plus commercialisées et la transformation de la pulpe de feuilles est devenue une industrie majeure. Dans les produits cosmétiques et de toilette, il est utilisé comme matériau de base pour la production de crèmes, lotions, savons, shampooings, nettoyants pour le visage et d'autres produits (Véronique, 2022).

Les actions cutanées d'Aloe vera L. sont à l'origine de son utilisation en cosmétologie. En effet, sa pulpe favorise la régénération cutanée. L'action réside dans une régulation du pH cutané, une desquamation des lamelles mortes de l'épiderme, une stimulation de la multiplication cellulaire en plus de l'hydratation, l'adoucissement et la protection de la peau. (Samantha, 2022).

3. Composition chimique de l'Aloe vera

L'Aloe vera contient 75 composants potentiellement actifs : vitamines, enzymes, minéraux, sucres, lignine, saponines, acides salicyliques et acides aminés. Le détail est le suivant :

Vitamines : la plante contient de nombreuses vitamines, dont les vitamines A, C et E, qui sont des antioxydants. Il contient également de la thiamine, de la niacine, de la riboflavine, de la vitamine B12, de la choline et de l'acide folique. L'antioxydant neutralise les radicaux libres.

Enzymes : amylases, lipases, phosphatases alcalines, les cellulases, catalases et peroxydases sont biochimiques catalyseurs qui aident à la digestion en décomposant les graisses et les sucres. Les carboxypeptidases et les bradykinases produisent un effet anti-inflammatoire en inactivant les bradykinines. Les lectines produisent des effets antitumoraux.

Minéraux : sodium, potassium, calcium, magnésium, sélénium, manganèse, cuivre, zinc, chrome et fer, on les trouve tous dans la plante d'aloès. Ces minéraux jouent un rôle important dans le fonctionnement des enzymes, impliquées dans diverses voies métaboliques.

Sucres : les sucres sont situés dans la couche mucilagineuse de la plante sous la croûte de la feuille. Il comprend les monosaccharides (glucose et fructose) et les polysaccharides (glucomannose et polymannose). Les polysaccharides agissent comme

des immunomodulateurs. Le Glumannan est un bon hydratant et est utilisé dans les produits cosmétiques.

Acides aminés : le gel d'aloë vera fournit les acides aminés nécessaires à la réparation et à la croissance. Il comprend 20 des 22 acides aminés non essentiels et 7 des 8 acides aminés essentiels.

Anthraquinones : les exsudats jaune rougeâtre amer, situé sous la croûte verte extérieure, contient anthraquinones et leurs dérivés, Barbaloin, aloémodine-9-anthrone, isobarbaloin, Anthrone-C-glycosides et chromones. Il s'agit de composés phénoliques.

Stérols : ceux-ci comprennent le cholestérol, le Campesterol, le β - Sitostérol et le Lupeol. Toutes ces substances ont une action anti-inflammatoire et le lupéol possède également des propriétés antiseptiques et analgésiques.

Acide salicylique : il s'agit d'un composé de type aspirine possédant des propriétés anti-inflammatoires et antibactériennes.

Saponines : Ce sont les substances savonneuses qui ont propriétés nettoyantes et antiseptique.(Natacha , 2013).

Les composants contenus dans la feuille sont décrits dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Résumé de la composition chimique des feuilles d'Aloe vera.

Acides aminés essentiels	Isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, valine.
Acides aminés secondaires	Acide aspartique, acide glutamique, alanine, arginine, cystine, glycine, histidine, proline, hydroxyproline, sérine, tyrosine
Minéraux et oligoéléments	Calcium, chlore, cuivre, chrome, fer, lithium, magnésium, manganèse, phosphore, potassium, sodium, zinc
Mono- et polysaccharides	Glucose, mannose, cellulose, aldo-pentose, L-rhamnose, acemannan, aloéride
Vitamines	A, B1, B2, B3, B6, B9, B12, C, E
Enzymes	Phosphatase alcaline, amylase, bradykinase, carboxypeptidase, catalase, cellulase, lipase, peroxydase
Composants organiques et lipides contenus dans le gel	Stérols (béta-sitostérol, lupéol, campesterol, cholestérol), acide salicylique, gibbérelline, lupéol, lignines, acide urique, acide arachidoniques.

Source :(Natacha ,2013).

4. Multiplication

Les Aloès se reproduisent généralement par boutures de feuilles, on entend par bouturer la technique qui consiste à prélever une partie de la plante (feuille, tige, branche) et à lui faire prendre racine en la posant sur un sol humide. (Sylvain , 2009).

La multiplication végétative est préférée aux graines, en raison de la levée médiocre des semis et de la croissance plus rapide des rejets. L'Aloe vera est multiplié végétativement par bouturage de feuilles. A la plantation, la bouture est placée dans un sillon de 15 cm, une face plaquée sur les 2/3 de sa hauteur contre le sol et inclinée. Le sol est alors tassé autour de la bouture. Les distances de plantation sont variables en fonction de la pluviométrie et du degré d'intensification de la culture. (Walali, 1995).

Chapitre 02 :

**Généralité sur les milieux
de culture**

Chapitre 02 : Généralité sur les milieux de culture

1. Généralité sur les milieux de culture

Les micro-organismes exigent pour leur croissance des aliments. Ces aliments leur sont fournis au laboratoire par des milieux nutritifs ou milieux de culture. Comme les besoins nutritionnels des microorganismes et les conditions de leurs développements sont très variés, il n'existe évidemment aucun milieu universel sur lequel tous les microbes soient capables de se multiplier. (Boussena, 2020)

1.1. Définition des milieux de culture

Un milieu de culture est une préparation au sein de laquelle des microorganismes peuvent se multiplier (Khadir , 2021). Un mélange de substance nutritifs (acides aminés, peptides, bases nucléiques, sucres, etc.). Il est possible d'ajouter d'autre facteur de croissance pour éviter les variations importantes de pH (Sang, protéines, hémoglobine, vitamines) qui sont de nature solides, semi-solides ou liquide (Prioret, 2022)

Un milieu de culture est un support qui permet la culture de cellules, de bactéries, de levures, de moisissures afin de permettre leur étude.(Umanuel de référence,2014).

1.2. Classification des milieux de culture

Il existe une grande variété de milieux de culture en rapport avec la diversité des exigences nutritives des micro-organismes. Les milieux de culture sont classés en fonction de leur utilisation, de leur composition ou de leur mode de stérilisation (Marchal, et al., 1987).

1.2.1. Classification d'après l'utilisation

1.2.1.a) Milieux usuels « de base »

Il n'est pas permis de cultiver toutes les bactéries. Le choix est en fonction de l'habitat naturel des bactéries à isoler. (Marchal, et al., 1987). Il existe des milieux à base d'extraits de viande utilisés pour la culture des microbes commensaux et pathogènes de l'homme et des animaux. Milieux à base de lait (d'extraits végétaux) utilisés en bactériologie alimentaire. (Marchal ,et al.,1987)

1.2.1.b) Milieux d'isolement

Selon (Marchal, et al., 1987), Ils sont conformes à la technique envisagée et les bactéries en cause, soit :

Des milieux de base déjà cités.

Des milieux non sélectifs enrichis de produits biologiques (sang, sérum, lait, levure...etc.) (Marchal, et al., 1987)

Des milieux électifs : est un milieu sur lequel apparait une culture abondante et rapide de certaines bactéries, alors que la plupart des espèces bactériennes s'y développent peu et lentement (Boussena, 2020).

Des milieux sélectifs (ou d'enrichissement) : ce sont des milieux dans lesquels on incorpore un inhibiteur chimique. celui-ci, judicieusement choisi, entrave le développement de la plupart des bactéries excepté celui de l'espèce recherchée. Ces milieux permettent donc d'isoler une espèce bactérienne au milieu d'un mélange de germes (compte rendu du TP de Microbiologie, 2002-2003).

1.2.1.c) Milieux différentiels

La possibilité de résoudre les problèmes d'identification différentielle qui se posent entre des espèces ou des genres voisins. (Marchal, et al., 1987)

Ces milieux sont actuellement très nombreux. (Marchal, et al., 1987)

1.2.1.d) Milieux de conservation

Ils permettent la survie des bactéries dans un état de vie ralentie (Marchal, et al., 1987).

Classification d'après la composition

On distingue 3 types de milieux :

Tableau 3 : Classification des milieux de culture selon leur composition.

Milieu de culture	Caractéristiques
Milieux naturels ou empiriques	Composition complexe, mal définie. ➤ D'origine animale : lait, sérum, bouillon et gélose nutritifs, gélatine, etc; ➤ D'origine végétale : peptone de soja, pomme de terre, eau de levure, etc.
Milieux synthétiques	Ce sont des solutions de corps purs dans l'eau distillée. Utilisés pour l'étude des bactéries autotrophes (non exigeantes) ou pour étudier les besoins nutritifs d'un germe
Milieux semi-synthétiques	Ils contiennent, outre des substances chimiques, des produits d'origine naturelle. Ces milieux sont les plus utilisés et commercialisés.

Tableau (4) représente la classification des milieux de culture selon leur composition, On distingue trois types principaux de milieux : milieux naturels ou empiriques, milieux synthétiques et milieux semi-synthétiques.

1.2.2. Classification d'après le mode de stérilisation

Il existe 02 types de milieux :

1.2.2.a) Milieux autoclavables

Milieu de culture dont les composants ne sont pas détruits par la chaleur

Exemple : milieu gélose nutritive, Mueller Hinton en flacons

1.2.2.b) Milieux non autoclavables

Milieu de culture qui contient des produits labiles pouvant être détruit par la chaleur.

Exemple : Loweinstein-Jensen (cultiver les mycobactéries : Tuberculose) (Bensakhria, 2021).

1.3. Principaux ingrédients des milieux de cultures

1.3.1. Pour les milieux solides

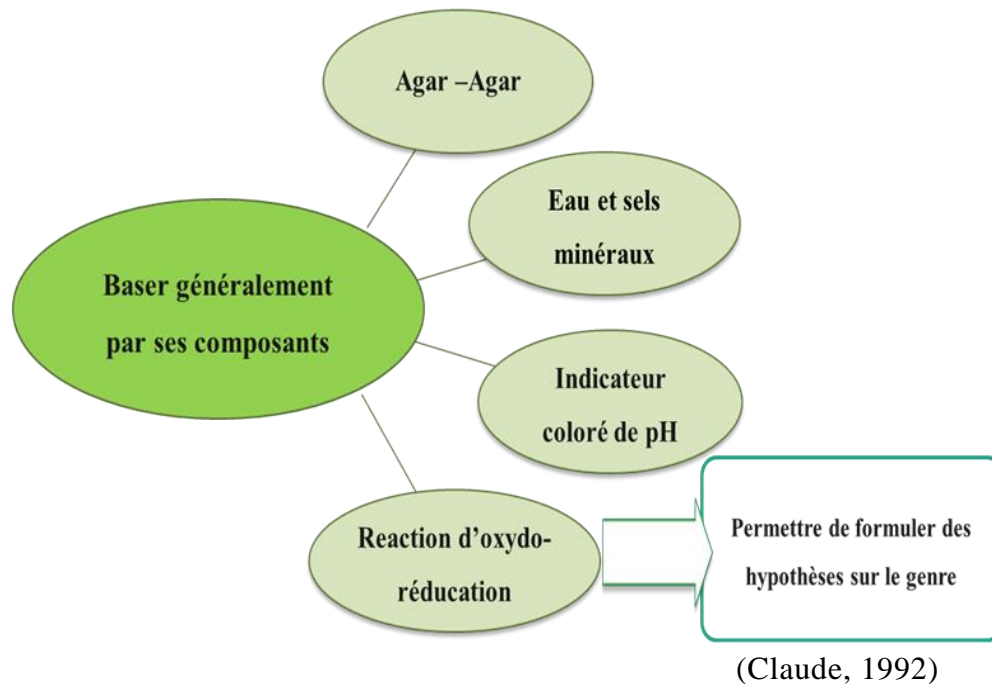


Figure 4 : Schéma des ingrédients de base d'un milieu solide.

Figure (9) représente un diagramme schématique montrant les principaux ingrédients qui composent le milieu de culture solide, il se compose d'une base (agar-agar, eau, minéraux...) ainsi que d'un indicateur coloré de pH ou de réaction d'oxydo-réduction pour permettre de formuler des hypothèses sur le genre.

1.3.2. Pour les milieux liquides

Les milieux liquides ne contiennent pas l'Agar-Agar, ce sont des bouillons de culture avec le même fonctionnement (CLAUDE , 1992). La croissance se traduit par un trouble ou des dépôts et des voiles superficiels. Exemple : bouillon nutritif (BN), Bouillon trypticase soja (TSB), Brain-Heart Infusion Broth BHIB etc.... (Khadir , 2021) .

Tableau 4 : Principaux ingrédients des milieux de culture.

Constituants	Caractéristiques	Fonction
Extraits de viandes	A partir de tissus animaux sélectionnés (à froid : macération; à chaud: infusion, extraits de viandes).	Source de protéines peu dégradées, glucides, sels minéraux, vitamines hydrosoluble. (vitamine B).
Peptone	Résultats d'action d'enzymes protéolytiques (pancréatine, pepsine, trypsine, papaïne) sur des matières protéiques (viande, caséine, soja, gélatine...)	Source d'acides aminés et des oligopeptides
Hydrolysats	Action d'acide chlorhydrique sur des protéines.	Source d'acides aminés et des ions minéraux.
Agar-agar ou gélose	Extrait d'algue rouge. Mélange de 2 groupes de polysaccharides (agarose 70% et agaropectine 30%). A 90°C se dissout dans l'eau, à 45°C reste en surfusion et à basse température elle forme un gel transparent +/- solide	Solidifier les milieux de cultures.
Produits biologiques	Sang, sérum, lait, gélatine, pomme de terre, etc.	molécules organiques diverses.
Base minérale	Macroéléments ioniques (Na ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , Cl ⁻ , PO ₄ ⁻² , SO ₄ ⁻² , HCO ₃ ⁻ ...). Microéléments ioniques ou oligoéléments (Fe, Co, Ti, Zn, Cu, B, Se, Mo, V, W, Mn.)	Apportent l'équilibre électrique, l'équilibre osmotique, fonctionnement enzymatique.
Eau distillée		

Source : (Khadir , 2021)

Tableau (5) représente les ingrédients de base d'un milieu de culture, car les milieux de culture contiennent généralement chacun des composants suivants : Extraits de viandes, Peptone, Hydrolysats, Agar-agar ou gélose, Produits biologiques, Base minérale, en plus de l'Eau distillée. Ce tableau explique les caractéristiques et la fonction de chacun de ces éléments.

Partie expérimentale

***Matériel* et Méthodes**

Partie expérimentale

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

L'objectif essentiel visé par ce travail consiste à l'élaboration d'un milieu de culture à base de poudre de l'*Aloe vera* optimisant la croissance des microorganismes (champignons et bactéries) *in vitro*. Pour parvenir à cela, nous avons testé deux poudres : une de cladode d'*Aloe vera* épluché (sans peau) et la deuxième non épluché (avec peau).

Cette partie est consacrée à la présentation de l'ensemble du matériel et des protocoles expérimentaux que nous avons utilisés au cours de nos travaux. Dans la première partie, sont précisées l'origine et la nature des matières premières qui ont servi de support à l'étude. Nous présentons, par la suite une description des techniques de préparation des deux milieux ainsi que les analyses physico-chimiques effectuées. Une troisième partie est consacré au détail de tous les essais *in vitro* d'évaluation des milieux de culture. Enfin une dernière partie présente l'ensemble des résultats et leur discussion.

1. Matériel

Les matériels utilisés dans ce travail sont de trois ordres : (1) matériel végétal, constitué de cladode d'*Aloe vera* L., (2) matériel biologique constitué de deux souches bactériennes et deux souches fongique, (3) matériel de laboratoire.

1.1. Matériel végétal

Ce projet porte sur l'étude de l'Aloès est une plante vivace, charnue, adaptée aux au climat chaud, une des plantes à usage multiple, utilisé depuis longtemps en médecine traditionnelle, cette plante est dotée de qualités remarquables.

1.2. Matériel biologique

Les micro-organismes utilisés dans l'expérimentation sont constitué de deux souches bactérienne et deux souches fongique. Nous avons utilisé les souches qui sont préparés dans laboratoire de microbiologie .

➤ Les souches bactériennes :

- **Escherichia coli**, également appelée colibacille et abrégée en E. coli, est une bactérie intestinale (Gram négatif) des mammifères, en forme de bâtonnet, très commune chez l'être humain.
- **Staphylococcus** est une bactérie du genre : coques, (Gram positifs). Elle impliquées dans des pathologies variées et de degrés de gravité divers.(Larry ,2021).

➤ **Les souches fongiques :**

- **Fusarium oxysporum** : est un genre de champignons imparfaits (deutéromycètes). Il est très variable et présente beaucoup de formes spécialisées pathogènes pour un type de plantes, ex : *F. oxysporum f. sp. lycopersici*.
- **Aspergillus niger** : le nom Aspergillus est donné à la classe des Ascomycètes, moisissures à filaments cloisonnés hyalins. C'est une des espèces les plus communes du genre Aspergillus qui apparait sous forme d'une moisissure de couleur noire sur les fruits et légumes. Le champignon se caractérise par sa croissance rapide sur les milieux de culture classiques (gélose au malt, Sabouraud) additionnés d'antibiotiques. La majorité des Aspergillus poussent à 22-25°C. (TABUC, 2007)

1.3. Matériel de laboratoire

Le matériel de laboratoire utilisé lors de l'expérience sont les suivants : distillateur, béchers, éprouvette graduée, thermomètre, agitateur magnétique, balance à précision, autoclave, bec bunsen, boites de Petri, des tubes à vis ou cotonnés stériles, pince en bois ou gants.

2. Principales étapes pour les essais in vitro

La méthodologie adoptée pour répondre aux objectifs fixés par cette étude comprend les principales étapes suivantes (figure 05):

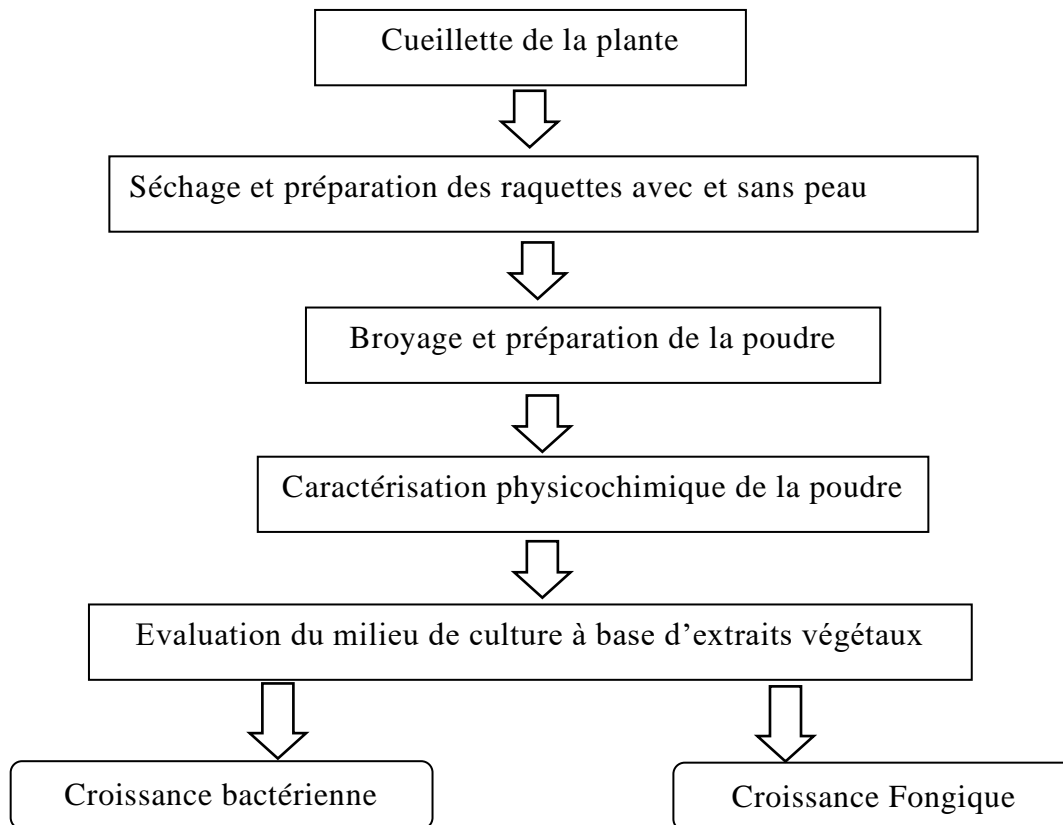


Figure 5 : Protocole expérimental.

2.1. Préparation du substratum d'Aloe vera

La préparation du milieu de culture à base de poudre d'Aloe vera, a été réalisé par la méthode suivant :

Les requêtes d'Aloe vera collectés ont été, tout d'abord, triés, afin d'éliminer les épines à la surface de l'écorce ; epluchage qui consiste à ôter la couche superficielle des requêtes, utilisée pour le cas de poudre de raquette sans peau à l'aide de lame tranchante, la troisième étapes est le découpage qui consiste à diviser les cladodes avec peau et sans peau en petit morceaux, pour accélérer le processus de séchage afin de les transformer en un produit solide sec, le séchage s'effectue à l'air libre à l'abri de la lumière et de l'humidité, après cette étape vient le broyage qui consiste de la réduction des frondes séchées en une poudre homogène, qui s'effectue au mortier afin d'obtenir une pâte la plus homogène que possible et enfin le tamisage (avec un tamis de diamètre 0,05 mm), ou la poudre est séparée par granulométrie, puis stockée dans un sac en papier sous forme de poudre.

2.2. Préparation des milieux de cultures

Les étapes de la préparation de ces nouveaux milieux de culture à base de la poudre d'Aloe vera sont les suivantes (figure 06):

1. Peser la quantité de poudre requise (40 g de poudre de chaque préparation avec ou sans peau) ;
2. Dissoudre quantité adéquate de la poudre d'Aloe vera dans l'eau distillée stérile (40 g de poudre pour 200 ml d'eau distillée) dans une fiole jaugée ;
3. Ajouter au mélange un produit gélifiant pour solidifier le milieu (12 g d'agar-agar) tout en remuant à l'aide de l'agitateur magnétique (500 tours/80°C) afin d'obtenir une solution homogène.
5. Faire chauffer solution jusqu'à l'obtention d'une dilution complète et d'une homogénéisation, pendant environ 15 min ;
6. Retirer de la plaque chauffante et laisser refroidir jusque 60°C environ puis conditionner le milieu encore chaud dans des petite bouteille stérile en verre ;
7. Stériliser les milieux de culture à l'autoclave pendant 15 minutes sous une température de 121°C
8. Après stérilisation, les solutions sont refroidies pendant 30 minutes, puis coulées dans des boites de pétri de 90 mm sur une hauteur de 4 mm et laisser solidifier sur paillasse. Les boites sont conservées au réfrigérateur à 4°C jusqu'à leur utilisation ;
9. Pour éviter les contaminations, couler les géloses le plus rapidement possibles et éviter les mouvements d'air autour des géloses, de plus, il est possible de couler les géloses sous une hotte à flux laminaire stérile.

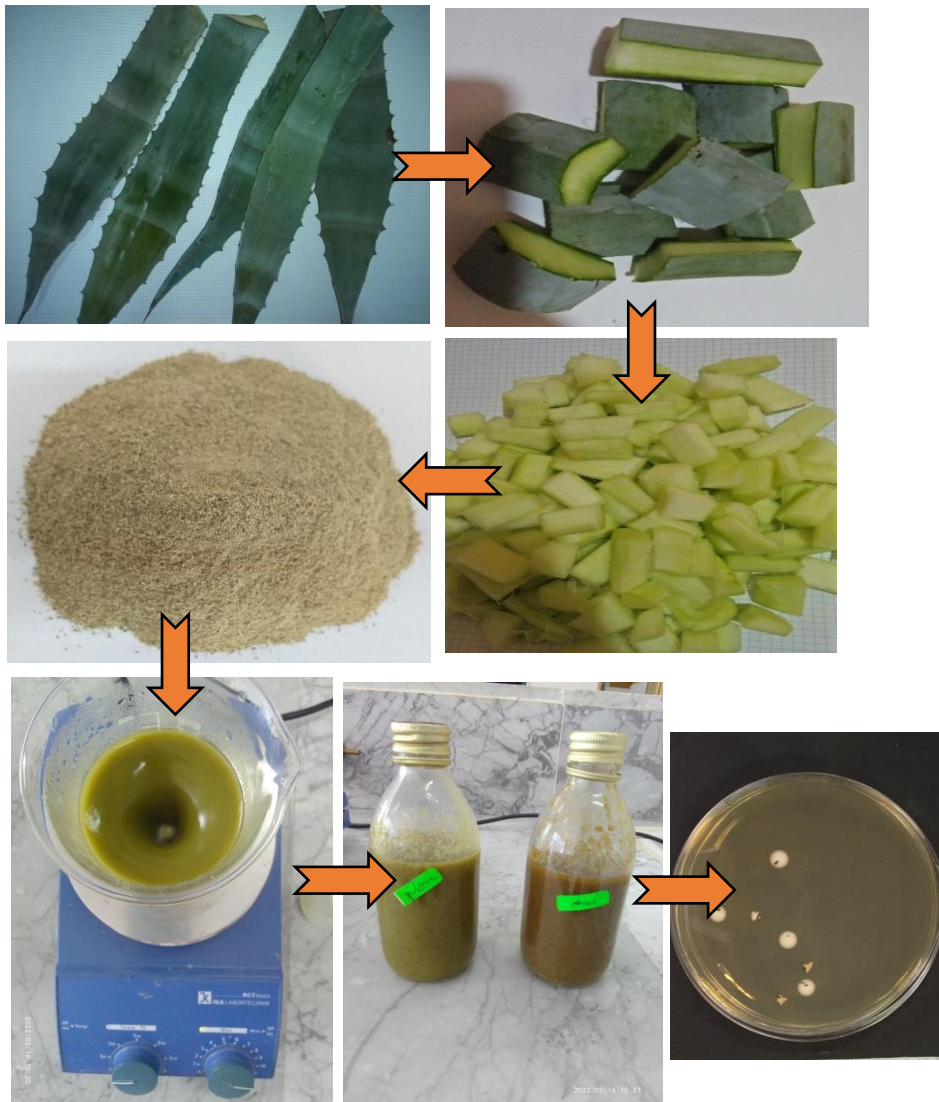


Figure 6 : Principales étapes pour la préparation des milieux de culture.

2.3. Analyses physico-chimiques et organoleptique

Les analyses sont réalisées avec la poudre d'*Opuntia ficus indica* obtenue par voie sèche. Un procédé de broyage et de tamisage de matériel végétal en de fines particules est utilisé afin de concentrer les composés bioactifs dans les poudres résultantes.

En fonction des analyses, la poudre est analysée fraîche, ou séchée à l'étuve. Les propriétés phytochimiques de chaque poudre sont comparées à entre eux.

Les cendres : la cendre totale est un résidu de composés minéraux qui reste après l'incinération d'un échantillon contenant de la matière organique. La quantité moyenne de cendres est déterminée par la différence de poids.

Une quantité de poudre d'Aloe vera, est incinérée dans un four à moufle à 550°C pendant 5 heures jusqu'à l'obtention d'un résidu grisâtre, clair ou blanchâtre. La taux de cendres est calculée par la formule suivante à partir de la différence de poids avant et après combustion.

$$TC = \frac{(P2 - P1)}{P0} \times 100$$

TC : taux de cendres en pourcentage.

P0 : poids de l'échantillon au début de l'essai en g.

P1 : poids des creusets vides en g.

P2 : poids d'échantillon après incinération en g.

Teneur en lipides : la teneur en matière grasse a été déterminé suivant la norme FIL(1987) Gottlieb. Son principe repose sur une extraction des lipides au moyen d'éther diéthylique et d'éther de pétrole puis, le mélange de solvants est évaporé et les lipides extraits sont pesés.

La matière azotée totale : elle est déterminée par la méthode de KJELDAHL, en minéralisant la poudre par l'acide sulfurique concentré en présence d'un catalyseur. L'azote organique est transformé en azote ammoniacal par la soude et on le dose après l'avoir reçu dans l'acide borique (indicateur). Le taux de matière azote totale est obtenu par convention en multipliant le taux d'azote total par le coefficient 6.25 (ISO, 1982 in CIRAD, 2003).

Le pH : le pH (potentiel hydrogène) représente la mesure de l'acidité ou de l'alcalinité en chimie d'une solution ou d'un milieu. Les valeurs du pH varient de 1 à 14 unités sur une échelle logarithmique en solution aqueuse (Actu-Environnement, 2022).

Le papier pH, se présente sous la forme de bandes étroites de papier imbibées d'un indicateur universel. Il se compose d'un mélange d'indicateurs de différentes couleurs qui varient en fonction du pH de la solution testée. Une goutte du liquide à évaluer est déposée sur le papier pH et un changement de coloration s'observe immédiatement.

La lecture et l'interprétation des résultats se font par comparaison entre la teinte obtenue et le code couleur fourni avec la boîte de papier pH. (Actu-Environnement, 2022).

Conductivité électrique : La conductivité électrique caractérise l'aptitude d'un matériau ou d'une solution à laisser les charges électriques se déplacer librement et donc permettre le passage d'un courant électrique. Elle est mesurée à l'aide d'un conductimètre, exprimée (mS/cm).

Les sucres solubles totaux

Sont dosés par la méthode au phénol de DUBOIS et al. (1956). Elle consiste à prendre 100 mg de matière fraîche, placées dans des tubes à essais, on ajoute 3 ml d'éthanol à 80% pour faire l'extraction des sucres. On laisse à température ambiante pendant 48h à l'obscurité. Au moment du dosage les tubes sont placés dans l'étuve à 80°C pour faire évaporer l'alcool. Dans chaque tube on ajoute 20ml d'eau distillée à l'extrait. C'est la solution à analyser.

Dans des tubes à essais propres, on met 2ml de la solution à analyser, on ajoute 1ml de phénol à 5% (le phénol est dilué dans de l'eau distillée); on ajoute rapidement 5ml d'acide sulfurique concentré 96% tout en évitant de verser de l'acide contre les parois du tube. On obtient, une solution jaune orange à la surface, on passe au vortex pour homogénéiser la couleur de la solution. On laisse les tubes pendant 10mn et on les place au bain-marie pour 10 à 20mn à une température de 30 °C (La couleur de la réaction est stable pendant plusieurs heures). Les mesures d'absorbances sont effectuées à une longueur d'ondes de 485nm. La courbe d'étalonnage est réalisée selon l'équation suivante : $Y=3,868$.

2.3.1. Détermination des propriétés d'hydratation :

La solubilité : c'est un critère essentiel dans le contrôle de la qualité des poudres destinées à être réincorporées en phase aqueuse. L'indice de solubilité est mesuré selon la norme ADPI (2002b) ou la méthode de Niro Atomizer (1978) et permet de déterminer l'aptitude d'une poudre à se solubiliser. Après des séries de centrifugation définies le culot est pesé.

3. Evaluation de croissance dans le milieu de culture

Afin d'évaluer l'efficacité des poudres de cladodes d'*Aloe vera* comme nouveau milieu de culture pour différents microorganismes, on a opté pour deux souches bactériennes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) ainsi que deux souches fongiques (*Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger*).

Les différents microorganismes utilisés sont issus d'une collection conservée au sein du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret. Le protocole de la culture des différents microorganismes est le suivant

3.1. Ensemencement et mise en culture des bactéries

3.1.1. Préparation de la suspension bactérienne

Dans des conditions stériles, prélever une colonie isolée représentant la souche à l'étude avec une pipette Pasteur ; répartir en bandes sur une nouvelle boîte de milieu de démarrage (c'est-à-dire un milieu contenant les nutriments nécessaires pour initier le développement), L'ensemble du milieu est ensuite incubé pendant 18 à 24 heures à la température optimale pour le développement de la souche.

Après plusieurs heures (24 heures), certaines des cellules bactériennes inoculées se sont transformées en colonies d'aspect pelucheux coloré ou incolore. C'est l'étape de l'illumination ou du réveil. Les colonies continueront à proliférer tant qu'elles resteront dans ce milieu de départ.

à la fin de cette étape, des suspensions troubles des souches revivifiées seront réalisées en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques. On les dépose dans 5 ml d'eau physiologique stérile puis on agite au vortex. Les concentrations bactériennes de l'inoculum sont évaluées par turbidité et sont exprimées par la mesure de la densité optique (DO à 600 nm) sur un spectrophotomètre. Une DO de 0.08 à 0.1 correspond à une concentration de 10^8 UFC/mL.

3.1.2. Ensemencement bactérien

La suspension bactérienne préparée à partir d'une culture jeune (18h), en milieu bouillon nutritif (BN), diluée dans de l'eau physiologique de manière à renfermer 10^8 germes/ml, est d'abord ensemencée en surface sur milieu gélosé en boîte de Pétri de 9 cm de diamètre. Ensuite, les boîtes de Pétri sont placées dans une étuve pour incubation à 35 ± 2 °C pendant 72 heures.

Sur les deux milieux de culture coulés en boîtes de Pétri, l'ensemencement a été fait en stries transversales de sorte que chaque cellule se développe en une colonie isolée. Les

milieux ainsi ensemencés sont transférés à l'incubateur (étuve). La durée d'incubation été de 72 heures, à une température de 37°C. Chaque test est réalisé trois fois au cours de trois expériences successives.

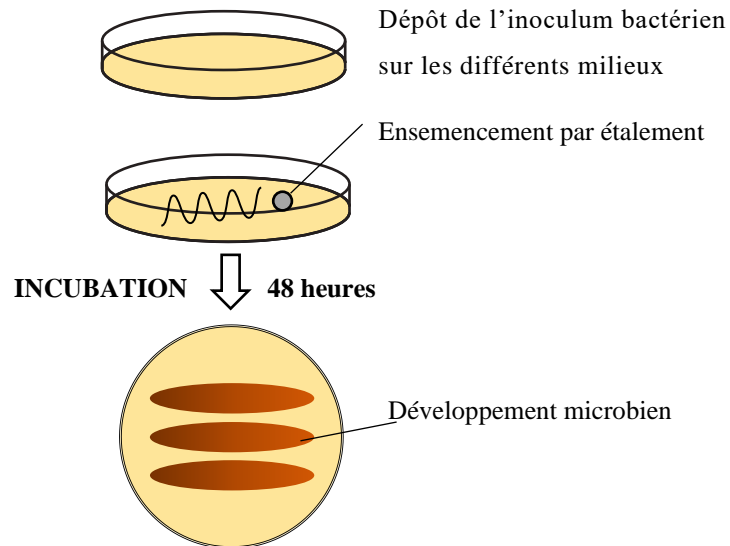


Figure 7 : Mise en culture et évaluation de la croissance bactérienne.

3.1.1. Evaluation de la croissance

La croissance se traduira par l'apparition de colonies isolées ou un amas de micro-organismes chacun originant d'une même cellule. Le nombre de colonie à la surface seront comparés entre les différents milieux afin de classer ces milieux et interpréter la sensibilité des souches pour chaque milieu.

Le calcul d'UFC après dénombrement sur milieu solide sans répétition :

$$\text{UFC} = \frac{\mathbf{N} \times \mathbf{F}}{\mathbf{V}}$$

N = nombres de colonies ; **V** = volume de dilution ; **F** = facteur de dilution

Nombre de colonies (UFC/mL) = (germes/ml) = (bactérie/ml).

3.2. Ensemencement fongiques

Sur les deux milieux de culture coulés en boîtes de Pétri, l'ensemencement fongique a été fait par un dépôt de fragment de 5 mm de diamètre de chaque souche (*Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger*) au centre de la boîte de Petri, ces disques fongiques ont été prélevés à partir d'un tapis mycélien issu de culture de 7 jours.

Les milieux ainsi ensemencés sont incubés à l'obscurité à 25 ± 2 °C.

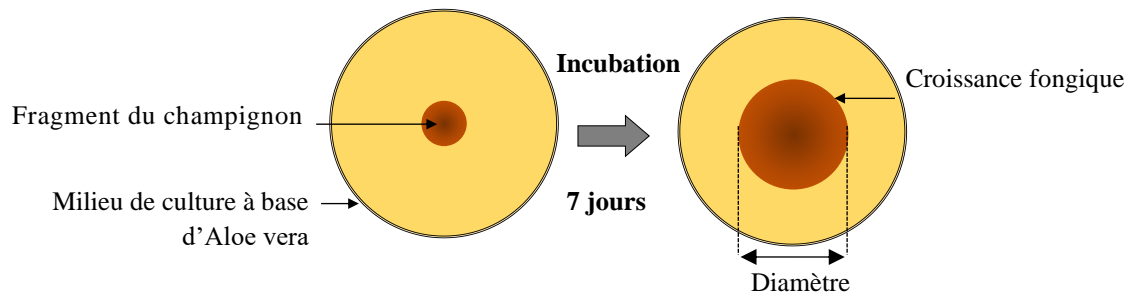


Figure 8 : Mise en culture et évaluation de la croissance fongique.

3.2.1. Evaluation de la croissance fongique

La croissance du mycélium a été mesurée avec une règle graduée à la même heure chaque jour, passant par le centre de la boîte dans deux 2 directions perpendiculaires, et la moyenne des deux 2 diamètres perpendiculaires a été soustraite du diamètre de disque (5mm) et comparée l'une à l'autre afin de classer ces différents milieux et expliquer la sensibilité de chaque souche fongique à chaque milieu de culture. La croissance diamétrale finale est estimée après 7 jours d'incubation.

Résultats et discussion

Chapitre 02 : Résultats et discussion

Cet avant-dernier chapitre présente les résultats obtenus durant tout le processus expérimental et leur discussion.

1. Analyses des propriétés physico-organoleptiques

Tableau 5 : Caractéristiques physico-organoleptiques.

Milieu	Milieu A (Poudre d'Aloe avec peau)	Milieu B (Poudre l'Aloe sans peau)
Caractéristiques physicochimiques		
Densité	1,5	1.28
pH	5,35	5,17
CE (mS /cm)	5,85	5,41
Lipide %	1,58	1,45
Taux de protéine %	0,91	0,89
Sucre totaux %	4,72	3,38
Cendre %	2,3	1,95
Caractéristiques organoleptiques		
Couleur	Marron foncé	Marron claire
Odeur	Absence d'odeurs étrangère ou anormales	
Consistance de viscosité	Plus ou moins solide	Solide
Texture	Sensiblement homogène	

D'après les résultats consignés dans le tableau 05, nous pouvons souligner que les milieux obtenus des deux substratum A et B, sont d'une Couleurs marrons foncé pour le premier et marron clair pour le deuxième, la teinte marron foncé est généralement due à la présence du pigment de chlorophylle dans la peau de cladode.

Les deux milieux n'ont pas une odeur particulière, leur consistance varie suivant leur composition, le milieu **B** à base de poudre de cladode sans peau forme un milieu plus ou moins solide (dû à leur richesse en polysaccharide), et ceux à base de poudre ont un aspect très visqueux à température ambiante. Les caractères organoleptiques restent très sensibles à l'oxydation que subissent les poudres en vieillissant, provoquant ainsi des changements de leur aspect et couleur.

L'analyse de la composition chimique montre que le pH des deux milieux de culture varie entre 5,35 et 5,17 est bien conforme avec le seuil de tolérance d'un grand nombre de bactéries et champignons, qui exigent un pH entre $4,5 < \text{pH} < 6$ (Milhaud, et al., 1953). Il est indispensable de contrôler le pH des milieux de culture pour une bonne croissance des micro-organismes. Un milieu agressif peut inhiber le développement des microorganismes en culture. D'après (Bockstaller, et Al., 2009) une acidification ou une alcalinisation importante du milieu a pour effet de ralentir considérablement la croissance bactérienne, voire d'entraîner la mort cellulaire lorsque des enzymes indispensables sont inhibées.

La valeur de conductivité électrique CE obtenues sont comprises entre 5,85 et 5,41 mS/cm respectivement pour Milieu A et Milieu B, il faut savoir que le milieu qui contient des sels minéraux possède une CE, cependant, CE n'indique pas nécessairement la présence de sels ayant une valeur nutritive pour les organismes en culture.

Nous avons trouvé que le taux de protéines dans les deux milieux est très proche 0,91 et 0,89 % respectivement pour le milieu A et B. Les micro-organismes ont besoin de substances azotée organiques ou inorganique dans le cas où les milieux de culture sont à base d'extraits végétaux.

La teneur en sucres totaux varie selon la nature de la poudre utilisée dans la préparation du milieu de culture, elle est de 4,72 % dans le Milieu A et 3,38 % dans le milieu B. Les bactéries et les champignons utilisés dans le cadre de ce travail sont hétérotrophe, incapable de réaliser la photosynthèse, les protéines et les sucres même s'ils sont présents qu'en toute petite quantité, il s'avère que leur présence est indispensable à la survie de ces micro-organismes.

Par ailleurs ce même tableau montre que le milieu **A** (poudre d'Aloe vera avec peau) est plus riche en différents constituants nutritifs : lipide, protéine, sucre et cendre que le milieu **B** (poudre d'Aloe vera sans peau).

NB. On a voulu faire une analyse de la composition minérale des cendres des deux poudres mais le spectrophotomètre de flamme était en panne donc on s'est limité au taux de cendre.

2. Effet des différents milieux sur la croissance bactérienne

La caractérisation du niveau de croissance et du développement bactérien après 72 heures de l'incubation a permis d'établir le graphique suivant :

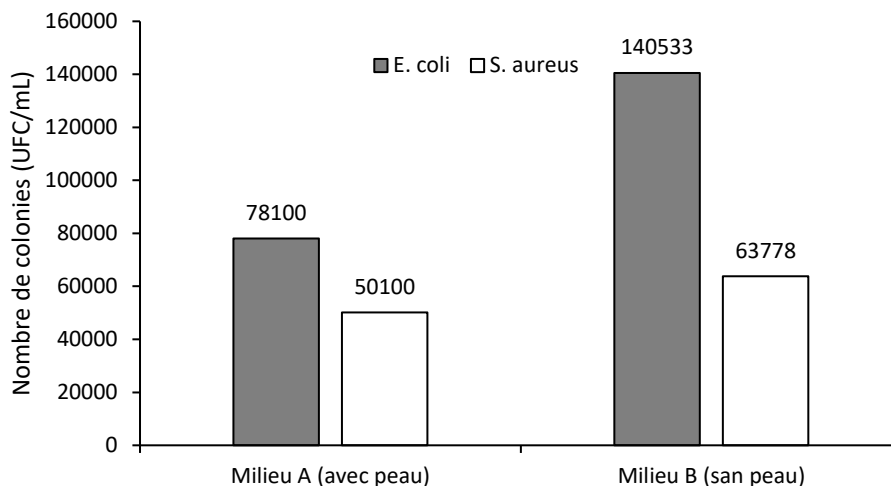


Figure 9 : Représentation graphique de la croissance bactérienne.

La figure 08 nous indique que la croissance bactérienne n'est pas similaire à chaque milieu de culture, la souche E-coli a enregistré une croissance importante (140533 UFC/mL) sur milieu B par rapport au milieu de culture A, ce milieu à base de poudre de cladode sans peau (mucilage) a aussi permis une croissance modérée de la souche Staphylococcus aureus 63778 UFC/ mL.

Il a été observé que la souche Staphylococcus se développe d'une manière dans les deux milieux mais à un rythme plus faible que E-coli

Ces résultats montrent donc que les deux souches sont sensibles à la composition du milieu A, soit parce qu'elles ne peuvent plus assurer leur métabolisme, soit à cause de la présence d'une substance inhibitrice. La peau de cladode, n'étant pas épluchée, dans le milieu A, cela signifie qu'elle contient des substances qui inhibe le développement des souches cultivées sur ce milieu puisque l'autre milieu sans peau a permis une croissance même modérée des deux souches.

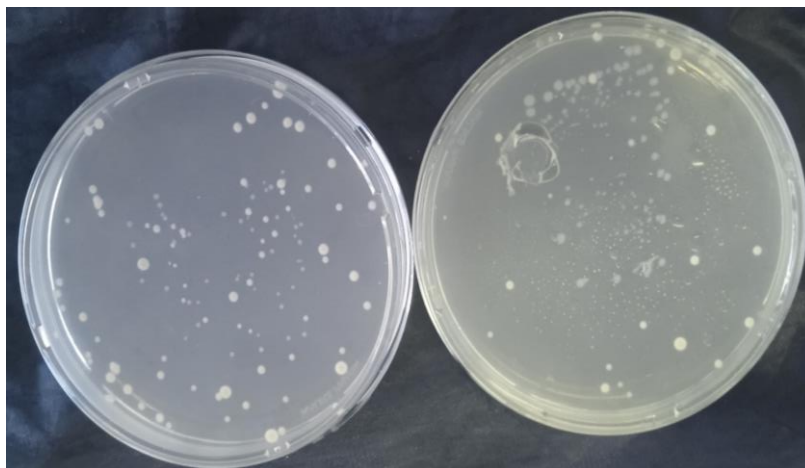


Figure 10 : Photo de la croissance bactérienne.

3. Effet des différents milieux sur la croissance fongique

La deuxième phase de ce travail a consisté à évaluer la croissance radiale mycélienne sur les différents milieux de culture. Les résultats relatifs aux effets des milieux de culture sur la croissance radiale in vitro sont représentés à la figure 10 et 11.

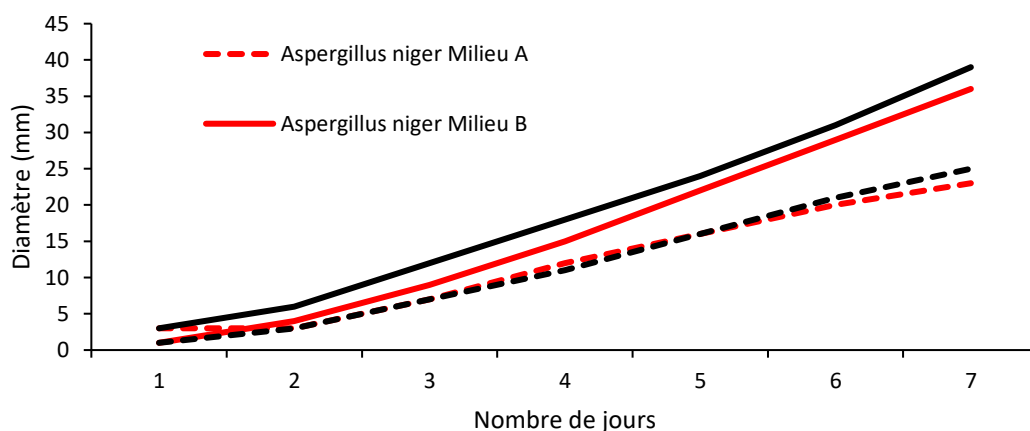


Figure 11 : Evolution de la croissance radiale durant les 7 jours.

L'examen des diamètres de croissance radiale des mycéliums est le premier examen effectué après incubation, il permet d'effectuer une première caractérisation du niveau de croissance mycélienne dans chaque milieu. A l'issue de ces résultats il est clair qu'après premier jour de l'ensemencement, les diamètres croissance radiale ont varié en fonction du milieu de culture, et en fonction de la souche en culture.

L'évolution du diamètre fongique les plus élevés ont été observé dans le milieu **B** et ce quel que soit la souche fongique avec des diamètres de 39 et 36 mm après 7 jours de culture respectivement pour *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger*.

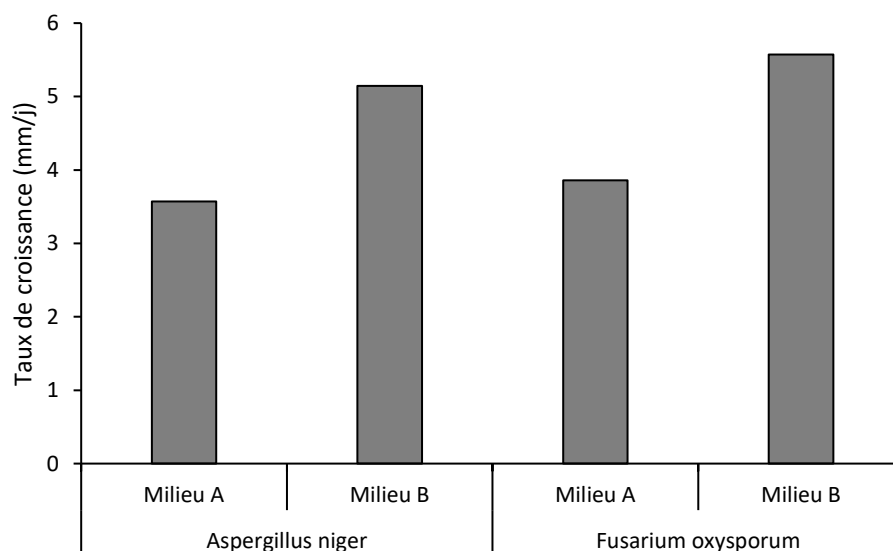


Figure 12 : Représentation graphique de la croissance fongique.

Le taux de croissance journalier montre que le milieu B a enregistré les plus grande valeurs 5,14 et 5,57 mm respectivement pour *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger*

On a constaté que l'inoculum *Aspergillus niger* a enregistré le plus court diamètre de mycélium sur les deux milieux.

Ces résultats indiquent aussi que le milieu A préparés à partir de poudre de cladode avec peau aurait un effet négatif sur la croissance des souches puisqu'il a été remarqué que les plus faibles valeurs de croissances radiales ont été enregistré sur ce milieu

Il est a noté aussi que les meilleures croissances radiales ont été toujours enregistrée dans le milieu B.

Conclusion

Conclusion

De nombreux territoires sont à la recherche de nouveaux leviers de développement valorisant davantage leurs ressources parmi lesquelles les ressources agricoles capables de soutenir la sécurité alimentaire, de créer des revenus et d'enclencher une dynamique territoriale surtout en milieu rural. Dans cette gamme de produits agricoles, figure l'Aloe vera. Cette ressource connaît actuellement un regain d'intérêt dans plusieurs pays en raison de sa contribution dans la mise en valeur des terres marginalisées et des zones arides et semi-arides, son adaptation à divers climats et sols, ainsi que ses multiples utilisations.

Dans ce contexte, vient cette étude, qui a pour objectif la valorisation de cette ressource dans l'obtention de produits à haute valeur ajoutée à travers la formulation d'un nouveau milieu de culture *in vitro*, à base des extraits de poudre de ces feuilles (cladodes), et d'évaluer les propriétés et les capacités de ce nouveau milieu de culture à satisfaire les besoins nutritifs de quelques microorganismes.

Les principaux résultats obtenus, nous ont permis de constater une nette différence dans le comportement des deux souche fongiques et bactériennes dans les différents milieux de culture. En effet, le milieu **B** (poudre cladode sanspeau), est le plus productif et affiche le meilleur rendement en terme de croissance des deux microorganismes, par rapport au milieu **A**. La croissance des microorganismes n'est pas similaire à chaque milieu de culture, puisque les facteurs influant sur la croissance et prolifération microbienne *in-vitro* peuvent être liés aux facteurs externes qui englobent, les milieux de cultures notamment leur composition,

Ce point de vue est aussi appuyé par les résultats des analyses de la composition chimique qui montre que les nutriments de base (source de carbohydrate, acide aminée et élément minéraux) sont présents dans les deux milieux, ce qui permet aux microorganismes de se multiplier

Pour conclure, on peut qualifier notre milieu comme un milieu ordinaire recommandé pour la culture de certaines bactéries et champignons n'ayant pas d'exigence nutritive particulière.

Cette étude n'a pas la prétention d'être exhaustive. Elle est principalement limitée par le temps alloué pour la réalisation et le manque des références.

Le contenu est évidemment perfectible et ne constitue qu'une contribution pour répondre au mieux aux termes de références de l'étude. Comme complément à la présente étude et comme perspectives, les points suivants nous semblent assez pertinents :

- Pousser les recherches par une analyse complète de la composition chimique de la plante.
- Prévoir des études plus approfondies in vitro sur d'autres microorganismes.

Références bibliographiques

ABES STAR .Une histoire de la recherche de substances naturelles à activités thérapeutique. Sciences de l'Homme et Société / Histoire . 23/07/2014.

Akinyele B.J.et Akinyosoye .F.A , " Effect of *Volvariella volvacea* Cultivation on the Chemical Composition of Agrowastes ", African Journal of Biotechnology .Vol .4, No.9, 2005, pp.979 - 983.

Audrey Terell.L'aloë vera et ses bienfaits en nutrition (Accueil >Soins >Alimentation>). Données Personnelles - Mentions légales - Utilisation des cookies - Contactez - nous.2018.

Bensakhria A.[http : // ayoubb .com](http://ayoubb.com) .Helthcave & Finance [http: //www.ayoub.com](http://www.ayoub.com) .RELATED [article] . MOROFROM AUTHOR .2021.

Bockstaller C et Walid Sadok .MASC , a qualitative multi - attriute decision model for exante assessment of the sustainability of cropping systems [article] .2009.

Catherine Fournet - Guérin et Géraud Magrin.L'Afrique , du Sahel et du Sahara à la Méditerranée : intégration , circulation et fragmentation . [http : //doi .org / 10.4000 / bagf .2976](http://doi.org/10.4000/bagf.2976).2018 .- pp.165 . 174.

Cristina TABUC . FLORE FONGIQUE DE DIFFÉRENTS SUBSTRATS ET CINDTTIONS OPTIMALE DE PRODUCTION DES COTOXINES.UNIVERCITÉ DE BUCAREST.Thèse de doctorat .6 /09/2007.

Contributors .Quels sont les besoins quantitatifs et qualitatifs de chacun de nous ?.20/09/2021.

Guilloteau J. Les Africains et leur sol. [article] . Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée /Année 1954 / 1-1-4 / pp.111 - 118 .

Jerus Cardenas (médecin ,ancien directeur médical).La rédaction de Doctissimo .12/11/2017.

Khadir Ab Mouamin . Différents types de milieux de culture.-2002.p. 1.

Laura SORIANO. Aleo Vera (UNIVERSITÉ SITÀDU QUÈBECÀ CHICOUTIMI) .[MONOGRAPHIE] .2016 .

Larry M .Bush , Infections à *Staphylococcus aureus* ,MD ,FACP,Charles E . Schmidt College of Medicine , Florida Atlantic University.mars 2021.

Marchel N .BOURDON J.L et RACHARDC . les milieux de culture pour l'isolement et l'identification on biochimique des bactéries. Éditeur .Soin ,Paris [Ouvrage] .1987. - p . 482.

Michel ,Bruneau .Les Gres pontiques. Diaspora, identité ,terroires .Paris, CNRS Édition, 250 p .(ISBN 2 - 271 - 05546-6).1998.

Milhau J ,Léon Walras et Étienne Antonelli .L'action politique d'Etienne Antonelli .[article] - Revue d'histoire économique et sociale,1953 - JSTOR.

Natacha Michayewicz .L'Aloe Vera ,plante médicinale traditionnellement et largement utilisée depuis des millénaires , aux nombreuses propriétés thérapeutiques.Plante miracle ? [article] .October 2013.

Perioet NICOLAS . Résultats de NICOLAS PRIOLET en 2022.

Sadouk D et Zadak S .Etude de Qualité physico-chimique et Microbiologique [Revue] .- 2006.

Samantha Pagés.Aloe vera : visage , coup de soleil , comment l' utiliser ? .LE JOURNAL DES FEMMES SANTÈ.[article] .11/06 / 2022.

Sylvain Barré . ET SI LES NOMBRES POUVAIENT ÊTRE INFINIS À GAUCHE DE LA VIRGULE PLUTÔT QU 'À DROITE ...[article] .23/04/2009.

Taufik BETTAÏB .Sauve garde d' un plante aux multiplication vertus : Aloe Vera L.F.(Association des Anciens de l'école Supérieure d'horticulture de Chotte Mariem) .2013.-pp.10.13.14.15.24.

Umanuel de référence.Campus de Microbiologie - Collégiale des enseignants de bactériologie - virologie - hygiène . Université Médicale Francophone).2014.

Véronique .Les bienfaits cosmétiques de L'Aloe Vera . LA COSMÉTIQUE BIO NOS DOSSIERS LE LABEL LES PRODUITS NOTRE ASSOCIATION CONTACT ESPACE PRESSE FAQ .2022.

Walali Loudyi D .QUELQUES ESPÈCES FRUITIÈRES D'INTÈRÊT SECONDAIRE CULTIÉES AU MAROC .[article].1995 .- p.110.

Witte P , Lemli L . L'Aloe Vera .hydratation . Conseils & Amp ; Astuces . Aleo Vera pour Tous .1990.