

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun–Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Présenté par :

BEKKOUCHE Mokhtaria

BOUZEKRI Amira

GHASSIL Aicha

Thème

**Valorisation des substances bioactifs obtenues
des galles des feuilles du Pistachier de l'atlas et
optimisation du procédé de leur extraction**

Soutenu le

Jury:

Président:...MEZOUAR D

Encadrant: MOKHFI F.Z .

Co-encadrant: SAID AEK

Examineur 1: FETTOUHI B

Grade

MCB Faculté SNV

MCB Faculté SNV

Ingénieur de laboratoire

MCB Faculté SNV

Année universitaire 2020-2021

Remerciment

Notre remerciement vont à nôtre la directrice de ce mémoire **Mme Mokhfi Fatima Zohra** pour avoir accepté de diriger ce travail, qu'elle trouve ici, l'expression de nous profonde reconnaissance, nôtre immense gratitude et notre grand respect, pour tous ses efforts, son savoir, ses idées, sa confiance et ses encouragements.

Nos sincères remerciements vont également à **DR Mezouar et DR Fettouhi**, qui ont voulu examiner ce manuscrit et juger ce modeste travail.

Nous 'aimerons remercier toutes les personnes ayant participés de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire et plus particulièrement :

Notre Co-encadrant **Saïd Abdelkader** pour son aide, ses encouragements et ses orientations.

Nous remercions également toute l'équipe de laboratoire de l'université d'Ibn Khaldoun – Tiaret pour avoir assuré la partie théorique de celle-ci.

Le seul mot qui vient à la tête est :

Merci infiniment.

Recevez à travers ce travail l'expression de notre profonde gratitude.

DÉDICACE

Un seul mot, usé, mais qui brille comme une vieille pièce de monnaie :
merci !

Car

La reconnaissance est la mémoire du cœur

Je dédie ce modeste travail à :

Ma chère mère Merci de m'avoir soutenu tant moralement que matériellement pour que je puisse atteindre mon but, et de tes prières pour moi.

A mon cher père qui a toujours souhaité ma réussite et qui m'a permis d'atteindre mes objectifs dans mes études et dans ma vie .

Mes frères, mes sœurs, que la solidarité que nous cultivons ne s'estompe jamais.

Mes amies et a toutes personnes ayant contribué de près ou de loin pour la réalisation de cette mémoire.

AMIRA

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père **KHALED**. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.*

*A ma très chère mère **HACHEMI FATIHA** Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurais 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.*

*A mes chères sœurs **OUM-ELKHAIR, SARAH ET HADJER** et mon frère **TAYEB** qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.*

*A mes tantes : **HOURIA et KHALDIA**.*

*A mes adorables : **INES, SAMIRA, ASMA ET SABRINA** Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.*

*Sans oublier mes chéries **AMIRA et MOKHTARIA** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

A toute ma famille,

A tous mes autres ami(e)s,

Aicha

Dédicace

JE DEDIE CE TRAVAIL A :

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père Mohamed. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

Ma très chère mère que je prie dieu de, nous la gardes pour une longue vie

A ma très chère grand-mère

A mes braves frères

A Mjeded. S

...MOKHTARIA

Table de matières

IntroductionI

Chapitre I :Généralités sur le Pistachier de l'Atlas)

1 Généralités.....3

1.1. Généralités sur le genre Pistacia3

1.2. Généralité sur le pistachier de l'atlas3

1.3. Systématique4

1.4. Habitat4

1.5. Description morphologique5

1.5.1. Les feuille6

1.5.2. Les fleurs6

1.5.2.1. La fleur mâle6

1.5.2.2. La fleur femelle7

1.5.4. Racine7

1.6. Ecologie et aire de répartition8

1.7. Utilisation de l'arbre8

1.8. Ennemis du pistachier de l'Atlas9

Chapitre 2: Molécules actifs

2.1. Phytothérapie10

2.2. La phytothérapie en Algérie10

2.3. Les avantages de la phytothérapie11

2.4. Transformation des plantes médicinales.....	11
2.5. Métabolites secondaires	11
2.5.1. Classification des métabolites secondaires	12
2.5.1.1. Les composés phénoliques	12
 a. Les acides phénoliques	12
 b. Les flavonoïdes	12
 c. Les tanins	13
 d. Les coumarines	13
 e. Les anthocyanes	13
2.5.12. Les composés azotés (les alcaloïdes)	14
2.5.1.3. Les terpénoïdes (isoprénoïdes)	15
2.6. Extrait végétaux	15
2.6.1. Les extraits fluides	15
2.6.2. Les extraits mous ou fermes	16
2.6.3. Les extraits secs	16
2.7. Méthode d'extraction	16
2.7.1. Enfleurage et Macération	16
2.7.2. Expression	16
2.7.3. Distillation.....	16
2.7.4. L'entraînement à la vapeur sèche	17
2.7.5. L'extraction aux solvants volatils	17
2.7.6. L'extraction au CO2 supercritique.....	17

Chapitre 03 : (Partie expérimentale)

3. Matériels et Méthodes	18
3.1. Souches bactérienne	18
3.2. Matériel végétale	18
3.2.1. Récolte et séchage broyage	18
3.3. Préparation des extraits secs	19
3.3.1. Extraits aqueux	19
3.3.2. Extrait éthanolique	19
3.3.3. Extrait méthanoliques	20
3.3.4. Solubilisation des extraits a testé	20
3.4. Etude de l'activité antibactérienne	21
3.4.1. Préparation du milieu de culture	21
3.4.2. Préparation de l'inoculum bactérien	21
3.4.3. Ensemencement	22
3.4.5. Application des disques	22

Chapitre 4 : Résultats et discussion

4. Résultats 54	
4.1. Rendement en extrait	24
4.2. Activité antibactérienne	25
4.2.1. Activité antibactérienne des extraits aqueux des galles d pistacher de l'Atlas	25
4.2.2. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques des galles d pistacher de l'Atlas	25
4.2.3. Activité antibactérienne des extraits éthanoliques des galles d pistacher de l'Atlas	26
4.2.3. Comparaison entre l'effet Antibactérien des trois extraits	27

4.3. Discussion28

Conclusion.....30

Liste des figures

Figure N° 01 : Répartition des espèces du genre pistacia donne le monde (Tingshuang et al.,2008)

Figure N° 02 : feuilles du pistachier de l'Atlas .

Figure N° 03 : fruit du pistachier d' Atla .

Figure N° 04 : galles sur les feuilles du pistachier de l'Atlas .

Figure N° 05 : les différents composés phénoliques .

Figure N° 06 : récolte, séchage et broyage des Galles .

Figure N° 07 : préparation d' extraits aqueux .

Figure N° 08 : préparation de l'extrait méthanoïque et éthanolique .

Figure N° 09 : les extraits secs .

Figure N° 10 : solubilisation des extraits .

Figure N° 11 : ensemencement par écouvillonnage .

Figure N° 12 : application des disques .

Figure N°13 : les taux de rendement des trois méthodes d'extraction.

Figure N°14 : diamètre des zones d'inhibitions des deux souches bactériennes en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique.

Figure N°15 : diamètre des zones d'inhibition des deux souches bactérienne en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique.

Figure N °16 : diamètre des zones d'inhibition des deux souches bactérienne en fonction des concentrations des trois extraits.

Index des abréviations

% : pour cent

mm : millimètre

T : Température.

DMSO : Diméthylsulfoxyde

EC : Bactérie Escherichia coli

Stap : Bactérie staphylococcies

°C : degré sers use

Introduction

Introduction :

De nos jours l'être humain veut retourner à ses origines naturelles et explorer les bienfaits de la nature mais dans un cadre scientifique à l'aide d'une base végétale. Parmi c'est végétaux les plantes médicinales, qui sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine, voire animale. Avant des années, l'utilisation des plantes médicinales fut le principal recours pour Guérir l'homme. Cette utilisation est généralement adaptée aux pathologies légères, en visant un traitement symptomatique. . (GILLES W., 1976, ISERIN P., 2001)

Il y'a environ 500 000 plantes sur terre, 100 000 d'entre elles, possèdent des propriétés médicinales attribuées à leurs principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie, elles présentent en Effet des avantages dont les médicaments conventionnels sont souvent dépourvus. (Gilles, 1976, ISERIN, 2001)

En effet, l'usage de plantes médicinales peut apporter directement des réponses à certains Problèmes de santé; mais avant de pouvoir recommander l'usage de telle ou telle espèce Pour une maladie, il est nécessaire de valider l'usage traditionnel qui en est fait. En D'autres termes, il convient d'évaluer scientifiquement l'activité pharmacologique (antibactérienne, anti-oxydante ...) de la Plante médicinale retenue.

Parmi ces plantes nous avons le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) ; *elbetoum*, *botma*, qui est utilisé pour des vertus thérapeutiques (71.4%); dont la majorité des remèdes est préparée sous forme de décoction (35,7%), les feuilles et la résine étant les parties les plus utilisées (28,6%). (Daoudi et al ;2013).

Cette plante peut être attaquée par des parasites (nématode, champignon...) on provoquant des gonflements à la surface de feuilles (des galles). Ces galles qui se présentent sous une multitude de formes sont phyto-chimiquement distinctes des tissus végétaux normaux. Pour contrer les facteurs de stress, sous la forme des protéines effectrices des envahisseurs, les plantes hôtes élaborent un large répertoire de métabolites, qu'elles ne produisent normalement pas, (GERCHMAN 2011). C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'optimisation des méthodes d'extraction des biomolécules et l'évaluation de leurs activités antibactériennes contre deux bactéries E-coli et staphylococcus aureus.

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 secondaires,
- la présentation du matériel et des méthodes utilisés à fait l'objet du troisième chapitre et le dernier chapitre aborde les résultats et discussion .

Chapitre 01

Généralités sur le Pistachier de l'Atlas

1. Généralités

1.1. Généralités sur le genre Pistacia

Le genre pistacia appartient à la famille des anacardiaceés, une famille assez nombreuse comportant 55 genres et environ 500 espèces. répartie dans sa grande majorité en méditerranée, au sud-ouest et à l'est centrale de l'Asie et à l'Amérique (Maberly, 1987 in Anjum, 2010).

Les espèces relevant du genre Pistacia se répartissent dans le bassin méditerranéen et au moyen orient, (Ben Douissa et al., 2005) . Si l'on se réfère à la bibliographie, le nombre absolu d'espèces demeure non encore défini. Selon Tutin et al. (1968 in Tsokou et al., 2007), Farhoosh et al. (2008), Mohsen Hosseini et al. (2007), Shanjani et al., (2008), Mohannad Ghazi AL-Saghir (2005) et İsfendiyar oğlu et al. (2009) ce genre recense onze espèces. Par ailleurs, Lin et al., (1984 in Alvarez et al., 2008) relèvent dix espèces dans ce genre. Taran et al (2009, 2010) révèlent la présence de quinze espèces relatives à ce genre. d'après Ahmadi Afzadi et al., 2007; Al Saghir et al., 2010) , ce genre est le plus important dans le règne végétal de point de vue horticulture, économique et commercial.

Les espèces de ce genre sont des arbres et arbustes dioïques, caractérisés par des feuilles caduques et composées, des fruits sous formes de drupes. Quatre espèces sont les plus connus : le pistachier de l'atlas, le pistachier lentisque, le pistachier térébinthe et le pistachier vrai.

1.2. Généralité sur le pistachier de l'atlas

Le pistachier de l'Atlas ou "Betoum" (*Pistacia atlantica* Desf, Anacardiaceae, Sapindales, Magnoliopsida) est nommé aussi "Betm" (Fennane et al ; 2007). C'est un arbre puissant pouvant atteindre 20 m de hauteur, à tronc bien individualisé et à feuilles caduques. (Yaaqobi, 2009)

Le pistachier de l'Atlas peut être classé en quatre sous-espèces, à savoir mutica, cabulica, kurdica et atlantica ; cette dernière est présente en Afrique du Nord (Benhssaini et Belkhodja, 2004).

Pistacia atlantica est, de par sa dioïcie, et ses fleurs nues, un genre particulier des Anacardiaceés (Gaussen et al, 1982). Le pistachier de l'Atlas est un arbre à la fois protecteur et productif. (Monjauze, 1967 in Kadi-bennane et al., 2005)

C'est l'une des rares espèces arborescentes encore présente dans les régions semi-arides et arides, voir même sahariennes. Sa limite extrême se trouve en plein cœur du Hoggar où il existe à l'état de relique (Monjauze, 1980). Autrefois très abondant, cette essence ne cesse de

régresser d'année en année suite à des actions anthropiques. (Mokhfi , 2012).

En Algérie, *Pistacia atlantica* Desf. est un arbre par excellence des milieux steppiques. Cependant il peut pénétrer profondément jusqu'aux régions sahariennes (Kadi-bennane et *al.*, 2005).

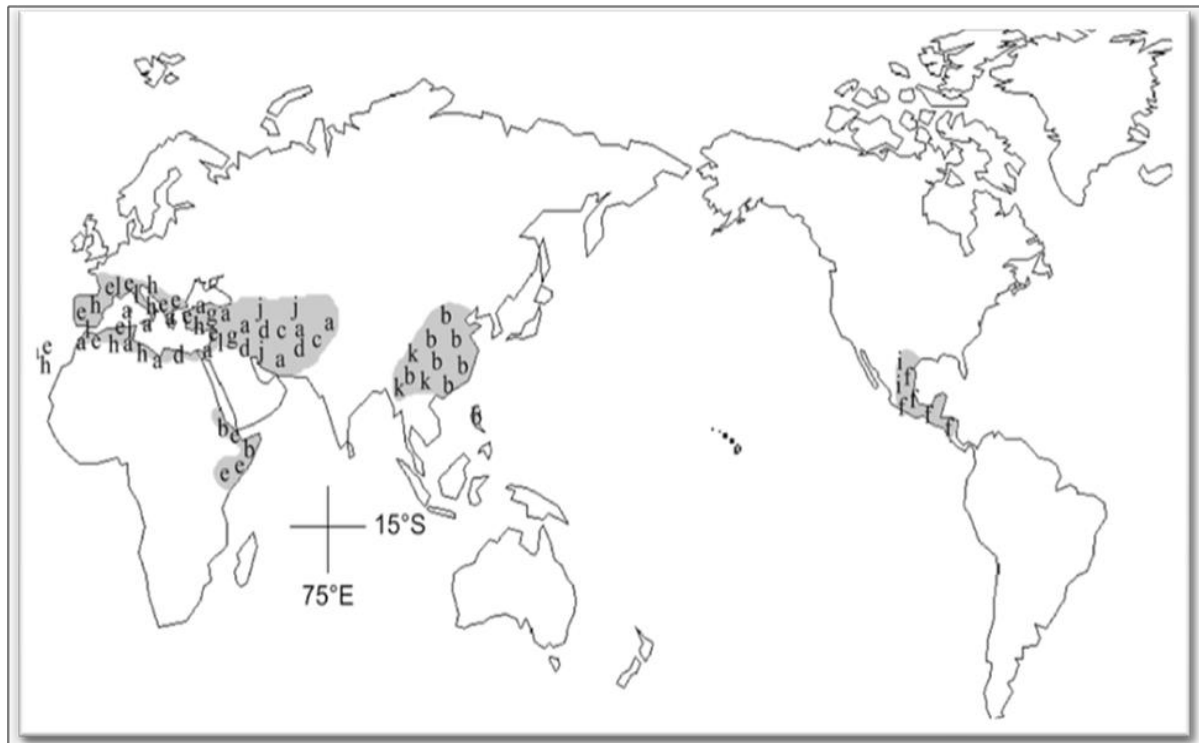
1.3.Systématique

Embranchement	: Phanérogames
Sous-embranchement	: Angiospermes
Classe	: Diacotyédones
Sous-Classe	: Dialypétales ou Rosidae (Classification récente)
Série	:Disciflores
Sous série	:Diplostémones
Ordre	: Térébentales ou Sapindales (A.P.G ,2003)
Famille	:Térébenthacées , Anacardiées ou Pistaciées
Sous-Famille	:Anacardiées ou Pistacioideae (Gadek,1996)
Genre	: <i>Pistacia</i>
Section	: Eu-Térébenthus (1996)
Espèce	: <i>Pistacia atlantica</i> Desf
Sous-espèce	: <i>Atlantica</i>

(kaddour,2008)

1.4.Habitat

En Algérie, *Pistacia atlantica* Desf. ssp. est un arbre par excellence des milieux steppiques. Cependant il peut pénétrer profondément jusqu'aux régions sahariennes. Les stomates sont les seuls dispositifs que l'évolution a conservés pour affronter le pouvoir évaporant du milieu aérien (Laffray et Louguet, 1991).



a = *P. atlantica*, b = *P. chinensis*, c = *P. integerrima*, d = *P. khinjuk*, e = *P. lentiscus*, f = *P. mexicana*, g = *P. palaestina*, h = *P. terebinthus*, i = *P. texana*, j = *P. vera*, k = *P. weinmannifolia*, l = *P. saportae*

Figure 01 : Répartition des espèces du genre *Pistacia* dans le monde (Tingshuang et *al.*, 2008)

1.5. 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)

1.5.1. Les feuilles

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).



Figure 02 : feuilles du pistachier de l'Atlas

1.5.2. Les fleurs

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).

Les fleurs mâles et femelles sont portées par des pieds différents. Mais quelques pieds monoïques ont été observés dont les fleurs mâles et femelles sont portées par des rameaux différents. Aucun hermaphrodisme n'a été observé. 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).

1.5.2.1. La fleur mâle

Le calice possède quatre sépales. A l'aisselle du calice, il se trouve une bractée glabrescente, allongée, de grande taille par rapport aux fleurs et de couleur jaune pâle. A l'aisselle de chaque bractée, 5 étamines se développent, de couleur rouge pourpre, et avec des

filets courts et soudés à la base. Après la libération des grains de pollen au mois de mars, les fleurs mâles s'épanouissent et les étamines prennent une structure pétaloïde (Yaaqobi et *al.*, 2009).

1.5.2.2. La fleur femelle

Le calice a neuf sépales enchevêtrés entre eux et soudés à la base. Les sépales sont de taille variable selon les provenances. A l'aisselle du calice, il se trouve une bractée semblable à celle de la fleur mâle. Le gynécée présente trois carpelles concrescents avec une seule loge ovarienne fertile et un seul ovule pendant. Le style porte trois stigmates rugueux facilitant la fixation des grains de pollen (Yaaqobi et *al.*, 2009) ;

1.5.3. 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 03 : Fruit du pistachier d l'Atlas

1.5.4. Racine

Le système racinaire est très puissant. En germant la graine émet un très long pivot, il atteint parfois à une profondeur de 7m et un système racinaire latérale atteindre la longueur de 5-10 m du collet de l'arbre. Le système racinaire permet au pistachier de supporter les périodes

sèches en cherchant l'humidité dans le sol et se développer dans les zones arides et sols médiocre.(Boutbol ,1986 et Lemaistre ,2000)

1.6. 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. 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).

Pistacia atlantica Desf. se régénère et se développe dans les endroits les plus arides où peu d'espèces d'arbres peuvent s'établir et persister. Sa croissance est très lente. En Algérie, on le trouve en association avec *ziziphus lotus* qui protège les jeunes pousses contre les animaux et les vents violents (Belhadj et al., 2008).

Il occupe une aire très vaste englobant le Maroc, l'Algérie, la Tunisie, la Libye, la Syrie, la Jordanie, Palestine, l'Iran et l'Afghanistan (Kaska et al., 1996 ; Khaldi et Khouja, 1996 ; Sheibani, 1996).

1.7. Utilisation de l'arbre

Il existe plusieurs utilisations de cet arbre :

- utilisation médicinales : elle est utile comme antiseptique, antifongique et dans quelques maladie comme abdominale (Baba Aissa, 2000).

Utilisation comestibles :ses graines contient environ 55 % d'huile, ça donne une excellente huile de table (Daneshard et al .,1980)

- Utilisation locale : les fruits de cet arbre utilisé à des fins culinaire et médicinales, ils sont riches en huile danse très énergétique, Il est souvent aux dattes écrasées il peut être consommé avec du petit lait. Il est utilisé également pour la tannerie de peaux. L'arbre fournit un bois et d'artisanat et toutes les espèces des pistachiers constituant un apport en fourrage considérable pour l'alimentation du bétail sur automne (Belhadj, 2003).Ils existent d'autres utilisations tel que : Gomme, Encre, Résine, bois ...

1.8. Ennemis du pistachier de l'Atlas

Pour l'ennemi principal Les pucerons provoquent des galles sur les feuilles du pistachier de l'Atlas cite parmi les genres: *Geoica* (*Geoica mimeuri*, *Geoica swirskii*), *Slavum* (*Slavum wertheimae*), *Forda* (*Fordaric cobonii*), *Fordini* (*Fordini sp.A*), *Smynthurodes* (*Smynthurodes betae*) (Remaudierp et *al.* , 2004; Inbar et *al.*, 2004 ; Inbar et kark, 2007 ; Inbar, 2008).



Figure 04 : galles sur les feuilles du pistachier d l'Atlas

Chapitre 02

Molécules actifs

2.1. Phytothérapie

La phytothérapie est l'ensemble des méthodes curatives faisant directement appel aux plantes (entières ou non sèches ou fraîches en Extrait, etc.) Ou a des substances d'origine végétale, On peut utiliser les plantes entières ou seulement leurs feuilles, leurs racines, leurs inflorescences ou leurs fruits. Les modes de préparation sont aussi variables selon la richesse de la plante en principes actifs d'entraînement. Seule méthode thérapeutique pendant de nombreux siècles (et encore prépondérante dans certaines régions du globe),la phytothérapie connaît de nos jour un regain d'intérêt tant dans le domaine des maladie internes qu'en dermatologie et en cosmétologie(savons ,eaux ,déodorants-shampoings-et bains, compresses).ce fait est en relation étroite avec les récentes découverts dans le domaine de la biochimie, la pharmacognosie et la physiologie des substances isolées a partir de la plantes réputées pour leurs vertus médicinales. Utilisée sa bon escient .les plantes donnent bien souvent des résultats remarquables avec peu d'effets nocifs .On peut rattacher a la phytothérapie l'aromathérapie (utilisation d'extraits de bourgeons).(Marouf et Reynaud ,2007)

Selon Bruneton (1999) La phytothérapie est le traitement par les plantes, c'est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de végétaux, de parties de végétaux ou de préparations à base de végétaux, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe (Wichtl et Anton, 2003).

2.2. La phytothérapie en Algérie

En Algérie les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, qui elle-même est largement employée dans divers domaines de la santé. Dans les dernières années, la phytothérapie est très répandue, des herboristes sont partout et sans aucune formation spécialisé ou connaissance scientifique sue la phytothérapie, Ils prescrivent des plantes et des plantes et des mélanges pour toutes les maladies : diabète ,rhumatisme, minceur et même es maladies incurables (Mahmoud ,1992)Des chiffres recueillis auprès du centre national du registre de commerce, montrent qu'à la fin 2009, l'Algérie comptait 1926 vendeurs spécialisés dans la vente d'herbes médicinales ,dont 1393 sédentaires et 533 ambulants (Anonyme ,2013).

2.3. Les avantages de la phytothérapie

La phytothérapie offre de multiples avantages, n'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces 100 dernières années les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume, toux ou plus sérieuses telle que la tuberculose ou le paludisme (malaria). (Bounakala, 2007).

La phytothérapie se pratique sous différentes formes et uniquement dans le cas de maladies « bénignes ». Bien sûr, bon nombre de symptômes nécessitent des antibiotiques ou autres traitements lourds. Dans d'autres cas, se soigner par les plantes représente une alternative reconnue par la médecine et dénuée de tout effet toxique pour l'organisme (Berlencourt, 2008-2017).

2.4. Transformation des plantes médicinales

Le traitement et la transformation des plantes est nécessaire pour en tirer la substance ayant une action spécifique ce qui assure l'action du médicament. Les transformations effectuées dans ce but font partie d'une branche de la pharmacologie appelée "galénique". Étant donné la multiplicité des composants constituant les principes actifs de chaque plante et la spécificité d'action de chacun d'entre eux, il a été nécessaire d'élaborer des méthodologies diverses qui permettent, selon le but recherché, leur extraction simple ou multiple. Certaines de ces transformations sont uniquement du ressort pharmacien ou du laboratoire spécialisé car elles sont particulièrement délicates et ne peuvent être réalisées couramment. D'autres, sont à la portée de chacun grâce à la simplicité du processus utilisé. Ces manipulations faciles sont au nombre de quatre : la décoction, la macération, l'infusion et l'extraction des sucs. Bien que faciles, ces transformations sont pas moins efficaces que les transformations élaborées nécessitant des procédés complexes. (Chiej, 1982).

2.5. Métabolites secondaires

Le terme métabolite secondaire est utilisé pour décrire une large gamme de composés chimiques dans les plantes (Amlan et Jyotiska, 2010). Ils jouent un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement tel que la protection contre les pathogènes, herbivores, et le stress abiotique (Greathead, 2003).

2.5.1. Classification des métabolites secondaires

Selon Hopkins (2003), on a plus de 45 000 composés qui sont définis comme métabolites secondaires des plantes. Ils peuvent être répartis dans trois groupes, selon leur structure chimique:

- Les composés phénoliques simples et la voie du shikimate ;
- Les alcaloïdes ;
- Les stéroïdes et les terpénoïdes .

2.5.1.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques, produits principalement à partir des acides aminés phénylamine et tyrosine, sont un groupe de nombreux composés carbonés cycliques dont la structure ne contient pas d'azote. Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et pro-anthocyanidins) forment le groupe des composés photochimiques le plus important des plantes ; sont des molécules biologiquement actives. Dans la plupart des cas, sont présents dans toutes les parties des végétaux et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques, ils sont largement utilisés en thérapeutique, Anti-inflammatoire, inhibitrice enzymatique, antioxydants et antimicrobiens (Djemai, 2008).

a. Les acides phénoliques :

On trouve deux groupes, les acides hydroxy benzoïques, dérivés de l'acide benzoïque, ont une structure de base de type C6-C1 et les acides hydroxy cinnamiques dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique (Vermerris et *al.*, 2006).

b. Les flavonoïdes :

Les molécules qui sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. (Djemai, 2008). Ils sont constitués d'un cycle benzoïque présentant plusieurs groupements hydroxyles et pour cette raison ils sont nommés polyphénols. Ces groupements hydroxyles sont responsables de la fonction antioxydante des polyphénols (Collin et Crouzet, 2011).

c. Les tanins

D'après leurs structures et leurs propriétés ils sont dérivés en deux groupes :

Les tanins hydrolysables, qui sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallo-tannins, ou ellagique (Cowan, 1999).

Tannins condensés, ils se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavoniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (Bruneton, 1999).

d. Les coumarines

Sont des composés aromatiques naturels, distribués dans le règne végétal, elles sont bénéfiques en cas d'affection cutanées (Gonzalez et al., 2008).

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild.) d'où elles furent isolées en 1982 (Bruneton, 1999). Présentes dans de nombreux végétaux, les coumarines ont une structure de base (C6-C3). Elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique et semblent constituer un moyen de défense de type phytoalexique. Ces composés sont connus pour leurs propriétés anticoagulantes (Collin et Crouzet, 2011).

e. Les anthocyanes

Ce sont des pigments colorés responsables de la pigmentation des fleurs, des fruits et des grains (Samouelian et al., 2003). Les anthocyanes possèdent une structure de base, le 2-phényl-1-benzopyrylium (cation flavylium) contient trois cycles aromatiques, responsable du pouvoir absorbant (chromophore). Cette structure porte plusieurs fonctions hydroxyles dont l'une est glycosylée par des différents oses (glucose, galactose, rhamnose, arabinose), oligosides ou hétérosides (Samouelian et al., 2009).

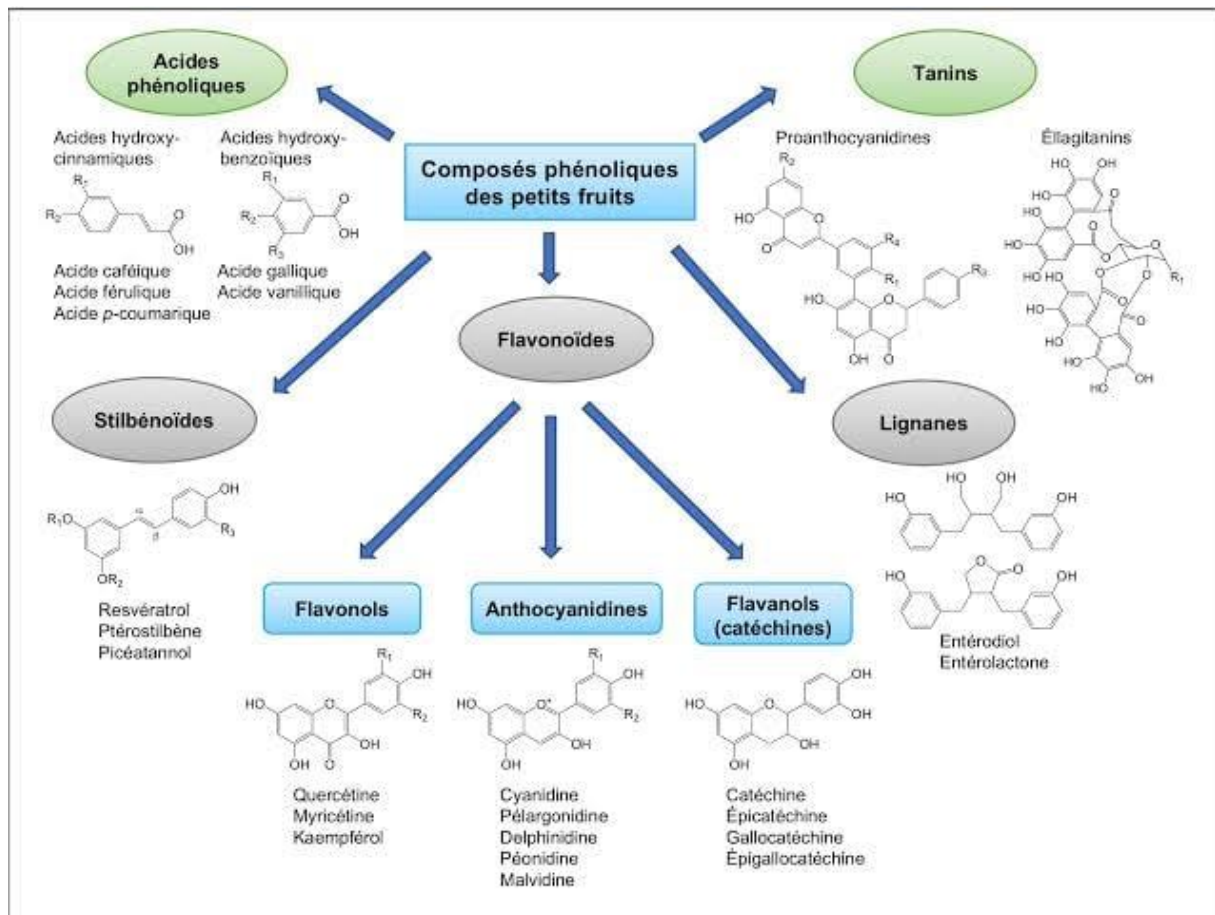


Figure05 : les différents composés phénoliques.

2.5.12. Les composés azotés (les alcaloïdes) :

Les alcaloïdes sont des produits d'origine végétale. Ce sont des molécules organiques hétérocycliques azotées à caractère alcalin et pharmacologiquement actives. Ils sont présents chez beaucoup de plantes médicinales, (BRUNETON, 2009). On distingue trois classes d'alcaloïdes :

- Alcaloïdes vrais : sont biomolécule formés à partir d'un acide aminé et comporte un atome d'azote dans un système hétérocyclique, exemple hyoscyamine.
- Pseudo-alcaloïdes : ne sont pas dérivés des acides aminés, et ils représentent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais.
- Proto-alcaloïdes : sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique (Bruneton, 1999).

2.5.1.3. Les terpénoïdes (isoprénoïdes)

Sont des molécules de faible poids moléculaire, volatiles, dérivés de l'isoprène (C₅H₈), et jouent un rôle dans la composition des huiles essentielles (Yarnell, 2007). Selon Haffaf (2013), les terpènes sont très volatil et regroupent: les mono-terpènes (C₁₀H₁₆) et les sesquiterpènes (C₁₅H₂₄). Les monoterpènes sont les plus répandus et ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques (α et γ -terpinène, p-cymène) ou bicycliques (pinène, camphène, sabinène). Les variations structurales justifient l'existence de nombreuses molécules: alcools (géraniol, borneol), phénols, esters; aldéhydes et autres (Bruneton, 2009). Les sesquiterpènes sont les moins répandus et ils sont mono- ou polycycliques (β -caryophyllène).

2.6. Extrait végétal

Les extraits sont des préparations liquides (extraits fluides et teintures), de consistance semi-solide (extraits mous ou fermes) ou solide (extraits secs), obtenues à partir de drogues végétales ou de matières animales généralement à l'état sec (Wichtlet Anton, 2003). Les extraits titrés sont ajustés au moyen d'une substance inerte ou en mélangeant des lots d'extraits, avec une tolérance acceptable à une teneur donnée en constituants ayant une activité thérapeutique connue. Les extraits quantifiés sont ajustés à une fourchette définie de constituants en mélangeant des lots extraits. Les autres extraits sont définis par leur procédé de production (état de la drogue végétale, solvant, conditions d'extraction) et leurs spécifications. (Pharmacopée européenne 6^{em} édition).

2.6.1. Les extraits fluides

Les extraits fluides sont des préparations liquides dont, en général, une partie en masse ou en volume correspond à une partie en masse de drogue végétale séchée. Ces préparations peuvent être modifiées, si nécessaire, de façon à répondre aux exigences de la teneur en solvants, et, dans les cas appropriés, en constituants. (Pharmacopée européenne, 2007).

2.6.2. Les extraits mous ou fermes

Les extraits mous ou fermes sont des préparations semi-solides préparées à partir de l'évaporation partielle du solvant ayant servi à leur extraction. Ils satisfont aux limites concernant le résidu sec et à l'essai limite du solvant utilisé. (Pharmacopée européenne, 2007).

2.6.3. Les extraits secs

Les extraits secs sont des préparations solides, obtenues par évaporation du solvant ayant servi à leur production. Les extraits secs ont généralement une perte à la dessiccation ou une teneur en eau qui est au maximum de 5 % m/m. (Pharmacopée européenne, 2007).

2.7. Méthode d'extraction

2.7..1.Enfleurage et Macération

C'est une technique, plus ancienne, très coûteuse et peu employée aujourd'hui. On l'utilise pour des fleurs sensibles, ne supportant pas un chauffage trop élevé, comme par exemple le jasmin, la violette et la rose. Les fleurs sont mises à macérer dans des graisses ou des huiles et chauffées (bain-marie ou soleil) et étalées sur des châssis en bois pendant plusieurs jours. Une fois gorgés de parfum, les corps gras sont filtrés au travers de tissus de lin ou de coton. Les huiles sont ensuite lavées à l'alcool pur, filtrées et évaporées. (Mohammedi ,2006)

2.7.2. Expression

La technique simple où les écorces des agrumes sont pressées à froid pour extraire leurs huiles essentielles. (Mohammedi ,2006)

2.7..3. Distillation

Elle est la plus employée pour extraire les huiles essentielles. Les extraits végétaux sont chauffés jusqu'à ébullition; l'huile essentielle s'évapore alors avec les vapeurs dégagées, puis est condensée (elle redevient liquide lorsqu'on la refroidit) et séparée de l'eau.(Mohammedi,2006)

2.7.4. L'entraînement à la vapeur sèche

On utilise cette technique Pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse sur des composants de l'huile essentielle ou des réactions chimiques pouvant altérer les résultats, le procédé de l'entraînement à la vapeur sèche a été mis au point. La masse végétale repose sur une grille vers laquelle la vapeur sèche est pulsée. Les cellules se distendent et les particules d'huile se libèrent. Ces dernières sont alors vaporisées et condensées dans un serpentin réfrigéré. La récupération de l'huile essentielle est la même que dans le cas de l'hydro-distillation. (Mohammedi ,2006)

2.7.5. L'extraction aux solvants volatils

Cette technique aussi utilisée avec des fleurs ne supportant pas la chaleur, la distillation ne convient qu'aux végétaux dont le rendement en huile essentielle est suffisamment important, les solvants très volatils par exemple l'éther, et L'hexane qui s'évaporent rapidement sont employées. Le solvant lave la matière première qui subira après décantation et concentration, une distillation partielle. Ce solvant volatil est alors séparé de la "concrète" par filtrage, puis glaçage de -12°C à -15°C . La précieuse substance ainsi obtenue est à nouveau filtrée et concentrée à faible pression. (Mohammedi ,2006)

2.7.6. L'extraction au CO₂ supercritique

Le procédé le plus récent d'extraction á froid des matières premières végétales utilisant le gaz carbonique : le CO₂. Sous pression et à température supérieure à 31°C , le gaz carbonique se trouve dans un état "supercritique", la matière végétale est chargée dans l'extracteur puis le CO₂ est introduit sous pression et réfrigéré. Le mélange est recueilli dans un vase d'expansion. La pression y étant réduite, le CO₂ reprend sa forme gazeuse et est complètement éliminé. L'extrait végétal est isolé, les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine sans trace résiduelle de solvant.(Mohammedi ,2006)

Chapitre 03
Matériel Et Méthodes

3. Matériel et Méthodes

3.1 Souches bactérienne

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antibactérienne des extraits préparées à partir des galles issues des feuilles du pistachier de l'atlas sont les suivants :

•*Staphylococcus aureus*

•*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 de Tiaret"

3.2. Matériel végétale

3.2.1. Récolte et séchage broyage

Les feuilles de pistachier d'Atlas touchées par les galles sont récoltées selon un échantillonnage subjectif le 11 avril 2021, dans la région de Rechaigua la wilaya de Tiaret (figure 6). Laver 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 broyées à l'aide d'un moulin jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine.



Figure 6:récolte, séchage et broyage des galles

3.3. 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.

3.3.1. Extraits aqueux

Dans un bêcheur de 500 ml, on a met une quantité de 20 g de poudre végétale macérer dans 200 ml de l'eau distillée, l'ensemble a été mis à ébullition, 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 (Figure7), ce dernier a été conservé à une température de 4°C .



Figure 07 : préparation d'extrait aqueux

3.3.2. Extrait éthanolique

Une quantité de 20g de poudre végétale a été mise à macérer dans 200ml de mélange éthanol / eau distillée (140ml/60ml) et sous agitation pendant 24heure. Le macérât est par la suite filtrer à l'aide d'un papier filtre. L'opération a été répétée deux fois sur la base des résidus obtenus par filtration.

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.

3.3.3. Extrait méthanolique

L'extrait méthanolique des galles issues des feuilles de pistachier de l'atlas est préparé par macération de 20 g poudre des galles dans 200 ml (140 ml méthanol/ 60 ml eau distillée) sous une agitation de 24 heures.



Figure 08: préparation de l'extrait méthanolique et éthanolique

En suite le macérât a été filtré à l'aide d'un papier filtre. Le sédiment résiduels passe par deux macération en respectant les mêmes étapes ; L'extrait récupéré par filtration est mis dans une étuve à température de 60° C jusqu'à l'obtention d'un extrait sec. (figure 09)



Figure 09: les extraits secs

3.3.4. Solubilisation des extraits à tester

Les trois extraits secs (figure 09) sont solubilisés dans le DMSO, on a utilisé deux concentrations, la première 5% qui contient 0.5 g d'extrait sec et 10 ml de DMSO et la deuxième 10% qui contient une quantité de 1 g d'extrait sec soluble dans 10 ml de DMSO. (figure 10)



Figure 10: solubilisation des extraits

3.4. Etude de l'activité antibactérienne

Cette opération est faite au laboratoire microbiologie à la faculté d'IBN KHALDOUN Tiaret pour le but de :

3.4.1. Préparation du milieu de culture

Au début on a chauffé 500 ml d'eau à l'aide d'une source de chaleur jusqu'à ébullition pour dissoudre la quantité de 19 g (La gélose Mueller Hinton), le mélange a été mis sous agitation pendant 20 minutes jusqu'à l'homogénéisation de la solution, la solution a été stérilisé à l'aide d'un autoclave pendant 15 min.

3.4.2. Préparation de l'inoculum bactérien

Des colonies bactériennes bien isolées sont mises en suspension dans de l'eau physiologique stérile, cette suspension est ajustée à une densité optique (DO) entre 0,08 à 0,1 à 625 nm, ce qui correspond à une suspension contenant environ 10⁸ UFC/ ml.

3.4.3. Ensemencement

La suspension préalablement ajustée à 0,08 – 0,1 de DO est ensemencée par écouvillonnage dans des boîtes de Pétri contenant MH.



Figure 11 : ensemencement par écouvillonnage

3.4.5. Application des disques

Des disques de 6 mm de diamètre ont été imprégnés avec les différentes dilutions des extraits (5% et 10%), et déposés à la surface de la boîte de Pétri. Les diamètres des zones d'inhibitions ont été mesurés en mm. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque zones d'inhibition (Gulluce *et al.*, 2007).

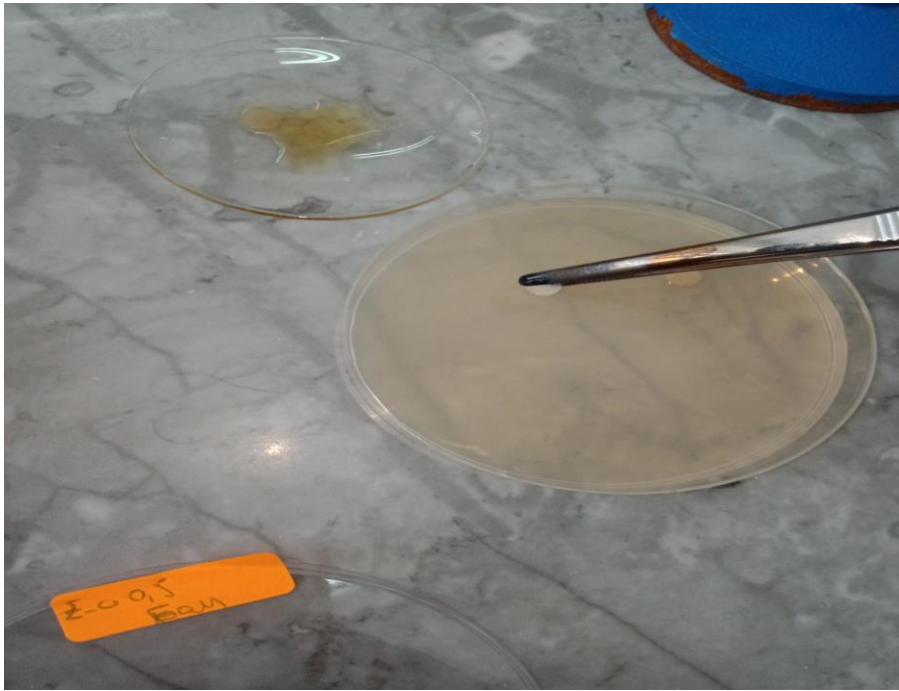


Figure 12: application des disques

Chapitre 04

Résultats et discussion

4. Résultats

Nous rappelons, que les objectifs de cette manipulation sont :

- l'optimisation des méthodes d'extraction de molécules actives ;
 - Evaluer in vitro le pouvoir antibactérien des différents extraits des galles du pistachier de l'Atlas.
 - vérifier si on peut utiliser ce pouvoir antibactérien comme un facteur de comparaison
- Entre les trois méthodes d'extraction étudiées.

4.1. 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 01 : taux de rendement des trois extraits du pistachier de l'Atlas

Extrait	Poids d'extrait sec	Rendement
Extrait aqueux (décoction)	2,34g	11,7%
Extrait méthanolique (macération)	5,38g	26,92%
Extrait éthanolique (macération)	3,605g	18,02%

D'après ces résultats, on remarque le rendement en extraits 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 efficace avec un rendement égale à 26,92% suivi par la macération par éthanol avec un rendement de 18,02%. (Figure 13)

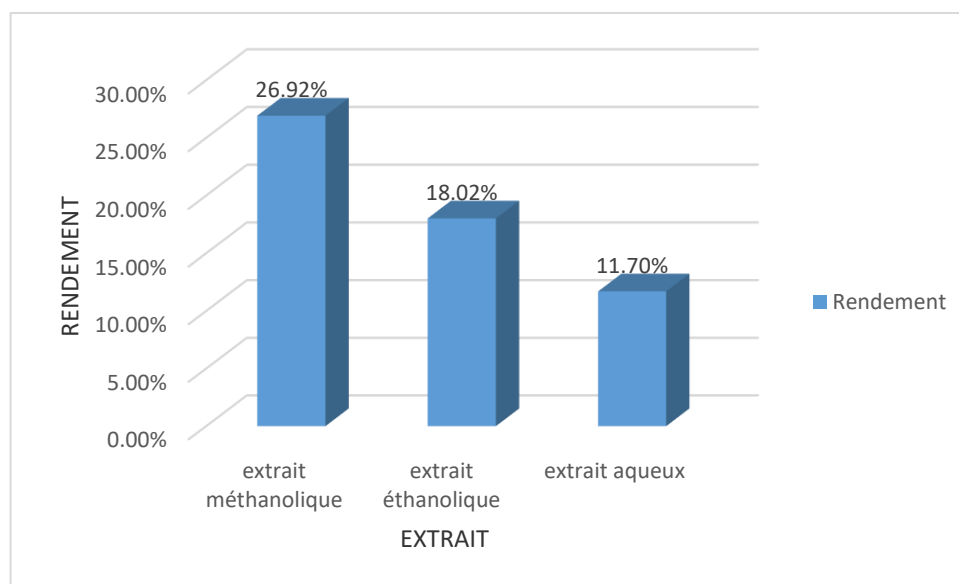


Figure 13 : les taux de rendement des trois méthodes d'extraction

4.2. 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*.

4.2.1. Activité antibactérienne des extraits aqueux des galles d pistachier de l'Atlas

A partir des résultats obtenus, il en ressort que les deux concentrations (5% et 10%) de l'extrait aqueux des galles du pistachier de l'Atlas ne manifestent aucun effet contre les deux souches bactériennes étudiées (absence d'halos d'inhibition autour des disques).

4.2.2. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques des galles du pistachier de l'Atlas

Les résultats obtenus par l'application de l'extrait méthanolique, démontre une activité bactériostatique pour les deux concentrations utilisées contre les deux souches bactériennes.

A travers la figure 13, il en ressort que les deux souches bactériennes sont moyennement sensibles à l'extrait méthanolique (les deux concentrations) ; la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* est plus sensibles à l'extrait méthanoliques avec un diamètre de zone d'inhibition moyen égale à 11mm pour la concentration 5% et 10,6 mm pour la concentration 10% .

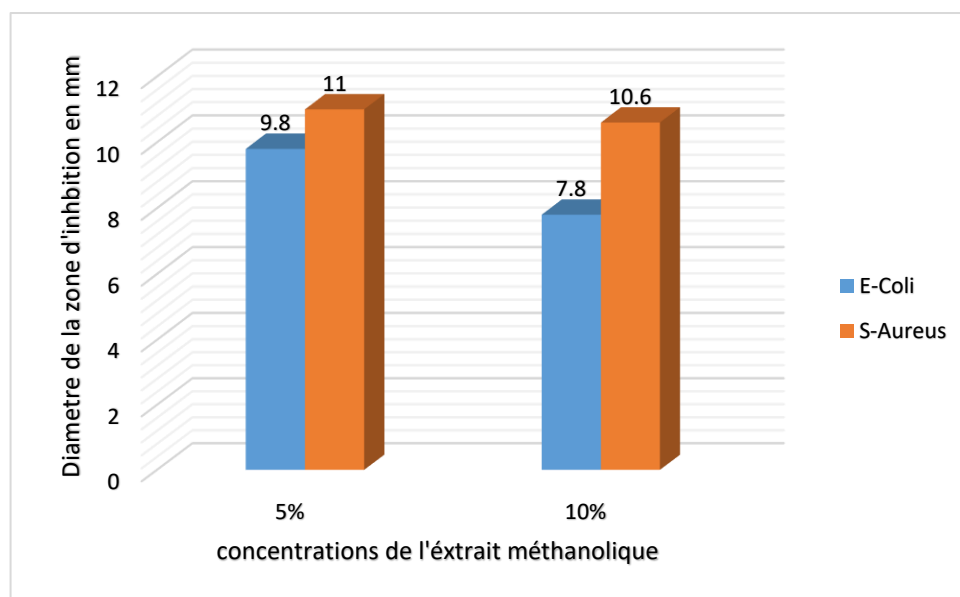


Figure 14 : diamètre des zones d'inhibitions des deux souches bactériennes en fonction des concentrations de l'extrait méthanolique

4.2.3. Activité antibactérienne des extraits éthanoliques des galles d pistachier de l'Atlas

Les résultats présentés dans la figure 14, démontre que les deux 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* oscille entre 7mm et 11mm pour la concentration 10%, avec une moyenne de 9,33 mm, la concentration 5% démontre une activité plus importante avec un diamètre maximal égale à 13mm et une moyenne de 11,33 .

La souche *E. coli* paraît être moins sensible au deux concentrations, avec un diamètre de la zone d'inhibition de 7mm pour la concentration 5% et 7,5mm pour la concentration 10% .

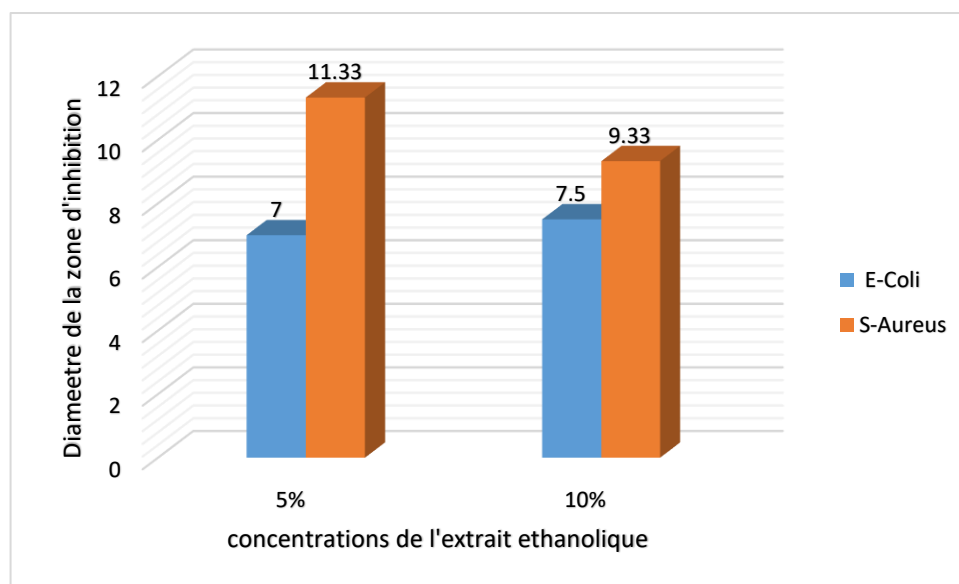


Figure 15 : diamètre des zones d'inhibition des deux souches bactérienne en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique

4.2.3. Comparaison entre l'effet Antibactérien des trois extraits

A partir des résultats présentés dans la figure 15, on remarque que contrairement aux deux extraits alcooliques (méthanolique et éthanolique), l'extrait aqueux ne démontre aucune activité antibactérienne. Les deux souches bactériennes sont moyennement sensibles aux deux extraits alcooliques. La souche *E. coli* est moins sensible aux extraits que *Staphylococcus aureus*, elle est plus sensible à l'extrait méthanolique qu'à l'extrait éthanolique.

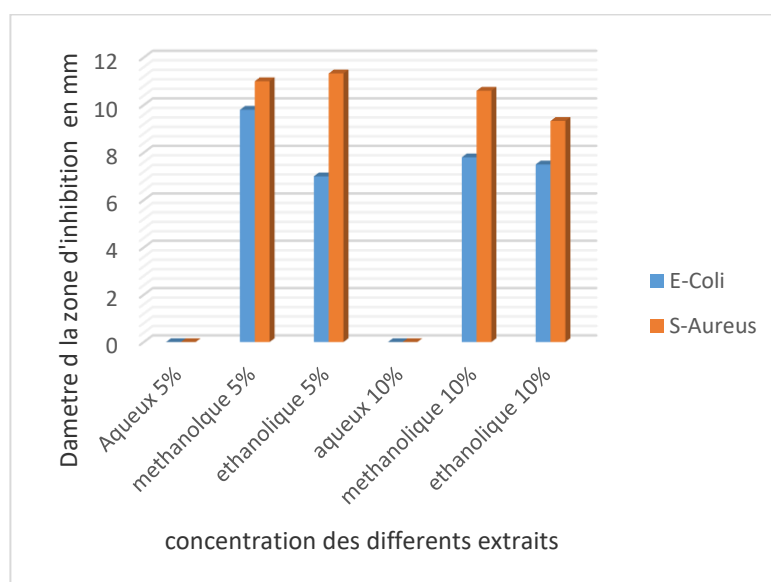


Figure 16 : diamètre des zones d'inhibition des deux souches bactérienne en fonction des concentrations des trois extraits

4.3. Discussion

Selon Patl et *al* ; 2018, Les galles sont des croissances anormales des plantes, induites par des virus, des bactéries, des champignons, des nématodes, des arthropodes, voire d'autres plantes, s'apparentent à des cancers de la faune. Ces derniers manipulent les caractéristiques des plantes à leur propre avantage. Il a été démontré que les galles protègent leurs habitants des ennemis naturels tels que les prédateurs et les parasitoïdes par divers moyens chimiques et mécaniques (Gerchman 2011).

Les galles qui se présentent sous une multitude de formes sont phyto-chimiquement distinctes des tissus végétaux normaux. Pour contrer les facteurs de stress, sous la forme des protéines effectrices des envahisseurs, les plantes hôtes élaborent un large répertoire de métabolites, qu'elles ne produisent normalement pas. La perturbation de la voie de l'acide jasmonique et la surexpression de l'auxine et de la cytokinine favorisent la prolifération tissulaire et les galles qui en résultent. (Gerchman 2011).

Bien que les caractéristiques de la famille des plantes et les attaquants déterminent la biochimie des galles, la plupart des galles sont riches en composés phytochimiques bioactifs tels que les acides phénoliques, les anthocyanes, la purpuro-galline, les flavonoïdes, les tanins, les stéroïdes, les triterpènes, les alcaloïdes, les composants lipophiles (tanshinone) etc. longue trajectoire d'évolution, les humains ont appris à utiliser les galles comme thérapeutique, tout comme d'autres parties de la plante. Dans diverses cultures, les preuves de l'usage folklorique des galles abondent. Entre autres, les galles du genre végétal comme *Rhus*, *Pistacia*, *Quercus*, *Terminalia* etc. sont populaires comme ethnomédecine. (Patel et *al* ; 2018), c'est dans ce contexte qu'on a opté pour une optimisation d'extraction des métabolites secondaires des galles issus des feuilles du pistachier de l'atlas qui est une plantes endémique de notre région et qui reste peu connu.

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*).

L'étude faite par Gerchman (2011) démontre que les deux les galles vertes et rouges ont une activité antibactérienne contre les espèces de *Bacillus* testées.

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 peptidoglycane, 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 lipo-polysaccharidique 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 lentiscus*. 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.

La variation de l'activité antibactérienne des extraits explique la variation de leur composition chimique comme cela a été rapporté dans la littérature, (Ponce et al., 2003).

CONCLUSION

Conclusion

Ce travail a porté sur l'optimisation des méthodes d'extraction des molécules bioactives, et l'évaluation de leur effet antibactérien sur deux souches telles que « *E-coli* et *Staphylococcus aureus* ». Il s'agit de l'utilisation de trois méthodes d'extractions des métabolites secondaires des galls issus des feuilles du pistachier de l'atlas (macération par le méthanol, macération par l'éthanol et décoction avec de l'eau distillée).

Quant aux rendements, on note que le rendement le plus élevé a été enregistré pour l'extrait méthanolique suivis par l'extrait éthanolique puis l'extrait aqueux, ce qui concorde avec la littérature. Cette variabilité de rendement peut être justifiée par la nature du solvant et la durée d'extraction.

L'effet antibactérien a été testé sur deux souches Gram + et Gram - « *E-coli* et *Staphylococcus aureus* ».

L'évaluation de l'activité antibactérienne d'extraits méthanoliques et éthanoliques du pistachier de l'Atlas à deux concentrations (5% et 10%) démontre un effet bactériostatique de cet extrait contre les deux souches bactériennes, il est à signaler que la souche *staphylococcus aureus* est plus sensible aux deux concentrations des deux extraits.

L'extrait aqueux ne démontre aucun effet antibactérien pour les deux souches bactériennes.

En perspective ; il serait souhaitable d'améliorer les méthodes d'extractions, de les tester sur d'autres souches bactériennes, et d'évaluer d'autre activité biologique des extraits des galls.

L'étude de la composition chimique de ces extraits est recommandée pour mieux évaluer leurs activités biologiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Ahmadiarzadi M, Tabatabaei S B, Mohammadi SA, Tajabadipour A (2007).** Comparison of genetic diversity in species and cultivars of Pistachio (*Pistacia* sp.) based on Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) markers. *Iranian Journal of Agricultural Biotechnology* 3: 147-152.
- **Al-Saghir ,M.G. Porter,D.M. 2005.** Stomatol distribution in *Pistacia* sp. *International journal of botany* 1(2), pp 183-187.
- **Amlan, K., & Jyotisna, P. S. (2010).** A new perspective on the use of plant secondary
- **Anjum, P. Qaiser, M .2010** Pollen flora of Pakistan—LXVI: anacardiaceae. *Pak. J. Bot.*, 42(3), pp 1401-1406.
- **Baba Aissa.F.,** Encyclopédie des plantes utiles, Flored'Algérie et du Maghreb ., Librairie moderne .ed.Rouiba, (1999), pp.235-236, 277-278.
- **Békro Y.A ,Janat a, békro M , Boua B. B , trabi F.H and Éhilé E.(2007)** Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *caesalpinia benthiana* (baill.) herend et zarucchi (*caesalpinia*ceae). *Sciences & nature*.vol4 n°2: 217 –225
- **Belhadj, S .Derridj , A. Aigouy, T. Gers, C. Gauquelin, T. Mevy, J-P .2008.** Analyse de la variabilité morphologique chez huit populations spontanées de *Pistacia atlantica* en Algérie. *Botany* 84. CNRC Canada, pp 520-532.
- **Benhssaini, H .Belkhdja, M 2004.** Le pistachier de l'Atlas en Algérie entre la survie et disparition. *La feuille et l'aiguille* 54 ,pp 1-2.
- **Berlencourt Aude., 2008-2013** _ Huiles essentielles – Aromathérapie Historical review of medicinal plants' 10.4103/0973-7847.95849) .D
- **Bounekala.M., 2017.** Etude ethnobotanique des plantes médicinales naturelles utilisées par les nomades dans la steppe de la région de Tiaret .université Ibn khaldoun Tiaret . Thèse de master 02 , p27.
- **Bruneton J (1993).** Pharmacognosie : phytchimie, plantes médicinales. Technique et documentation. Lavoisier 2ème édition; 268-277.
- **Bruneton J., 1999** _ Pharmacognosie - Phytochimie, Plantes médicinales, Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales, 1120 p. (ISBN 2- 7430- 0315-4).

- **Bruneton .J**,2009 (Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)), 1289 pages
- **Bruneton, J.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3^e,e édition. Paris:)
- **Collin, S., &Crouzet, J.** (2011). Polyphénols et procédés. Edition Lavoisier TEC & DOC, p 5 ,13 , 16 , 235
- **Cowan MM** (1999). Plant Products as antimicrobial Agents. Clin. MicrobiolRe ; 12(4) : 564-582.
- **Daneshrad A, 1980**, ChemicalStudieof the OilPisatciaNutsGrowing Wild in Iran.
- **Daoudi A, Boutou H, Zair T, Ibijbijen J. and Nassiri L : 2013.** Etude ethnobotanique du pistachier de l'Atlas, Pistaciaatlantica, dans la ville de Meknès-Maroc. Science Lib ,p26
- **Djemai Z (2008).** Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de Zizyphus lotus L, mémoire magister, Université -El Hadj Lakhder –Batna.
- **Djemai-zoughlache S., 2009.**Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de Zizyphuslotus L. mémoire de fin d'étude option biochimie appliquée. Université El-hadjlakhder-BATNA, 56 p.
- **Gaussen , H ..Leroy , J .F et Ozenda , P .** (1982) . Précis de botanique . 2- Les Végétaux Supérieurs, Ed . Masson, 2 eme edition,579pp.
- **Gilles w.,1976 .** l'encyclopèdiiedsmédecines naturelles et des serets de santè, Elina, Lavoisier , Paris , pp 212-222.
- **Gonzalez- Tejero MR, Casares-Porcel M, Sanchez-Rojas CP (2008).** Medicinal plants in the mediterranean area : synthesis of the projectRubia. J. Ethnopharmacol, 116: 341-57
- **Greathead, H.** (2003). Plants and plant extracts for improving animal productivity. Proceedings of The Nutrition Society, 62, 279 – 290
- **Gulluce M., Pattnaik L., Sacchetti O. (2007)** Antimicrobial and antioxidantproperties of the essential oils and methanolextractfromMenthalongifolia L. ssp. Longifolia. in Food Chemistry . 103(4), 1449-1456.prescott, 2003).
- **Hopkins W. G.,2003** physiologie végétale.1^{er}ed , édition de Boeck univrstité,p451

- **Inbar, M .2008.**Systematics of *Pistacia*: Insights from specialist parasitic aphids. Taxon 57 (1), pp 238-242.
- **Inbar, M .Kark , S .2007 .** Gender-related developmental instability and Herbivory of *pistaciaatlantica* across a steep Environmental gradient. Folia Geobotanica (42), pp 401-410.
- **Inbar, M. Wink, M. Wool, D. 2004.**The evolution of host plant manipulation by insects: molecular and ecological evidence from gall-forming aphids on Pistacia. Molecular Phylogenetics and Evolution , Science direct, pp 504-511.
- **İsfendiyaroğlu M. Özeker, E. 2009.** Inflorescence features of a new exceptional monoecious *Pistacia atlantica* Desf. (*Anacardiaceae*) population in the barbaros plain of İzmir/Turkey. International Journal of Plant Production 3 (3), pp 93-98.
- **Kadi-bennane, S. Ait Said, S . Smail Saadoune, N. 2005.** Étude adaptative de trois populations de *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* (Ain Oussera - Messaad - Taissa) par le biais du complexe stomatique. Options Méditerranéennes, Série A, Numéro 63 pp 365-368.
- **Kadi-Bennane S , Ait Said S , et Smail-Saadoune N , 2005.** Adaptation study of the (*Pistacia atlantica* Desf . Sub-*atlantica*) population (Ain Oussera-Messad-taissa) through stomatal complex , Options Méditerranéennes ; Série A. Séminaires Méditerranéens , 63 :365-368 .
- **Kaska, N. Caglar, S. Kafkas, S. 1996.** Genetic diversity and germplasm conservation of *Pistacia* species in Turkey. Workshop “Taxonomy, Distribution, Conservation and Uses of Pistacia Genetic Resources, Palermo, Italie,, Padulosi, S., Caruso, T. et Barone, E. (éds). IPGRI, Roma, pp. 46-50. Khaldi et Khouja, 1996.
- **Kebiche M., Lakroun Z., Mraïhi Z et Soulimani R. (2011)** Effet antidiabéto-gène 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
- **Laffray, D. et Louguet, P. (1991).** Physiologie des arbres et des arbustes en zones arides et semi-arides : L’appareil stomatique et la résistance à la sécheresse chez les végétaux ligneux. Groupe d’étude de l’arbre, Paris, pp. 21-46.

- **Lin TS, Crane JC, Ryugo K, Polito VS and Djong TM (1984).** Comparative study of leaf morphology, photosynthesis and leaf conductance in selected Pistacia species. J Amer Soc HorticSci 109: 325–330
- **Mahmoudi, Y., 1992.** La thérapeutique par les plantes : Ed Palais du livre .Blida(128p).Roux ,D., 2005. Les nouvelles plantes qui soignent : Edition Alpen, Paris (21p).
- **Marouf.A ,Reynaud.J .2007.** La botanique de A à Z: 1 662 définitions :Ed dunod,352p.(ISBN 2100528300, 9782100528301).
- **Mohammedi Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magistère, Univ. Tlemcen, 105p
- **Mohsen Hosseini, S. Shaiesteh, G..Ehsan , S . 2007 .** Effect of Weed Competition, Planting Time and Depth on *Pistacia atlantica* Seedlings in a Mediterranean Nursery in Iran. Silva Lusitana 15(2) EFN, Lisboa. Portugal, pp 189 – 199.
- **Mohsen Hosseini, S. Shaiesteh, G..Ehsan , S . 2007 .** Effect of Weed Competition, Planting Time and Depth on *Pistacia atlantica* Seedlings in a Mediterranean Nursery in Iran. Silva Lusitana 15(2) EFN, Lisboa. Portugal, pp 189 – 199.
- **Mokhfi , F . 2012 .,** inventaire et étude éco-dendrométrique du pistachier de l'Atlas dans la forêt domaniale de Rechiga. Université de Tiaret . Thèse de magister , p12
- **Monjauze, A .1980 .** Connaissance du Bétoum -*Pistacia Atlantica* Desf. Biologie forestier .Revue scientifique Française.N°4.p 357-363.
- **Ozenda, P. 1983.** Flore du Sahara. France : centre national de la recherche scientifique, 622p.
- **Pharmacopée européenne, 2008.** 6eme edition tome1 .pp 187.
- **Ponce A. G., Fritz R., Del Valle C. et Roura S.I., 2003.** Antimicrobial activity of oils on the 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 Boek université, 1137 p.
- **Quezel, P.Santa, S.1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Paris : Centre national de la recherche scientifiques, 1170 p.

- **Quy Diem Do** , **Artik Elisa Angkawijaya**, **Phuong Lan Tran-Nguyen** , **Lien Huong Huynh** , **Felycia Edi Soetaredjo** , **SuryadiIsmadji** , **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
- **Rhazi N.Oumam** **M Hannache****A.Sesbou****B.Charrier** **A .Pizzi****F.Charrier** – **El Bouhtoury** ; **2015** Comparison of the impact of different extraction methods on polyphenols yields and tannins extracted from Moroccan *Acacia mollissima* barks
- **Samouelian, F.**, Gaudin, V., & Boccara, M. (2009). Génétique moléculaire des plantes. Edition Quae, p 21, 22. Sanchez-moreno, C. methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems international journal of food science and technology, 2002, vol.8 ,n°3, pp.121-137.
- **Shanjani, P.S. Mardi** , **M. Pazouki** , **L. Hagidimitriou** , **M. Avanzato** , **D. Pirseyedi** , **S. Ghaffari** , **M.R. Mojtaba Khayam Nekoui** , **S.2008**. Analysis of the molecular variation between and within cultivated and wild *Pistacia* species using AFLPs. *Tree Genetics & Genomes*, Springer-Verlag, 12p. Université d'Oran - Sénia (2008) Contribution à l'étude du comportement morpho-physiologique et biochimique de *Pistacia atlantica* Desf. sp. *atlantica.*, stressés à la salinité.
- **Taran, M. Aziz** , **E. Shikhvaisi** , **A. Asadi** , **N.2009**. Anthelmintic effect of *Pistacia khinjuk* against protozoans of *Echinococcus granulosus*. *World journal of zoology* 4(4), pp 291-295.
- **Taran, M. Sharifi** , **M. Aziz** , **E. Khanahmadi** , **M.2010**. Antimicrobial activity of the leaves of *Pistacia khinjuk*. *Journal of Medicinal plants*, volume 9. supplement. N° 6 , pp 81-85.
- **Tingshuang, Y. Jun** , **W. Golan-Goldhirsh** , **A. Parfitt** , **D.2008**. Phylogenetics and reticulate evolution in *PISTACIA* (Anacardiaceae). *American Journal of Botany* 95(2) , pp 241–251.
- **Vermerris W** , **Nicholson R** (2006). *Phenolic Compound Biochemistry*. USA: Springer. Nueva York, EEUU; 3(16): 151-153.
- **Wichtl M.**, **Anton R.**, 2003 _ *Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*, 2ème édition, Ed. TEC & DOC, 2003. (Alkire et Simon, 1992; Bruneton, 1993; Parfum – L'expo, 2002; Sousa et al., 2002 ; Adio, 2005)

- **Yaaqobi ,A. El hafid ,L. Haloui ,B.2009.**Etudebiologique de *Pistacia atlantica* desf. De la region orientale du maroc. Bio matececho volume (3) n° 6 , pp39 – 49 .
- **Yarnell E (2007).** Plant chemistry in veterinary medicine: Medicinal constituents and their mechanisms of] action. In: veterinary herbal medicine, ed. Mosby Elsevier, St Louis: 159-182.

Résumé

Le but de cette étude est de mettre en évidence la présence de certains métabolites secondaires des galls du pistachier de l'Atlas, on optimisant les méthodes d'extractions puis l'évaluation de leurs l'activité antibactériennes contre deux souches bactériennes très fréquentés par l'Homme il s'agit d'*Escherichia .coli* et *staphylococcus aureus*. 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'évaluation de l'activité antibactérienne des différentes concentrations de ces extraits par la méthode de diffusion sur disque, prouve un effet bactériostatique des extraits méthanolique et éthanolique contre les deux souches. L'extrait aqueux ne montre aucune activité antibactérienne contre les deux souches testées.

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

الهدف من هذه الدراسة هو إثبات وجود مستقلبات ثانوية معينة لكرات شجرة الفستق الأطلس ، وتحسين طرق الاستخلاص ، ثم تقييم نشاطها المضاد للبكتيريا ضد سلالتين بكتيريتين المتمثلتان في E-coli و . staph تبين النتائج المحصل عليها من خلال تحضير المستخلصات المختلفة (الميثانولية والإيثانولية والمائية) أن المستخلصات الكحولية لها عوائد أعلى من المستخلص المائي.يثبت تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لتركيزات مختلفة من هذه المستخلصات عن طريق طريقة وضع القرص وجود تأثير جراثيم للمستخلصات الميثانولية والإيثانولية ضد السلالتين. لا يُظهر المستخلص المائي أي نشاط مضاد للجراثيم ضد السلالتين المختبرتين.

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

The aim of this study , is to highlight the presence of some secondary metabolites of the galls of the Atlas pistachio tree, by optimizing the extraction methods and then evaluating their antibacterial activity against two bacterial strains very frequented by humans, i.e. Escherichia .coli and staphylococcus aureus. 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 evaluation of the antibacterial activity of the different concentrations of these extracts by the disk diffusion method, proves a bacteriostatic effect of the methanolic and ethanolic extracts against both strains. The aqueous extract showed no antibacterial activity against the two strains tested.

Key words :galls ;pistachio of Atlas methanolic extracts; ethanolic extracts ; aqueous extract ; antibacterial activity.