



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun -Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière : "Sciences biologiques"

Spécialité : "Microbiologie Appliquée"

Présenté par :

- ABAID AHKAF CHAIMAA
- ACED TAMANI
- SEDDIKI MOHAMED MOUNIR

Thème

**Effet Probiofilm et prébiotique de l'extrait
gémmothérapeutique des graines comestibles
D'*Accacia* des régions semi arides**

Soutenu publiquement le 28/09/2020

Membres du Jury

Président : Abbas Mohamed

Encadrant : Boubakeur Badra

Co-encadrant: Drabo Moustapha S.

Examineur: Khadem Hafidha

Grade

MCA

MCB

PhD

MAA

Année universitaire 2019/2020



Remerciements

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à Dieu qui nous a donné le courage et la volonté d'achever ce travail. Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont à notre Promoteur Mme BOUBAKEUR Badra, pour ses conseils, ses encouragements, sa patience, sa compétence, sa gentillesse, ses qualités humaines et scientifiques resteront pour nous un exemple, qui nous ont permis de bien mener ce travail.

Le suivi et l'orientation dont nous avons pu bénéficier. Nous sommes constamment impressionnés de constater à quel point il nous a poussé pour atteindre nos buts et d'avoir identifié et stimulé nos potentiels.

Nos remerciements les plus sincères vont également à notre Co-promoteur : À Mr Drabo Moustapha S Veuillez trouver ici l'expression de nos profonds sentiments de respect pour le soutien que vous n'aviez cessé de nous porter.

Nos remerciements vont au président de jury À Mr Abbas Mouhamed, merci de nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.

Nos vifs remerciements s'adressent aussi à Mme Khadem Hafidha, qui a accepté d'examiner notre travail avec bienveillance et nous en sommes très honoré.

Un remerciement spécial à notre responsable de spécialité Dr. HOCINE L., pour sa disponibilité et sa sympathie.

*Un grand merci à l'équipe du laboratoire de Microbiologie Mlles SORAIA, FOUZIA, FATIHA pour leur gentillesse et serviabilité. On ne saurait pas oublier tous les enseignants et les étudiants qui nous ont aidé et participé dans notre Travail
Merci*



Dédicace

Je dédie ce travail A Ma Chère Mère BENCHIHA LAHOUARIA Les mots me manquent pour exprimer toute ma reconnaissance pour tout ce que Tu as fait pour mon bonheur et ma réussite. Pour ton grand amour, ta tendresse et tes Longues prières qui m'ont été le meilleur gage de réussite, je t'offre ce travail. Que Dieu te protège et t'accorde-le Bonheur, la santé et la longue vie. . A Mon Cher Père MOUHAMED Nulle expression ne peut traduire le noble sentiment que j'ai à ton égard, Pour l'amour que tu m'as toujours porté, Pour ta patience et ta générosité, Pour ton soutien moral et matériel que tu as consentis en ma faveur, Je te dédie ce travail en témoignage de ma grande reconnaissance et mon grand Amour.

A Mon honorable frère SALAH EDDINE, A qui, je porte le plus grand amour pour la collaboration et l'aide qu'il n'a pas cessé de m'apporter. Que dieu te protège et t'offre tout le bonheur que tu mérites pour ton avenir.

A mes amies, ma grande famille, A toi ma chère Grand-mère Halima et mon adorable tante SAFIA- REKAYA -FATMA A mes oncles MOUSSA -HENIFI-ABEDAKA que Dieu l'accueille dans son vaste paradis A mes cousins SAAD EDDINE - MOUHAMED - MOURAD – RHEDA que Dieu vous protège

A mes proches et mon entourage, qui n'ont pas arrêté de me pousser et de me soutenir. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma plus sincère gratitude. J'espère que j'étais à la hauteur de ce que vous attendez de moi. A mes chères amies MOUNIR – AHKAf Enfin je dédie ce travail à tous mes amis Qui m'ont soutenu et m'ont aidé durant mes études et que je n'ai pas cité

ACED TAMANI



Dédicace

Je dédié ce travail

A ma très chère mère DJIDEL KHADIDJA

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

À la mémoire de mon cher papa, que son âme repose en paix.

À ma sœur Anfel et mon petit frère Mohamed pour leurs présences à mes côtés

À toute ma famille et mes amis et à tous ceux qui m'aiment et qui aurait voulu partager ma joie.

ABAID AHKAF CHAIMAA



Dédicace

Je dédie ce travail

A Ma Chère Mère MIHOUB MERIEM

C'est grâce à toi et à tes sacrifices que je suis diplômé aujourd'hui.

A mes chers grands parents, mes amis & ma famille

À mes proches et toutes les personnes positives que je connais

*Sans oublier ma deuxième famille ; mes frères et sœurs du club
Universitaire innovation Vous Êtes les meilleurs je vous souhaite
que le bonheur.*

A mes collègues ACED & ABAID et leurs familles

*À la mémoire de Mr. LAZREG BENAICHATA doyen de notre
faculté S.N.V*

SEDDIKI MOHAMED MOUNIR

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des photos	III

Table des matières

Introduction	1
--------------------	---

CHAPITRE I

Partie bibliographique

1. Notions scientifiques sur le biofilm	3
1.1. Définition	3
1.2. Composants structurels des biofilms	3
1.3. Etapes de formation	3
1.4. Biofilm et santé humaine	4
2. Notions scientifiques sur la gemmothérapie	4
2.1 Définition	4
2.2. Principes actifs en gemmothérapie	5
3. Notions scientifiques sur les Graines d' <i>Acacia</i>	6
3.1 Définition	6
3.2. Profil nutritionnel	6
3.4. Composés bioactifs	7

CHAPITRE II

Proposition de recherche

« Effet prébiotique et probiofilm des extraits gemmothérapeutiques des graines d'*Acacia* »

1.Thématique de recherche	8
2.Hypothèse.....	8

3. Objectifs du travail	9
4. Etablissement d'un procédé de germination des graines d' <i>Acacia</i>	10

Partie expérimentale

CHAPITRE III

Démarche expérimentales proposées

1. Matériels utilisés.....	11
1.1. Matériel végétal.	11
1.2. Matériel du laboratoire.	12
2. méthodes	13
2.1. Protocole expérimental	13
2.2. Essais d'optimisation du procédé de germination	14
a. Prétraitement des graines	14
b. Germination	14
2.2.1. Résultats de l'optimisation du procédé de germination	18
2.3. Préparation des extraits gemmothérapeutiques	21
2.4. Evaluation de l'effet prébiotique et probiofilm des extraits	22

CHAPITRE IV

Conclusions et perspectives

Conclusions et perspectives	24
--	----

Références bibliographiques	25
--	----

Annexes

Liste des tableaux

Tableau 01. Matériel de laboratoire utilisé lors de l'expérimentation	12
--	----

Liste des figures

Figure 01. Étapes de la formation d'un biofilm bactérien	4
Figure 02. Illustration des graines d' <i>Acacia macrostachya</i> , <i>Sénégal</i> et <i>dudgeonii</i>	11
Figure 03. Protocole expérimental	13
Figure 04. Schéma récapitulatif des prétraitements appliqués et les conditions de germination	17
Figure 05. Effet de scarification mécanique, le choc thermique et l'abrasion acide sur le taux de germination <i>A. macrostachya</i>	18
Figure 06. Effet de scarification mécanique, le choc thermique et l'abrasion acide sur le taux de germination <i>A. dudgeonii</i>	19
Figure 07. Effet de scarification mécanique, le choc thermique et l'abrasion acide sur le taux de germination <i>A. senegal</i>	19

Liste des photos

Photo 01. Désinfection des graines	14
Photo 02. Trempage des graines dans l'acide sulfurique	15
Photo 03. Trempage des graines dans l'eau bouillante	16

Résumé :

Les graines d'*Acacia* représentent des ressources alimentaires potentielles pour les populations menacées par la pauvreté et la famine dans les régions arides des tropiques. Elles sont des sources de potentiels molécules bioactives pouvant améliorer la santé du système digestive et les performances du microbiote et des probiotiques.

Dans ce travail nous avons entrepris plusieurs étapes expérimentales pour établir un procédé de germination des graines de trois espèces du genre *Acacia* (*Acacia macrostachya*, *Acacia senegal* et *Acacia dudgeonii*) et d'évaluer les propriétés prébiotiques de l'extrait gemmothérapeutique sur la croissance et la formation du biofilm de trois bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus durans* et *Pediococcus spp*) d'intérêt probiotique.

D'abord, les graines ont subi une désinfection avec de l'H₂O₂ et de l'éthanol. Puis, trois procédés de levée de la dormance des graines ont été évalués (trempage des graines dans l'acide sulfurique, trempage dans l'eau bouillante et scarification manuelle des graines). Les graines ont été incubées à des températures variables 22°C , 40°C et 70°C et 22°C a été identifié comme température optimale pour la germination. Le traitement avec de l'eau bouillante a montré des taux de germination importants pour *A. senegal* et *A. dudgeonii*.

Ce travail a permis d'améliorer le protocole de recherche sur la préparation gemmothérapeutique des graines d'*Acacia* étudiés

Mots clés : *Acacia* – gemmothérapie – germination – probiotique.

Abstract

Acacia seeds represent potential food resources for populations threatened by poverty and famine in the arid regions of the tropics. They are sources of potential bioactive molecules that can improve the health of the digestive system and the performance of the microbiota and probiotics.

In this work we undertook several experimental steps to establish a process for the germination of seeds of three species of the genus *Acacia* (*Acacia macrostachya*, *Acacia senegal* and *Acacia dudgeonii*) and to evaluate the prebiotic properties of the gemmotherapeutic extract on growth and formation of the biofilm of three lactic acid bacteria (*Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus durans* and *Pediococcus spp*) of probiotic interest.

First, the seeds were disinfected with H₂O₂ and ethanol. Then, three methods of lifting seed dormancy were evaluated (soaking the seeds in sulfuric acid, soaking in boiling water and manual scarification of the seeds). The seeds were incubated at varying temperatures and 22 ° C was identified as the optimum temperature for germination. Treatment with boiling water showed high germination rates for *A. senegal* and *A. dudgeonii*.

This work has improved the research protocol on gemmotherapeutic preparation of *Acacia* seeds studied.

Keywords: *Acacia* - gemmotherapy - germination - probiotic.

ملخص

تمثل بذور الأكاسيا موارد غذائية محتملة للسكان المهددين بالفقر والمجاعة في المناطق المدارية القاحلة. حيث أنها مصادر للجزيئات المحتملة النشطة بيولوجيا التي يمكن أن تحسن صحة الجهاز الهضمي وأداء الكائنات الحية الدقيقة والبروبيوتيك.

في هذا العمل، قمنا بالعديد من الخطوات التجريبية لإنشاء عملية لإنبات بذور ثلاثة أنواع من جنس ولتقييم (*Acacia macrostachya*, *Acacia senegal*, *Acacia dudgeonii*) الأكاسيا الخصائص الحيوية للمستخلص العلاجي على النمو و تكوين الأغشية الحيوية لثلاث بكتيريا حمض (*Streptococcus thermophilus* , *Enterococcus durans*, *Pediococcus spp*) اللاكتيك ذات الفائدة الحيوية

أولا، تم تطهير البذور باستخدام الماء الأكسجيني والايثانول، ثم تم إجراء ثلاث طرق لرفع سبات البذور (نقع البذور في حمض الكبريتيك، النقع في الماء المغلي و خدش البذور يدويا)، تم تحضير البذور في درجات حرارة متفاوتة، حيث حددت 22 درجة مئوية على أنها درجة الحرارة المثلى للإنبات. أظهرت *Acacia Senegal* و *Acacia dudgeonii* المعالجة بالماء المغلي معدلات إنبات عالية لكل من

أدى هذا العمل إلى تحسين بروتوكول البحث حول التحضير العلاجي لبذور الأكاسيا المدروسة.

الكلمات المفتاحية: أكاسيا -المستخلص العلاجي -إنبات -بروبيوتيك

INTRODUCTION

La flore microbienne est devenue une part entière de l'organisme humain et est dénommée « microbiote ». Ce microbiote intestinal suscite un intérêt scientifique croissant. Il représente une communauté microbienne abondante et variées (bactéries, virus, champignons) colonisant le tractus digestif humain. Cette communauté a une implication essentielle sur la santé de leur hôte où tout déséquilibre peut être à l'origine de diverses pathologies cliniques (**Goulet, 2009**). Afin de maintenir cet équilibre, les concepts de probiotiques et prébiotiques ont été proposés et développés.

Les probiotiques peuvent se définir comme les suppléments alimentaires contenant des bactéries vivantes qui peuvent être bénéfiques pour l'hôte en améliorant l'équilibre de sa flore colique (**Dupont, 2001**). Ils sont capables d'enrichir le microbiote intestinal par implantation ou par colonisation et ils peuvent être présents ou introduits dans certains aliments ou encore dans certains médicaments. Les bactéries lactiques (LABs), dont *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Lactococcus*, sont les probiotiques les plus utilisés et connus (**Savadogo et Traore, 2011**). En effet, il est désormais admis que les LABs améliorent la défense immunitaire et protègent contre les troubles allergiques, les infections gastro-intestinales, les tumeurs, les cancers, les maladies cardiovasculaires, et la dyslipidémie (**Mozzi, 2016**).

Les prébiotiques doivent avant tout bien être différenciés des probiotiques. En effet, ils ne sont pas considérés comme des micro-organismes. Ce sont en réalité de simples molécules non digestibles issues des aliments capables d'attiser la croissance et l'activité de certaines souches bactériennes intestinales. Pour être considéré comme prébiotique, l'élément incriminé doit répondre à un certain nombre de critères : ne pas être dégradé dans la partie haute du tube digestif, jouer le rôle de substrat spécifique pour certaines bactéries commensales et stimuler par ce biais leur croissance et leur activité métabolique, améliorer la composition de la flore intestinale favorable au bon état de santé de l'individu, induire des effets locaux et systémiques bénéfiques à l'hôte (**Schiffrin et al., 2014**). Ce sont très souvent des sucres comme les fructo-oligosaccharides, mais aussi des peptides ou protéines, des fibres, de l'inuline, et autres diverses biomolécules d'origine végétale qui représentent une source d'énergie non négligeable pour les micro-organismes constitutifs de la flore intestinale et pour les probiotiques (**Milliot, 2015**).

Les *Acacia* sont des légumineuses arborescentes qui se développent dans les régions pantropicales (**Benbrahim et al., 2014**). Ils sont bien adaptés à des conditions écologiques

défavorables, notamment celles des zones arides et semi-arides. La croissance facile, la forte adaptabilité à la rusticité, et la résistance à la sécheresse confèrent à ces plantes une importance écologique. Les *Acacia* sont une source importante d'aliments, de substances médicinales, et de revenus pour les populations rurales (**Benbrahim et al., 2014**). Les populations ont été conduites vers ces ressources naturelles sauvages comestibles à cause de l'insécurité nutritionnelle et la situation économique préoccupante de certains pays des régions arides et semi-arides

En effet, les phyllodes, les jeunes pousses, gousses et graines, frais ou secs de cette plante sont riches en protéines et non toxiques, ce qui leur donne un intérêt alimentaire et socio-économique direct (**Benbrahim et al., 2014 ; Jouadi et al., 2016**). Les différentes variétés d'*Acacia* ont prouvés leurs utilités dans le domaine médical ; le traitement d'allergies cutanées, du diabète, de l'insuffisance de diurèse, d'hypertension, contre les ulcères de l'estomac, les œdèmes et la dysenterie. Sur le plan nutritionnel, (**Benbrahim et al., 2014 ; Jouadi et al., 2016**). En vue de leurs propriétés recherchées par les industries agroalimentaires (le contenu énergétique élevé et un faible indice glycémique...) ainsi que la production du bois, de tanins (*A. mearnsii*), de gommés (*A. seyal*, *A. senegal* et *A. gummifera*), de charbon, les *Acacia* constituent une importance particulière (**Benbrahim et al., 2014 ; Jouadi et al., 2016**).

Cette particularité a attiré l'attention des scientifiques permettant la mise au point des études sur les caractéristiques nutritionnelles et pharmaceutiques des graines des différentes espèces de cette plante, cas de notre étude; l'exploitation de l'extrait gemmothérapeutique. La germination est une méthode naturelle qui peut être utilisée pour améliorer les propriétés nutritionnelles, fonctionnelles et sensorielles des graines. En effet, ce bioprocédé s'accompagne par une hydrolyse des macromolécules telles que les protéines, les fibres, et les polyphénols. De ce fait, la digestibilité et la biodisponibilité de ces molécules est améliorées. De plus, lors de la germination, certaines vitamines et molécules bioactives sont synthétisées (phénols, caroténoïdes...) (**Jribi et al., 2018**).

Au regard de la demande croissante pour une alimentation diversifiée, saine et bénéfique à la santé, cette étude a eu pour objectif d'établir un procédé de germination des graines d'espèces sélectionnées du genre *Acacia* (*Acacia macrostachya*, *Acacia senegal*, *Acacia dudgeonii*) et d'évaluer les propriétés prébiotiques et probiofilm des extraits gemmothérapeutiques

CHAPITRE I

NOTIONS BIBLIOGRAPHIQUES

1. Notions scientifiques sur le biofilm

1.1. Définition

Un «film» est une couche mince et «Bio» fait référence à la nature vivante. Les biofilms bactériens sont des amas structurés de cellules bactériennes enrobés d'une matrice polymérique et attachés à une surface (**Yannick Tremblay et al., 2014**). Le biofilm protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles (**Yannick Tremblay et al., 2014**).

1.2. Composants structurels des biofilms

Les mécanismes moléculaires qui régulent la formation de biofilm varient considérablement entre les différentes espèces, et varient même entre les différentes souches de la même espèce (**Boubakeur et al., 2020**). Cependant, certaines caractéristiques sont reconnues comme des attributs généraux de la formation du biofilm. Par exemple, tous les biofilms contiennent une matrice extracellulaire qui maintient les cellules ensemble. Cette matrice est souvent composée d'un bio-polymère polysaccharidique avec d'autres composants tels que des protéines ou de l'ADN. La nature de l'exopolysaccharide matriciel varie considérablement en fonction des conditions de croissance, du milieu et des substrats (**Boubakeur et al., 2020**).

1.3. Etapes de formation

Selon **Jouenne (2008)**, la formation d'un biofilm se déroule en cinq grandes étapes, représentées sur la figure 1 :

- étapes 1-2 : des bactéries planctoniques isolées évoluant librement dans un milieu liquide se fixent sur une surface (adhésion réversible) et s'organisent en amas
- étape 3 : les bactéries s'ancrent de façon irréversible sur la surface via des appendices cellulaires et les exopolymères
- étape 4 : le biofilm arrive à maturation, il est traversé par des courants de liquides (nutriments, molécules signal...)
- étape 5 : en fin de maturation, un certain nombre de cellules retournent à l'état planctonique et peuvent former plus loin un nouveau biofilm.

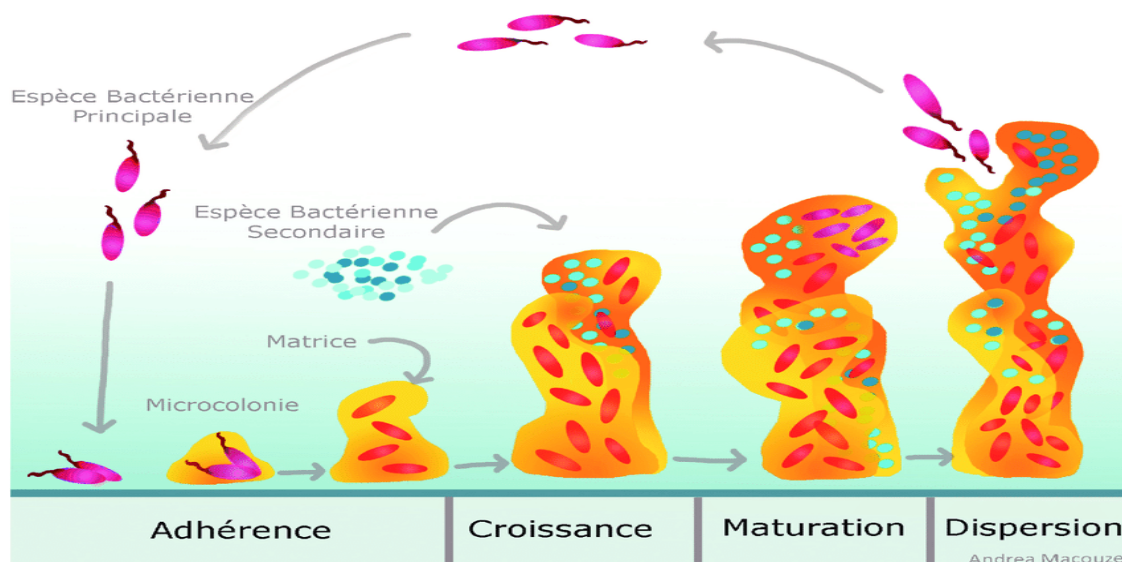


Figure 01.  tapes de la formation d'un biofilm bactérien (Yannick et al., 2014) .

1.4. Biofilm et santé humaine

Les biofilms ont un impact écologique et économique considérable. Ils jouent un rôle dans la survie et la sélection des bactéries dans l'environnement, mais ont aussi de nombreux effets indésirables, notamment en santé publique (Roux et Ghigo, 2006). D'une part, les biofilms sont responsables d'infections chroniques et posent de nombreux problèmes dans le domaine médical. En plus de leur résistance accrue aux antibiotiques, les biofilms sont protégés vis-à-vis du système immunitaire des hôtes infectés. D'autre part, la flore commensale humaine peut être considérée comme un biofilm qui protégée son hôte contre les attaques des bactéries pathogènes (Roux et Ghigo, 2006).

2 Notions scientifiques sur la gemmothérapie

2.1 Définition

La gemmothérapie, également connue sous le nom de phytoembryoth rapie, est une méthode hom opathique moderne de drainage bio thérapeutique utilisant des extraits de divers arbres et arbustes (Raiciu, 2019). La matière première des bourgeons, des pousses émergentes, des graines, des radicules et de la sève est prélevée au moment le plus élevé de la germination annuelle de la plante (Raiciu, 2019). Le terme gemmothérapie provient du latin « gemmae » qui signifie à la fois bourgeon et pierre précieuse et du grec therapeia, soin. Donc, de par son origine étymologique, la gemmothérapie correspond à une méthode de soin par les

bourgeons de plantes. On peut ainsi considérer que la gemmothérapie est une branche de la phytothérapie. De façon plus complexe et détaillée, la gemmothérapie est une méthode thérapeutique qui utilise des bourgeons végétaux (foliaires ou floraux) mais également d'autres tissus embryonnaires vivants en voie de croissance (jeunes pousses, radicules). Ces tissus sont obligatoirement recueillis frais et employés sous forme de macérâtes glycéринés buvables (**Viriot, 2015**).

Aujourd'hui, la gemmothérapie fait appel à deux types de macérâtes : Le macérât glycéринé dilué ; Il s'agit du premier macérât gemmothérapeutique à être développé et le macérât glycéринé concentré ou encore macérât mère ; cette forme gemmothérapeutique est assez récente et ne subit aucune dilution d'où l'appellation de « macérât mère concentré » (**Dursus, 2018**).

L'extrait gemmothérapeutique constitue un véritable concentré d'information ; il renferme tout le génie de l'arbre dont est issu le bourgeon (**Andrienne, 2008**). Le Docteur Pol Henry, dans les années 1960 prouve que ces extraits de bourgeons trouvent leur intérêt dans le domaine thérapeutique puisqu'ils procurent une action lente et profonde sur le système immunitaire. Le premier extrait de bourgeon étudié fût celui du bouleau pubescent. Il démontra que ce macérât glycéринé active les macrophages du foie et permet le drainage des cellules de Kupffer qui avaient stocké du carbone colloïdal (**Dursus, 2018**).

Les graines d'*Acacia* représentent alors des ressources alimentaires potentielles pour la diversification alimentaire, la promotion d'une alimentation saine et la réduction de la vulnérabilité croissante à la famine. Cependant, elles restent des ressources alimentaires de terroirs et sous-exploitées malgré leurs énormes potentielles nutritionnelles.

2.2. Principes actifs en gemmothérapie

Les principes actifs principaux, souvent présents dans les bourgeons, sont les flavonoïdes, les acides phénoliques, les peptides, et les oligosaccharides (**Andrienne, 2008**). Au fil des années, la gemmothérapie s'est avérée efficace dans de nombreuses pathologies, aussi bien aiguës que chroniques. Son action est profonde, ambivalente, de longue durée et démontrable par des investigations para cliniques et de laboratoire. Les extraits gemmothérapeutiques peuvent être administrés en association avec d'autres thérapies, allopathiques ou naturelles, sans interférer avec leur action (**Nițu, 2015**).

3. Notions scientifiques sur les graines d'*Acacia*

Les légumineuses y compris les graines d'*Acacia*, jouent un rôle clé dans l'alimentation traditionnelle des êtres humains à travers le monde. Elles sont d'excellentes sources de protéines, d'amidon, de fibres alimentaires, de micronutriments et de composés bioactifs à faible teneur en matières grasses. Une corrélation inverse est notée entre la consommation de graines de légumineuses et l'incidence de plusieurs maladies chroniques telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'obésité et le diabète et d'autres pathologies liées au stress oxydatif (**Vadivel et al., 2011**). Les avantages des graines de légumineuses sont attribués à la présence de certains composés bioactifs tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins (**Singh et al., 2017**).

3.1 Définition

Le genre *Acacia* est un grand groupe d'espèces ligneuses appartenant à la famille des Fabacées (sous-famille des Mimosacées) et le deuxième plus grand genre de la famille des légumineuses (**Adiamo et al., 2019**). L'*Acacia* comprend plus de 1350 espèces largement réparties dans les régions tempérées chaudes, tropicales et subtropicales du monde telles que l'Australie-Pacifique (993), les Amériques (185), l'Afrique (144) et l'Asie (89) (**Adiamo et al., 2019**). Les graines d'environ 40 espèces d'*Acacia* sont utilisées comme source de nourriture depuis des milliers d'années par les aborigènes d'Australie (**Adiamo et al., 2019**). Les bourgeons et les graines de quelques espèces sont également signalés dans l'alimentation humaine en Afrique et en Asie (**Drabo et al., 2020**).

3.2. Profil nutritionnel

La composition chimique des graines des différentes espèces d'*Acacia* révèle qu'ils peuvent servir des sources alternatives des protéines dans l'alimentation humaine. (**Adiamo et al., 2019**)

Ces graines sont également riches en fibres brutes. La majorité des graines d'*Acacia* contiennent de faibles quantités de graisses et de cendres, similaires à celles que l'on trouve dans la plupart des légumineuses. Les glucides non fibreux sont les principaux macronutriments trouvés dans les graines de quelques espèces d'*Acacia*. Ils sont riches en minéraux, en particulier en potassium, calcium, magnésium et fer, les valeurs variant selon les espèces (**Adiamo et al., 2019**)

3.4. Composés bioactifs

Les graines d'*Acacia*, en plus d'être consommées comme aliment par les humains en raison de leur composition nutritionnelle favorable, sont également riches en composés non nutritifs bioactifs connus sous le nom de composés phytochimiques qui peuvent offrir des avantages pour la santé. Cependant, de l'acide succinique et l'acide gallique ont été trouvés en abondance dans les graines de certaines espèces d'*Acacia* (*A. victoriae*). L'acide gallique est un acide phénolique doté d'une forte capacité antioxydant et a donc été considéré comme une source potentielle d'ingrédients alimentaires fonctionnels (**Sadiq et al., 2015 ; Adiamo et al., 2019**).

Les graines de plantes d'*Acacia* sont considérées comme une bonne source d'antioxydants pour l'homme. Différentes classes de composés bioactifs et antioxydants ont été trouvés dans les graines d'*Acacia* en fonction des espèces et des conditions d'extraction (**Farid et al., 2014 ; Sadiq et al., 2015 ; Adiamo et al., 2019**). Les antioxydants naturellement présents dans les plantes possèdent diverses propriétés biologiques telles que des activités thérapeutiques qui peuvent piéger les radicaux libres et réduire le stress oxydatif à l'origine de diverses maladies cardiovasculaires.

CHAPITRE II

PROPOSITION DE RECHERCHE :

**Effet prébiotique et probiofilm
des extraits
gemmothérapeutiques des
graines d'*Acacia***

1. Thématique de recherche

Les problématiques de santé constituent un enjeu sociétal et économique majeur. Les innovations dans ce domaine font largement appel à de multiples champs disciplinaires. Ce secteur, qui est en rapide et constante évolution, est riche en opportunités de recherche de stratégies innovantes permettant la résolution de ses problèmes. La thématique de recherche innovatrice proposée lors de cette étude permet d'offrir plusieurs solutions aux problèmes de la santé intestinale à travers le développement des stratégies permettant l'amélioration des activités physiologiques des germes bénéfiques tout en réduisant celles des germes nuisibles ou opportunistes constituant la microflore intestinale. L'axe de thématique repose sur une conception globale de la santé qui touche tout particulièrement la cause de principales pathologies humaines, l'altération de l'équilibre du microbiote intestinal. Cette thématique permet d'aborder les enjeux de l'exploitation des biomolécules et des constituants d'origine végétale dans le domaine pharmaceutique et le traitement de la dysbiose intestinale. Les études en ce domaine sont essentielles pour bien répondre aux besoins immédiats et futurs de la société souffrant de cette dysbiose. À la lumière de l'effet considérable que les extraits phénoliques, cas des extraits gemmothérapeutiques, a sur la santé, la qualité de vie et le développement économique, il est peu surprenant de constater la nécessité de bien comprendre ses mécanismes d'action et l'identification de leurs constituants ainsi que l'amélioration de leurs effets positifs afin de donner des solutions durables aux problèmes sanitaires. Les extraits gemmothérapeutiques de trois espèces d'*Acacia* : *senegal*, *macrostachya* et *dudgeonii* pourraient assurer une meilleure activité prébiotique et une grande capacité de formation de biofilm des bactéries lactiques et de garantir ainsi leur survie lors du passage gastro-intestinal et leur implantation au sein du colon ce qui confère à la flore intestinale une meilleure activité et interaction avec son hôte.

2. Hypothèse

Les extraits gemmothérapeutiques de trois espèces d'*Acacia* : *senegal*, *macrostachya* et *dudgeonii* pourraient assurer une meilleure activité probiotique et une grande capacité de formation de biofilm des bactéries lactiques et de garantir ainsi leur survie lors du passage gastro-intestinal et leur implantation au sein du colon ce qui confère à la flore intestinale une meilleure activité et interaction avec son hôte

3.Objectifs du travail

Le rôle protecteur des bactéries lactiques probiotiques contre les agents pathogènes, leurs mécanismes fondamentaux d'action, le caractère GRAS et la diversité de ses métabolites d'intérêt pharmaceutique et sanitaire retiennent une attention particulière. Cependant, ces bactéries ont une faible production de certains métabolites d'intérêt, une résistance extrêmement instable et une capacité de formation de biofilm et d'implantation moins accrue que celles des bactéries néfastes. Cela représente un inconvénient majeur pour leur implantation et intérêt sanitaire. Les biomolécules et tout particulièrement ceux obtenus à partir des plantes d'intérêt médicinal et riche en principes actifs, qui pourraient échapper à la digestion de la partie haute du système gastro-intestinal et atteindre le côlon sous leur forme native et exercer ainsi une action prébiotique au niveau de la microflore colique, pourraient constituer des stratégies innovantes permettant l'amélioration des atouts pharmaceutiques et sanitaires bactéries lactiques probiotiques et par conséquent la flore colique. C'est dans ce contexte que, l'objectif général de ce travail vise l'évaluation de l'efficacité des extraits gemmothérapeutiques de trois espèces d'une plante comestible *Acacia* (*Acacia senegal*, *Acacia macrostachya* et *Acacia dudgeonii*).

Pour ce faire trois objectifs spécifiques ont été fixés :

- ✚ Etablir un procédé de germination des graines d'espèces sélectionnées du genre *Senegalia* (*senegal*, *macrostachya* et *dudgeonii*)
- ✚ Optimiser le procédé de préparation des extraits gemmothérapeutiques : solvant, température et durée d'extraction par macération ;
- ✚ Evaluer les propriétés prébiotiques et probiofilm sur des modèles probiotiques bactériens :
 - ✓ *Streptococcus thermophilus* CNRZ 447 (provenance de France).
 - ✓ *Enterococcus durans* isolé du blé fermenté et identifié par l'ensemble des tests biochimiques et par une empreinte moléculaire (MALDI-TOF) (**Drabo et al., 2019**);
 - ✓ *Pediococcus spp* (provenance de la Turquie).

4. Etablissement d'un procédé de germination des graines d'*Acacia*

Il est le seul objectif spécifique à être accompli. Le travail a été réalisée au sein de laboratoire pédagogique (biochimie) et le laboratoire de recherche de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret dans la période allant de 01 mars 2020 à 23 septembre 2020

CHAPITRE III

Démarches expérimentales proposées

1. Matériels utilisés

1.1. Matériel végétal

Les échantillons des graines d'*Acacia senegal*, *Acacia macrostachya* et *Acacia dudgeonii* ont été récoltés au Burkina Faso (13.09 Nord, 03.12 Ouest) dans la saison Décembre 2018 et les spécimens ont été identifiés au Laboratoire d'Ecologie Végétale de l'Université Joseph Ki-Zerbo. La Figure 02 illustre les différentes graines étudiées.



Figure 02 : Illustration des graines d'*Acacia macrostachya*, *senegal* et *dudgeonii*

1.2. Matériel du laboratoire

Le matériel du laboratoire nécessaire et qui devrait être utilisé pour la réalisation de cette étude est récapitulé dans le tableau N°01 :

Appareils	Verreries et consommables	Produits chimiques et colorants	Autres
- Autoclave	- Bêchers	- Eau distillée	- Papier ver
- Balance	- Tubes à essai	- Eau bouillante	- Tamis
- Chronomètre	- Boites pétries	- Eau oxygénée 16%	- Papier absorbant
- Etuve	- Microplaques	- Ethanol à 99%	- Coton
- Micro-ondes		- Acide Sulfurique 99%	- Bocaux
- Spectrophotomètres		- Milieux de culture	- Gants
			- Micropipettes
			- Porte tubes
			- Seringues
			- Jetables stériles.

Tableau N°01 : Matériel de laboratoire utilisé lors de l'expérimentation

2. Méthodes

2.1. Protocole expérimental

Les démarches expérimentales permettant la réalisation de ce travail sont illustrées dans la figure 03 qui démontre les différents phases à suivre.

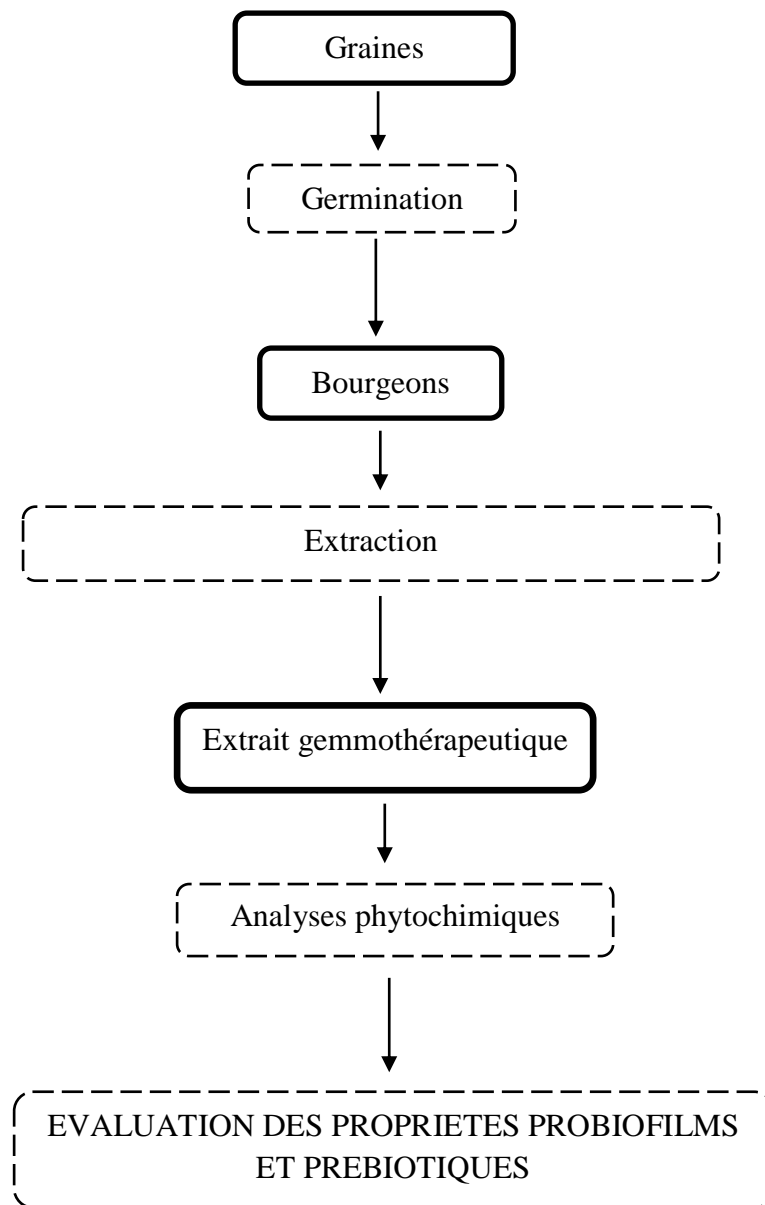


Figure 03 : Protocole expérimental

2.2. Essais d'optimisation du procédé de germination

a. Prétraitement des graines

Les graines ont été désinfectés dans des boîtes de Pétri (9 boîtes pour chaque espèce, soit 10 graines par boîte) tapissées à leur fond d'un papier absorbant

Les graines ont été désinfectées par H₂O₂ (10-30 µl pendant 2 min pour les deux surfaces), rincées par la suite à l'eau distillée et mises dans d'autres boites contenant un papier absorbant puis la désinfection a été effectuée par l'éthanol (10-30µl pendant 2 min pour les deux surfaces), ensuite rincées par de l'eau distillée en utilisant un tamis, et en fin ces graines ont été laissées pour le séchage. Nous avons appliqué les mêmes procédures pour les 3 espèces d'*Acacia*(photo1).



Photo 01. Désinfection des graines

b. Germination

Les traitements suivants ont été appliqués afin de lever la dormance des graines. Neuf (09) boîtes de pétri ont été préparé pour chaque espèce et 10 graines ont été placées.. Ensuite trois procédés de germination ont été effectués :

1. Trempage des graines dans l'acide sulfurique pendant 1 h (pour les 3 boîtes), elles sont retirées de l'acide puis lavées immédiatement à fond dans un courant d'eau distillée pendant quelques minutes afin d'éliminer toute trace d'acide, ensuite on met des gouttes d'eau sur chaque graine et on incube les trois boites chacune à une température différente (70c°, 40c° et 22 °C) (photo 2).

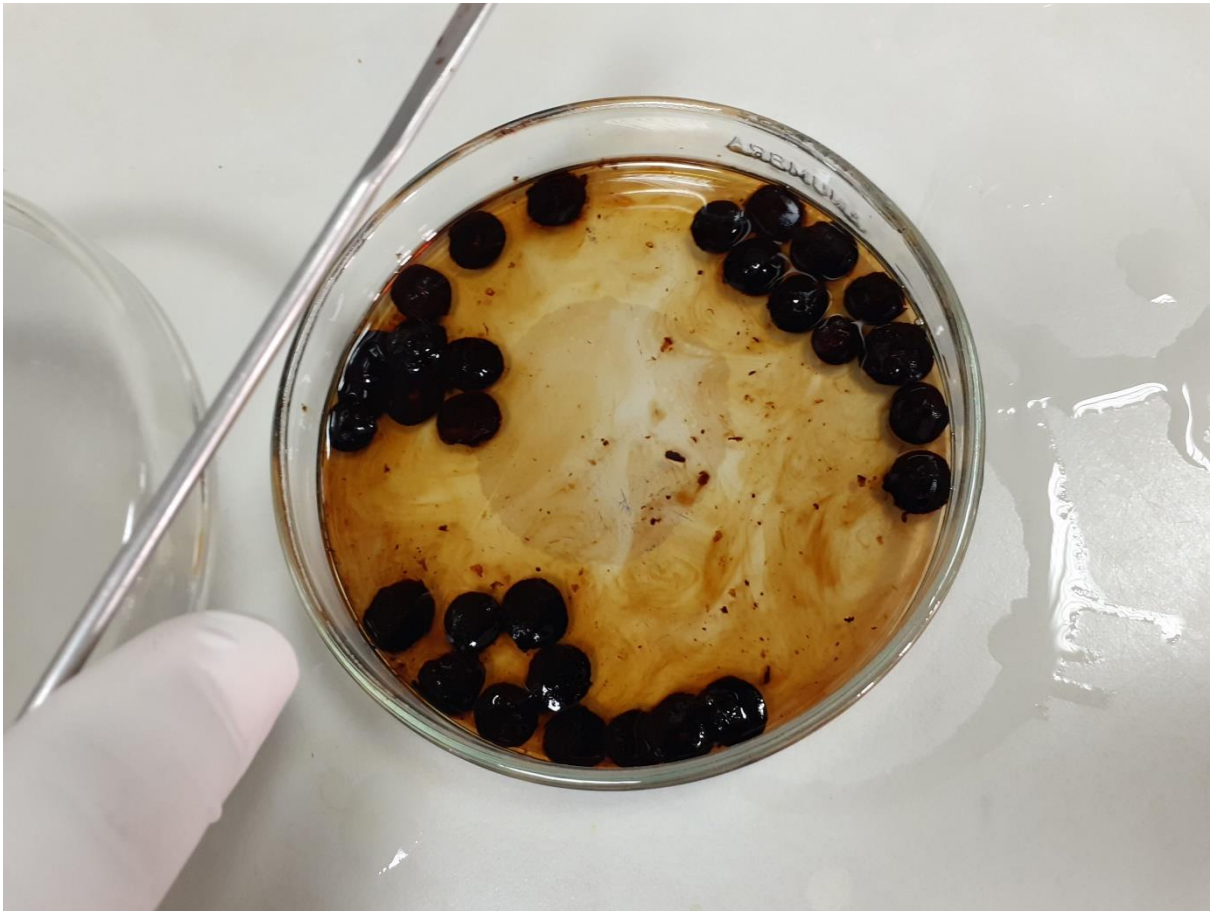


Photo 02. Trempage des graines dans l'acide sulfurique.

2. Trempage des graines dans de l'eau bouillante pendant 1 h (pour les 3 boîtes) ensuite on met des gouttes d'eau sur chaque graine et on incube les boîtes à différentes températures (70°C, 40°C et la température de laboratoire (22°C)) (photo 3).

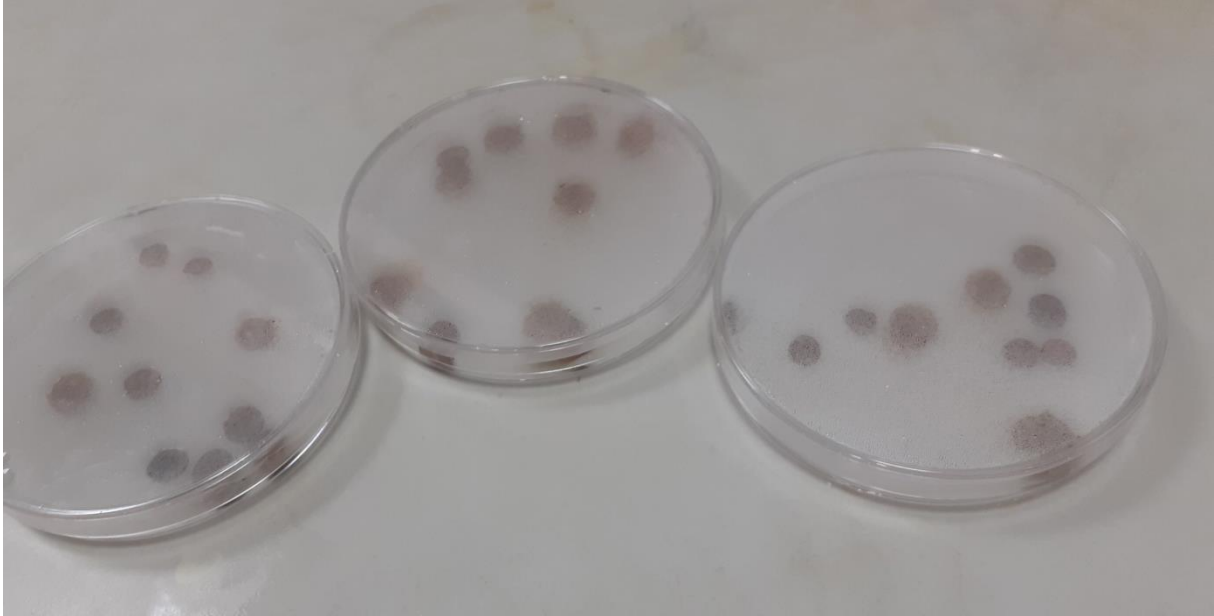


Photo 03. Trempage des graines dans de l'eau bouillante

3. Scarification manuelle des graines (pour les 3 boîtes qui restent) à l'aide d'un papier abrasif, ensuite l'ajout des gouttes d'eau sur les graines puis l'incubation des boîtes à des températures différentes (40 °C et 22 °C).

NB : le traitement a été fait pour les trois espèces d'*Acacia* et une humidification a été précédée chaque jour en ajoutant à l'aide de la micropipette des gouttes d'eau distillée chaque jour jusqu'à la germination des graines.

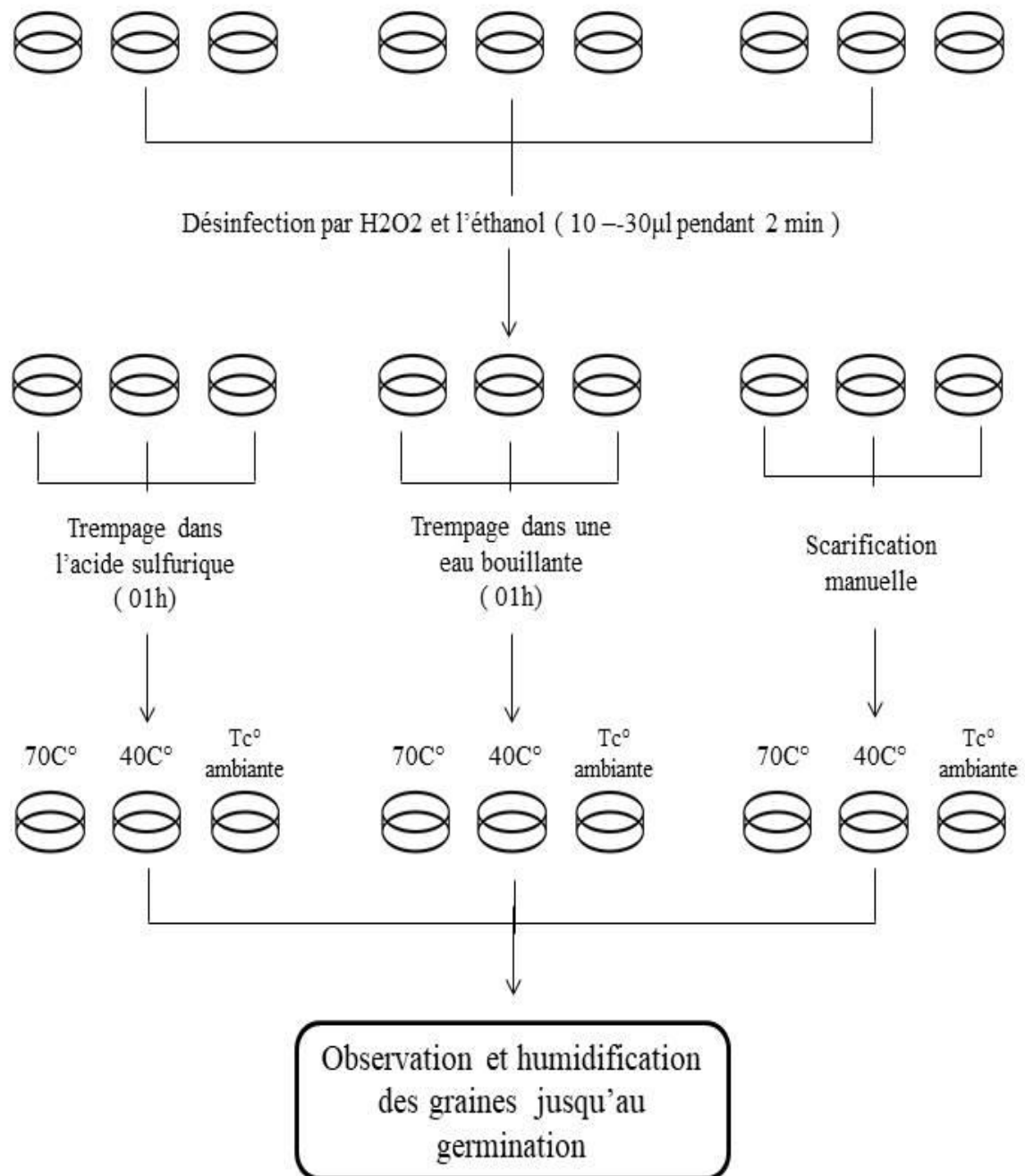


Figure 04 : schéma récapitulatif des prétraitements appliqués et les conditions de germination

2.2.1. Résultats de l'optimisation du procédé de germination

Les résultats de l'effet de la scarification mécanique, le choc thermique et l'abrasion acide sur l'aptitude germinatives des graines de *A. senegal*, *macrostachya* et *dudgeonii* sont présentés comme suit dans les figures 05, 06, 07 :

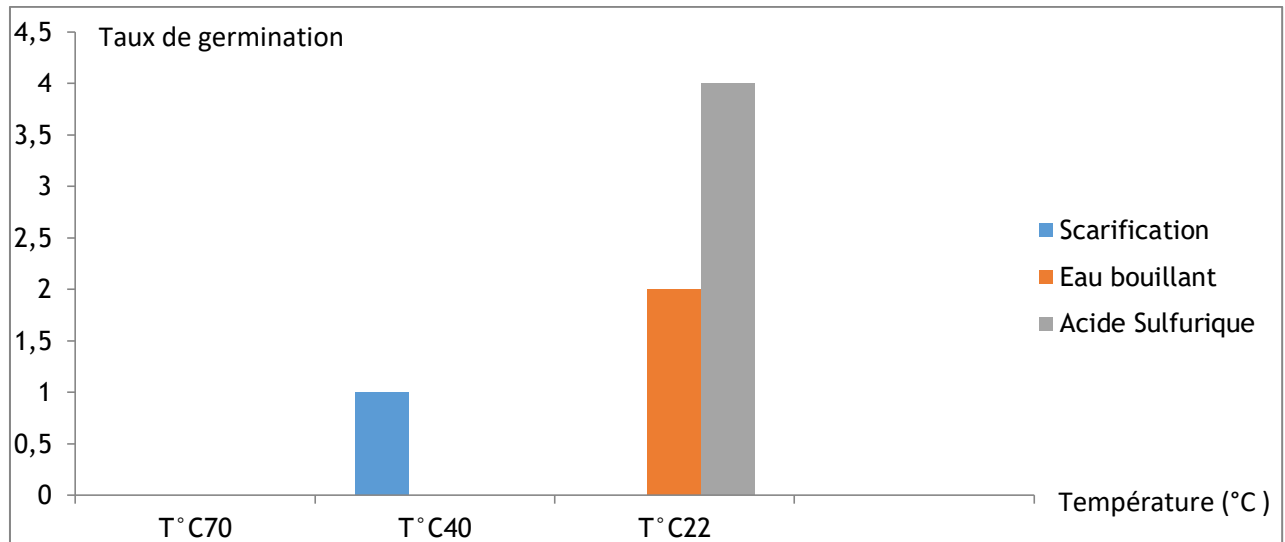


Figure 05 : Effet de scarification mécanique, le choc thermique et l'abrasion acide sur le taux de germination d'*A. macrostachya*

La germination des graines d'*A. macrostachya* s'est produite à deux températures :

- A 44°C avec un taux de germination de 10% pour le traitement manuelle (Scarification) des graines. Aucune germination n'est enregistrée aux autres procédés à cette température.
- 22°C avec un taux de germination de 20% pour le traitement avec de l'eau bouillante et 40% pour le traitement avec de l'acide sulfurique. Le procédé de scarification n'a pas permis une germination.

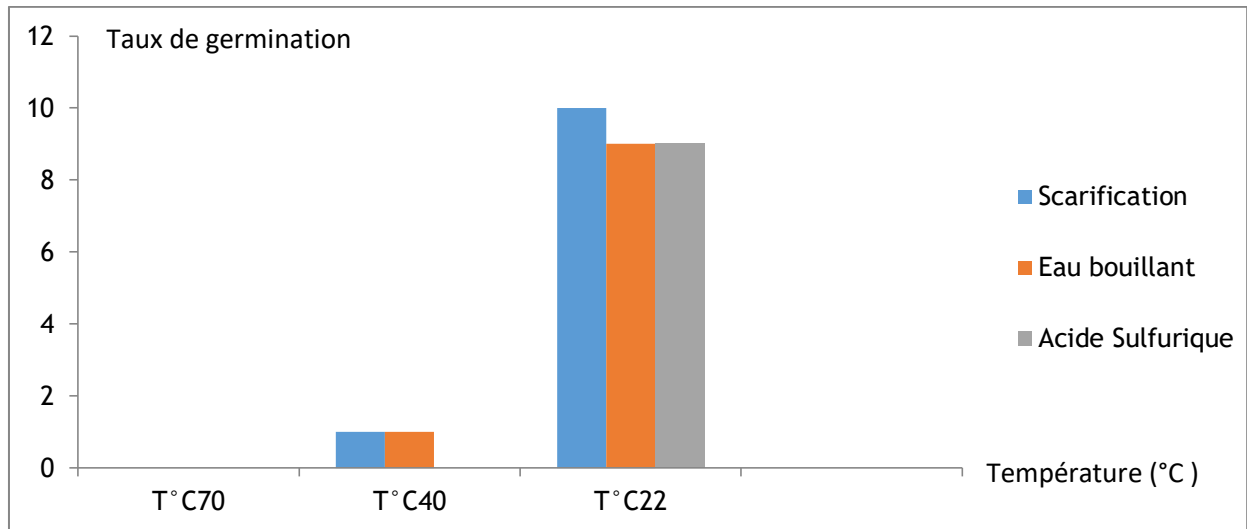


Figure 06 : Effet de scarification mécanique, le choc thermique et l’abrasion acide sur le taux de germination *A. dudgeonii*

La germination des graines d’*A. dudgeonii* s’est produite dans les deux températures :

- 44°C avec un taux de germination de 10% pour le traitement manuelle (scarification) des graines et 10% pour le traitement avec de l’eau bouillante.
- 22°C avec un taux de germination de 100% en utilisant le procédé de scarification manuelle et 90% pour le traitement avec de l’eau bouillante et 90% pour le traitement avec de l’acide sulfurique.

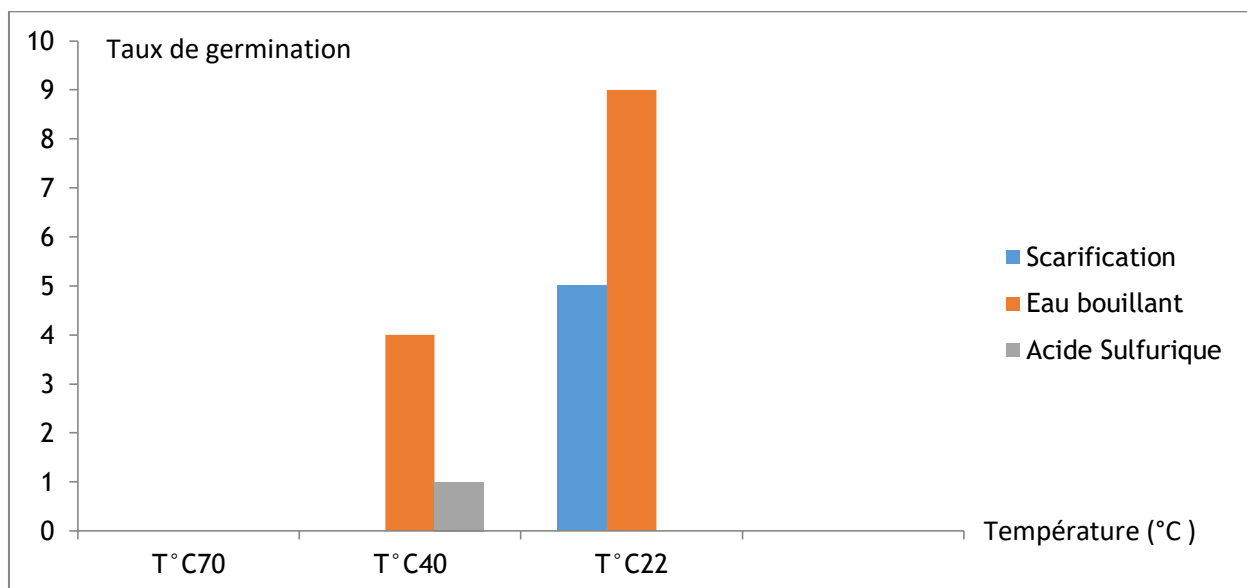


Figure 07 : Effet de scarification mécanique, le choc thermique et l’abrasion acide sur le taux de germination *A. senegal*

La germination des graines d'*A. senegal* s'est produite à deux températures :

- 44°C avec un taux de germination de 40% pour le traitement manuelle (scarification) et 10% pour le traitement avec de l'acide sulfurique.
- 22°C avec un taux de germination de 50% pour le traitement manuelle (scarification) et 90% pour le traitement avec de l'eau bouillante.

La germination des variétés des graines d'*Acacia* (*A. macrostachya*, *A. dudgeonii*, *A. senegal*) n'est observée qu'à des températures de 22°C et 40°C avec des taux de germination variés (germination après 5 jours). En comparaison, aucune germination n'a eu lieu à 70°C. Pour toutes les températures auxquelles la germination a eu lieu, il n'y avait pas de différence notable dans le temps nécessaire pour atteindre la germination maximale, qui a duré en moyenne 5 jours. Toutes les graines non germées étaient brunes et marquées comme non viables.

La Température optimale déduite pour la germination des trois variétés (*macrostachya*, *dudgeonii*, *senegal*) des graines d'*Acacia* est 22°C. Ce qui est cohérent avec les résultats trouvés par **(Reichman et al., 2006)**, qui ont étudiés l'effet de la température sur *Acacia harpophylla* où la germination optimale a été observée à des températures de 15 à 38°C, et aucune germination au-delà de 45°C **(Reichman et al., 2006)**,

On ce qui concerne les traitements effectués pour les essais d'optimisations du procédé de germination, le traitement avec de l'eau bouillante sur les deux variétés ; *Acacia dudgeonii*, *Acacia senegal* a montrés des taux de germination importants 90% (pour les deux) sauf pour *Acacia macrostachya* le taux obtenue est 20% ou la mortalité des graines attribuable au sur-traitement est plus observée, données confirmées par l'étude effectuée de **(Clemens et al., 1977)** en étudiant l'effet des traitements des graines sur la germination d'*Acacia* , ils ont montrés que les taux de germination élevées sont obtenue avec un traitement à l'eau bouillante à 80°C et 100°C pour tous les variétés des graines d'*Acacia* étudiées (*A. falcata* , *A. myrtifolia* , *A. longifolia* , , *A. terminalis*) , sauf *A. suaveolens* . En général, un traitement de 80°C pour des durées allant de 1 à 10 min fournit des conditions optimales pour surmonter la dormance, Il est intéressant de spéculer si un temps de traitement moins ou long à 100° C donnerait un taux plus élevé pour cela plus d'essais sont nécessaire.

Selon (**Burrows et al., 2009 ; Ghassali et al., 2012**) la scarification chimique par l'acide sulfurique concentré donne des taux de germination élevées par rapport à la scarification à l'eau bouillante ou la scarification manuelle avec le papier verre, ce qui confirme les résultats de germination obtenue dans le cas de *A. macrostachya*, mais ce n'est pas le cas en ce qui concerne *A. dudgeonii* et *A. senegal* probablement dû au type de dormance caractérisant cette espèce. Le seuil et le type de dormance diffère d'une espèce à l'autre (**Bradford et al, 2008**), ce qui expliquerait nos résultats.

Les graines des trois espèces étudiées ont présentés des comportements variées vis-à-vis le traitement à l'acide sulfurique au moment de leur germination. Ce qui est cohérent au résultats trouvé par (**Kheloufi et al., 2017**) qui ont montré que les effets du traitements sont très significatifs sur la vitesse et le temps moyen de germination de (*A. cyanophylla*, *A. farnesiana*, *A. decurrens*).

En récapitulant, les résultats obtenus mettent en évidence l'importance de l'effet du prétraitement dans la germination des graines. La dormance des graines a une relation avec l'espèce et varie selon le stade de maturité des graines et le degré de séchage des graines (**Li et al., 2013**). Ainsi, le prétraitement doit être ajusté en fonction de l'état de dormance des graines (**Azad et al., 2010**).

2.3. Préparation des extraits gemmothérapeutiques

Plusieurs travaux, qui ont été réalisés dans le sens d'optimisation des procédés d'extraction de ces métabolites, ont montrés que le rendement et la composition des extraits est fortement influencé par la technique, le solvant, la température et la durée d'extraction (**Jordan et al., 2009 ; Khan et al., 2010 ; Da portor et al., 2013 ; Boubakeur et al., 2016**). Ainsi le but de ce test est l'optimisation du solvant et de la durée d'extraction des molécules bioactives à partir des graines germées des trois espèces :

- ✚ Selon le protocole de **Boubakeur et al., (2016)**. un macérât sensé être préparé en utilisant un mélange du solvant : 30% d'eau distillée, 70 % du méthanol (à 80°)
- ✚ Selon le protocole de Douma et al (2019), un macérât sensé être préparé en utilisant un mélange du solvant : 70% d'eau distillée, 10 % du méthanol (à 99%), 20% de glycérine

Les deux protocoles de macération devraient être testés à deux différentes durées : 7 jours et 21 Jours (durées optimisées par **Douma et al., (2019)**).

Trois paramètres devraient être pris en considération pour la sélection du meilleur extrait qui devrait être choisi pour l'activité prébiotique et probiofilm : rendement d'extraction, la teneur en polyphénols et la teneur en flavonoïdes (**Boubakeur et al., 2016**).

2.4. Evaluation de l'effet prébiotique et probiofilm des extraits

Pour l'évaluation de l'effet prébiotique et probiofilm, les protocoles décrits par (**Boubakeur et al., 2015 ; Boubakeur et al., 2016 ; Boubakeur et al., 2020 ; Khadem et al., 2020**) devraient être adoptés respectivement pour l'effet de l'extrait gemmothérapeutique sur la croissance, l'effet sur l'agrégation, effet sur le biofilm total et l'effet sur la production des EPS selon les démarches ci-dessous :

- ✚ Effet sur la croissance : une cinétique de croissance des candidats probiotiques est proposée en présence de l'extrait sur milieu liquide. La croissance devrait être mesurée après 12, 24 et 48h

- ✚ Effet sur l'agrégation : une décantation d'une culture des bactéries préalablement réalisée en présence de l'extrait devrait être utilisée. Après récupération et lavage de la biomasse bactérienne, une décantation devrait être suivie pendant 5h à la température de laboratoire. L'agrégation devrait être mesurée en pourcentage par rapport à la densité initiale (avant décantation) et la densité optique prise après chaque heure de décantation

- ✚ Effet sur le biofilm total : une culture des bactéries probiotiques de 24h en présence de l'extrait gemmothérapeutique devrait être effectuée en milieu liquide sur tubes à essais. Après incubation, les cultures devraient être jetées et les tubes devraient être lavés et colorés au cristal violet. Une coloration plus au moins foncée indique une bonne formation du biofilm. Pour la mesure du biofilm, un détachement des bactéries adhérentes à la surface des tubes et colorées devrait être réalisé en utilisant un solvant de détachement (acide citrique à 30%) et une lecture de la densité optique devrait être réalisée à une longueur d'onde optimisée pour chaque bactérie.

- ✚ Effet sur la production des exopolysaccharides : une extraction par précipitation à l'éthanol et un dosage des sucres totaux devraient être réalisés à partir des cultures de bactéries faites en présence des extraits gemmothérapeutique sélectionnés des trois espèces d'*Acacia*. En utilisant une courbe d'étalonnage (préalablement préparée par le glucose comme standard), la quantité des EPS produites en présence des extraits est déterminée pour chaque bactérie.

CHAPITRE IV

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Conclusions et perspectives

Les résultats préliminaires de cette proposition de recherche indiquent que les graines d'*Acacia* répondent différemment aux traitements pour la levée de la dormance. Cela suggère que pour l'optimisation de la germination, le type de dormance des graines devraient être préalablement identifié. Ce travail permettra alors de reformuler les procédés d'optimisation de la germination des différentes graines.

Malheureusement, dans le contexte de la crise sanitaire que connaît le monde et l'Algérie, la recherche n'a pas pu être finalisée. Par conséquent ce travail a été reformulé sous forme de proposition de recherche et propose des pistes de correction du projet.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

- **Abdel-Farid I.B., Sheded M.G., Mohamed E.A., (2014).** Metabolomic profiling and antioxidant activity of some Acacia species. Saudi Journal of Biological Sciences. Vol 21(5). Pages 400-408. DOI: [10.1016/j.sjbs.2014.03.005](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.03.005)
- **Adiamo., Michael E., Netzel L.C., Hoffman Y.S., (2019).** Acacia seed proteins: Low or high quality? A comprehensive review in food science and food safety. DOI/ [10.1111/1541-4337.12508](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12508)
- **Azad MS, Zedan-Al-Musa M, Matin MA (2010).** Effects of pre-sowing treatments on seed germination of *Melia azedarach*. 21:193-196. <https://doi.org/10.1007/s11676-010-0031-1>

B

- **Boubakeur B., Drabo S.M., Khadem H., Savadogo A., (2020).** Antimicrobial, antibiofilm, and probiofilm effects of gallic acid on exopolysaccharide-dependent and -independent biofilm of model strains *Streptococcus thermophilus* CNRZ 447 and *Staphylococcus aureus* ATCC 43300. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* (article en revision).
- **Benbrahim ., Berrada., Abdellah., (2014).** Les acacias : des plantes fixatrices d'azote prometteuses pour le développement durable des zones arides et semi-arides. Corpus id : 83253219 <https://www.semanticscholar.org/paper/Les-acacias%3A-des-plantes-fixatrices-d%27azote-pour-le-Benbrahim-Berrada/43a7f0e59a90245ceeeabeca7570b0cd7c4be262>.
- **Boubakeur B., Tirtouil A., Meddah B., et Khadem H., (2015).** The evaluation of the effect of synthetic flavonoids on growth of pathogenic and probiotic bacteria. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2015, 7(10):228-236.
- **Boubakeur. B., Tirtouil A., Khadem H., Meddah B., Ahcen. S. (2016).** An Assessment of the Effect of Aqueous Extract from *Thymus fontanesiion* Growth, Aggregation and Biofilm Formation of Pathogenic and Probiotic bacteria. *J. Appl. Environ. Biol. Sci.*, 6(7)51-60.
- **Bradford K. J., Benech-Arnold R. L., Côme D., & Corbineau F., (2008).** Quantifying the sensitivity of barley seed germination to oxygen, abscisic acid, and gibberellin using a population-based threshold model. *Journal of Experimental Botany*, 59(2), 335–347. doi:10.1093/jxb/erm315
- **Burrows G. E., Virgona, J. M., & Heady R. D., (2009).** Effect of boiling water, seed coat structure and provenance on the germination of *Acacia melanoxylon* seeds. *Australian Journal of Botany*, 57(2), 139. doi:10.1071/bt08194.

C

- **Clemens J., Jones P.J., et Gilbert N.H., (1977).** Effect of Seed Treatments on Germination in *Acacia* DOI:[10.1071/bt9770269](https://doi.org/10.1071/bt9770269)

D

- **Da Porto C., Porretto E., et Decorti D., (2013).** Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(4), 1076–1080. doi:10.1016/j.ultsonch.2012.12.002.
- **DOUMA ML ., NOUGAL F ., MEHDAOUI L., (2019)** Investigation de l'activité prébiotique des extraits polyphénolique des graines de fenugrec: Effet sur les caractéristiques membranaires et adhésives des bactéries lactiques
- **Drabo, S. M., Hafidha, K., Benatmane N., Ouhab A ., Zohra M. F., Soualmi K., et Badra, B., (2019).** Qualité microbiologique du blé dur fermenté de Matmor Hamoum : Indispositions digestives , microflore avantageusement technologique et potentiels pathogènes. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 27(1), 11–18.
- **Drabo, M. S., Shumoy H., Cissé H., Parkouda, C., Nikiéma F., Ismail, O., et Raes K., (2020).** Mapping the variability in physical, cooking and nutritional properties of Zamnè, a wild food in Burkina Faso. *Food Research International* (Accepté pour publication).
- **Dupont (2001).** Probiotiques et Prébiotiques. *Journal de Pédiatrie et de Putriculture*. Volume 14, Issue 2, Pages 77-81. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0987798301800153>
- **Dursus (2018).** La gemmothérapie appliquée aux pathologies ostéo-articulaires fréquemment rencontrées à l'officine. UNIVERSITE DE BORDEAUX <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01714565>

E

- **Eduardo J., Schiffrin P.M., Dominique B., (2014).** *Intestinal Microbiota in Health and Disease: Modern Concepts*. Taylor and Francis group. 345.

F

- **Fernandez C., Voiriot S., Mévy J.P., Vila B., Ormeño E., Dupouyet S., et Bousquet-Mélou A., (2008).** Regeneration failure of *Pinus halepensis* Mill.: The role of autotoxicity and some abiotic environmental parameters. *Forest Ecology and Management*, 255(7), 2928–2936. doi:10.1016/j.foreco.2008.01.072.

G

- **Ghassali F., Salkini A.K., Petersen S.L., Niane A.A.Z., Louhaichi M., (2012).** Germination dynamics of Acacia species under different seed treatments. Range Manag Agrofor 33:37-42.
<http://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:rma&volume=33&issue=1&article=007>
- **Goulet O., (2009).** La flore intestinale : un monde vivant à préserver. Journal de Pédiatrie et de Puériculture, 22(3), 102–106. doi:10.1016/j.jpp.2009.03.007.

J

- **Jordán M. J., Martínez, R. M., Martínez C., Moñino I., et Sotomayor J.A., (2009).** Polyphenolic extract and essential oil quality of *Thymus zygis* ssp. *gracilis* shrubs cultivated under different watering levels. Industrial Crops and Products, 29(1), 145–153. doi:10.1016/j.indcrop.2008.04.021.
- **Jouadi w., Mechergui K., Ammari Y., Hamrouni L., Hanane M., Khouja M.L., (2016).** Étude ethnobotanique et ethnopharmacologique d'*Acacia tortilis* (Forssk) Hayne subsp. *raddiana* (Savi) de la steppe arborée du Nord de l'Afrique. *Phytothérapie*, volume 14, pages285–292(2016).
- **Jribi S., Chabbouh M., Sassi K., Sfayhi D., Marzougui S., Amara H., Debbahi H., (2018).** La germination, un bioprocédé au service de l'industrie agro-alimentaire?. *Journal of new sciences*. Volume 57 (5), E-ISSN 2286-5314.

K

- **Khadem H., Meddah T.A., Drabo M.S., Boubakeur B., (2020).** Ultrasound conditioning of *Streptococcus thermophilus* CNRZ 447: growth, biofilm formation, exopolysaccharide production, and cell membrane permeability. *BioTechnologia* vol. 101 (2) C pp. 159–165. <http://doi.org/10.5114/bta.2020.94774>.
- **Khan M.K., Abert-Vian M., Fabiano T.A.S., Dangles O., et Chemat F., (2010).** Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*, 119(2), 851–858. doi:10.1016/j.foodchem.2009.08.046
- **Kheloufi A., Mounia Mansouri L., et Boukhatem Z.F., (2017).** Application and use of sulphuric acid pretreatment to improve seed germination of three acacia species. *REFORESTA*, (3), 1. doi:10.21750/refor.3.01.25.

L

- **Li H., Li X., Zhang D., Liu H., Guan K., (2013).** Effects of drought stress on the seed germination and early seedling growth of the endemic desert plant *Eremosparton songoricum* (Fabaceae). DOI: 10.17877/DE290R-5581.
- **Lopez D., Vlamakis H., et Kolter R., (2010).** Biofilms .Département of Microbiology and Molecular Genetics, Harvard Medical School, DOI: 10.1101/cshperspect.a000398.

M

- **Milliot-Stoclin (2015)**. Les probiotiques : VENI VIDI MICI. Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille. <https://pepite-depot.univ-lille2.fr/nuxeo/site/esupversions/4ba334c9-6c3e-4c77-b5bc-2f0413185a36>.
- **Mozzi (2016)**. Lactic Acid Bacteria. Encyclopedia of Food and Health, 501–508. DOI:10.1016/b978-0-12-384947-2.004141

N

- **Nițu (2015)**. The effectiveness of gemmotherapy in current medical practice. Arad Medical Journal.

P

- **Andrienne P., (2008)**. Medicine Phytothérapie La gemmothérapie : passé , présent et avenir. DOI:10.1007/s10298-008-0282-6.

R

- **Raiciu (2019)**. Gemmotherapy—Modern Medicine. Priorities of Chemistry for a Sustainable Development-PRIOCHEM DOI:10.3390/20190290117.
- **Reichman ., Bellairs., et Mulligan (2006)**. The effects of temperature and salinity on *Acacia harpophylla* (brigalow) (Mimosaceae) germination DOI: 10.1071/RJ06027
- **Roux A., et Ghigo J.M., (2006)**. Les biofilms bactériens. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, (1), 261. doi:10.4267/2042/47842.

S

- **Sadiq M. B., Hanpithakpong W., Tarning J., et Anal A.K., (2015)**. Screening of phytochemicals and in vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of leaves, pods and bark extracts of *Acacia nilotica* (L.) Del. Industrial Crops and Products, 77, 873–882. doi:10.1016/j.indcrop.2015.09.067.
- **Savado A., et Traore A., (2012)**. La flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et laits fermentés. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 5(5), 2057. doi:10.4314/ijbcs.v5i5.28.

T

- **Thierry J., (2008)**. Biofilms bactériens. Ref : bio600 v3 <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/concepts-equipements-et-reglementations-des-biotechnologies-42164210/biofilms-bacteriens-bio600/>.

V

- **Vadivel, V., Stuetz, W., Scherbaum, V., & Biesalski, H. K. (2011).** Total free phenolic content and health relevant functionality of Indian wild legume grains: Effect of indigenous processing methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 935–943. doi:10.1016/j.jfca.2011.04.001.
- **Viriot., Anne-Claire., (2015)** Un point sur la gemmothérapie en 2012. Université Toulouse III – Paul Sabatier. <http://thesesante.ups-tlse.fr/754>.

Y

- **Yannick D.N.T ., Hathroubi S., Jacques M ., (2014).** Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. <https://www.researchgate.net/publication/263610777>.

ANNEXES

Annexe

Illustrations des graines après 5 jours de germination :**1. Germination de *A. senegal* traiter par l'eau bouillante incubé a 40 °C****2. Germination de *A. senegal* traiter par l'acide sulfurique incubé à 40 °C****3. Germination de *A. senegal* traiter par la scarification manuelle incubé à 40 °C**

4. Germination de *A. senegal* traiter par l'eau bouillante incubé à 22 °C



5. Germination de *A. senegal* traiter par la scarification manuelle incubé à 22 °C



6. Germination de *A. senegal* traiter par l'acide sulfurique incubé à 22 °C



7. Germination de *A. dudgeonii* traiter par l'acide sulfurique incubé à 22 °C



8. Germination de *A. dudgeonii* traiter par l'eau bouillante incubé à 22 °C



9. Germination de *A. dudgeonii* traiter par la scarification manuelle incubé à 22 °C



10. Germination de *A. dudgeonii* traiter par l'acide sulfurique incubé à 40 °C



11. Germination de *A. dudgeonii* traiter par l'eau bouillante incubé à 40 °C



12. Germination de *A. dudgeonii* traiter par la scarification manuelle incubé à 40 °C



13. Germination de *A. macrostachya* traiter par la scarification manuelle incubé à 22 °C



14. Germination de *A. macrostachya* traiter par l'eau bouillante incubé à 22 °C



15. Germination de *A. macrostachya* traiter par l'acide sulfurique incubé à 22 °C



16. Germination de *A. macrostachya* traiter par la scarification manuelle incubé à 40 °C



17. Germination de *A. macrostachya* traiter par l'acide sulfurique incubé à 40 °



18. Germination de *A. macrostachya* traiter par l'eau bouillante incubé à 40 °

