

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Ibn khaldoun de Tiaret
Faculté de Sciences de la nature et de la vie
Département Sciences de la nature et de la vie

جامعة ابن خلدون تيارت
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم علوم الطبيعة والحياة

N° d'ordre : SNV/...../2022



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADIMIQUE EN BIOLOGIE MOLECULAIRE

ET CELLULAIRE

Spécialité : biologie moléculaire et cellulaire

Thème

**L'étude de l'effet antibactérien et antifongique des extraits du
Pistachier d'Atlas**

Réalisé par :
- AMARA Mohamed islam
- RABAH Mokhtaria
- HADDAOUI Issam

Mme. K. Abderabi	Président	MCB
Mme. A. Bouzid	Examinatrice	MAB
Mme. F.Z. Mokhfi	Promotrice	MCB

PROMOTION -2022-

Remerciements

Au terme de ce Mémoire, je tiens à remercier tout naturellement en premier lieu Allah le tout Puissant qui nous a donné la force, le courage et la patience de bien mener ce travail.

Ce travail a été réalisé sous la direction de Mme Dr Mokhfi fatima Zahra, qui nous A accordé sa totale confiance, sa grande expérience, ses précieux conseils qui ont permis le bon déroulement et l'aboutissement de ce travail

Nous exprimons notre gratitude à Dr Abderrabi Khadidja d'avoir
Fait l'honneur de présider le jury. Nous exprimons notre
Reconnaissance à Dr Bouzid Assia, pour avoir accepté d'être
membre de jury

Finalement, Je remercie toutes personnes ayant contribuées de près ou de loin à la réalisation de ce travail, qu'elles trouvent ici l'expression de ma profonde.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Ma Chère maman Nakhla elle est la source de mon succès

Mon cher père Yahia,

Mes frères et sœurs ; Abdelkader, Yacine, hadil

Mes amis ; Sofiane, Mohamed

Toute ma famille ; AMARA et Hamidi

Toutes les personnes qui m'ont encouragé ;

Tous les enseignants qui m'ont dirigé vers la porte de la réussite.



Mohamed islam

Dédicace

*Je dédie ce travail à : Ma mère zahira qui m'a entouré d'amour,
d'affection et qui fait tout pour ma réussite, que dieu la garde, mon
père, mes frères : chère seddik, abd el rahim, Mokhtar*

Ma sœur : Yasmin

Mes neveux: Mohamed & Abdallah

Ma chère cousine : Sihem

Ma chère tante : Aïcha

Ma grande mère : Aïcha

Toute ma famille Serardi & Rabah



Mokhtaria

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Ma Chère maman mekki badra

Mon père que dieu ait pitié de lui M'hamed

Mes frères et sœurs ;

Mes amis ;

Toute ma famille ; Haddaoui

Toutes les personnes qui m'ont encouragé ;

Tous les enseignants qui m'ont dirigé vers la porte de la réussite.



Issam

Résumé

Le but de cette étude est de mettre en évidence la présence de certains métabolites secondaires des galles du pistachier de l'Atlas, on utilisant les méthodes d'extractions puis l'évaluation de leurs l'activité antibactérienne contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* antifongique contre la souche fongique « *Fusarium oxysporum* ». Les rendements obtenues par la préparation des différents extraits (méthanolique, éthanolique, et aqueux) démontrent que les extraits alcooliques présentent des rendements plus élevés que l'extrait aqueux. L'effet antibactérien a été testé selon la méthode de diffusion sur disque. L'effet antibactérien a été testé sur deux souches Gram⁻ et Gram⁺ « *E.coli* et *Staphylococcus aureus* ». L'évaluation de l'activité antibactérienne démontre la présence d'une activité bactéricides pour quelques extraits. L'évaluation de l'activité antifongique démontre que la souche fongique *Fusarium oxysporum* présente une certaine sensibilité aux extraits aqueux et éthanolique de cette espèce.

Mots clés : pistachier de l'atlas, extrait méthanolique, extrait éthanolique, extrait aqueux, activité antibactérienne, activité antifongique.

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تسليط الضوء على وجود بعض المستقلبات الثانوية لاوراق البطم الأطلسي باستخدام طرق الاستخلاص ثم تقييم نشاطها المضاد للبكتيريا ضد الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية وايضا نشاطها المضاد للفطريات ضد السلالة الفطرية *Fusarium oxysporum*

تبين الغلة الناتجة عن تحضير المستخلصات المختلفة (الميثانولي والإيثانولي والمائي) أن المستخلصات الكحولية لها إنتاجية أعلى من المستخلص المائي ، وقد تم اختبار التأثير المضاد للبكتيريا وفقاً لطريقة الانتشار القرصي. ثم اختبار التأثير المضاد للبكتيريا على سلالتي جرام - وغرام + "الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية" ، وقد أظهر تقييم الفعالية المضادة للبكتيريا وجود نشاط مبيد للجراثيم لبعض المستخلصات. يوضح تقييم النشاط المضاد للفطريات أن السلالة الفطرية *Fusarium oxysporum* تقدم حساسية معينة للمستخلصات المائية والإيثانولية لهذا النوع .

الكلمات المفتاحية: فستق أطلس ، مستخلص ميثانولي ، مستخلص إيثانولي ، مستخلص مائي ، نشاط مضاد للفطريات ، نشاط مضاد للبكتيريا

Abstract

The aim of this study is to highlight the presence of some secondary metabolites of the galls of the Atlas pistachio tree, using extraction methods and then evaluating their antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* antifungal against the fungal strain « *Fusarium oxysporum* ». The yields obtained by the preparation of the different extracts (methanolic, ethanolic, and aqueous) show that the alcoholic extracts present higher yields than the aqueous extract. The antibacterial effect was tested according to the disk diffusion method. The antibacterial effect was tested on two Gram – and Gram+ strains « *E.coli* and *Staphylococcus aureus* ». The evaluation of the antibacterial activity shows the presence of a bactericidal activity for some extracts.

The evaluation of the antifungal activity shows that the fungal strain *Fusarium oxysporum* presents a certain sensitivity to aqueous and ethanolic extracts of this species

Keywords: The Atlas pistachio, methanolic extracts, ethanolic extracts, the antimicrobial efficacy, the antifungal activity

Sommaire

<i>Remerciements</i>	<i>i</i>
<i>Dédicace</i>	<i>ii</i>
<i>Résumé</i>	<i>iii</i>
<i>Liste des Figures et Tableaux</i>	<i>iv</i>
<i>Nomenclature</i>	<i>vi</i>
<i>Introduction</i>	<i>14</i>
<i>Partie I: Synthèse bibliographique</i>	<i>16</i>
<i>Chapitre I: Généralités sur le pistachier d'Atlas</i>	<i>17</i>
I. Le pistachier de l'Atlas.....	18
1. Description morphologique.....	18
2. Systématique du Pistachier de l'Atlas	22
<i>Chapitre : Métabolites secondaires</i>	<i>29</i>
II. Métabolites secondaires.....	30
1. Fonction des métabolites secondaire	30
2. Types et origines des métabolites secondaires.....	31
<i>a. Les terpènes</i>	31
Caractérisation.....	31
Classifications des terpénoïdes.....	31
<i>b. Les alcaloïdes</i>	33
Définition	33
Caractérisation.....	33
<i>c. Les composés phénoliques</i>	34
Les propriétés pharmacologiques des polyphénols	35
Biosynthèse des composés phénoliques	35
<i>Chapitre III : Matériels et méthodes</i>	<i>44</i>
I. Matériel et méthodes	45
II. Présentation de la région de prélèvement :	45
<i>Chapitre IV : Résultats & discussions</i>	<i>54</i>

I.	Résultats.....	55
II.	Rendement en extrait	55
III.	Activité antibactérienne.....	57
1.	Activité antibactérienne des extraits aqueux des feuilles du pistachier de l'Atlas.....	57
2.	Activité antibactérienne des extraits méthanoliques des feuilles du pistachier de l'Atlas.....	58
3.	Activité antibactérienne des extraits éthanoliques des feuilles du pistachier de l'Atlas.....	58
IV.	Activité Antifongique.....	59
1.	Activité antifongique des extraits aqueux des feuilles du pistacher de l'Atlas	59
2.	Activité antifongique des extraits méthanoliques des feuilles d pistacher de l'Atlas	60
3.	Activité antifongique des extraits éthanoliques des feuilles du pistacher de l'Atlas :	60
V.	Discussion.....	61
	Conclusion	64
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	65

Liste des Figures

Figure 1 Feuillage du pistachier de l'Atlas (Rechaiga 2022)	19
Figure 2 Fleurs mâles en chatons de Pistacia atlantica Desf. (YAHIA, 2011).	20
Figure 3 Fruits du pistachier de l'Atlas (Rechaiga 2022)	22
Figure 4 Distribution géographique de pistacia atlantica dans le monde (Yahia 2011) ...	25
Figure 5 Répartition du pistachier de l'Atlas en Algérie d'après Monjauze (1980) modifié par (Kebci, 2008).	26
Figure 6 Principales Classes des polyphénols (Boros et al ; 2010).	37
Figure 7 Structure chimique des stilbènes (Parage, 2013).....	39
Figure 8 Structure chimique des tanins hydrolysables (Peronny, 2005).	40
Figure 9 Structure chimique de tanins condensés (Schofield et al. 2001).	40
Figure 10 Structure de base des coumarines (Marouf et Reynaud ,2007)	41
Figure 11 Structure chimique des lignines (Jost et Jost-Tse, 2016)	41
Figure 12 Structure de base des flavonoïdes (Krishna et al ; 2001)	42
Figure 13 Emplacement géographique de la région de prélèvement (se situe à Rechaiga dans wilaya de Tiaret).....	45
Figure 14 préparation d'extrait aqueux	47
Figure 15 La méthode d'extraction et préparation des extraits.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 16 Souches bactériennes : Staphylococcus aureus /Escherichia coli	49
Figure 17 Les milieux de culture utilisés	49
Figure 18 Préparation des milieux de culture Gélose Mueller Hinton(MH)	50
Figure 19 Solubilisation des extraits sec et préparation des extraits	51
Figure 20 les étapes de l'évaluation de l'activité antibactérienne	51
Figure 21 effet des extraits des feuilles de Pistacia atlantica sur les deux souches bactériennes testées.	52
Figure 22 standardisation de la solution des spores.....	53
Figure 23 les taux de rendement des trois méthodes d'extraction	56
Figure 24 diamètre des zones d'inhibition des deux souches bactérienne en fonction des concentrations de l'extrait aqueux.	57
Figure 25 diamètre des zones d'inhibition des deux souches bactérienne en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique.	58
Figure 26 diamètre des zones d'inhibition des deux souches bactérienne en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique.	59
Figure 27 diamètres des zones d'inhibitions vis-à-vis la souche fongique Fusarium oxysporum en fonction des trois concentrations d'extrait aqueux.....	60
Figure 28 diamètre des zones d'inhibition de la souche Fusarium oxysporum en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique.....	61

Liste des Tableaux

Tableau 1 Classification botanique de <i>Pistacia atlantica</i> Desf. (Yaaqobi et al ; 2009)	23
Tableau 2 utilisation médicinales du pistachier de l'Atlas à travers le monde.	28
Tableau 3 liste des principales classes de terpénoïdes, (Hopkins ,2003).....	31
Tableau 4 les principales classes d'alcaloïdes, (Hopkins ,2003).....	34
Tableau 5 Les principales classes de composés phénoliques dans les plantes (Thayumanavan et Sadasivam, 2003).....	37
Tableau 6 taux de rendement des trois extraits du pistachier de l'Atlas.....	55

Nomenclature

Lettres

CMI : Concentration minimale inhibitrice

$^{\circ}\text{C}$: Degré Celsius

% : Pourcentage

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

E. coli : Esherichia coli

EtOH : Éthanol

h : Heure

H₂O : Eau

Hcl : Acide chlorhydrique

MeOH : Méthanol

mg : Milligramme

ml : Millilitre

min : Minutes

mm : Millimètre

N° : Numéro

R : Vitesse de rotation

T_o : Température

UV : Ultraviolet

Introduction

Les plantes médicinales constituent depuis toujours une alternative idéale à travers leurs emplois dans plusieurs secteurs y compris le domaine médical et pharmaceutique. Ce sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. C'est-à-dire qu'elles sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales (Moreau, 2003, in Ghabrier, 2010). Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques. Elles renferment un ou plusieurs molécules capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Cette diversité de composés chimiques pourrait justifier leurs utilisations traditionnelles.

Selon les estimations de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 80 % de la population des pays en voie de développement ont recourt à la médecine traditionnelle pour leur besoins de santé, le plus souvent en raison du coût élevé des médicaments d'importation et de l'inaccessibilité géographique des médicaments. Ces plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (Sanogo, 2006).

Elles sont une source potentielle de molécules bioactives à savoir les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes, les coumarines, les flavonoïdes, les saponosides, les tanins, les triterpènes et les stéroïdes, qui sont à l'origine de plusieurs activités biologiques tels que l'activité anti-inflammatoire, antimicrobienne, antiseptique, diurétique et antioxydante (Haddouchi *et al* ; 2014, Ahmad and Beg, 2001)

L'Algérie de part sa situation géographique, constitue un cadre naturel original offrant une gamme complète de bioclimats méditerranéens et sahariens favorisant une potentialité importante en matière de plantes aromatiques et médicinales, Les extraits de

plantes étaient déjà connus et utilisés par les égyptiens, les perses et les grecs pour leurs propriétés aromatisants et médicinales.

C'est dans cette optique, que nous avons choisi *Pistacia atlantica desf* de la famille des Anacardiacees , une plantes médicinales qui est moins fréquemment employé dans notre pays à cause de l'ignorance de sa valeur nutritionnelle et médicale, Notre travail s'inscrit dans le cadre d'une contribution à une meilleure connaissance de cette plante médicinale de la région du Rechaiga-« TIARET » et l'étude de certaines activités biologiques des extraits ses feuilles.

Le présent mémoire se partage en quatre chapitres. Le premier concerne une synthèse Bibliographique sur le pistachier de l'atlas , le second correspond à la phytothérapie et les métabolites secondaire ,la présentation du matériel et des méthodes utilisés à fait l'objet du troisième chapitre et le dernier chapitre aborde les résultats et discussion .

Partie I: Synthèse bibliographique

Chapitre I: Généralités sur le pistachier d'Atlas

I. Le pistachier de l'Atlas

Le pistachier de l'Atlas appartient à la famille des Anacardiaceae, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces en Algérie, à savoir le lentisque, le térébinthe, le pistachier vrai et le pistachier de l'Atlas. Ce dernier est un arbre dioïque, les fleurs mâles et femelles se trouvent sur des pieds différents. En automne, le pistachier de l'Atlas commence à perdre ses feuilles pour se retrouver nu en hiver. Les feuilles commencent à réapparaître au printemps après l'apparition des fleurs. Sur le plan géographique, *Pistacia atlantica* occupe une aire disloquée. Cet arbre se rencontre depuis les Atlantide jusqu'à la Syrie en passant par les pays d'Afrique du Nord (Monjauze, 1968), à savoir le Maroc, l'Algérie, la Tunisie et la Libye. Son aire naturelle de distribution se trouve en Afrique de Nord, aux Iles Canaries, en Cyrénaïque (Libye), à Chypre et au Proche Orient (Quézel et Médail, 2003)

1. Description morphologique

Le genre *Pistacia* de la famille des Anacardiaceae, comprend de nombreuses espèces très répandues dans la région Méditerranéenne et Moyen-Orientale (Tutin et al ; 1968). Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.), communément appelé *El Betoum*, *Botma* en langue arabe ; est une espèce ligneuse et spontanée pouvant atteindre 10 m de haut. L'arbre possède un tronc individualisé et à frondaison hémisphérique (Quézel et Santa, 1963). Ses feuilles composées sont constituées de sept à neuf folioles, les fleurs sont en grappes lâches, les fruits, gros comme un pois, sont des drupes (Ozenda, 1983).

I. 2.1- Les feuille :

Elles sont composées, stipulées, à rachis finement ailé et à folioles lancéolées obtuses au sommet (Fennane et al. 2007). Les feuilles sont caduques et chutent en automne, elles sont de couleur vert pâle et sont imparipennées, glabres et sessiles (Yaaqobi et al. 2009).

Les feuilles sont composées, alternées, pennées, les Folioles sont en nombre impaire et ovales lancéolées, Glabres et avec un rachis finement ailé

(Lagha, 1993 et Baba Aissa, 2011).

Les rachis des feuilles sont parfois élargis et aplatis pour former une expansion ressemblant à une ailé (Belhadj, 2007). Elles sont caduques. En période où les températures sont les plus basses (Alyafi, 1979, Seigue, 1985).

De nombreux auteurs ont postulé la survenue de variations des feuilles sous différentes conditions écologiques et que les facteurs environnementaux peuvent induire des variations structurelles, provoquant une xeromorphie. Les caractéristiques anatomiques peuvent aussi être efficacement utilisées comme indicateur de la tolérance à la sécheresse (Martins et al ; 2003). Dans la sous-espèce *atlantica*, la nervure centrale se trouve couverte de poils ciliés, tandis que les nervures sont rarement ciliées (Belhadj et al ; 2007).



Figure 1 Feuillage du pistachier de l'Atlas (Rechaiga 2022)

1.1.3. L'inflorescence:

Le pistachier de l'Atlas a une inflorescence en grappe rameuse. La floraison qui apparaît juste avant la feuillaison débute la mi-mars (Yaaqobi et al ; 2009).

L'espèce *Bétoum* est dioïque, les fleurs sont petites en panicules axillaires et sont apétales. Ce sont des fleurs régulières avec une tendance à la zygomorphie (Yaaqobi et al ; 2009). Elles sont apétales et rougeâtres en grappes terminales pour les mâles axillaires pour les femelles, de 5 à 10 cm de haut (Lapie et Maige, 1924 ; Crète, 1965), elles sont réunies en grappes sur des pieds différents, unisexuées, dioïques (Ozenda, 1983).

- **Les fleurs mâles sont disposées en grappes terminales composées de 450 à 500 fleurs apétales. Chaque fleur possède un calice de 3 à 5 sépales, un androcée composé de 5 à 8 étamines opposées (Pesson et Louveaux, 1984).**
- **Les fleurs femelles sont réunies en grappes composées de 190 à 260 fleurs.**

Chaque fleur présente un très petit calice composé de 3 à 5 sépales entourant le gynécée formé de 3 carpelles soudés, et qui est surmonté de 3 styles libres et pourpres. L'ovule est unique (Benhassaini, 1998).



Figure 2 Fleurs mâles en chatons de Pistacia atlantica Desf. (YAHIA, 2011).

1.1.4. Les racines

Le pistachier de l'Atlas est une espèce xérophile, ses racines peuvent atteindre jusqu'à 5 à 6 m de profondeur, le pistachier de l'Atlas arrive à végéter sous une tranche pluviométrique Très faible, sa résistance aux conditions climatiques très difficiles peut être attribuée à la vigueur de son système racinaire (Ait Radi ,1979 in Kaourad, 1987).

Avec l'âge, ce pivot disparaît et laisse les racines secondaires s'organiser selon la texture du sol. Si celui-ci est Sableux, donc potentiellement moins humide et moins compact, quelques racines s'enfoncent vers des profondeurs plus humides et d'autres, se ramifient en surface pour exploiter les opportunités hydrominérales. S'il est limoneux, donc potentiellement plus humide et plus compact, ces racines tendent à développer un réseau horizontal peu profond. Avec l'âge, chez les plus vieux adultes, même en sol limoneux peuvent s'enfoncer des racines puissantes vers les profondeurs à la recherche d'humidité et d'ancrage (Belharet et Rekkeb, 2004).

1.1.5. Les graine

La graine de *Pistacia Atlantica* est riche en nutriments et en sels minéraux (Larouci-Rouibat, 1987). Les graines sont séchées, moulues et mélangées avec de l'eau sucrée pour en fabriquer de petites galettes. Les graines sont aussi consommées séchées comme des « amendons » puisqu'elles sont aromatisées (Belhadj, 2001)

Les graines trouvent un milieu favorable pour germer et croître dans les fissures (Kadik, 1983). La maturité de graine coïncide avec la fin d'été (c'est-à-dire août-septembre). (Khaldi et Khouja, 1995).

1.1.6. Le fruit

Le fruit est une drupe, dont le nom vernaculaire est "Khodiri ". Il est consommé par les

habitants (Belhadj et *al.* 2008). La fructification débute vers la fin du mois de mars et les fruits atteignent leur maturité au mois de septembre (Yaaqobi et *al.* ; 2009).



Figure 3 Fruits du pistachier de l'Atlas (Rechaiga 2022)

2. Systématique du Pistachier de l'Atlas

La plus récente phylogénie du *Pistacia atlantica* Desf. Subsp. *atlantica* selon (APG II, 2003 ; Thorne et Reveal, 2007) est présentée ci-dessous (Tableau 1) :

Tableau 1 Classification botanique de *Pistacia atlantica* Desf. (Yaaqobi et al ; 2009)

Règne	Plantae
Embranchement	Tracheobionta
Super-division	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia atlantica</i>

1.3. Ecologie et aire de répartition

D'après Zohary (1952,1987) et Quézel et Médail (2003), cette espèce est commune de deux régions ; méditerranéenne et irano-touranienne. Cependant, Manjauze (1980) et Ozenda (1983) la qualifie d'endémique de l'Afrique du nord (Belhadj et al ; 2008). Elle est tolérante pour plusieurs types du sol incluant les alcalines. Elle se contente d'une faible pluviométrie de l'ordre de 150 mm et parfois moins (Benhssaini et Belkhodja, 2004).

1.3.1. Caractères écologiques :

Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*) est une espèce ligneuse et spontanée endémique d'Afrique du nord ,spontanée, rustique et très répandue dans le sud algérien présente une plasticité écologique très large allant des régions sub-humi des jusqu'au Sahara Central Algérien, Il peut vivre plusieurs siècles en s'adaptant parfaitement aux conditions édaphiques et climatiques contraignantes de son habitats :

1.3.2. Edaphique

Selon les spécialistes, le pistachier de l'Atlas est particulièrement résistant à la sécheresse et à la salinité des sols. C'est une espèce endémique des régions arides et semi-arides et peut même survivre en montagne et dans certaines terres dites marginales, sa résistance à la sécheresse, au froid et à la salinité de sol et sa résistance au calcaire mettent sa grande faculté d'adaptation aux régions sèches, C'est un arbre qui pousse dans tous types de sol, il supporte la sécheresse et le froid hivernal (oukara.al)

1.3.3. Température

Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*) est une espèce héliophile qui présente une grande amplitude bioclimatique thermique allant d'une température très basse de l'ordre de 5°C à -12°C Jusqu'à a une température très élevée de 49°C à 52°C. (Pesson et Louveaux ,1984)

1.3.4. Pluviométrie

Le pistachier de l'Atlas est un arbre d'une grande plasticité vis-à-vis de la Sécheresse, - Son adaptation reste exceptionnelle pour des grandes variations climatiques : Hiver froid, été sec et chaud

D'après Morsli (1992), *Pistacia atlantica* Desf. Bénéficie d'une pluviométrie Maximale de l'ordre de 1000mm au niveau de sa limite septentrionale à l'ouest d'Alger, et 70mm dans la région de Ghardaïa (Sahli, 1997).

1.4. Répartition :**1.4.1. Répartition au monde**

Le pistachier de l'Atlas apparait comme une espèce dont l'aire de répartition est limitée à la partie Sud du bassin méditerranéen avec une petite partie au niveau des Iles Canaris ; il est largement répartie au sud de la méditerranée et au moyen orient, *Pistacia atlantica* est présent dans la partie sud de la Grèce, la partie ouest et sud de la Turquie. il est signalé également en Palestine, Jordanie, Syrie Tunisie, Lybie et égypt. (alyafi, 1979)

Le pistachier de l'atlas est associé dans le proche onent à *Quercus ithaburensis*, en Afrique du nord à *Zizyphus lotus* (Seigle 1985)

Somon (1987), note que le pistachier de l'Atlas est un arbre originaire du Nord de l'Afrique. Certains auteurs sont unanimes sur le fait que le Betoum est un élément endémique du Nord- algérien et marocain (Quezel et Santa, 1963 ; Ozenda, 1991).

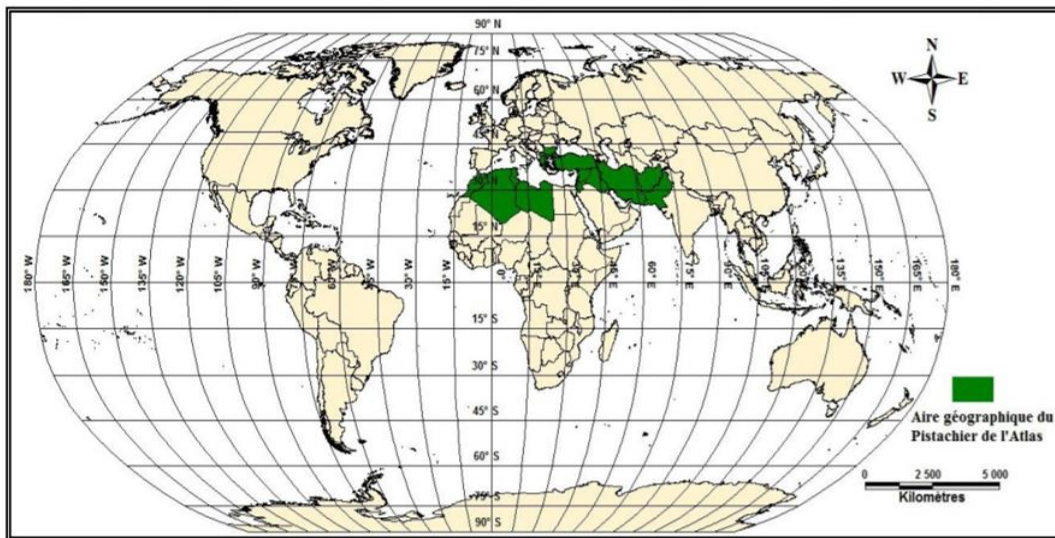


Figure 4 Distribution géographique de *pistacia atlantica* dans le monde (Yahia 2011)

1.4.2. En Algérie :

Cet arbre paraît présenter une grande aire de répartition géographique, il se rencontre en petit peuplement dans les hauts plateaux au niveau des dayas, il existe aussi dans le sud algérien au niveau des régions arides et semi- arides et dans les régions présahariennes et sahariennes (Ozenda ,1991)

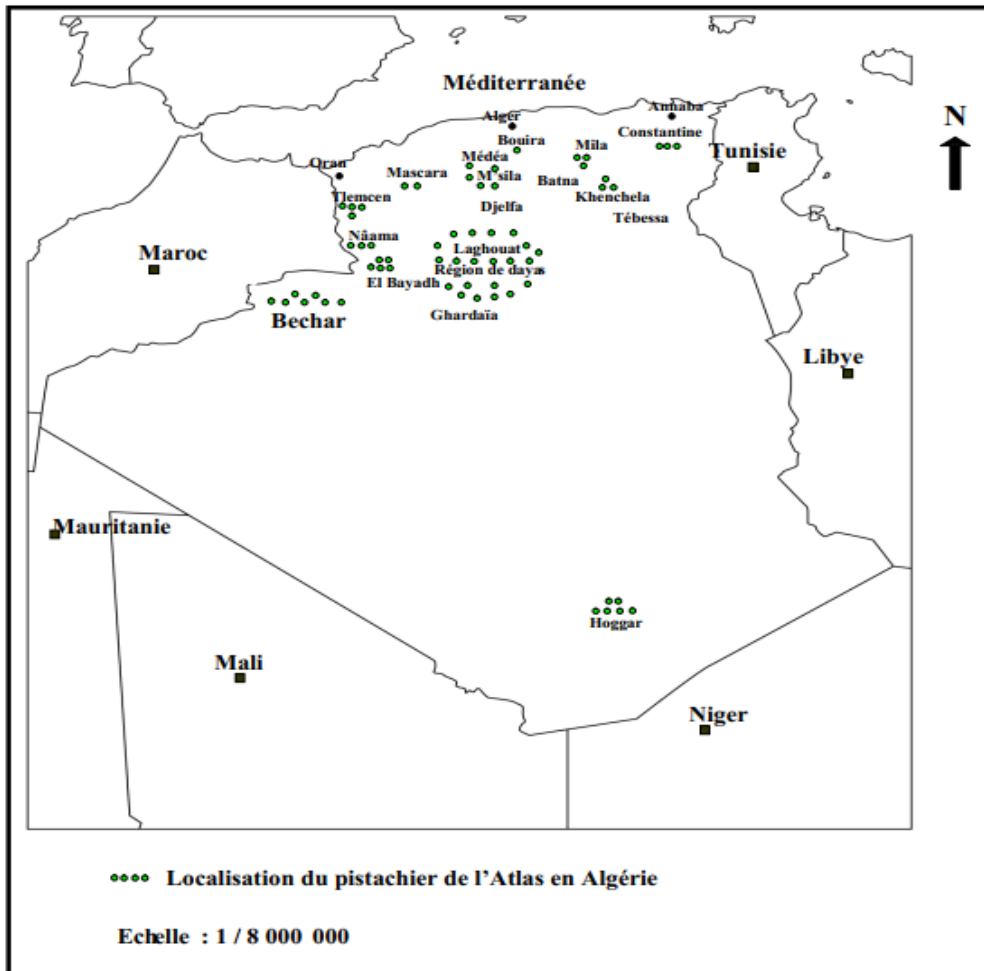


Figure 5 Répartition du pistachier de l'Atlas en Algérie d'après Monjauze (1980)
modifié par (Kebci, 2008).

1.5. Importance socio-économique et utilisations

Plusieurs auteurs (Daget et Godron, 1974 ; Monjauze, 1980 ; Belhadj, 2001 ; Benhassaini, 2003 ; El Oualidi *et al* ; 2004) qualifient *Pistacia atlantica* Desf., comme espèce précieuse, en raison de ses diverses utilisations.

1.5.1. L'importance économique

Sur le plan économique, le pistachier de l'Atlas présente des qualités très appréciées par les populations locales :

- ✓ Le système racinaire du pistachier de l'Atlas est très vigoureux. C'est pour cette raison qu'il constitue un excellent porte-greffe pour le Pistachier vrai (*Pistaci vera*).

- ✓ Le bois est utilisé pour produire du charbon et les cendres sont utilisées pour fabriquer du savon (savon de *Taza*). Le bois du *Bétoum* sert comme mâts de tentes et de charrues. Il est, aussi, utilisé pour le chauffage dans les zones reculées.
- ✓ Les feuilles et leurs galles sont utilisées pour le tannage ;
- ✓ Le suc desséché, retiré du tronc, est utilisé comme encre ("*Smagh*").

1.5.2. L'importance alimentaire

Les produits et sous-produits du pistachier de l'Atlas connaissent diverses utilisations alimentaires :

- ✓ Le fruit, écrasé et mélange aux dattes, est comestible. Il fut énormément consommé dans les périodes de disette, dans le passé ;
- ✓ L'huile, extraite des amandes, est utilisée en cuisine. Elle est souvent mélangée aux dattes écrasées et consommée, à toute heure de la journée, avec du petit lait. Cette huile, très appréciée dans la région, possède un goût comparable à celui du beurre ;
- ✓ Les graines sont utilisées, comme aliment, par la population locale. Séchées, écrasées ou moulues, les graines sont consommées en boulettes avec de l'eau sucrée ou bien séchées et croquées, telles qu'elles, comme les cacahuètes.

✓ Selon l'étude menée par Benhassaini (2007), les graines du *Pistacia Atlantica* Desf. Présentent un taux considérable de protéines et de glucides. De plus, elles fournissent une excellente huile alimentaire ; avec un taux de l'ordre de 40%

1.5.3. L'importance en médecine traditionnelle

L'utilisation médicale de différentes parties de l'espèce *Pistacia atlantica*, provenant de différentes régions. Le tableau ci-dessous résume ces utilisations.

Tableau 2 utilisation médicinales du pistachier de l'Atlas à travers le monde.

Pays	Utilisation
Algérie	Fruits : Maux d'estomac, la toux, le stress, tonique, et anti-diarrhéique (Yousfi <i>et al</i> ; 2002; Mecherara-Idjeri <i>et al</i> ; 2008)
Grèce	Fruits Arôme de bouche, bronzage, et comme fourrage (Tzakou <i>et al</i> ; 2007)
Iran	Résine, écorce : Douleurs articulaires, maux de dents, la cicatrisation des plaies (Mosaddegh <i>et al</i> ; 2012)
Jordanie	Fruits Maux d'estomac (Lev et Amar, 2002) Feuilles Antidiabétique (Hamdan et Afifi, 2004)
Maroc	Feuilles Infection des yeux (El-Hilaly <i>et al</i> ; 2003) Résine Renfort le tissu, le souffle, désodorisant, toux, froid, et les maladies de l'estomac (Barrero <i>et al</i> ; 2005)
Turquie	

Chapitre II : Métabolites secondaires

II. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante.

Ils sont synthétisés par la plante en réaction à des stimuli extérieurs et ont souvent une fonction régulatrice dans le cadre d'une série de réactions physiologiques et métaboliques en cascade à la suite d'un stress environnemental ou d'une attaque par des ravageurs. Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont d'une grande variété structurale (plus de 200000 structures définies). Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (Brandt et Colt, 2001; Charles, 2005).

Les métabolites secondaires se trouvent dans toutes les parties des plantes mais ils sont distribués selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à l'autre (Merghem, 2009).

Ils peuvent être divisés principalement en trois grandes familles : les terpènes, les composés phénoliques et les composés azotés.

1. Fonction des métabolites secondaire

Beaucoup de composés secondaires sont toxiques, ils sont alors stockés dans des vésicules spécifiques ou dans la vacuole. On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties des plantes, mais ils sont distribués différemment selon leur rôle défensif, cette distribution varie d'une plante à l'autre.

- Ils ont des fonctions très différentes qu'on peut résumer dans les points suivants
- Protections de l'attaque des pathogènes. Ils inhibent les attaques des bactéries et des champignons ou des herbivores (menthe par exemple) (action anti-herbivores).
- Attraction des pollinisateurs.
- Ils peuvent se comporter comme des réducteurs de la digestibilité.
- Ils interviennent dans la structure des plantes (lignines et tannins).
- Ils sont des molécules très utiles pour l'homme comme colorant, arômes, antibiotiques, herbicides, drogues etc.

Ils participent à des réponses allopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et croissance) (Raven et al ; 2007).

2. Types et origines des métabolites secondaires

On peut identifier trois grandes familles des métabolites secondaires

- ✓ Les Terpènes
- ✓ Les Alcaloïdes
- ✓ Les composés phénoliques

a. Les terpènes

Définition

Les terpènes sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbone (Hopkins, 2003).

Caractérisation

Elaborés à partir des mêmes précurseurs, les terpénoïdes et les stéroïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux, la très grande majorité des terpènes sont spécifiques du règne végétale mais on peut les rencontrer chez les animaux (Bruneton, 1993). Les terpènes peuvent être considérés comme des dérivés de l'isoprène : ce sont des isoprénoïdes (Guignard, 2000).

La famille des terpènes comprend des hormones (gibbérellines et acide abscissique), des pigments caroténoïdes (carotène et xanthophylle) des stérols (ergostérol, cholestérol), des dérivés de stérols (par exemple des hétérosides digitaliques), le latex (qui est à la base du caoutchouc naturel), ainsi qu'une grande partie des huiles essentielles qui confèrent aux plantes leur parfum ou leur goût (Hopkins, 2003).

Classifications des terpénoïdes

Ils sont distingués dans différentes classes selon le nombre d'unités isopréniques qu'ils contiennent.

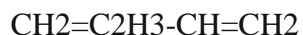
Tableau 3 liste des principales classes de terpénoïdes, (Hopkins, 2003).

Nombre de carbone	Classe	Exemple
5	Hemiterpenoïde	Acide sialique (geranium)

10	Monoterpenoïde	Géranol (pelargonium)
10	Monoterpenoïde cyclique	Menthol (essence de Menthe)
15	Sesquiterpenoïde	Farnésol (très répandu)
20	Diterpenoïde	Phytol (chlorophylle)
30	Triterpenoïde	Squalène (précurseur de stéroïde)
30	Triterpenoïde	Stigmastérol
40	Tetraterpenoïde	B_carotène

2.2.1.4. La Biosynthèse des terpènes

Malgré leur diversité, tous les terpènes ainsi que leurs dérivés, possèdent en commun une voie de biosynthèse appelée de par l'intervention d'un intermédiaire clé, voie de l'acide mévalonique. Les composés et les dérivés terpéniques peuvent être considérés en tant que polymères du 5carbone 2 -méthyle-1 ,3butadiène ou isoprène.



Par conséquent les composés terpéniques sont souvent désignés par le terme de composés isopréniques. En fait les unités qui constituent les composés terpéniques ne sont cependant pas de vrais isoprènes, mais deux dérivés phosphorylés appelés : isopentenyl-diphosphate ou « isoprène actif » et sont isomère : diméthyl-allyl-diphosphate

La biosynthèse des composés terpéniques débute à l'acétyl-coenzymeA (acétylCOA).

Un intermédiaire du catabolisme respiratoire des glucides et des acides gras. Trois molécules d'acétyl-COA se condensent lors d'une réaction en deux temps pour former le : 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-COA (HMG-COA), qui est par la suite transformé en acide mévalonique (MVA).

De nombreux composés et dérivés terpéniques peuvent être considérés comme métabolites primaires. Des hormones ; l'acide abscissique et les gibbérélines, les pigments caroténoïdes et chlorophylliens, ainsi que le stérol joue tout un rôle important dans la croissance et le développement des plantes. Cependant la grande majorité des composés terpéniques sont des métabolites secondaires et semblent agir comme toxines ou comme agents de dissuasion vis-à-vis des insectes herbivores (Hopkins, 2003).

*b. Les alcaloïdes***Définition**

Les alcaloïdes forment une grande famille très hétérogène de métabolites secondaires qui présentent un intérêt de par leurs propriétés pharmacologiques et leurs applications en médecine.

Caractérisation

Les alcaloïdes sont solubles dans l'eau. Caractérisés par la présence d'au moins un atome d'azote activité qui accepte souvent un proton ce qui leur confère un caractère légèrement basique en solution. Dans leur grande majorité, les alcaloïdes sont hétérocycliques, bien que quelques composés azotés aliphatiques comme la mescaline et la colchicine soient parfois classés dans les alcaloïdes, globalement il est recensé quelque 10.000 alcaloïdes dans à peu près de 20% des plantes à fleurs essentiellement des dicotylédones herbacées.

Le rôle biologique des alcaloïdes est essentiellement celui de phogodétendants : leur amertume et leur toxicité repoussent les herbivores (Guignard, 2000).

Classification des alcaloïdes

Les principes classes d'alcaloïdes sont cité dans le tableau 4.

Tableau 4 les principales classes d'alcaloïdes, (Hopkins ,2003)

Classe d'alcaloïdes	Exemple	Autre composés
Quinoléine	Quinine	
Isoquinoléine	Papavérine	Morphine, codéine, berbérine
Indol	Vindoline	Vinbalastine, réseprine, strychnine
Purrolizidine	Sénécionine	Rétrosine
Quinolizidine	Lapirine	Cytizine

La biosynthèse des alcaloïdes

Le précurseur pour les alcaloïdes vrais est un acide aminé : ornithine, lysine, phénylalanine, tyrosine, tryptophane, histidine, acide anthranilique. La formation du système hétérocyclique passe généralement par un processus inter-ou intramoléculaire simple: formation d'une base de Schiffer ou, fréquemment réaction de Mannich, on remarquera que la formation de l'alcaloïde peut nécessiter l'intervention d'une seule molécule d'acide aminé (hygrine, cathine) du même acide aminé (quinolizidines, benzyloquinoléines), plus rarement de deux acides aminés différents (tubulosine) ou de plusieurs molécules identiques (spartéine). Quand la molécule comporte des carbones supplémentaires, ils sont apportés par des éléments largement impliqués dans d'autres métabolismes ; acétate (tropane), diméthylallylpyrophosphate (ergolines, furoquinoléines), ou plus spécifique à un groupe particulier de végétaux comme le sécolanoside (alcaloïdes, indolo-monoterpénique). Oxydation allylique, couplages oxydatifs, oxydation des noyaux aromatiques, estérification, étherification,...etc, justifient l'existence des nombreuses variations structurales, dans le cas particulier des alcaloïdes terpéniques, les précurseurs ont une origine strictement terpénique et l'amination de la molécule est tardive (Bruneton, 1993)

c. Les composés phénoliques

Définition

Les composés phénoliques sont des substances présentes dans tous les végétaux et dans tous les organes de la plante, ils possèdent un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (Naczki et Shahidi, 2003 ; Barboni, 2006 ; Sun *et al* ; 2011). Leur présence dans les tissus animaux est généralement due à l'ingestion d'aliments d'origine végétale (Naczki et Shahidi, 2003).

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans la structure et la protection des plantes (Naczki et Shahidi, 2003 ; Stalikas, 2007). Ils offrent également, pour la santé humaine, une protection contre certaines maladies impliquant un stress oxydatif, comme les cancers et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Sun *et al*. 2011). Ces composés contiennent exclusivement du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène, il en dérive de nombreux composés souvent très différents par leur configuration et leur propriété (Gerhard, 1993).

Les propriétés pharmacologiques des polyphénols

Les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussés en raison de leurs diverses propriétés biologiques comme les activités anti-oxydante, antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, Antifongique, hépato protective, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardio protective et vasodilatatoire (Middleton *et al* ; 2000 ; Ksouri *et al* ; 2007).

Biosynthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques des végétaux sont biosynthétisés par trois voies différentes (Thayumanavan et Sadasivam, 2003) : voie Shikimique, voie Acétate-Malonate ou voie des polycétides et voie acétate Mevalonate.

-Voie de l'acide shikimique

La biosynthèse de nombreuses molécules phénoliques débute au niveau des acides aminés aromatiques, phénylalanine, tyrosine et tryptophane, ces acides aminés aromatiques sont quant à eux synthétisés à partir du phosphoénolpyruvate et de l'érythrose-4-phosphate au cours d'une succession de réactions appelée: voie de l'acide shikimique. Cette voie est commune aux champignons et aux plantes, mais est absente chez les animaux. La phénylalanine et le tryptophane font donc partie des dix acides

aminés qui sont considérés comme étant des composés aromatiques (Voet et Voet, 1990 cité par Hopkins, 2003)

- Voie acétate

Il existe deux voies :

- Voie acétate-malonate

Les systèmes aromatiques sont aussi formés par condensation répétée d'unités acétate. L'hypothèse initiale de la voie acétate a surtout été confirmée chez les micro-organismes ; elle est l'origine d'un large éventail de composés aromatiques. L'autre dénomination «voie acétate-malonate» rappelle que c'est la malonyl-CoA qui fournit, par décarboxylation, les unités en C2 pour allonger le complexe acyl-CoA, comme dans la synthèse des acides gras, et ceci en trois étapes successives.

L'acide polycétonique formé se referme en un cycle portant une chaîne latérale. Le cycle A de la structure flavane est construit sur ce principe; il est ensuite complété, à l'aide de dérivés de l'acide cinnamique, par un hétérocycle central, puis par un second cycle aromatique.

Ainsi, les deux voies responsables de la biosynthèse des composés phénoliques se rejoignent, formant un nœud important dans le réseau du métabolisme secondaire des plantes supérieures (Gerhard, 1993).

✓ Voie acétate-mévalonate

La troisième voie possible, « la voie acétate-mévalonate » nous est déjà familière de par la synthèse des monoterpènes cycliques. Ces derniers acquièrent un caractère aromatique par déshydrogénation. Dans l'ensemble, cette voie est peu utilisée chez les plantes supérieures (Gerhard, 1993).

Classification

Il existe environ 8000 composés phénoliques. Selon le nombre d'unités phénoliques présents, on les appelle indifféremment composés phénoliques ou polyphénols, qui comprennent essentiellement les phénols simples, les acides phénoliques, les stilbènes,

les flavonoïdes, les tanins hydrolysables et condensés, les coumarines, les lignanes, les lignines et les xanthones (Hennebelle et *al* ; 2004). Les composés phénoliques peuvent être classés selon :

✓ Le nombre de carbones qui le constitués

✓ La structure de base du phénol (Hurtado-Fernandez et *al* ; 2010) (Figure01).

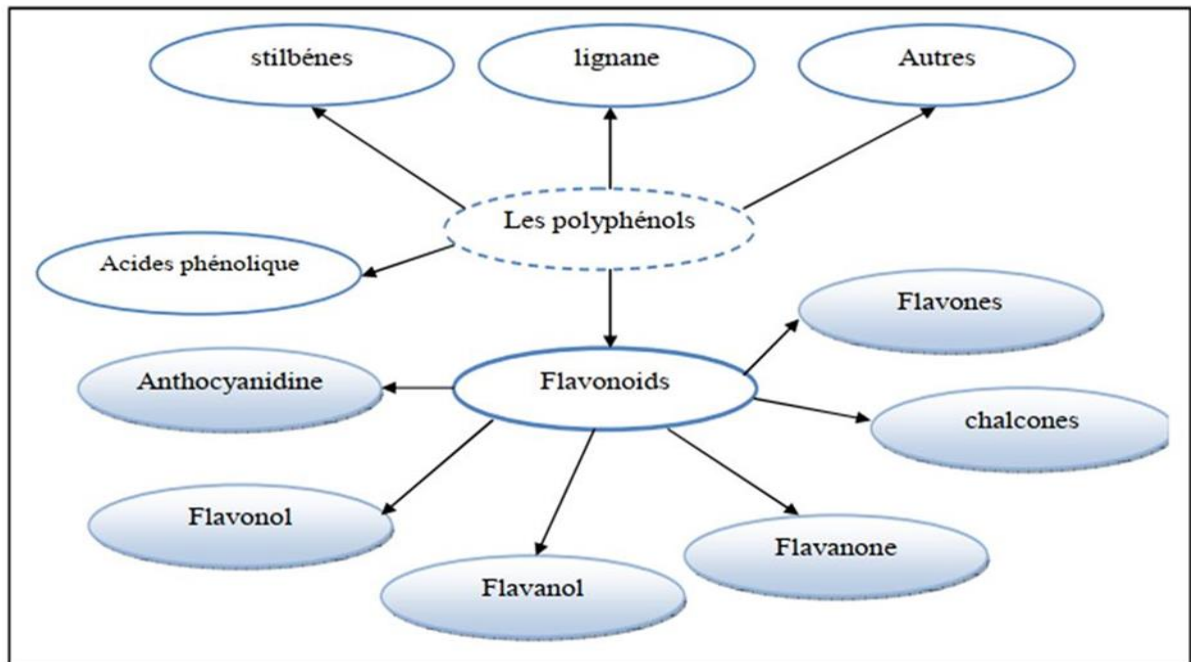


Figure 6 Principales Classes des polyphénols (Boros et *al* ; 2010).

Les principales classes de ces composés sont représentées dans le tableau 5

Tableau 5 Les principales classes de composés phénoliques dans les plantes (Thayumanavan et Sadasivam, 2003)

Les classes	n de carbones	squelette de base de carbone	exemples
-------------	---------------	------------------------------	----------

1- phénols simples	6	C6	le catechol, l'hydroquinone phloroglucinol
2- acétophénonnes Phénylacétique	8	C6-C2	4- hydroxyacétophénone p- hydroxyphénylacétate caféique, férulique
3- hydroxycinnamates Isocoumarines Chromons	9 9 9	C6-C4 C6- C3 C6-C3	umbelliferone aesculéine bergénine eugenin
4-hydroxybenzoates	7	C6-C1	salicylique, gallique
5-Naphtoquinones	10	C6-C3	juglone, plumbagine
6-xanthonnes	13	C6-C1- C6	mangiférine
7-stilbènes anthraquinones	14 14	C6- C2-- C6 C6- C2-- C6	resvératrol émodyne
8-flavonoïdes isoflavonoïdes	15 15	C6-C3- C6 C6- C3- C6	cyanidin génistéine
9-lignanes	18	(C6-C 3)2	pinorésinol
10-bioflavonoïdes	30	(C6-C 3- C6)2	amentoflavone
11-11-hydrolysable tanins	n	(C6-C 1)n : GLc	gallotannins
12-tanins condensés	n	(C6-C 3- C6)n	les polymères de catéchine
13-lignines	n	(C6-C 3)n	lignines guaiacyle
14- mélanines catéchol	(C6) n		

2.2.3.4.1. Les stilbènes

Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (Crozier et *al* ;2006).

$R_3=R_5=R_4'=OH, R_3'=H$ Trans resvératrol

$R_3=R_5 = OH, R_3'=R_4'= H$ Pinosylvine

$R_3=R_5=R_3'=R_4'=OH$ Picéatannol

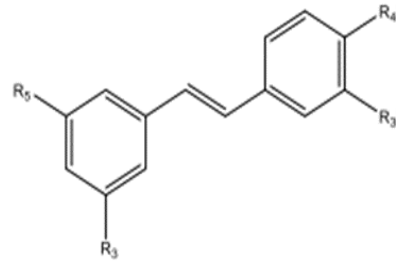


Figure 7 Structure chimique des stilbènes (Parage, 2013)

2.2.3.4.2. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols constituants d'organes végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits. Ils sont caractérisés par leurs poids moléculaires élevés, leurs capacités à

s'associer aux glucides, aux protéines, et aux enzymes digestives des complexes insolubles réduisant ainsi la digestibilité des aliments (Remesy *et al* ; 1996 ; Bruneton, 1999).

* Les tanins hydrolysables

Ce sont des esters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol. Le sucre est très généralement le glucose et l'acide phénolique est

soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques soit l'acide hexahydroxy-diphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation (déhydro-hexahydroxydiphénique = DHHDP) ; acide chébulique... dans le cas des tanins classiquement (mais improprement) dénommés tanins ellagiques (Bruneton., 1993)

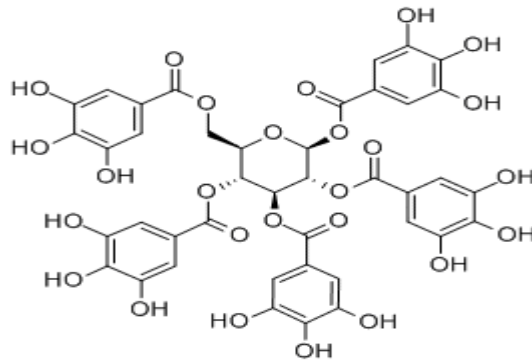


Figure 8 Structure chimique des tanins hydrolysables
(Peronny, 2005).

* Tanins condensés

Les tanins condensés ou proanthocyanidols sont des polymères flavaniques. Ils sont constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone le plus souvent 4—8 ou 4—6.

Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères compris (Bruneton, 1993).

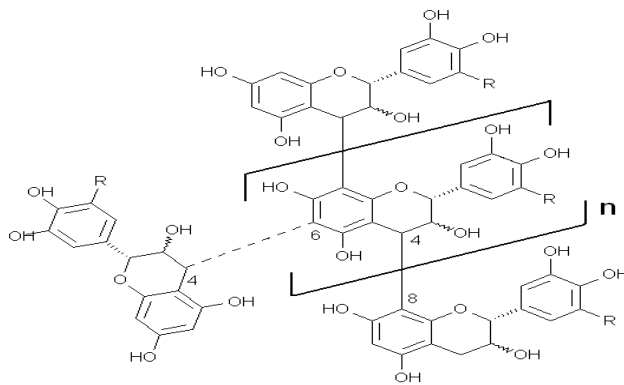


Figure 9 Structure chimique de tanins condensés (Schofield et al. 2001).

2.2.3.4.2. Les coumarines

Les coumarines sont issues du métabolisme de la phénylalanine via l'acide shikimique par estérification et cyclisation, se formant par une substitution sur un cycle aromatique analogue à celle des dérivés de l'acide cinnamique. Presque toutes les coumarines sont substituées par un hydroxyle en position C7 (kumar et al ; 2015).

R1=R3=H, R2=OH ombelliférone

R1=R3=H, R2=OCH3 herniarine

R1=R2= OH, R3=H esculétol

R1=OCH3, R2=OH, R3=H
scopolétol

R1=OCH3, R2=OH=R3 fraxéto

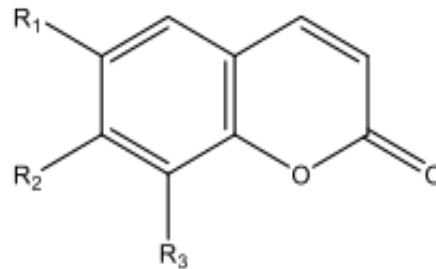


Figure 10 Structure de base des coumarines
(Marouf et Reynaud ,2007)

2.2.3.4.3. Les lignines

La lignine est formée par la polymérisation d'unités phényl-propane (C6-C3) dont les trois plus importants sont les alcools coumarylique, coniférylique et sinapylique. La nature de la lignine varie avec l'espèce botanique, et pour une même espèce avec l'âge du végétal et le lieu où il s'est développé.

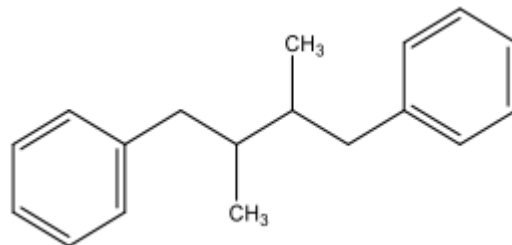


Figure 11 Structure chimique des lignines (Jost et Jost-Tse, 2016)

2.2.3.4.4 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes désignent une très large gamme de composés naturels appartenant aux polyphénols, environ 4000 flavonoïdes ont été décrits (Bennick, 2002).

Leur dénomination vient du latin « flavus » qui désigne la couleur jaune, ce groupe très important et très étendu comprend des composés de couleur jaune, mais aussi de couleurs variées ou même incolores (Cooray et al ; 2004)

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois. Certains flavonoïdes sont plus spécifiques de certains tissus (Bruneton, 1993)

L'origine biosynthétique des flavonoïdes est l'enchaînement 2-phénylchromane qui est aussi l'élément structural de base de tous les flavonoïdes (Bruneton, 1993 ; Nacoulma, 1996)

Les flavonoïdes représentent un groupe de polyphénols complexes dont leurs structures présentent un squelette de 15 atomes de carbone, la structure de base est sous forme de C₆-C₃-C₆, (Milane, 2004) constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C₃ en formant ainsi l'hétérocycle (C) (Erdman et al., 2007).

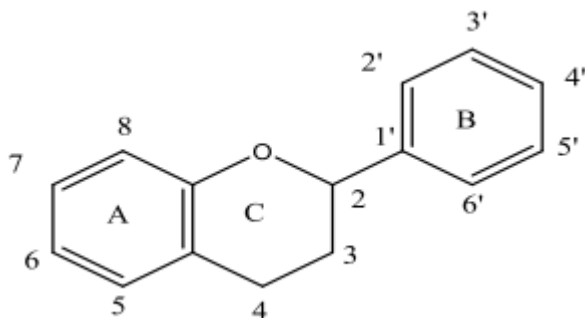


Figure 12 Structure de base des flavonoïdes (Krishna et al ; 2001)

Partie II : Expérimentation

Chapitre III : Matériels et méthodes

I. Matériel et méthodes

L'ensemble de ce travail a été effectué au laboratoire de l'université Ibn khaldoun – Tiaret « laboratoire de microbiologie et laboratoire de biotechnologie »

3.1. Objectif

-Notre travail consiste à valoriser une espèce endémique d l'Algérie par la détermination du pouvoir antibiotique et antifongique de ses extraits végétaux, il s'agit du pistachier de l'Atlas, la récolte des feuilles s'est effectuée au niveau de la localité de Rechaiga: wilaya de Tiaret durant le mois de mai 2022

II. Présentation de la région de prélèvement :

3.2.1 Emplacement géographique

La région où nous avons effectué le prélèvement se situe au niveau du foret domanial de Rechaiga « canton Elhouassi » dans wilaya de Tiaret. Celle-ci se trouve à 300 km au sud-ouest de la capitale Alger.



Figure 13 Emplacement géographique de la région de prélèvement (se situe à Rechaiga dans wilaya de Tiaret)

3.3. Matériel végétal

Les feuilles de pistachier d'Atlas sont récoltées selon un échantillonnage subjectif le mois de mai 2022, dans la région de Rechaiga la wilaya de Tiaret. Nettoyer puis séché dans l'aire libre et à une température ambiante pendant 10 jours une fois séchées sont conserver dans des sacs en papier, elles ont été broyé à l'aide d'un moulin jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine.

3.4. Préparation des extraits secs

Cette opération est faite au niveau du laboratoire de biotechnologie de la faculté SNV de l'université IBN KHALDOUN pour le but de préparer trois extraits : aqueux, méthanoliques, éthanolique.

La méthode d'extraction suivi du notre étude est l'extraction par macération et décoction effectué

selon le protocole de Chiang et al ; (1994), avec quelque modification. Le principe de cette méthode est basé sur l'extraction sélective liquide-solide des composés phénolique et aqueux en utilisant 3 solvants : éthanol, méthanol, l'eau distillé.

3.4.1. Extraits aqueux

30g de matériel végétal ont été portés à reflux pendant 30 minutes dans 300ml d'eau distillée, après refroidissement la solution a été filtré à l'aide du papier filtre. L'opération été répété deux fois. Le filtrat été mis dans une étuve à 60°C jusqu'à évaporation de l'eau. L'extrait sec obtenu est caractérisé par un aspect solide ce dernier a été conservé à une température de 4°C.



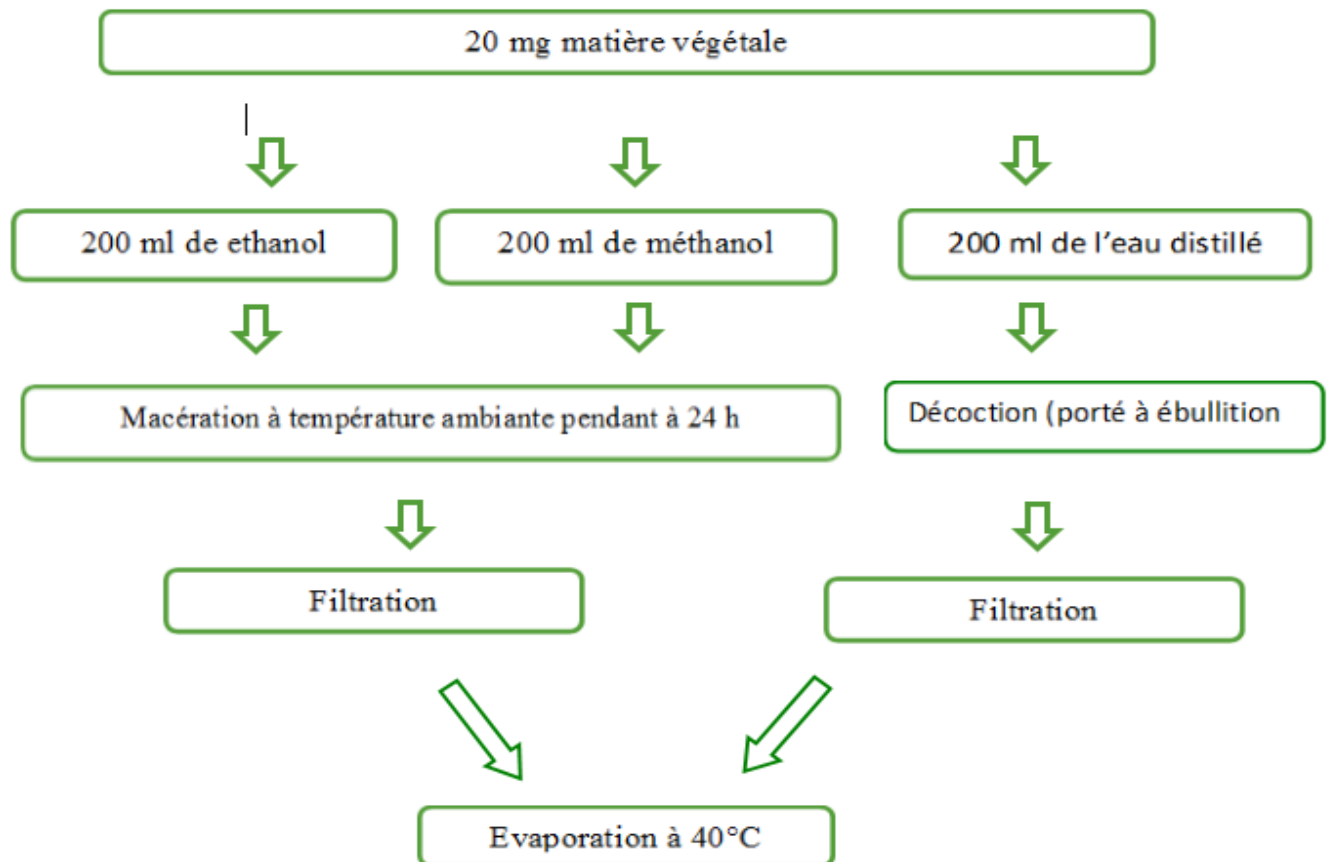
3.4.3. Extrait méthanolique:

Une prise d'essai de 20 g de la matière végétale (la poudre fine des feuilles du pistachier de l'Atlas) a été mise à macérer dans 200ml de méthanol (140 ml méthanol/ 60 ml eau distillée) avec agitation pendant 24H à température ambiante. Après filtration du mélange, l'extrait a été évaporé à sec (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

3.4.3. Extrait éthanolique :

Une prise d'essai de 20 g de la matière végétale a été mise à macérer dans 200ml de l'éthanol (140 ml méthanol/ 60 ml eau distillée)

Figure 14 preparation d'extrait aqueux



avec agitation pendant 24H à température ambiante. Après filtration du mélange, l'extrait

a été évaporé à sec (Bougandoura et Bendimerad, 2012). Les filtres sont recombines dans un cristalliseur en verre et ont été mise à sécher dans une étuve à 60° c Jusqu'à l'obtention d'un extrait sec.

3.4.3. Détermination du rendement

Calcul des rendements des extractions : Le rendement est la quantité d'extrait obtenue à partir d'une matière végétale (Bssaibis et *al.* 2009 ; Dinzedi, 2015). Il est exprimé en pourcentage par rapport à la matière sèche (poudre végétale). Il a été calculé selon la formule :

$$R (\%) = M1 \times 100/M0$$

R : Rendement de l'extrait exprimé en pourcentage (%),

M1 : Masse de l'extrait (en g),

M0 : Masse de poudre végétale (en g).

3.5. Etude de l'activité antibactérien

L'expérimentation est réalisée au sein du laboratoire de Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie l'université Ibn khaldoun –Tiaret L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion à partir d'un disque

3.5.1. Souches bactériennes :

Pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de pistachier Atlantica on a utilise deux souches :

•Staphylococcus aureus

Figure 15 La méthode d'extraction et préparation des extraits.

•Escherichia coli

Ces souches nous ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université Ibn khaldoun –Tiaret



Figure 16 Souches bactériennes : *Staphylococcus aureus* / *Escherichia coli*

3.5.2. Conservation des souches

3.5.2.1. Les milieux de culture

Les milieux de cultures utilisés dans l'activité antibactérienne sont :

- La gélose nutritive pour préparer des cultures jeunes de 24 h.
- La gélose Muller Hinton pour les tests antibactérienne.



Figure 17 Les milieux de culture utilisés

3.5.2.2. Préparation des cultures jeunes

Quelques colonies bien isolées des cultures pures est prélevée à l'aide d'une pipette pasteur ont été mises dans 10ml d'eau physiologique stérile à 0,9% de (Na Cl). La suspension bactérienne a été bien homogénéisée et standardisée, puis à partir de cette suspension nous avons ensemencé les souches bactériennes sur des boîtes de pétrie

coli par la gélose nutritive puis incubé à 37C° pendant 24 h afin d'avoir des cultures jeunes.

3.5.2.3. Préparation des milieux de culture

✓ Gélose Mueller Hinton(MH) : milieu de l'activité antibactérienne

La gélose de Mueller Hinton stérile préalablement fondue au bain marie à 50°C puis refroidie, a été coulée et répartie uniformément dans des boîtes de pétrie stériles. On les laisse solidifier pendant 20min à proximité du bec benzen



Figure 18 Préparation des milieux de culture Gélose Mueller Hinton(MH)

3.5.2.4. Préparation des dilutions

Nous avons testé l'activité antibactérienne des extraits méthanoïques, éthanoïques, et aqueux. Qu'on a préparés à partir des feuilles de notre plante.

Une gamme de concentration a été préparée à partir de l'extrait méthanolique brut de concentration de 0,1g/ml selon la méthode de dilution de deux en deux (1/2, 1/4, 1/6,) dans les trois tubes à essai que nous avons nommé de 20% jusqu'à 60%,



Figure 19 Solubilisation des extraits secs et préparation des extraits

3.5.3. Evaluation de l'activité antibactérienne

Dans les boîtes de Mueller Hinton refroidies, nous avons ensemencé des boîtes par la souche bactérienne *Escherichia coli* et d'autres boîtes par *Staphylococcus aureus*, de façon à recouvrir toute la surface gélosée. Après un temps de 20min nous avons disposé 03 disques stériles dans chaque boîte sur lesquels nous avons appliqué 5 μ l de l'extrait méthanolique.

La même procédure a été réalisée avec l'extrait éthanolique, et aqueux.



Figure 20 les étapes de l'évaluation de l'activité antibactérienne

Les boîtes ont été incubées à une température 37°C pendant 24h.

La lecture des résultats se fait par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition selon (Ponce *et al* ; 2003). L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide

d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par les différents extraits autour des disques.

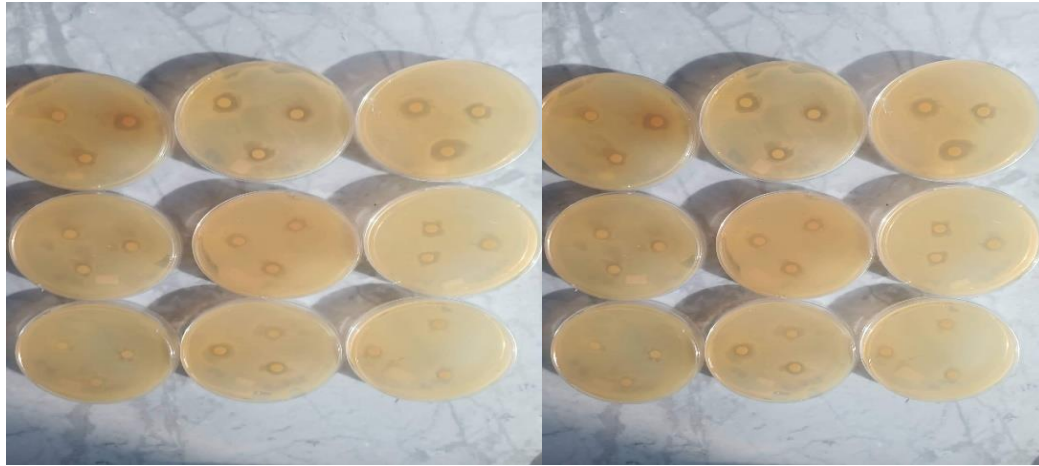


Figure 21 effet des extraits des feuilles de *Pistacia atlantica* sur les deux souches bactériennes testées.

3.6. Etude de l'activité antifongique

Cette opération est faite au laboratoire microbiologie à la faculté d'IBN KHALDOUN Tiaret pour le but d'évaluer l'effet antifongique des différents extraits sur la souche *Fusarium oxysporum*

3.6. 1. Préparation du milieu de culture

Au début on a chauffé 1000 ml d'eau à l'aide d'une source de chaleur jusqu'à ébullition pour dissoudre la quantité de 39 g de PDA (Potato Dextrose Agar), le mélange a été mis sous agitation pendant 20 minutes jusqu'à l'homogénéisation de la solution a été stérilisé à l'aide d'un autoclave pendant 15 min.

Les spores des jeunes cultures (la durée de germination est 3 jours) de chaque souche sont récupérées par un lavage des boîtes de pétri et à partir de cette suspension mère, on prépare les différentes dilutions dans des tubes à essai avec 9 ml d'eau physiologique stérile.

Après agitation des tubes, pour homogénéiser les spores, on procède à la standardisation de la suspension des spores à 10^7 spores /ml par l'évaluation de la densité optique (DO) à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 630 nm (DO=0,04).

3.6.2. Méthode des disques

Pour mettre en évidence l'activité antifongique des extraits des feuilles du pistachier, la méthode utilisée repose sur la diffusion des extraits à partir de disques sur un milieu solide.

Les résultats sont exprimées par l'apparition d'une zone d'inhibition au tour des disques, plus la zone est grande plus la sensibilité des souches est élevée.



Figure 22 standardisation de la solution des spores

Chapitre IV : Résultats & discussions

I. Résultats

Les objectifs de ce travail sont :

- l'optimisation des méthodes d'extraction des métabolites secondaire ;
- Evaluer in vitro le pouvoir antibactérienne et antifongiques des différents extraits des feuilles du pistachier de l'Atlas.
- vérifier si on peut utiliser ces deux activités biologiques comme facteurs de comparaison entre les trois méthodes d'extraction utilisées.

II. Rendement en extrait

Le rendement en extrait sec obtenu après évaporation a été déterminé par rapport à 20g de matière végétale (poudre des galles des feuilles).

$$R = (P_E/P_P) \times 100$$

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du cristalliseur plein après évaporation et le poids du cristalliseur vide.

Les résultats de cette manipulation sont représentés dans le tableau 01.

Tableau 6 taux de rendement des trois extraits du pistachier de l'Atlas

Extrait	Poids d'extrait sec	Rendement
Extrait aqueux (décoction)	2,54g	12,7%
Extrait méthanolique (macération)	5,67g	28,8%
Extrait éthanolique (macération)	4,04g	20, 2%

D'après ces résultats, on remarque le rendement en extraits hydro-alcooliques (méthanolique et éthanolique) est plus élevé que le rendement en extrait aqueux.

A partir des résultats obtenus il en ressort que la méthode de macération en utilisant le méthanol est la méthode la plus efficaces avec un rendement égale à 28,8% suivi par la macération par éthanol avec un rendement de 20, 2% (Figure 23)

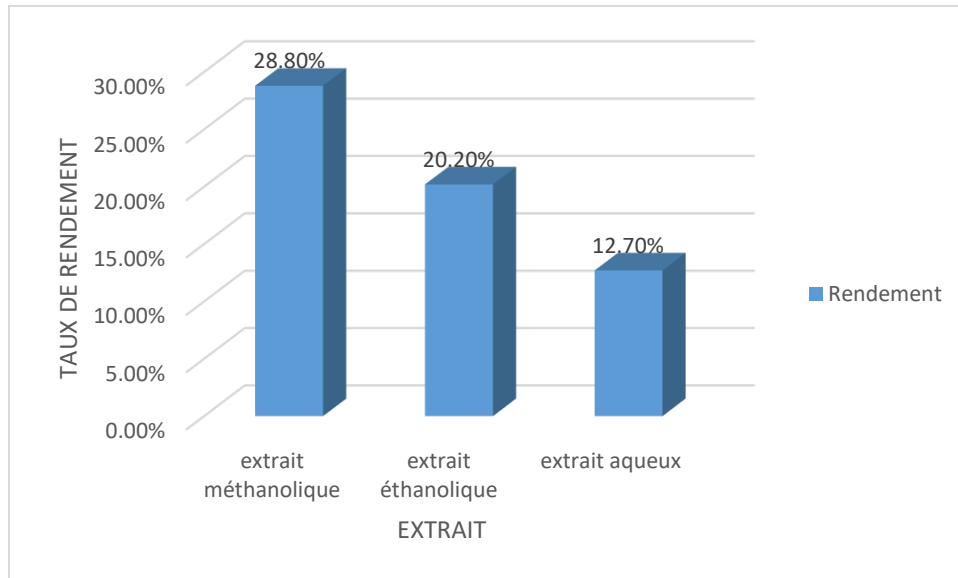


Figure 23 les taux de rendement des trois méthodes d'extraction

III. Activité antibactérienne

Le pouvoir antibactérien des extraits a été estimé en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de la bactérie *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

1. Activité antibactérienne des extraits aqueux des feuilles du pistachier de l'Atlas

A partir des résultats obtenus, il en ressort que la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* est plus sensible aux extraits aqueux du pistachier de l'Atlas que la souche *Escherichia coli*. La figure 24 démontre que l'extrait aqueux à une concentration de 20% présente un effet bactériostatique contre la souche *E.coli* (le diamètre de la zone d'inhibition égale à 10mm).

Les deux concentrations 20% et 40% de l'extrait aqueux démontrent une activité bactériostatique contre la souche *Staphylococcus aureus*, alors que le même extrait avec une concentration élevée démontre une activité bactéricide contre la même souche (un diamètre de la zone d'inhibition moyen égal à 28,66mm).

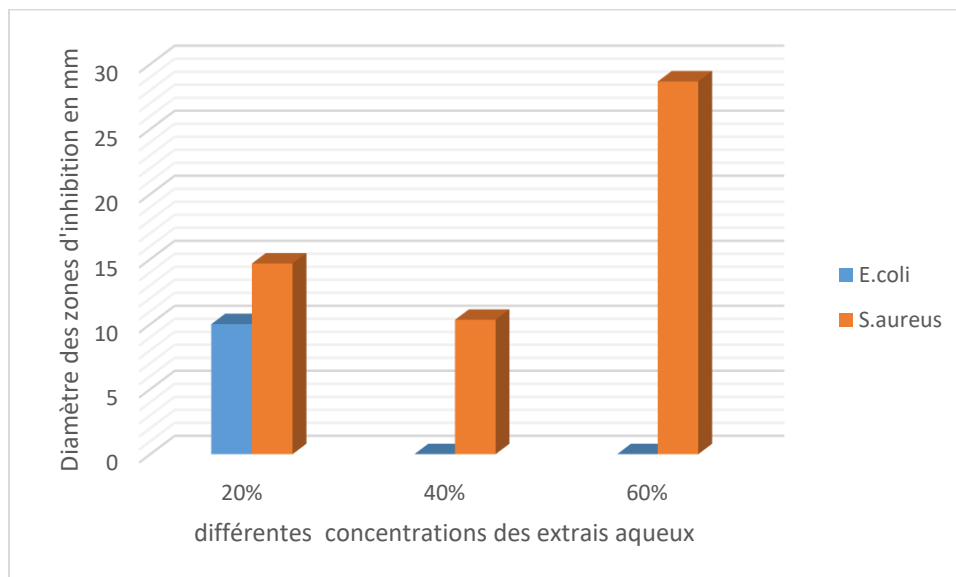


Figure 24 diamètre des zones d'inhibition des deux souches bactérienne en fonction des concentrations de l'extrait aqueux.

2. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques des feuilles du pistachier de l'Atlas

Les résultats obtenus par l'application de l'extrait méthanolique, démontre une activité bactériostatique pour les trois concentrations utilisées contre la souche bactérienne *E.coli*, la souche *Staphylococcus aureus* démontre une sensibilité très importantes à l'extrait méthanolique à différentes concentration.

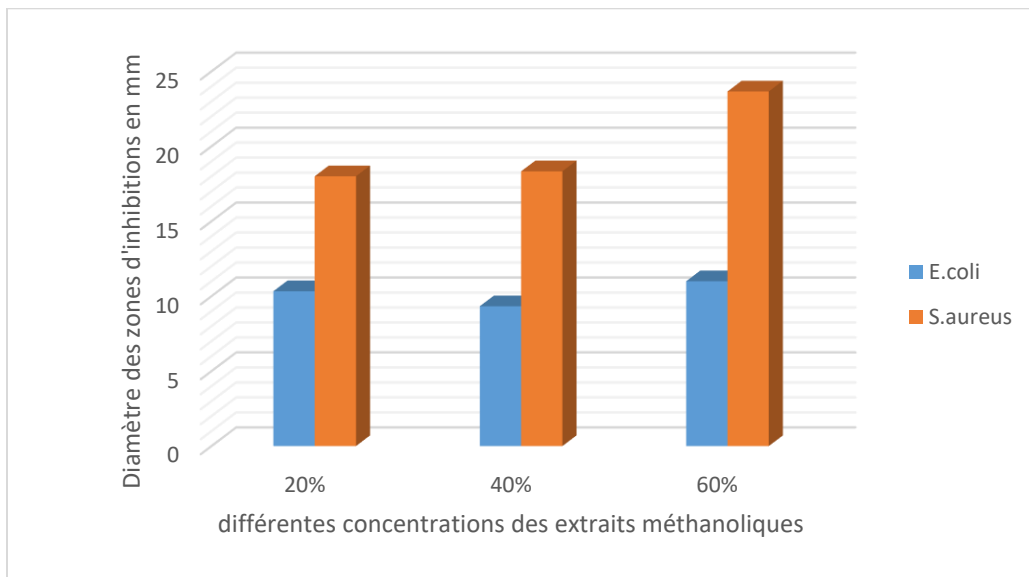


Figure 25 diamètre des zones d'inhibition des deux souches bactérienne en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique.

3. Activité antibactérienne des extraits éthanoliques des feuilles du pistachier de l'Atlas

Les résultats présentés dans la figure 26, démontrent que les trois concentrations de l'extrait éthanolique ont un effet inhibiteur de la croissance bactérienne des deux souches.

A travers ces résultats, on remarque que le diamètre de la zone d'inhibition pour *Staphylococcus aureus* est égal à 20,66 mm pour la concentration 20% ce qui démontre une activité bactéricide. La souche *E. coli* paraît être plus sensible au trois concentrations, avec un diamètre de la zone d'inhibition de 14mm pour la concentration 20%, 22,6mm pour la concentration 40% et 27,6mm à une concentration de 60%.

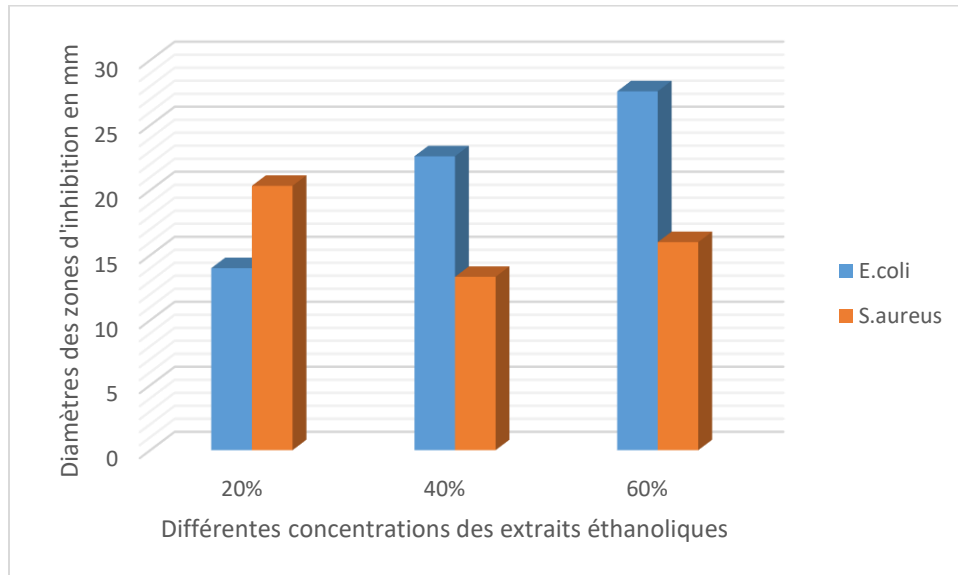


Figure 26 diamètre des zones d'inhibition des deux souches bactérienne en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique.

IV. Activité Antifongique

L'effet antifongique des extraits a été estimé pour la méthode de diffusion sur disques en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis *Fusarium oxysporum*.

1. Activité antifongique des extraits aqueux des feuilles du pistacher de l'Atlas

A partir des résultats obtenus, il en ressort que la souche *Fusarium oxysporum* est sensible à l'extrait aqueux du pistachier. Le diamètre moyen de la zone d'inhibition de cette souche à une concentration de 40% est égal à 8mm, la concentration 60% démontre une activité antifongique plus importante de l'extrait aqueux du pistachier de l'Atlas contre la même souche.

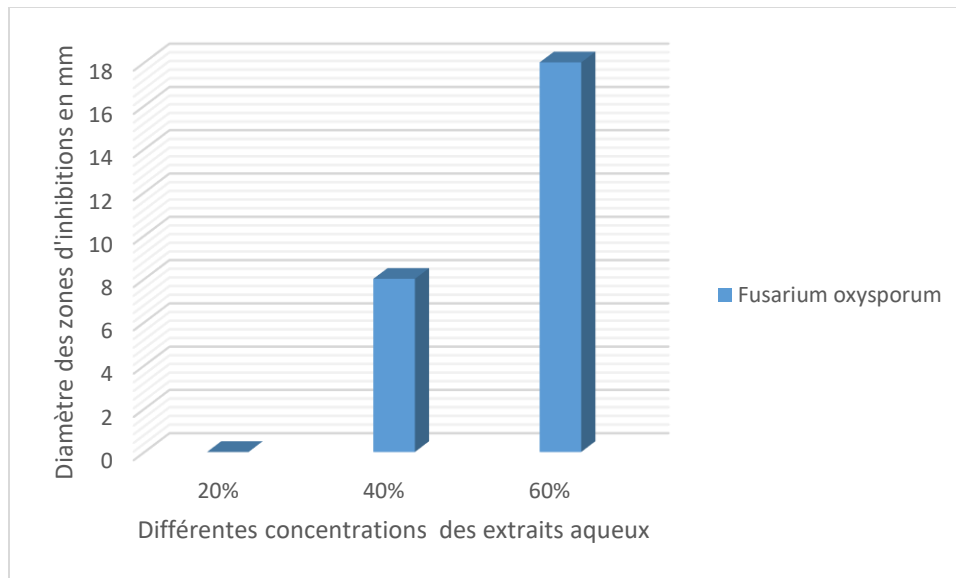


Figure 27 diamètres des zones d'inhibitions vis-à-vis la souche fongique *Fusarium oxysporum* en fonction des trois concentrations d'extrait aqueux.

2. Activité antifongique des extraits méthanoliques des feuilles d pistacher de l'Atlas

Les résultats obtenus par l'application de l'extrait méthanolique ne démontre aucune activité antifongique pour les trois concentrations utilisées contre *Fusarium oxysporum*.

3. Activité antifongique des extraits éthanoliques des feuilles du pistacher de l'Atlas :

Les résultats présentés dans la figure 27, démontrent que la souche *Fusarium oxysporum* est moyennement sensible à l'extrait éthanolique à une concentration de 60% (présence d'halos d'inhibition égale à 16 mm). A travers ces résultats, on remarque que les deux autres concentrations n'ont aucun effet sur cette souche fongique (absence d'halos d'inhibition)

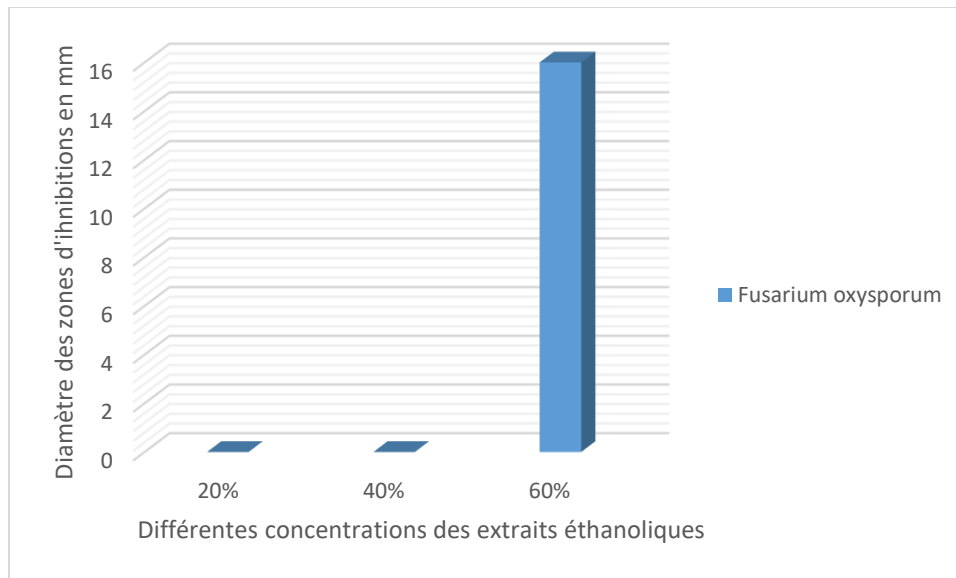


Figure 28 diamètre des zones d'inhibition de la souche *Fusarium oxysporum* en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique

V. Discussion

Dans notre cas, le rendement en extrait le plus élevé a été obtenu par la méthode d'extraction par macération suivie par la méthode d'extraction préconisée par la médecine traditionnelle (décoction avec de l'eau bouillante).

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il dépend de plusieurs paramètres tels que: le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (Quy Diem Do et al ; 2014).

D'après (Quy Diem Do et al ; 2014), l'utilisation combinée de l'eau et du solvant organique peut faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et / ou dans le solvant organique.

Dans ce contexte, Rhazi et al ; 2005 ont observé que le solvant le plus efficace pour extraire les polyphénols à partir de la plante marocaine *Acacia mollissima* est le méthanol aqueux (80%) suivie par l'éthanol aqueux (80%) et enfin l'eau, ce qui concorde avec nos résultats.

Par ailleurs, l'extrait sec ne renferme pas uniquement des polyphénols et des flavonoïdes, il contient également d'autres substances naturelles (Békro et al ; 2007 ; Kebièche et al ; 2011).

Étant donné qu'aucun agent pathogène bactérien spécifique de *Pistacia atlantica* n'est connu, nous avons testé l'effet des extraits (aqueux, méthanolique et éthanolique) des galles de feuilles sur des bactéries représentatives, notamment des agents pathogènes connus (*E. coli* et *Staphylococcus aureus*).

Il apparaît que *S. aureus* est la bactérie la plus sensible par comparaison à *E. coli*, ceci peut être attribué à la différence de la structure de la paroi entre les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif (Djemai-zoughlache, 2009).

La paroi cellulaire des bactéries Gram positif est constituée par une seule couche composée de peptidoglycanes, à laquelle sont associés des polymères d'acides teichoïques alors que celle des Gram négatif a une paroi plus complexe la couche de peptidoglycane est plus fine que celle des Gram positif, et elle est entourée par une membrane externe composée de lipopolysaccharides et de lipoprotéines. La partie lipopolysaccharidique de la paroi des Gram négatif comprend les molécules d'endotoxine (lipide A) qui contribuent au pouvoir pathogène bactérien (Prescott et al ; 2003).

En revanche *S. aureus* est légèrement moins sensible à l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia atlantica*. Malgré l'existence des zones d'inhibition relativement faible, nos résultats prouvent l'existence d'activité antibactérienne vis-à-vis *S. aureus* qui est un micro-organisme pathogène impliqué dans les intoxications alimentaires.

L'étude faite par Gerchman (2011) démontre que les feuilles n'ont aucune activité antifongique contre *Fomitopsis Pinicola*, *Aspergillus Sp* et *Penicillium Sp*.

La variation de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits explique la variation de leur composition chimique comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait a une activité antibactérienne si son diamètre d'inhibition est supérieur à 10 mm (Ponce et al., 2003).

Conclusion

Conclusion

Un grand nombre des plantes médicinales contiennent des composés chimiques ayant des propriétés antifongiques. Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les extraits aqueux et éthanolique des plantes spontanées.

Notre travail s'est orienté sur l'étude de l'effet antibactérien et antifongique des extraits aqueux et hydro alcooliques (éthanolique et méthanolique) du pistachier de l'atlas.

Quant aux rendements, on note que le rendement en extraits hydro-alcooliques (méthanolique et éthanolique) est plus élevé que le rendement en extrait aqueux. Cette variabilité de rendement peut être justifiée par la méthode d'extraction et la nature du solvant utilisé.

L'effet antibactérien a été testé selon la méthode de diffusion sur disque. L'effet antibactérien a été testé sur deux souches Gram⁻ et Gram⁺ « *E.coli* et *Staphylococcus aureus* ».

L'activité antibactérienne des différents extraits du pistachier de l'Atlas diffère selon la méthode d'extraction et les concentrations (20%,40% et 60%) des extraits. Il est à signaler que quelques extraits ont montrés des activités bactéricides.

L'évaluation de l'activité antifongique par la méthode de dilution sur milieu gélosé, démontre que la souche fongique *Fusarium oxysporum* présente une certaine sensibilité aux extraits aqueux et éthanoliques de cette espèce.

En perspective ; il serait souhaitable d'améliorer les méthodes d'extractions, et d'évaluer d'autre activité biologique des extraits de ces plantes. L'étude de la composition chimique de ces extraits est recommandée pour mieux évaluer leurs activités biologiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alyafi J., 1979 .Approches systématiques et écologiques du genre Pistacia L. dans la région méditerranéenne. Thèse Doct.Es Sciences Univ.Aix Marseille III, 179p+Annexes.

Ait Radi A., 1979 .Multiplication par voie végétative et par semis de Pistacia atlantica et Ailantus altissima. Mém. Ing. Agr, I N A, El-Harrach, 40p.

Ahmad, I. and Beg, A.Z.2001. Antimicrobial and Phytochemical Studies on 45 Indian Medicinal Plants against Multi-Drug and Resistant Human Pathogens. Journal of Ethnopharmacology, 74, 113-123.

Baba aissa F. 2011- Encyclopédie des plantes utiles Flore d'Algérie (Méditerranéenne, maghrébine et sahariennes).BEO Alger.471p.

Barboni T. 2006. Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. *Thèse de doctorat* Université de Corse Pascal Paoli.

Békro Y.A, Janat a, békro M, Boua B. B , trabi F.H and Éhilé E.2007. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de caesalpinia benthamiana (baill.) herend et zarucchi (caesal piniaceae). Sciences & nature.vol4 n°2: 217 –225.

Belhadj, S., Derridj, A., Auda, Y., Gers, C., Gauquelin, T., 2008. Analyse de la Variabilité morphologique chez huit populations spontanées de Pistacia atlantica en Algeria. Can. J. Bot./Rev. Can. Bot. 86, 520–532.

Belhadj S., Derridj A., Auda Y., Gers C. and Gauquelin T., 2008. Analyse de la variabilité morphologique chez huit populations spontanées de *Pistacia atlantica* en Algérie. *Botany*, 86 : 520-532

Belhadj S., 2007. Etude eco-botanique de *Pistacia atlantica* Desf. (Anacardiaceae) en Algérie, préalable à la conservation des ressources génétiques de l'espèce et à sa valorisation. Thèse de doctorat en sciences Agronomiques, option écologie végétale, Université Mouloud Mammeri de TiziOuzou.177 p.

Belhadj S., 2001. Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation. In: AK, b. e., (Eds). 11 GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds, September 01-04, 1999. Sanliurfa, Turkey. Cahiers Options Méditerranéennes, 56 :107-109

Benhassaini H., 1998. Importance agro-écologique et composition biochimique de quelques espèces de Pistacia. Thèse de magister en écologie appliquée. Université Djilali

Liabès de Sidi Bel Abbés, 89 p.

Belharet O et Rekkeb S., 2004. Architecture racinaire et adaptation du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf. ssp *atlantica*) à la sécheresse : cas de la population de Ain ousserra

(W.Djelfa), Mém. Ing. Agr. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, 75p.

Benhssaini H. and Belkhodja M., 2004. Le pistachier de l'Atlas en Algérie entre la survie et disparition. *La feuille et l'aiguille*, 54: 1-2.

Bennick A. 2002. Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. 13 (2)184-196

Bruneton J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. Edition. Lavoisier, 3ème Ed., Paris. P : 585

Bruneton. J ; 1993. Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales, technique et documentation lavoisier. Paris. P: 134. ISBN 2-85206-911-3.

Bssaibis F, Gmira N, Meziane M. 2009. Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. *Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale*, 3 : 44-55.

Boros B., Jakabova S., Dornyei A., Horvath G., Pluhar Z., Kilar F., Felinger A. 2010. Determination of polyphenolic compounds by liquide chromatographie–mass spectrométrie in *Thymus* spécifs. *Journal of Chromatography A*. 1217: 7972–7980
armaceutical and Biomedical Analysis. 53: 1130–1160.

Chabrier, J. Y. 2010. Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).

Chang J.S., wang K.C., yeh C.F., chiang L.C (2013). fresh ginger (*Zingiber officinale*) has Antiviral Activity Against human Respiratory Syncytial virus in human Respiratory tract cell Lines, *Journal of Ethnopharmacology*, 145; 146-151 p.

Crozier A., Clifford M-N., Ashihara H. (2006). Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edt Blackwell Publishing Ltd.

Cooray H-C., Janvilisri T., Van Veen H-W., Hladky S-B., Barrand M-A. (2004). Interaction of the breast cancer resistance protein with plant polyphenols. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 317 : 269 –275.

DEBBACHE M., 1998 – Développement de la culture du Pistachier, rapport de stage. TURQUIE.

- Djemai-zoughlache S., 2009.** Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus*
L. mémoire de fin d'étude option biochimie appliquée. Université El-hadjlakhder-BATNA, 56 p.
- Fernandez Gutierrez A. (2010).** Application and potential of capillary electro separation methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food material. *Journal of*
- Fennane M., Ibn Tattou M., Ouyahya A. and El Oualidi J., (2007).** Flore pratique du Maroc. Manuel de détermination des plantes vasculaires. 2^{ème} éd. Institut Scientifique. Rabat. p.636
- Guignard. J. L, (2000) :** Les métabolites secondaires In Biochimie végétale. Paris. PP: 161, 177, 178. ISBN 2100 485 482.
- Gerchman, S. Levisohn, I. Mikula, L. Manso-Silvan, I. Lysnyansky. 2011**
.Characterization of in vivo-acquired resistance to macrolides of *Mycoplasma gallisepticum* strains isolated from poultry Vet. Res., 42 (2011), p90.
- Gerhard. R, 1993.** Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. Presses polytechnique et universitaire romandes CH. Lausanne. PP : 317-321. *Hopkins. W. G, (2003) :* Molécules et métabolismes In physiologie végétal. De Boeck et Lacier (S.A.). PP : 5.268-282. ISBN 2-7445-0089-
- Hennbelle. T, Sahpaz. S et Bailleul. F, (2004) :** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Laboratoire de pharmacognosie, Faculté des sciences Pharmaceutiques et Biologiques, BP 83,59006 Lille Cedex, France.
- Hurtado-Fernandez E., Gomez-Romero M., Carrasco-Pancorbo A., Parage C. 2013.** Génomique de la biosynthèse des stilbènes chez la vigne. Thèse de Doctorat, Université de Strasbourg, France.
- Hacini, N., Djelloul, R. (2017)** Study of the Antibacterial and Antifungal Activities of Oil of *Pistacia lentiscus l.* International Journal of Applied Environmental Sciences, 12, (1), pp. 133-143.
- Haddouchi, F., Chaouche, T.C., Zaouali, Y., Ksouri, R., Attou, A. Benmansour, A. 2014.**
Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from four *Ruta* species growing in Algeria. *Food Chemistry*, 141, 253–258. [10.1016/j.foodchem.2013.03.007](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.007)

Jost J-P., Jost-Tse Y-C. (2016). L'automédication chez les animaux dans la nature. Editions connaissances et savoirs. P : 23

Kumar K-A., Renuka N., Pavithra G et Kumar G-V. (2015). Comprehensive review on coumarins: Molecules of potential chemical and pharmacological interest. *J Chem Pharm Res.* 7(9): 67-81.

Krishna D., Chaluvadi M., Raj N., Sripal R. (2001). Bioflavonoids classification.

KHALDI A. & KHOUJA M.K. 1996 – Atlas pistachio (*Pistacia atlantica* Desf.) in North Africa taxonomy, geographical distribution, utilization and conservation. Genetic Resources. IPGRI, Rome, Italie, p 57-62.

KAABACHE M., 2005 – Guide des habitats aride et saharien (typologie de la végétation D'Algérie, Projet/ALG/00/G35.

Kebièche M., Lakroun Z., Mraïhi Z etSoulimani R. (2011) Effet antidiabétoène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens*L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytothérapie.* 9: 274-282.

Lapie G., et Maige A., 1924. Flore forestière illustrée de l'Algérie. Édition : Orglah. Paris. Lagha L., 1993- Contribution à l'étude de la biologie de la reproduction chez l'espèce *Pistacia atlantica*. Mem, Ing, Etat.I.N.A. 96p.

Larouci-Rouibat A., 1987. Étude biochimique et physiologique des semences du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) Mémoire des études supérieures en en Physiologie Végétale, Option : Biochimie. USTHB Alger. 113 p.

Martinez-Gomez P. and Dicenta F., (2001). Mechanisms of dormancy in seeds of peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) cv. GF305. *Scientia Horticulturae*, 91: 51-58.

Marouf A., Reynaud J. (2007). La Botanique de A à Z, 1662 définitions, Dunod, paris. P : 69.

Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydantoucapte urs de radicaux libres;études et applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat. Strasbourg.

Merghem R. (2009) Eléments de biochimie végétale. *Bahaeddine Editions*: 95-121.

Monjauze A., 1968- Répartition et écologie de *Pistacia atlantica* Desf., en Algérie, Bulletin De la Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord, Tome 56, 128 p.

Moreau Buronzo A (2008). Le Grand Guide des Huiles Essentielles: Santé, Beauté, Bien être; Ed: HACHETTE PRATIQUE, p: 14- 43.

Nacoulma O-G. (1996). Plantes médicinales et Pratiques médicales Traditionnelles au Burkina Faso : cas du plateau central T1 & T2. Thèse de doctorat D'Etat ès Sciences Nat. Université de Ouagadougou. P: 242 -285

Nacz M and Shahidi F. (2003) Phenolic in food and nutraceuticals. *Boca Raton, FL: CRC Press.*

OZENDA P., 1991- Flore et végétation du Sahara, Edition CNRS.

Ozenda P. (1983). Flore du Sahara, 2^{ème} édition. Paris : Centre National de la Recherche Scientifique, 622 p.

Ozenda P., 1983. Observation sur la végétation d'une région semi-aride : les hauts plateaux du Sud Algérois. Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord, 45 (3- 4) : 189-224.

Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle,C., Roura, S.I.(2003).Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard . Lebensm. Wiss. u.- Techno, 36, PP.679 -684.

Pesson P., et Louveaux J., 1984. Pollinisation et production végétale. INRA. Paris. p.179

Peronny S. (2005). La perception gustative et la consommation des dannins chez le MAKI.

Ponce A. G., Fritz R., Del Valle C. et Roura S.I., 2003. Antimicrobial activity of oils onthe native microflora of organic Swiss chard. Society of Food Science and Technology (Elsevier).36: 679-684.

Prescott L., Harley J., Klein D., 2003. Microbiologie. Ed. De Boeck université, 1137 p.

QUEZEL P ET SANTA S., 1963 – Nouvelle flore de l'Algérie et des zones désertiques Méridionales. Paris CNRS. 2 Tomes. 1170p.

Quézel P. et Médail F., 2003- Ecologie et biogéographie des forêts méditerranéennes, Université d'Aix Marseille III, 571 p.

Quezel P. et Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris : Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, pp. 475–476.

Quy Diem Do , Artik Elisa Angkawijaya, Phuong Lan Tran-Nguyen , Lien HuongHuynh , Felycia Edi Soetaredjo , Suryadi Ismadji , Yi-Hsu Ju .2014 Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica* J Food Drug Anal ;22(3):296-302.

Raven. PH, Evert.RF, Eichhorn.SE, (2007): Biologie végétale. De Boeck et aciers (s, a). Université-paris. PP: 187,698 P: 733.

Remesy C., Manaca C., Demigne C., Texiero. Regeat F. (1996). Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Médecine et nutrition*. 32 : 17-27(**Lemur catta**). Thèse de doctorat du Muséum national d'histoire naturelle. Discipline ECOEthologie. P: 151.

Rhazi N.Oumam M HannacheA.SesbouB.Charrier A .PizziF.Charrier – El Bouhtoury ;2015

Comparison of the impact of different extraction methods on polyphenols yields and tannins extracted from Moroccan *Acacia mollissima* barks.

Sun L., Zhang J., Lu X., Zhang L and Zhang Y. (2011) Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food Chem Toxicol*. 49: 2689-2696

Schofield P., Mbugua D-M., Pell. A-N. (2001). "Analysis of condensed tannins: à review." *Animal feed science and technology* 91(1-2): 21-40.

Stalikas C D (2007) Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.* 2007, 30, 3268–3295

Sun L., Zhang J., Lu X., Zhang L and Zhang Y. (2011) Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food Chem Toxicol.* 49: 2689-2696.

Seigue A., 1985 – La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes. Maisonneuve et Larousse éditions. Paris. 502p.

Sanago R., 2006. Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako (Mali): 53

Thayumanavan B and Sadasivam S. (2003) Molecular Host Plant Resistance to Pests. CRC Press LLC.

Tutin T.G., Heywood V.H. and Burgess N.A., (1968). Flora Europaea. Cambridge University Press, Cambridge, UK, vol 2, p. 237.

W–Erdman J., Balentine J-D., Arab L., Beecher G., Dwyer J-T., Folts J., Harnly., Hollman J-P., L –Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G., Burrowes J. (2007) Flavonoids and heart health: Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop. Washington. *Journal of Nutrition.* 137 (3 supps 1): 718 - 737.

Yahia K., 2011- Etude de la dynamique spatio-temporelle de *Pistacia atlantica* Desf, Thèse. Mag. USTHB. Alger. 106p.

Yaaqobi A., El Hafid L. et Haloui B. (2009). Etude biologique de *Pistacia atlantica* Desf. De la région Orientale du Maroc. *Biomatec Echo* 3 : 39-4

ANNEXES

ANNEXE 01 : Matériels non biologique

Tableau 01 : Matériel non biologique utilisé au laboratoire

Verreries et le matériel utilisé	Appareillage et dispositifs	Réactifs
-Tubes à essai	- Balance électrique	- Eau distillé
- Ballon à fond rond	-Agitateur magnétique	- Iode
- Béchers	-Hotte	-KOH
-Eprouvettes gradués	-Hydro-distillateur	-Acide chlorhydrique
-Entonnoir	-Soxhlet	-H2SO4
-Boîtes de pétrie	- Bain marie	-Ethanol
-Fioles	-Réfrigérant	-Formol
-Spatules	-Plaque chauffante	-HCL
-Papiers filtres	-Incubateur	-Siansy
-Pince	-Microscope optique	
-Verre de montre	-Loupe	
-Portoir		
-Erlenmeyer		

ANNEXE 02 :

Tableau 02 : Composition du milieu de culture Mueller Hinton (Gélose)

Extrait	20g
Agar Mueller Hinton	10g
Eau distillée	1000ml
Autoclavage	120°c /20mn

ANNEXES



Figure 1: milieu de culture **Mueller Hinton** (Gélose)

Tableau 03 : Composition du milieu de culture (PDA)

Extrait du milieu PDA	42g
Eau distillée	1000ml

ANNEXES



Figure 2: milieu de culture (PDA)

ANNEXE 03: Préparation des solutions



Figure 3: Préparation des solutions

ANNEXES



Figure 4: Préparation des solutions