



République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ ABBES LAGHROUR –KHENCHELA-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie moléculaire et cellulaire

MEMOIRE

Présenté Pour l'obtention du Diplôme de

MASTER

FILIERE : Biologie Moléculaire et Cellulaire

OPTION : **Microbiologie**

Thème

*Etude phytochimique et évaluation des tests
Biologiques *in vitro* des extraits de la plante
*Tamarix sp.**

Présenté par

BELGUIDOUM Fatima Zohra

Soutenu le : 15/06/2015

Jury de soutenance

Président : Mme KADI Kenza MCB Université Abbes Laghrou –Khenchela

Rapporteur : Mr KHABTHANE Abd el hamid MCB Université Abbes Laghrou –
Khenchela

Examineur : Mr ZERRIABE Azzedine MAA Université Abbes Laghrou –Khenchela

Promotion : juin -2015

*“ C’est ce que nous pensons déjà connaître qui nous
empêche souvent d’apprendre ”*

Claude Bernard
1813- 1878

Remerciements

Avant toutes choses, je remercie DIEU, le tout puissant, pour m'avoir donné la volonté le courage et la patience et qui a guidé mes pas vers le droit chemin durant mes années d'études.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements à mon encadreur de thèse Monsieur KHABTHANE ABD ELHAMIDE pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseil et la confiance qu'il m'accordé m'ont permet de réaliser ce travail.

Je tiens à exprimer également ma profonde reconnaissance à Mr BENGHANEM MOHAMED EL MONCEF enseignant à l'université de Khenchela pour sa contribution à la réalisation de ce travail et ses précieux conseils qu'il trouve ici mes sincères remerciements.

J'adresse mes sincères remerciements à Mr ZERRIAB AZZEDINE, Maître Assistant classe A à l'université de KHENCHELA pour sa précieuse aide et ses conseils, et pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

J'exprime mes vifs remerciements à Mme KADI KENZA, Maître de conférences classe B à l'université de KHENCHELA, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

J'exprime également ma profonde gratitude à Mme KARA ALI, enseignante à l'université de KHENCHELA pour ses précieux conseils et son soutien scientifique.

Je ne saurais oublier tous ceux et celles qui m'ont marqué par leur soutien et Encouragements : tous les membres de notre laboratoire et tous les collègues de ma promotion 2015, je leur exprime mon respect et ma profonde sympathie.

Dédicaces

A mes très chers Parents,

Vous qui avez toujours cru en moi et su me redonner confiance lorsque la motivation n'était plus au rendez-vous. Acceptez ce travail comme le témoignage de mon profond amour et mon attachement indéfectible.

A mon Fiancé,

Pour ses encouragements son dévouement ainsi son soutien moral tout au long de la réalisation de ce travail.

A ma chère Rosa,

Pour son amour et ses Dou'a

A mes très chères sœurs

A mon cher frere AHMED

A toutes mes copines,

Pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble en particulier : Rayene, Sousou, Kika, hadia , Wided et selma... <3

A NIHED,

Une pensée spéciale a toi Merci d'être toujours là pour moi.

A la mémoire de ma grande famille.

Je vous remercie tous et toutes, d'être venues dans ma vie.

Fatima zohra -Affef-

Abstract

In the context of a development of natural resources our study was focused on secondary metabolites of *Tamarix sp.*

The plant extracts were obtained by fractionating the crude extract using two solvents ethyl acetate and petroleum-Ether, whose goal is the evaluation of phytochemical and biological study of different bioactive substances.

Important results have been demonstrated *in vitro* by showing a great antioxidant power of the different fractions; in particular that of ethyl acetate which inhibits 100% oxidation and makes the trapped free radicals. Thus the determination of antimicrobial activities also showed good results on bacterial germs studied mainly Gram + bacteria and also on potentially phytopathogenic fungal strains; citing the apple powdery mildew which showed extreme sensitivity against the studied extracts.

Keywords: *Tamarix sp.*, plant extracts, secondary metabolites, antimicrobial activity, antioxidant activity.

Résumé

Dans le cadre d'une valorisation des ressources naturelles notre étude a été portée sur les métabolites secondaires de *Tamarix sp.*

Les extraits végétaux ont été obtenus par fractionnement de l'extrait brut en utilisant deux solvants: acétate d'éthyle et Ether de pétrole, dont le but est l'évaluation d'une étude phytochimique et biologique des différentes substances bioactives .

Des résultats importants ont été mis en évidence *in vitro* en montrant un grand pouvoir antioxydant des différentes fractions; en particulier celui d'acétate d'éthyle qui inhibe à 100% l'oxydation et fait piéger les radicaux libres. Ainsi la détermination des activités antimicrobiennes a montré également des bons résultats sur les germes bactériens étudiés surtout les bactéries de Gram+, et également sur les souches fongiques potentiellement phytopathogènes ; en citant l'oïdium de pommier qui a révélé une extrême sensibilité contre les extraits étudiés.

Mots clés : *Tamarix sp.*, extraits végétaux, métabolites secondaires, activité antimicrobienne, activité antioxydante

ملخص

في إطار تنمية الموارد الطبيعية تم التركيز في دراستنا على المركبات الثانوية لنبتة الأثل. تم الحصول على المستخلصات النباتية عن طريق تجزئة المستخلص الخام المثلولي استخدمنا كل من المذيبين: خلات الاثيل و اثير البترول, بهدف تقييم دراسة كيميائية نباتية وبيولوجية لمختلف الجزئيات النشطة بيولوجيا. حيث تم الحصول على نتائج هامة على مستوى المخبر تنم عن قوة النشاط المضاد للأكسدة لمختلف المستخلصات المدروسة خاصة فيما يتعلق بالمستخلص الاثلي الذي ثبت 100% لعملية الأكسدة باقتناصه للجذور الحرة .

كما تم أيضا تحديد الأنشطة المضادة للميكروبات التي أظهرت نتائج جيدة على السلالات البكتيرية المدروسة خاصة ذوات غرام +، كذلك بالنسبة للسلالات الفطرية المضررة للنبات حيث أثبت الفطر الأبيض المضر بأشجار التفاح على وجه الخصوص حساسية كبيرة ضد المستخلصات المدروسة .

الكلمات المفتاحية: الأثل, المستخلصات النباتية , المركبات الثانوية , النشاط المضاد للميكروبات , النشاط المضاد للأكسدة.

Liste des abréviations

APG : Angiosperms Phylogeny Group

ATCC: American type culture collection

AlCl₃: trichlorure d'aluminium

C° : Degré Celsius

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

ERO : Espèce Réactive de l'Oxygène

g: Gramme

GN : Gélose nutritive

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HIV : Virus de l'Immunodéficience Humaine

IC₅₀: La concentration du substrat qui inhibe 50% de l'activité de DPPH=EC₅₀

I %: Pourcentage d'inhibition

ml: Millilitre.

MH : Gélose Mueller Hinton

n: nombre de répétition

nm : Nanomètre

NCCLS: National committee for clinical laboratory standards

NO: Monoxyde d'azote

OH : Groupe hydroxyle

R : Rendement

Rf: Rapport frontal

RL : Radicale libre, radicaux libres

RLO : Radical libre oxygène

UV : Rayonnement Ultra Violet

μl : Microlitre

μg : Microgramme

V: Volume

λ: longueur d'onde

Liste des tableaux

Tableau01 : Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme	19
Tableau 02 : Caractéristiques et la source des bactéries utilisées.....	30
Tableau 03 : Caractérisation de la souche fongique utilisée.....	31
Tableau 04 : Aspect, couleur et rendement de différents extraits de <i>Tamarix sp</i>	45
Tableau 05 : Résultat de la CCM de la fraction éther de pétrole et acétate d'éthyle Système solvant : Ether de pétrole-Acétate d'éthyle (10 :10 V/V) Adsorbant : gel de silice.....	48
Tableau 06 : Résultat de la CCM de la fraction éther de pétrole Système solvant : Chloroforme/Méthanol (96/4)	49
Tableau 07 : Diamètre des zones d'inhibition.....	51
Tableau 08 : Diamètre des zones d'inhibition des moisissures	55
Tableau 09 : Représente Le pourcentage de réduction de radical DPPH.....	58

Listes des figures

Figure 01: Position de la famille <i>Tamaricacée</i> dans le clade des Caryophyllales.....	4
Figure 02 : Carte montrant l'aire d'origine de répartition du genre <i>Tamarix</i>	5
Figure 03 : photos des deux formes de croissance chez le <i>Tamarix sp</i>	6
Figure 04 : photo montrant des rameaux de <i>Tamarix sp</i>	7
Figure 05 : Photo montre Un médicament produit en Europe extrait des jeunes bourgeons de <i>Tamarix gallica</i>	9
Figure 06 : la structure générale d'un groupe phénol.....	12
Figure 07 : les effets biologiques des polyphénols.....	13
Figure 08: Structure de base des flavonoïdes et leur schéma simplifié.....	15
Figure 09 : La structure des différentes classes de flavonoïdes.....	16
Figure 10: la structure chimique d'un terpenoïde (Isoprène).....	23
Figure 11: Mode d'action des antibiotiques.....	28
Figure 12: Photo montre un rameau de pommier infecté par l'oïdium.....	32
Figure 13: Piégeage des espèces réactives oxygénées par les flavonoïdes.....	34
Figure 14: Protocole d'extraction générale.....	37
Figure 15: Les étapes d'extraction liquide-liquide des poudres de feuilles de <i>Tamarix sp</i>	38
Figure 16 : Droite d'étalonnage de la quercétine.....	39
Figure 17 : Teneur en flavonoïdes totaux (mgEQ/gE).....	46
Figure 18 : Photo de chromatogramme.....	50
Figure 19 : Photo de chromatogramme.....	50
Figure 20 : Photo montrant l'effet antibactérien.....	53
Figure21 : Photo montrant l'effet antibactérien.....	53
Figure 22 : coloration a l'état frais du <i>Podosphaera leucotrichiaa</i> agent causal de l'oïdium du pommier.....	54
Figure23: Photo montrant l'effet antifongique.....	56
Figure 24: Photo montrant l'effet antifongique.....	56

Figure 25 : La courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.....	57
Figure 26 : histogramme du différentes IC50 des extraits étudiés.....	57

Table des matières

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des Figures

Introduction Générale

CHAPITRE I

Première partie : Etude bibliographique

I I-Botanique et systématique de <i>Tamarix sp.</i>	1
I-1-Position systématique	1
I-1-1-Classification classique des <i>Tamaricaceae</i> selon Cronquist.....	1
I-1-2-Classification phylogénétique des <i>Tamaricaceae</i> selon APG 2003.....	1
I-2-Botanique	2
I-2-1-Introduction	2
I-2-2-Généralité sur la famille des <i>Tamaricaceae</i>	3
I-2-3- Description du genre <i>Tamarix</i>	3
I-2-4-Aire de répartition du genre <i>Tamarix</i>	5
I-2-5-Les caractères botaniques du genre <i>Tamarix</i>	6
I-2-5-1-La forme générale.....	6
I-2-5-2-Les rameaux	6
I-2-5-3-Les feuilles	7
I-2-6-Ecologie du genre <i>Tamarix</i>	7
II-2-7-Culture Et Entretien.....	8

I-2-8-Espèces, Variétés Intéressantes.....	8
I-3-Les utilisations du genre <i>Tamarix</i>	8
I-3-1-Comme plante médicinale	8
II- Etude Phytochimique des principaux métabolites secondaires et leur activité antimicrobienne.....	9
II-1-Introduction	9
II-2-Définition d'une plante médicinale.....	10
II-3-Phytothérapie	10
II-4-Les Métabolites secondaires des plantes	10
II-4-1-Mode d'action des métabolites secondaires	11
II-4-2- Classification des métabolites secondaires.....	12
II-4-2-1-Composés phénoliques.....	12
II-4-2-1-1-Définition.....	12
II-4-2-1-2-Les classes des polyphénols A- Les composés non flavonoïdes.....	13
A-1-Les acides phénoliques	13
A.2. Les stilbènes	14
A.3. Les lignanes et les lignines	14
A.4. Les coumarines.....	14
B- Les flavonoïdes.....	14
B.1. Les flavonones et les flavonols	17
B-2-Les isoflavones	17
B.3. Les tanins.....	17
B.4. Les anthrocyanidines	17
B.5. Chalcones et dérivés	18
B.6. Aurones et dérivés	18

II-4-2-1-3-Rôles et propriétés des composés phénoliques	18
A-Chez les végétaux	18
B-Chez les humains.....	18
C - Propriétés antibactériennes	19
D - Propriétés anticancéreuses.....	20
E - Propriétés anti-inflammatoires	20
F -Propriétés antivirales	21
II-4-2-2-Les alcaloïdes	22
II-4-2-2-1-Définition des alcaloïdes.....	22
II-4-2-2-2-Classification des alcaloïdes.....	22
II-4-2-2-3-Rôle des alcaloïdes.....	23
II-4-2-3-Les terpénoïdes	23
II-4-2-4-Les stérols	24
II-4-2-5-Stéroïdes.....	25
II-4-2-6- Les saponines	25
III- Activités Biologiques des Plantes.....	25
III -1-Les agents antimicrobiens.....	25
III-1-1-Généralité.....	25
III-1-2-Les conditions affectant l'efficacité des agents antimicrobiens.....	25
III-1-3-Détermination de l'activité antimicrobienne.....	26
III-1-4-Activité antimicrobienne des extraits des plantes	27
III-2-Evaluation de l'activité antibactérienne.....	28
III-2-1-Les Antibiotiques.....	28
III-2-1-1-Classification des antibiotiques	28

III-2-2-Caractéristiques des souches bactériennes utilisées	29
III-3-Evaluation de l'activité antifongique	30
III-3-1-Introduction	30
III-3-2-Les Antifongiques.....	31
III-4- Caractéristiques des souches fongiques étudiées	31
IV- Evaluation de l'activité antioxydante	33
IV-Le stress oxydatif.....	33
IV-2-Les radicaux libres.....	33
IV-3-Les espèces réactives de l'oxygène.....	33
IV-4-Les antioxydants.....	33
IV-5-Les maladies liées au stress oxydatif	34
IV-6-Principale méthode de détermination de l'activité antioxydante	34

Deuxieme Partie : Partie Pratique

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

I-1- Matériel végétal	36
I-2-préparation des échantillons	36
II -l'extraction des Flavonoïdes.....	36
II-1-Protocole d'extraction.....	36
II-1-1-Préparation de l'extrait brut.....	36
II-1-2-Extraction liquide-liquide	37
II- 2-Détermination du rendement	39
III-Etude phytochimique des extraits.....	39
III-1- Détermination quantitative des flavonoïdes.....	39

III-2- Analyse qualitative des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince ‘CCM’ des différents extraits	40
IV- Tests des effets biologiques	40
IV-1- Evaluation de l’activité antimicrobienne.....	40
IV-1-1-Activité antibactérienne	41
IV-1-1-2- Souches bactériennes.....	41
IV-1-1-3- Milieux de culture.....	41
IV-1-1-4-Préparation de l’inoculum bactérien	41
IV-1-1-5-Préparation des solutions.....	41
IV-1-1-6-Méthode de diffusion en milieu gélosé.....	41
IV-1-2- Evaluation de l’activité antifongique in vitro	42
IV-1-2-1- les souches étudiées.....	42
IV-1-2-2-Identification microscopique de l’oïdium	42
IV-2-2-3-Milieux de culture	43
IV-1-2-4- Préparation des solutions	43
IV-1-2-5- Méthode de diffusion en milieu gélosé	43
IV-3- Evaluation de l’activité antioxydante.....	43
IV-3-1- Solution d’extrait	44
IV-3-2-Test du DPPH	44
VI- 4-Expression des résultats	44

CHAPITRE III : Résultats et discussions

I- Etude phytochimique.....	45
I-1-Le rendement des extractions.....	45
I- 2-Résultats de l’étude quantitative	46

I-2-1-Dosage des flavonoïdes.....	46
I-3 Résultat de l'étude qualitative	47
I-3-1-Résultat de la chromatographie sur couche mince des différents extraits	47
II-Résultats des tests Biologiques	51
II-1- Evaluation des activités antimicrobiennes.....	51
II-1-1- L'activité antibactérienne testée par la méthode de diffusion sur gélose	51
II-1-2-Evaluation de l'activité antifongique	54
II-1-3- Identification microscopique de l'oïdium.....	54
II-1-4- L'activité antifongique testée par la méthode de diffusion sur gélose	54
II-1-3-Evaluation de l'activité antioxydante	57

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante.

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse.

De nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, alcaloïdes, terpènes ...etc.

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Tamarix*, ce dernier est largement distribué surtout dans les régions semi arides et arides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques particulièrement leur pouvoir antioxydant.

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont le but principal est d'étudier les activités antioxydantes et antimicrobiennes des différents extraits de *tamarix sp* ; La majorité des recherches ont étudié les huiles essentielles, alors que certaines d'entre elles ont étudié les extraits organiques et aqueux. Ce qui nous intéresse également dans cette recherche, suivant les étapes ci-après :

- Extraire les molécules bioactives, avec leurs détermination qualitative par chromatographie et quantitative par dosage des flavonoïdes; des différents extraits avec des concentrations différentes.

- Evaluation des activités biologiques *in vitro* : l'activité antibactérienne, antifongique et antioxydante.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I-Botanique et systématique de *Tamarix sp*

I-1-Position systématique

I-1-1-Classification classique des Tamaricaceae selon Cronquist

Plusieurs classifications classiques qui existent et qui s'oppose à la classification moderne de l'APG. Comme nous citon : la classification classique de Cronquist, 1981, la classification des angiospermes, créée par Robert Folger, Thorne en 1992 adoptée en 2000 ; puis 2002 et la classification d'Armen Takhtajan en 1954 rectifiée en 1997.

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Dilleniidae*

Ordre : *Violales*

Famille : *Tamaricaceae*

Genre : *Tamarix*

I-1-2-Classification phylogénétique des Tamaricaceae selon APG 2003

Elle se base sur l'affinité génétique entre les espèces, est devenue la classification botanique la plus importante aujourd'hui, (**Silvie, 2004**).

Clade : *Angiospermes*

Clade : *Dicotylédones vraies*

Clade : *Noyau des Dicotylédones vraies*

Ordre : *Caryophyllales*

Famille : *Tamaricaceae*

Genre : *Tamarix*

***Les synonymes de *Tamarix* :**

- nom scientifique : *Tamarix*
- nom Français : Tamaris, Tamarin
- nom Anglais : Salt Cedar, Tamarisk
- nom Arabe : Athal, Tarfa
- nom Amazigh : Amammythe

I-2-Botanique

I-2-1-Introduction

Venant du grec halos (sel) et phyton (plante), le terme d'halophyte a été introduit en 1809 par Pierre Simon Pallas et attribué aux végétaux vivant sur des sols salés, c'est-à-dire contenant une solution trop riche en sels et par là impropres à recevoir des cultures.

En fait, actuellement, on appelle halophyte toute plante qui est en contact par une partie quelconque de son organisme avec des concentrations anormalement fortes de sel : végétation marine ; plantes de bords de mer, de déserts, marais ou lacs salés (**Larafa, 2004**).

En effet certaines halophytes, bien que pouvant résister à d'importantes accumulations de sels dans le milieu extérieur, se comportent normalement sur des sols non salés et ne sont donc que des « halophytes facultatives ». Par contre, d'autres halophytes ne peuvent se développer complètement qu'en présence de fortes concentrations salines ; ce sont des « halophytes obligatoires ». **(1)**

I-2-2-Généralité sur la famille des *Tamaricaceae*

Les *Tamaricacées* est une famille du clade des caryophyllales qui appartient aux eudicots vrais selon la nouvelle classification des angiospermes (APG 2003), et dans l'ancienne classification cette famille appartient à l'ordre des Violales (**Anderson, 2005**).

Les espèces de cette famille sont des plantes ligneuses : arbustes, rarement arbres ou herbes avec des branches minces, la plupart d'eux sont des halophytes et rarement sont des xérophytes.

La famille des *Tamaricacées* regroupe 112 espèces endémiques des régions de l'Eurasie et l'Afrique et introduites dans d'autres régions telle que l'Amérique du Nord. Ces espèces sont repartaient en quatre genres qui sont :

- *Reaumuria* : 15 espèces
- *Tamarix* : 85 espèces
- *Myricaria* : 10 espèces
- *Hololachna* : 2 espèces, (**Wilken, 1993**).

Dans l'Afrique du nord Ozenda a cité une vingtaine d'espèces de *Tamarix*.

Les tamaricacées ont, généralement, des feuilles petites alternes, souvent sessiles, rarement subsessiles, éricoïdes, dotées de glandes qui secrètent des sels.

L'inflorescence axillaire solitaire (*Reaumurieae*) ou simple composée de racèmes, en épis ou solitaires (*Tamariceae*).

Les fleurs sont souvent petites, bisexuelles et rarement unisexuelles, actinimorphes, bractéoles, penta ou tétramères. (**Caiser, 1976**), sépales et pétales imbriqués. Etamines 5 ou plusieurs, insérées sur un disque nectarifère, libres ou unies à la base. Gynécée 5-2-carpellé avec autant de stigmates libres, à placentation pariétale ou pariétale-basale. Ovules de 2 à n, anatropes, ascendants. Le fruit est une capsule loculicide. Graine barbue entièrement ou seulement au sommet, rarement ailée, albuminée ou non, à embryon droit. (**Crins, 1989**).

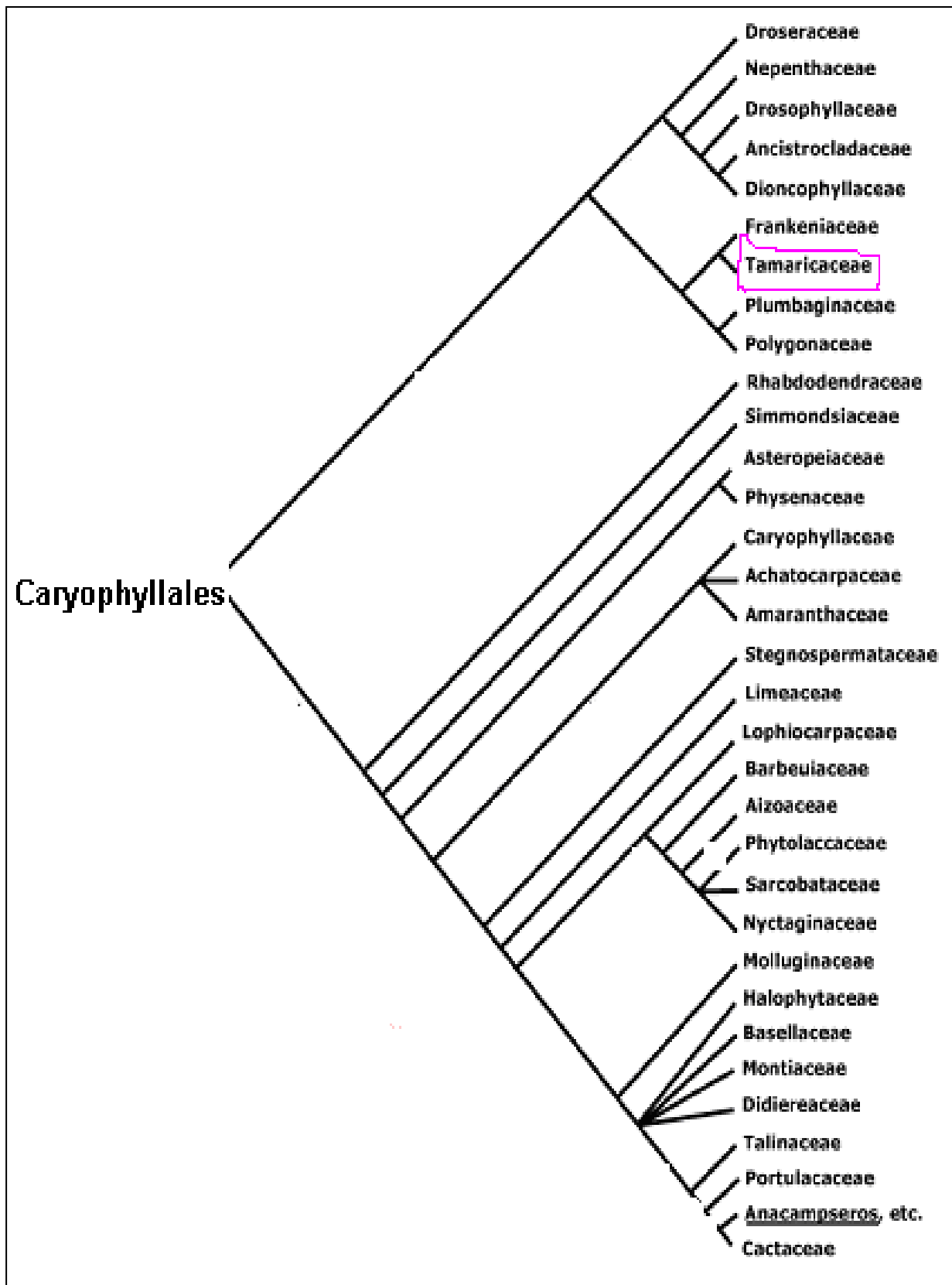


Figure 01: Position de la famille *Tamaricacée* dans le clade des Caryophyllales selon la classification angiosperms phylogeny group 2003 (APG 2003)

I-2-3- Description du genre *Tamarix*

Le *Tamarix* est connue depuis longtemps il est cité dans le Coran sacré sous le nom d'Athal. (**Surat Saba, verset 31**)

Le nom *Tamarix* a été dérivé du nom d'une rivière en Espagne appelée Tamaris, à la frontière des Pyrénées, où les espèces de *Tamarix* colonisent ses proximités.

Le terme *Tamarix* est adopté la première fois par Linné en 1753-1754, où il a cité seulement deux espèces dans son « herbier », (**Baum, 1967**).

I-2-4-Aire de répartition du genre *Tamarix*

Le genre *Tamarix* est représenté par des espèces phreatophytes facultatives et généralement halophytes. Originaire des régions d'Europe, de la Méditerranée, de l'Afrique du Nord, du Sahara et de l'Asie. Les espèces du *Tamarix* sont considérées comme espèces envahissantes en Amérique du Nord et l'Australie (**Nelroy E. Jackson, 1996**).

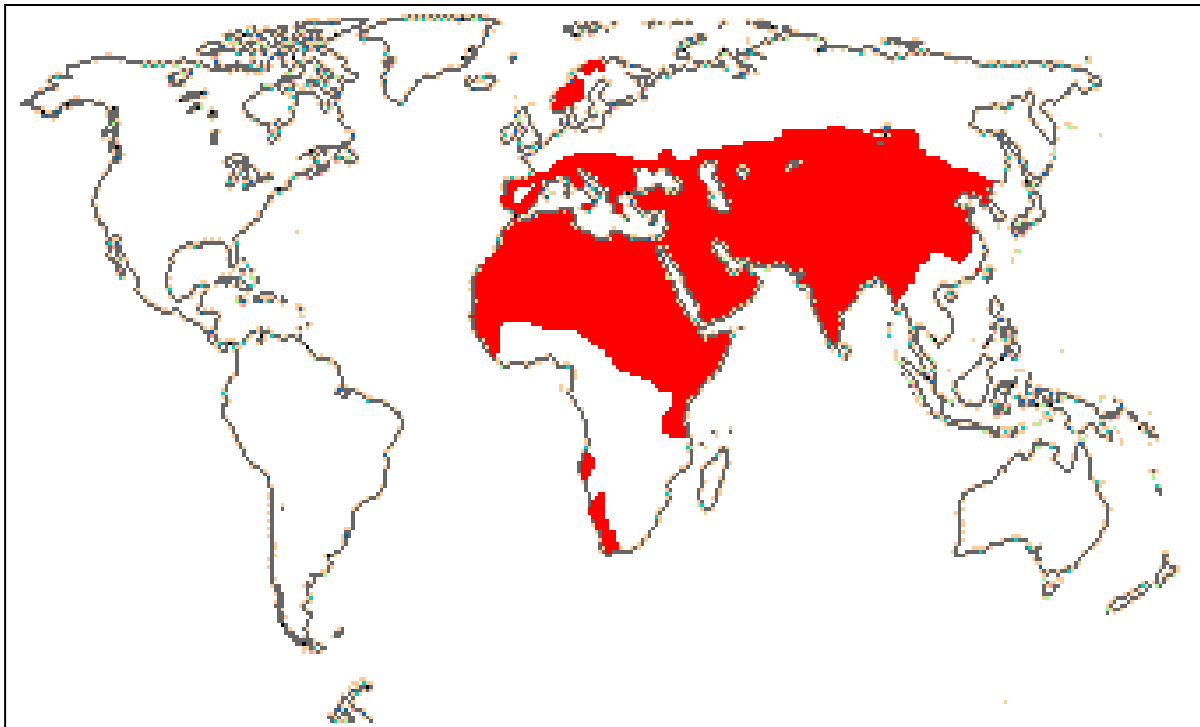


Figure 02 : Carte montrant l'aire d'origine de répartition du genre *Tamarix* selon (**Nelroy, 1996**).

I-2-5-Les caractères botaniques du genre *Tamarix*

I-2-5-1-La forme générale

Arbres ou arbustes de 2-10m d'hauteur, quelques fois 12m, avec un système racinaire puissant, une ramification dense. Il a deux formes de croissance : l'une normale et lui donne un aspect d'un arbre ordinaire avec une tige principale quand il existe dans des milieux normaux ; la seconde se caractérise par une ramification abondante quand les pieds se trouvent dans milieu stressant ou dans le cas d'accumulation des sédiments alluviaux (Mc, 2007).

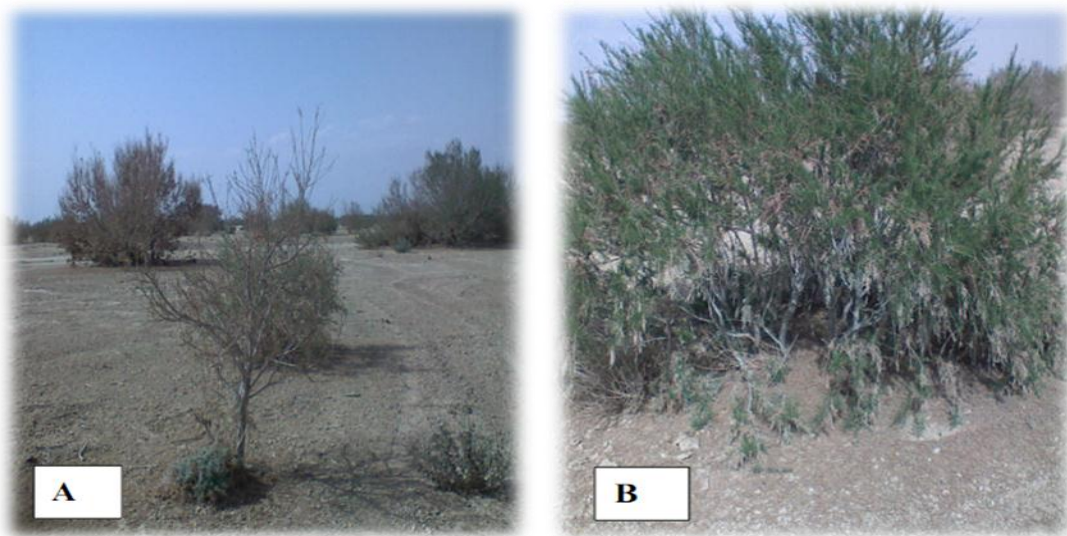


Figure 03 : photos des deux formes de croissance chez le *Tamarix sp.* ; A : forme normale, B : forme ramifiant (site d'Ouazerne). (AnnseL et Bettiche, 2012)

I-2-5-2-Les rameaux

Ils sont généralement nombreux minces, glabres, ou écorces de différentes couleurs : souvent marron ou marron noirâtre.



Figure 04 : photo montrant des rameaux de *Tamarix sp.* (Site de Gaet El Taref) (AnnseL ,Bettiche K.2012)

I-2-5-3-Les feuilles

Sont petites de 0.5 à 0.7mm de long, écailleuses, souvent imbriquées, alternées, donnant aux rameaux l'apparence de ceux de certains Genévriers, sessiles, glabres. Elles sont souvent ponctuées de minuscules trous correspondant à des entonnoirs au fond desquels se trouvent placés les stomates et par où exsude un mucus contenant du sel et du calcaire. Elles sont caduques chez certaines espèces et persistantes chez d'autres (Chaâbane A., 1993).

I-2-6-Ecologie du genre *Tamarix*

Le tamarix est un arbre des étages arides et Saharien ; il pousse sur tous les types de sol et supporte les eaux fortement salées. Il se développe et se multiplie facilement, il forme parfois des formations forestières basses.

Adapté à des conditions climatiques extrêmes, le tamarix se développe sous une tranche pluviométrique inférieure à 200 mm de pluie par an. Très résistant à la sécheresse, il colonise parfaitement les sols sableux grâce à son système racinaire superficiel très développé et pivotant allant en profondeur à la recherche de l'humidité.

Prospérant dans les étages bioclimatiques arides et Saharien, le tamarix est indifférent à la nature du sol, il rejette de souche abondamment et se régénère facilement par semis dans les zones où l'impact de l'homme et de l'animal sont absents. (Bestaoui , 2001).

II-2-7-Culture Et Entretien

Les tamarix sont des arbustes rustiques, qui peuvent supporter des températures descendant en dessous de - 20°C. Ils poussent sur des sols ordinaires, légers et plutôt secs.

Ils se plaisent également en bord de mer, où on les rencontre souvent, du fait de leur bonne résistance aux environnements salés et aux vents. Ainsi, le tamarix peut être utilisé dans une haie brise vent. Le grand intérêt du tamarix réside dans sa floraison abondante.

Ce sont également, et avant tout, des arbustes de soleil. La plantation des tamaris se fait soit à l'automne, soit au printemps. (Bestaoui, 2001).

I-2-8-Espèces, Variétés Intéressantes

- **Tamarix gallica** : forme sauvage poussant naturellement dans le Sud et l'Ouest de la France, les fleurs roses apparaissent de juin à août.
- **Tamarix parviflora** (littéralement "à petites fleurs") : il fleurit au printemps sur le bois de l'année précédente, avant la sortie des nouvelles feuilles.
- **Tamarix tetrandra** : il fleurit au printemps et se distingue par un port étalé et des grappes plus grandes.
- **Tamarix ramosissima** : aux fleurs roses, 'Rubra' aux fleurs rouges.
- **Tamarix ramosissima**, **Tamarix pentandra**, **Tamarix odessana** : ils fleurissent en été sur le bois de l'année précédente. (Bestaoui ; 2001).

I-3-Les utilisations du genre *Tamarix*

I-3-1-Comme plante médicinale

Plusieurs peuples l'utilisent comme une plante médicinale à cause de ses caractéristiques thérapeutiques pour plusieurs maladies.

Le *Tamarix* est l'un des bourgeons qui active le métabolisme du fer puisqu'il stimule la formation des hématies. Il est recommandé dans les syndromes hémogéniques aigus, l'anémie hypochrome, l'érythropénie tant hypoplaquettaire que médullaire.

Il agit comme hypercoagulant total et est, de ce fait, indiqué dans les hypocoagulations sanguines (**Depoërs,2002**).

C'est un remède des thrombopénies acquises par suite d'infection virale et s'indique dans la mononucléose infectieuse. Il lutte contre l'histiocytose diffuse chronique (maladie de Hand-Schuller) et active le métabolisme du cholestérol (**Jacques, 2004**).



Figure 05 : Photo montre Un médicament produit en Europe extrait des jeunes bourgeons de *Tamarix gallica* .

II- Etude Phytochimique des principaux métabolites secondaires et leurs activités biologiques

II-1-Introduction

Les plantes constituent la source majeure de médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle le métabolisme secondaire (**Fouché et al, 2000**).

Environ 25 % du nombre total de médicaments utilisés en thérapeutique sont des produits d'origine végétale, entre autres, l'atropine, la codéine, et la morphine.

Les métabolites secondaires sont utilisés pour prévenir, soigner ou soulager divers maux ; Le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques disponibles a mené des auteurs à chercher d'autres alternatives, en se basant sur l'étude de l'activité antimicrobienne des plantes médicinales (**Nostro et al, 2000**).

Par ailleurs, la phytothérapie requiert une connaissance parfaite des composants chimiques contenus dans un organe végétal et une bonne connaissance des modes d'emploi et ceci afin de bien cibler et corriger soit les carences soit le déséquilibre qui est lui-même dû à plusieurs facteurs.

II-2-Définition d'une plante médicinale

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée française note 1 comme une « drogue végétale au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». Une « drogue végétale » est une plante ou une partie de plante, utilisées en l'état, soit le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais.

L'expression drogue végétale ou, plus couramment, drogue, désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments. (Mohamedi, 2013)

II-3-Phytothérapie

La Phytothérapie est une médecine qui utilise des plantes ou la seule "partie active" de ces plantes ; ayant des propriétés thérapeutiques. Ces plantes sont appelées "plantes médicinales".

Les préparations peuvent être obtenues par macération, infusion, décoction, ou sous forme de teinture, poudre totale, extraits,... etc. Les plantes médicinales peuvent être des espèces cultivées mais dans la plupart des cas des espèces sauvages. (Mohamedi, 2013)

II-4-Les Métabolites secondaires des plantes

Les plantes produisent une large variété de composés chimiques, chacune possède son ensemble spécifique de métabolites secondaires qui ne sont pas impliqués dans les processus métaboliques de base de la plante, mais sont impliqués dans l'interaction de l'organisme produisant avec son environnement. Il existe environ 100 000 composés connus qui sont d'origine naturelle et extraits des plantes. Chaque année, ce nombre augmente d'environ 4 000 composés nouvellement découverts (Harborne, 1999).

II-4-1-Mode d'action des métabolites secondaires

La plante doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit : prédateurs, microorganismes pathogènes, etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre : les métabolites secondaires Ils ont des fonctions très différentes, par exemples:

-Protection contre l'attaque des pathogènes ou des herbivores.

-Attraction des pollinisateurs.

-Ils participent à des réponses allélopathiques (Compétition entre les plantes pour la germination et la croissance).

-Ils sont des molécules qui sont aussi très utiles pour l'homme, comme : colorants, arômes, antibiotiques.

-L'intérêt des métabolites secondaires a considérablement augmenté ces dernières années en raison de la diversité de leurs effets comme antioxydants, antiviraux, antibactériens, et anticancéreux, herbicides, drogues etc (Sefi M et al, 2010).

On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre.

II-4-2- Classification des métabolites secondaires

II-4-2-1-Composés phénoliques

II-4-2-1-1-Définition

Les molécules phénoliques constituent une famille de molécules largement présente dans le règne végétal. Ils sont des composés qui contiennent un groupe phénol

(Anneau aromatique avec un groupe hydroxyle). Ils peuvent avoir plusieurs différents substituants.

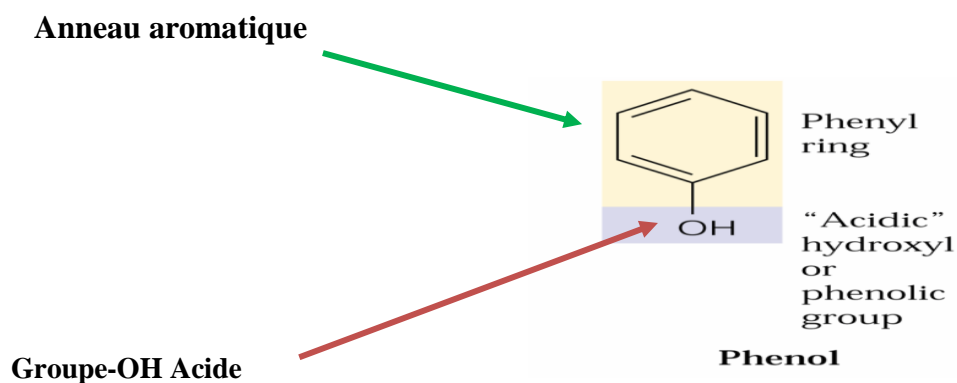


Figure 06 : la structure générale d'un groupe phénol

Les polyphénols sont caractérisés comme l'indique le nom, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont le produit du métabolisme secondaire des plantes.

Il y a deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et acétate (**Lugasi et al, 2003**).

Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment à cause de leurs effets sur la santé.

En effet leurs rôles d'antioxydants naturels suscitent de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer des maladies inflammatoires, des maladies cardiovasculaires, des maladies neurodégénératives.

Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

Les polyphénols sont communément subdivisés en phénols simples, (acides phénols, flavonoïdes simples, et proanthocyanidins) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (**Beta et al. 2005**).

Toutes les classes de composés phénoliques comportent un grand nombre de structures différentes en fonction du nombre et de la position des groupements hydroxyles sur le squelette de base. Ces structures peuvent également être diversement substituées (glycosylées, estérifiées, acylées...).

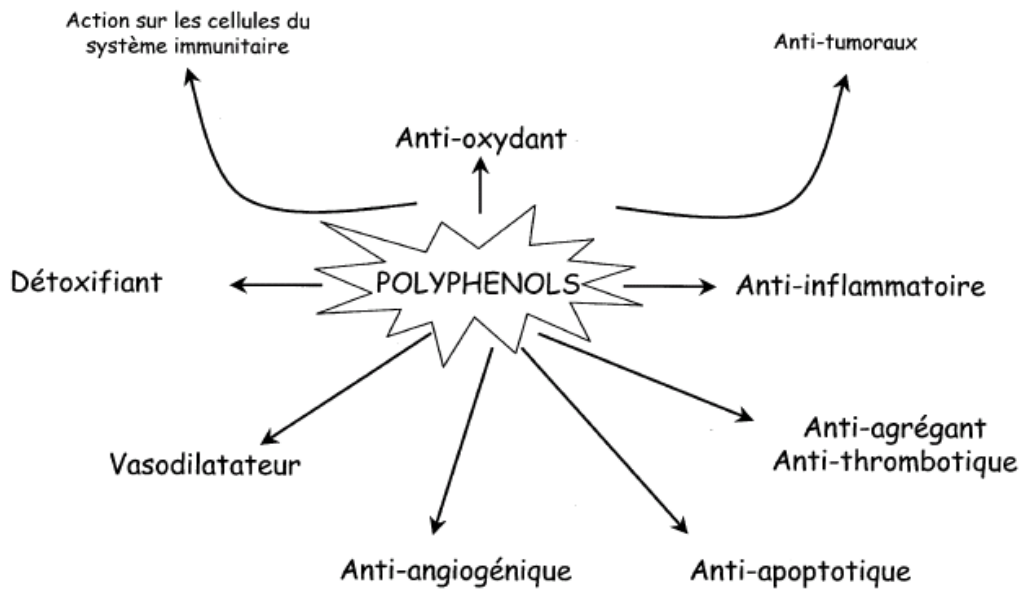


Figure 07 : les effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

II-4-2-1-2-Les classes des polyphénols

A- Les composés non flavonoïdes

A-1-Les acides phénoliques

Sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales, Sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prebiotique, antioxydant, anti-inflammatoire (Psotova et al. 2003).

On distingue deux principales classes d'acide phénolique; les dérivés de l'acide benzoïque, et les dérivés de l'acide cinnamique. La concentration de l'acide hydroxybenzoïque est généralement très faible chez les végétaux comestibles. Ces dérivés sont assez rares dans l'alimentation humaine par contre ceux d'acides hydroxycinnamiques sont très présents (Fleuriet et al, 2005).

A-2- Les stilbènes

Les stilbènes se trouvent en petites quantités dans l'alimentation humaine, parmi ces composés on trouve le resveratrol qui est un anticancéreux présent dans certaines plantes médicinales (Fleuriet et al, 2005).

A-3- Les lignanes et les lignines

Les monolignols sont les dérivés de l'acide cinnamique, ils servent de précurseurs pour les composés de types phénylpropanoïdes tels que les lignanes et les lignines.

Les lignanes répondent à une représentation structurale de type (C6-C3)₂; l'unité (C6 - C3) est considérée comme un propylbenzène.

Les plantes les élaborent par dimérisation oxydante de deux unités d'alcool coniférique.

Quand cette dimérisation implique une liaison oxydante par les C- 8 des chaînes latérales propényles de deux unités d'alcool coniférique liées, formant la liaison (C8-C8), les métabolites résultants portent le nom de lignane . (**Jutiviboonsuk et al, 2005**)

A-4- Les coumarines

Elles sont issues du métabolisme de la phénylalanine via un acide cinnamique, l'acide P-coumarique. Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone. (**Sakagami, 2005**).

Les coumarines sont cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives ; elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées.

B- Les flavonoïdes

Ce sont des pigments hydrosolubles fréquents chez les végétaux et responsables de certaines colorations des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils ont une origine biosynthétique commune et possèdent de ce fait le même élément structurel de base : enchaînement de 2-phénylchromane.

Les flavonoïdes sont connus principalement pour leur activité antioxydante (**Bruneton, 1999**).

On les trouve dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastides particuliers, les chromoplastes. Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. On dénombre près de 6500 flavonoïdes, et leur nombre ne cesse d'accroître. Par définition, les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure du diphenylpropane (C6-C3-C6); les trois carbones servant de

jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné (Rijke et al, 2006).

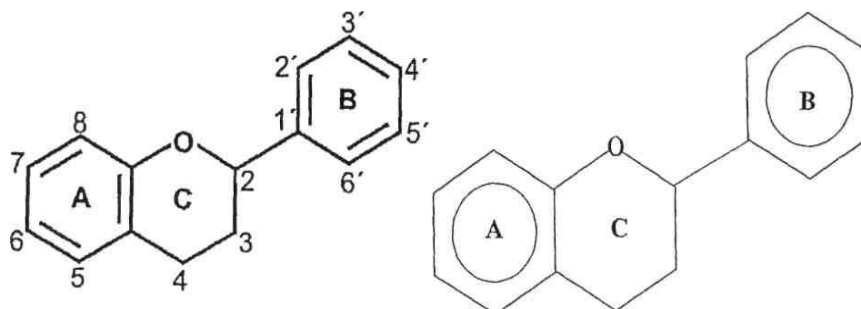


Figure 08: Structure de base des flavonoïdes et leur schéma simplifié (Dacosta 2003)

On peut distinguer notamment dans les flavonoïdes : les flavones (Lutéolol, Apigénol), les flavonols (Kaempférol, Quercétol, Myricétol, Fisétine), les flavanones, dérivés 2,3-dihydrogénés (Afzéléchol, Catéchol, Naringinine, Eriodictyol, Homoeriodictyol), les flavanols, dérivés de 2,3-dihydro-2-phénylchromen-4-one (Catéchines), les flavanonols, dérivés de 3-hydroxy-2,3-dihydro-2-phenylchromen-4-one (Dihydroquercétine), les aurones, 2-benzylidène-coumaranones (Hispidol), les chalcones au cycle pyranique ouvert (Butéine, Naringine dihydrochalcone, néohespéridine dihydrochalcone, Phlorétine), (Tripoli 2007).

Actuellement, près de 5000 flavonoïdes ont été décrits. De Rijke et coll. ont classé les flavonoïdes en 6 familles qui impliquent les flavonols, les flavones, les flavanes, les isoflavones, les anthocyanines et les flavanols.

Au sein de ces six familles, deux types de structures ont été relevés, celui des flavonoïdes au sens strict dont la structure porte le noyau aromatique B en position 3 sur la chaîne C3 et celui des isoflavonoïdes dont le noyau aromatique B est en position 2 sur la chaîne C3.

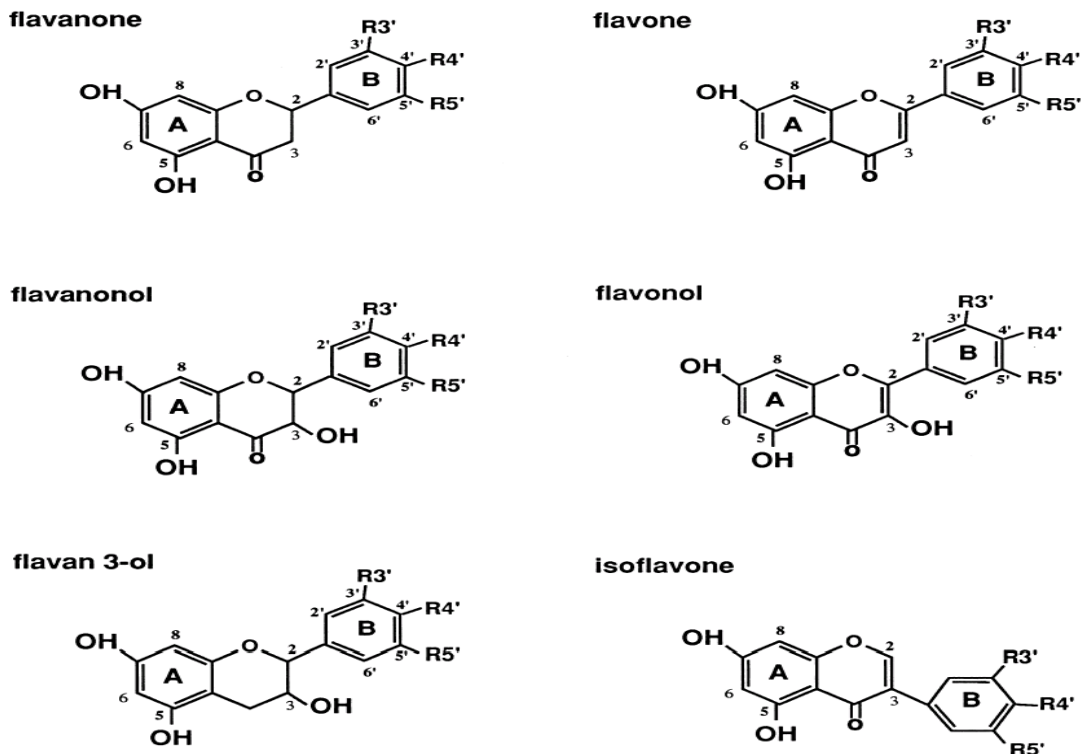


Figure 09 : La structure des différentes classes de flavonoïdes (**Gamet-Payrastré et al, 1999**).

B-1- Les flavonones et les flavonols

Ils représentent environ 80% des flavonoïdes connus. La principale activité attribuée à ces flavonoïdes est une propriété vitaminique P veino-active. Ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance. Souvent anti-inflammatoires, ils peuvent être antiallergiques, hépato-protecteurs, antispasmodiques, diurétiques, antibactériens, antiviraux (**Bruneton, 1999**).

B-2- Les isoflavones

Les isoflavonoïdes constituent une grande et très diversifiée sous classe des flavonoïdes. Ils dérivent d'une structure 1,2-diphénylpropane. Malgré leur caractérisation sporadique dans la classe des dicotylédones, ces sont des composés presque spécifiques de la famille des Fabacées.

B-3- Les tanins

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé. Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire.

Les tanins sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux (Alkurd A, 2008). On distingue: les tanins hydrolysables et condensés.

B-4- Les anthocyanidines

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés Les anthocyanines sont des flavonoïdes porteurs d'une charge sur l'oxygène de l'hétérocycles C. La structure de base des anthocyanines est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C3 (Ribereau, 1968). Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment.

Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange (Brouillard, 1986).

B-5- Chalcones et dérivés

Les chalcones sont des flavanoïdes ne comportant pas d'hétérocycle C. Ils sont prénylés le plus souvent sur le noyau A tandis que le noyau B reste peu ou pas substitué.

B-6- Aurones et dérivés

Les aurones sont des isomères structuraux des flavones. Ils ont une structure proche mais différente de la plupart des autres flavonoïdes.

II-4-2-1-3-Rôles et propriétés des composés phénoliques

A-Chez les végétaux

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique; soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux; dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa

consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par la transformation (**Fleuriet, 2005**).

B-Chez les humains

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (**Fleuriet, 2005**). Spécifiquement, on attribue aux flavonoïdes des propriétés variées: veinotonique, antitumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, antiallergique, antispasmodique, antibactérienne, hépatoprotectrice, estrogénique et/ ou anti-estrogénique. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires (**Kim, 2009**).

Tableau 01: Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme

Polyphénols	Activités biologiques	Auteurs
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes, anti-ulcéreuses, antiparasitaires antifongiques, antioxydantes	(Sannomiya et al, 2005) (Gurbuz et al, 2009)
Coumarines	Protectrices vasculaires, anti- inflammatoires, anti parasitaires analgésiques et anti oedémateuses	(Ito et al, 2005) (Kalkhambar et al, 2007)
Flavonoïdes	Antitumorales, antiparasitaires, vaso, dilatoires, antibactériennes, anti carcinogènes, anti-inflammatoires, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, ostéogène, antioxydantes, anti-atherogéniques, antithrombotique, anti-allergique	(Wollgast et al, 2000) (Hitara et al, 2009) (Tripoli et al, 2007) (Shon et al, 2004)
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux, anti oxydant	(Bruneton , 1993)
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydant, antitumoral, antifongique et anti-inflammatoire	(Masquelier et al, 1979)
Tannins galliques et caté-chiques	Antioxydantes	(Okamura et al, 1993) (Kubata ,2005)
Lignanes	Anti-inflammatoires, analgésiques	(Kim et al, 2009)
Saponines	Antitumorale, anticancérigène,...	(Nebeling , 2002)
Phytostérols	Agent de protection contre l'hormone dépendant du cancer de colons	(Nebeling ,2002)

C -Propriétés antibactériennes

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes, sous forme de métabolites secondaires dont les composés phénoliques, sont toujours utilisés dans l'industrie alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire.

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis- à -vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour

inactiver les andésines microbiens, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire. (Mohamedi, 2013)

D -Propriétés anticancéreuses

Depuis longtemps, on associe le cancer et le type d'alimentation, de nombreux chercheurs ont étudié le rôle des nutriments dans le développement des cancers. Plus récemment des recherches expérimentales suggèrent que les flavonoïdes sont parmi les substances susceptibles de retarder voire d'empêcher l'apparition de certains cancers, tout en réduisant d'une manière spécifique les risques d'en avoir chez les sujets humains.

*L'activité anticancéreuse des flavonoïdes est assurée par l'intervention de plusieurs mécanismes :

- piégeage des radicaux libres
- Inhibition du métabolisme d'acide arachidonique
- Formation d'un complexe inactif avec le carcinogène
- Prévention de l'activation des métabolites carcinogènes
- Inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses
- Arrêt du cycle cellulaire des cellules cancéreuses
- Induction de l'apoptose
- Inhibition des processus d'angiogénèse (Zeghad,2008)

E - Propriétés anti-inflammatoires

Au cours de l'inflammation, des produits bactériens déclenchent la production d'une grande quantité d'oxyde nitrique (NO) dans les macrophages et d'autres cellules sous l'action d'oxyde nitrique synthase inducteur (iNOS), bien que la libération de (NO) est très importante pour maintenir la dilatation des vaisseaux sanguins (vasodilatation) mais des fortes concentrations peuvent conduire aux dommages oxydatifs, car une fois que le NO est formé il se peut qu'il va réagir avec l'anion superoxyde conduisant à la formation de peroxyde nitrite qui provoque l'endommagement des macromolécules cellulaires. Cependant une production en

excès de NO durant une inflammation chronique résulte au développement du cancer. **(Tsai, 2004)**

De nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires d'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine. **(González-Gallego et al, 2007).**

F -Propriétés antivirales

La stratégie de recherche d'un composé antiviral consiste à mesurer la réduction de l'infection virale des cellules en culture, une substance peut agir à différents niveaux du cycle viral :

- au niveau de l'adsorption du virus sur la cellule hôte
- au niveau de la pénétration du virus dans la cellule hôte
- au niveau la de réplication du virus et la synthèse des protéines virales
- au niveau de l'assemblage et de la sortie du virus hors de la cellule hôte

L'activité antivirale des flavonoïdes contre HIV peut être liée directement par leurs effets sur les enzymes responsables de son réplication (HIV-1 reverse transcriptase ou HIV-1 intégrase) par ailleurs d'autres flavonoïdes montraient une activité antivirale contre le virus d'influenza, HIV-1, HIV-2.

Quercétine, apigénine, catéchine et hespéridine sont parmi les flavonoïdes caractérisés par leurs propriétés antivirales contre onze types de virus. Les flavonoïdes aglycones pourvus d'un groupement hydroxyle libre en C3 ont montré une bonne activité antivirale, les flavanes sont généralement plus efficaces que les flavones et les flavanones contre HIV-1 et HIV-2. **(Tapas et al, 2008).**

II-4-2-2-Les alcaloïdes

II-4-2-2-1-Définition des alcaloïdes

Les alcaloïdes forment un vaste groupe de métabolites secondaires. Il existe plusieurs définitions des alcaloïdes. Cette définition comporte les points essentiels suivants :

- Un alcaloïde est un composé organique d'origine naturelle.
- azoté,
- plus ou moins basique,
- de distribution restreinte,
- et doué, à faible dose, de propriétés pharmacologiques marquées.

Ils sont généralement synthétisés dans les tissus périphériques des plantes, puis sont stockés dans des compartiments tels que les vacuoles. La régulation de la synthèse de ces alcaloïdes, qui peut s'exercer au niveau de l'expression enzymatique, est dépendante du stade de différenciation. Leur rôle dans les plantes est assez- peu connu. Certains pourraient intervenir dans les relations de défense plantes-prédateurs.

II-4-2-2-2-Généralité sur la classification des alcaloïdes

Ils se présentent fréquemment sous forme de sels, mais certains se produisent également en combinaison avec des sucres, et d'autres apparaissent sous forme d'amides ou esters. Les alcaloïdes peuvent aussi être des sels quaternaires ou d'oxyde d'amine tertiaire. Ils peuvent être classés en fonction de leur structure chimique, de leurs activités biologiques et écologiques ou de leur voie de biosynthèse. Les voies métaboliques sont généralement propres à un groupe taxonomique (espèce, famille, ...) et peuvent en constituer des éléments descriptifs caractéristiques (**Donatien , 2009**).

II-4-2-2-3-Rôle des alcaloïdes

Si dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme:

- Antitumoraux : vincalécoblastine, vincristine, taxol, camptothécine
- Antalgiques : morphine, codéine
- Spasmolytiques : tubocurarine et papaverine
- Vasodilatateurs : vincamine et ajmalicine
- Emétiques : émétine,
- Antitussifs : codéine,
- Antiarythmiques : quinidine et ajmaline,
- Antipaludiques : quinine
- Ils sont également des agents de traitement de la maladie d'Alzheimer : galanthamine.

(Donatien, 2009)

II-4-2-3-Les terpénoïdes

Ils sont formés par la polymérisation des unités à 5 atomes de carbone. Le nom a une origine historique car les premiers membres du groupe ont été isolés de la térébenthine (terpentin)

Les terpènes sont des dérivés de l'isoprène C_5H_8 et ont pour formule de base des multiples de celle-ci $(C_5H_8)_n$. On peut considérer l'isoprène comme l'un des éléments de construction préférés de la nature (figure 10).

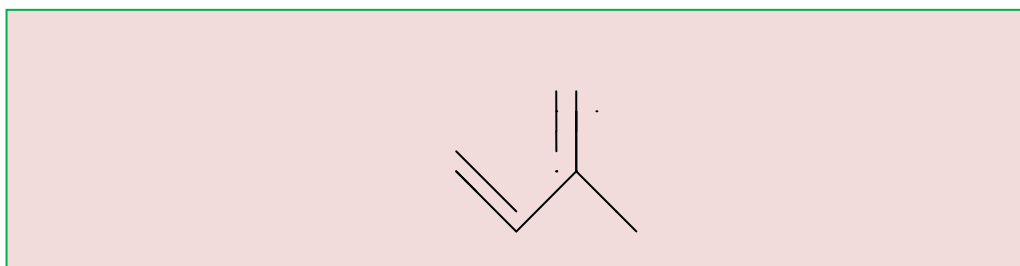


Figure 10: la structure chimique d'un terpénoïde (Isoprène)

Leur squelette de carbone est constitué d'unités isopréniques reliées entre eux.

Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des cycles. Ils sont classés selon le nombre d'unités (5C).

Parmi les terpènes les plus importants on trouve: l' α -pinène, le β -pinène, le δ -3- carène, le limonène, le carotène...

II-4-2-4-Les stérols

Ce sont des dérivés des phytostérols. Ces composés sont naturellement présents dans la fraction lipidique des plantes. Ils ne sont pas synthétisés par l'homme et l'animal, ils ne peuvent être apportés que par l'alimentation. Plusieurs études ont démontré que les phytostérols et les phytostanols réduisent l'absorption du cholestérol dans l'intestin grêle.

II-4-2-5-Stéroïdes

Les stéroïdes constituent un groupe de lipides dérivant de triterpénoïdes (lipides à 30 atomes de carbones), majoritairement le squalène. Ils se caractérisent par un noyau cyclopentanophénanthrénique hydrophobe partiellement ou totalement hydrogéné. Habituellement, les carbones C10, C13 sont liés à un groupe méthyle - CH₃ et le carbone C17 à un groupe alkyle (**Donatien ,2009**).

II-4-2-6- Les saponines

Le nom saponine dérive du mot latin «sapo», qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Comme définition, on dirait qu'une saponine est un glycoside de stéroïde ou de triterpène. Fondamentalement, on distingue les saponines stéroïques et les saponines triterpéniques dérivant tous deux biosynthétiquement de l'oxyde de squalène (**Manach et al, 2004**).

III- Activités Biologiques des Plantes

III -1-Les agents antimicrobiens

III-1-1-Généralité

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les microorganismes ou empêcher leur croissance, y compris les antibiotiques et autres agents antibactériens, antiviraux, antifongiques et antiparasitaires (**CE, 2001**).

Les agents antimicrobiens agissent par différents mécanismes et peuvent être utilisés de diverses manières, selon les objectifs recherchés et selon leur spécificité d'action. Cette dernière peut globalement être répartie en deux types : action bactéricide (ou germicide) pour les agents ayant une action létale sur les bactéries, action bactériostatique pour les agents qui inhibent les bactéries sans les tuer (**Euzéby, 2005**).

III-1-2-Les conditions affectant l'efficacité des agents antimicrobiens

La destruction des microorganismes et l'inhibition du développement microbien ne sont pas choses simples car l'efficacité d'un agent antimicrobien est affectée par au moins six facteurs :

-La taille de la population

Du fait qu'une fraction égale d'une population microbienne est tuée pendant chaque intervalle, il faut plus longtemps pour détruire une population plus petite.

-La composition de la population

L'efficacité d'un agent varie fortement avec le type d'organisme traité car les microorganismes varient fortement en sensibilité.

-La concentration ou l'intensité d'un agent antimicrobien

Souvent mais pas toujours, plus un agent chimique est concentré ou plus un agent physique est intense, plus les microorganismes sont détruits rapidement.

Généralement, l'effet de la concentration ou de l'intensité sur l'efficacité n'est pas linéaire. Parfois, un agent est plus efficace à faible concentration, par exemple, l'éthanol à 70% est plus efficace que l'éthanol à 95%, car son activité s'accroît en présence d'eau.

-La durée d'exposition

Plus longtemps une population est exposée à un agent antimicrobien, plus nombreux sont les organismes tués. Pour réussir une stérilisation, il faut utiliser une durée d'exposition suffisante pour réduire la probabilité de survie à 10^{-6} ou moins.

-La température

Un accroissement de la température à la quelle une substance chimique agit, augmente souvent son activité. On peut utiliser fréquemment une plus faible concentration de désinfectant ou d'un agent stérilisant à une température plus élevée.

-L'environnement local

La population à détruire ou à inhiber n'est pas isolée mais elle est soumise à des facteurs de l'environnement qui peuvent offrir une protection ou favoriser la destruction. par exemple, comme la chaleur tue plus facilement à pH acides, la nourriture et les boissons acides telles que les fruits et les tomates, sont plus facilement pasteurisés que les denrées alimentaires plus neutres comme le lait (**Prescott et coll., 2003**).

III-1-3-Détermination de l'activité antimicrobienne

Tester un agent antimicrobien débute souvent par une évaluation destinée à vérifier si les agents sont efficaces et à quelle concentration. On utilise des microorganismes pathogènes modèles comme témoin d'efficacité d'un traitement : *Micobacterium tuberculosis*, *Clostridium botulinum*, parfois *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* *E.coli*, parfois même des virus, Parmi les tests le plus courants, on distingue : le coefficient phénol, méthode de porte germe et la concentration minimale inhibitrice.

-Coefficient phénol

Il s'agit de comparer l'activité d'un antiseptique avec celle du phénol en présence d'un germe test. Le coefficient phénol est égal au rapport entre la dilution du désinfectant et celle du phénol, dans des conditions opératoires donnée. (**Bousseboua ,2002**).

-Concentration minimale inhibitrice

L'évaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) consiste à déterminer la plus faible concentration d'un agent antimicrobien, nécessaire pour inhiber la croissance d'un microorganisme. La CMI est déterminée par l'utilisation d'une gamme de dilution de l'agent antimicrobien, additionné à une série de tubes d'un milieu de culture liquide, de composition convenable. Après inoculation des espèces microbiennes étudiées et incubation dans les mêmes conditions la CMI est indiquée par le tube de la dilution à partir de laquelle aucune croissance microbienne n'est constatée. C'est-à-dire qu'aucune turbidité ou trouble ne sont observés dans le milieu.

-Diffusion sur gélose

La méthode de diffusion dans la gélose (agar) est particulièrement adaptée à l'étude de l'action des antibiotiques sur la croissance des bactéries. Elle permet de déterminer leurs antibiogrammes, qui rendent compte de la sensibilité spécifique des différentes espèces bactérienne vis à vis d'antibiotiques donnés.

Mais elle peut être adaptée au test d'autres agents antimicrobien. Elle consiste à utiliser des boîtes de pétri contenant un milieu gélosé convenable, déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée. Des disques en papier filtre, préalablement imprégnés de quantités connues d'antibiotiques, sont alors placés en surface de la gélose. **(Guinard JL., 1998)**

Durant la période d'incubation, l'antibiotique diffuse dans la gélose à partir des disques, selon un gradient de concentration jusqu'à une limite de distance où sa concentration est la plus faible. Après incubation, on constate que dans la boîte de pétri un développement bactérien normal dans la gélose, sauf autour des disques d'antibiotiques qui ont une action inhibitrice.

Autour de ces disques on observe une zone d'inhibition exempte de développement microbien, avec un diamètre proportionnel à la concentration et à l'efficacité de l'antibiotique. Ce type de test est couramment utilisé dans la détermination de la sensibilité des bactéries pathogènes aux antibiotiques.

Les antibiogrammes ainsi définis sont d'un apport décisif dans la prescription des traitements aux antibiotiques dont l'utilisation est alors optimisée par l'emploi du composé auquel la bactérie infectante est la plus sensible **(Boussaboua ,2002)**.

III-1-4-Activité antimicrobienne des extraits des plantes

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons, intégrons). Ces résistances ont conduit à chercher de nouveaux agents antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les drogues synthétiques d'une part et bien acceptés par l'organisme d'autre part (sans exercer des effets délétères sur la santé humaine) **(García-Ruiz et al., 2008 ; Kempf et Zeitouni., 2009)**.

Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que fenouil (*Foeniculum vulgare*), menthe poivrée (*Mentha piperita*), thym (*Thymus vulgaris*), ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus **(Jürgen et al, 2009)**.

D'autres groupes de chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industries pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle (Huang et al , 2008)

III-2-Evaluation de l'activité antibactérienne

III-2-1-Les Antibiotiques

L'élimination des microorganismes pathogènes fait appel à des substances dites : antibiotiques. Ces derniers sont synthétisés par des microorganismes (le plus souvent des champignons). Ils ont la capacité soit de détruire les bactéries (effet bactéricide), ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (Elghozi, 1992).

III-2-1-1-Classification des antibiotiques

Il existe plusieurs classifications des antibiotiques, elles sont basées sur le spectre d'action, la cible, ou la famille chimique. Cette dernière celle-ci est la plus fréquemment rencontrée.

Les principales familles chimiques des antibiotiques sont: Bêtalactamines: pénicilline et céphalosporines; Aminosides: streptomycine, gentamycine; Chloramphénicol et thiamphénicol; Cyclines: tétracyclines,doxycycline. Macrolides et apparentés : érythromycine, oléandomycine (Cohen, 2001).

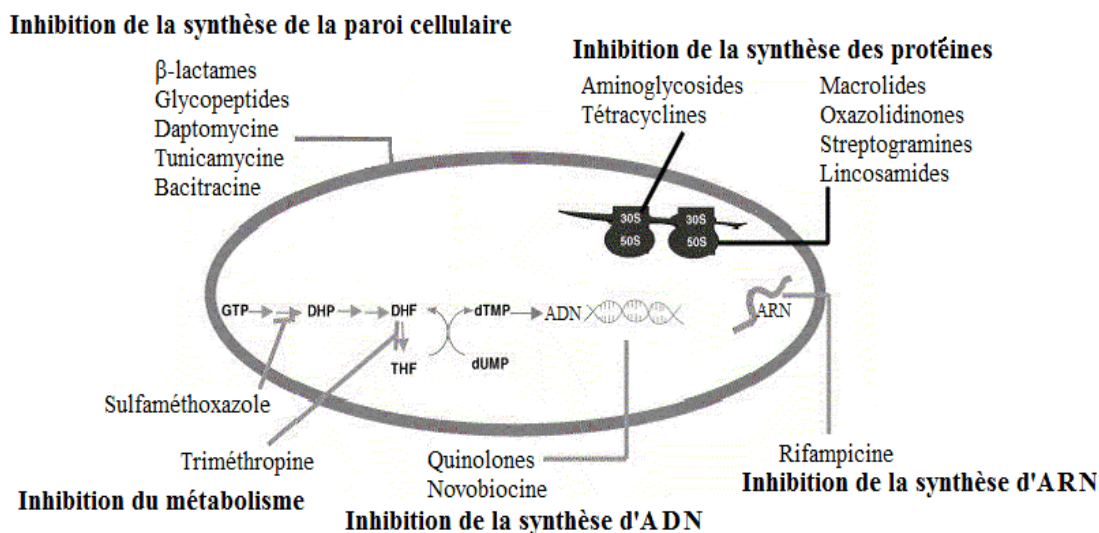


Figure 11: Mode d'action des antibiotiques (Singh et Barrett, 2006)
avec DHP : dihydroptéroate ; DHF : dihydrofolate ; THF : tétrahydrofolate

III-2-2- Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

a- *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif, un germe aérobie - anaérobie facultatif qui tendent à se grouper en amas. Une espèce, *Staphylococcus aureus*, tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales (**Chambers, 1997**).

b- *Pseudomonas aeruginosa*

Le genre *pseudomonas* est fait de bacilles mobiles aérobies stricts, se cultive facilement sur les milieux usuels. *Pseudomona aeruginosa* (ou bacille pyocyanique) se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ses colonies. (**Nauciel, 2000**).

C'est une bactérie ubiquiste qui vit normalement à l'état de saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux. Cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'homme et des divers animaux.

Considéré comme une bactérie pathogène opportuniste c'est le germe-type des infections hospitalières ou nosocomiales (**Nauciel, 2000**)

c- *Escherichia coli*

Escherichia coli (bacille à Gram négatif), commensal du tube digestif, est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires. Elle peut aussi provoquer des diarrhées par des mécanismes très divers, ainsi que diverses infections communautaires ou nosocomiales (**Nataro et Kaper, 1998**).

d- *Salmonella sp.*

Salmonella (bacille à Gram négatif) est la première cause de toxi-infections alimentaires collectives bactérienne dans le monde, elle est l'une des préoccupations majeures des laboratoires de contrôle de qualité alimentaire (**Medjbar, 2008**).

Tableau 02 : Caractéristiques et la source des bactéries utilisées

Les bactéries utilisées	Selon Gram	Selon la forme ; et Présence ou l'absence d'O₂	Source
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC43300	Gram +	des cocci germe aérobie – anaérobie facultatif	Laboratoire de microbiologie de l'hôpital (120lits) Wilaya de Khenchela
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	Gram -	bateaux, aérobie	Laboratoire de microbiologie de l'hôpital (120lits) Wilaya de Khenchela
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	Gram +	des cocci germe aérobie - anaérobie facultatif	Laboratoire de microbiologie de l'hôpital (120lits) Wilaya de Khenchela
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	Gram -	bacilles aérobies	Laboratoire de microbiologie de l'hôpital (120lits) Wilaya de Khenchela
<i>Salmonella sp.</i>	Gram-	bacilles , aéro-anaérobies facultatifs	Laboratoire de microbiologie de l'hôpital (120lits) Wilaya de Khenchela

III-3-Evaluation de l'activité antifongique

III-3-1-Introduction

Les champignons ou « mycètes » ou « fongiques » sont des organismes eucaryotes qui n'ont pas d'organisation tissulaire et la masse cytoplasmique est enfermée dans une structure pariétale rigide qui constitue le thalle ou mycélium.

Le thalle se présente plus souvent sous forme d'un système tubulaire, de filaments ramifiés et parfois anastomotiques, appelés « hyphes » on parle alors de champignons filamenteux.

Les champignons sont les agents les plus connus qui induisent des maladies infectieuses chez les animaux et les plantes (8000 espèces) .sont à eux seuls responsable de 70% de pathologies végétales.

- **Des phytopathologies importantes :** Ergots de seigle (*Claviceps Purpurea*), mildiou de la pomme du terre (*Phytophthora Infestans*), graphiose de l'orme (*Ceratocystis Ulmi*) .Rouilles (*Puccinia*), Charbon (*Ustilago*),Oïdium (maladie du blanc), Tavelure (*Venturia*) des arbres fruitiers....

III-3-Les Antifongiques

Les antifongiques sont des préparations médicamenteuses soignant les infections dues aux champignons de façon générale. Parmi eux, certains sont modernes et d'autres traditionnels (Diasa, 2007).

III-4- Caractéristiques des souches fongiques étudiées

a-*Penicillium spp*

Ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des Ascomycètes. Ce genre comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores (Pitt, 1988). Les *Penicillium* sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement, polyphages, pouvant être responsables de nombreuses dégradations. Ils ont pour habitat naturel le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition, le compost, les céréales.

Tableau 03 : Caractérisation de la souche fongique utilisée

L'espèce	Caractères culturaux généraux	Source de la souche
<i>Penicillium sp.</i>	-se développent sur les milieux de culture (géloses au malt, Sabouraud) - des températures modérées de l'ordre de 20-27°C -humidité élevé -colonies de couleur vert-gris généralement. -incubation de 2 a 3 jours.	Laboratoire de Microbiologie de l'université-khenchela

b-L'Oïdium de pommier

- *Podosphaera leucotrichia*

Les champignons de l'oïdium sont des Ascomycètes appartenant aux Erysiphacées, famille qui occupe une position très particulière dans le monde des champignons parasites. Ce sont des **ectoparasites**.

Le mycélium hyalin s'étend à la surface des organes parasités. Pour se nourrir, il envoie de courts filaments, les **suçoirs**, dans les cellules de l'épiderme. C'est ce développement superficiel des hyphes et des conidies qui confère aux organes parasités leur aspect blanchâtre et enfariné, d'où leur nom de «**blanc**» donné aussi à cette maladie.

Dès le débourrement et jusqu'en automne, le champignon fructifie abondamment en émettant des conidies en forme de tonnelets, disposées en chaînettes à l'extrémité de courts supports. Ces conidies appelées **oïdies** assurent la dissémination de la maladie.

- **Conditions favorisant le développement de l'oïdium**

L'oïdium apprécie une humidité modérée à élevée (70 à 80%) et des températures allant de 10 à 20°C.



Figure 12: Photo montre un rameau de pommier infecté par l'oïdium (Site d'Ensigna au niveau de la wilaya)

IV- Evaluation de l'activité antioxydante

IV-Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Boyd *et al.*, 2003).

IV-2-Les radicaux libres

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés (Jacques et André., 2004), cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (Martinez-Cayuela, 1995).

IV-3-Les espèces réactives de l'oxygène

Parmi les espèces radicalaires les plus intéressantes se trouvent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron. les principales espèces réactives de l'oxygène sont: le radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}), et aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxydinitrite ($ONOO^-$) (Jacques et André., 2004).

IV-4-Les antioxydants

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (Favier, 2003).

On distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule:

- **Les antioxydants endogènes**

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes: la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (Avissar *et al.*, 1989).

- **Test DPPH (1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)**

La capacité antioxydante peut être aussi mesurée en utilisant des radicaux libres plus stables. Le radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre très stable à l'état cristallin et en solution, de coloration violette. Par cette méthode, on considère que l'activité antioxydante n'est autre que la capacité des antioxydants d'agir comme piègeur des radicaux libres. Ils agissent en transférant un atome d'hydrogène ce qui conduit à la disparition du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration dans la solution initiale. L'avancement de la réaction est suivi par spectrophotométrie à 516 nm.

Plus un composé a la facilité de céder son atome d'hydrogène, plus celui-ci est jugé efficace comme antioxydant. Le pourcentage du DPPH restant est proportionnel à la concentration de l'antioxydant. La concentration du composé phénolique nécessaire pour atteindre une disparition de 50 % du DPPH à l'équilibre est connue comme l'IC50 (**Hellal, 2011**).

Chapitre II

Matériel et méthodes

I-1- Matériel végétal

Notre étude a été menée sur la plantes *Tamarix* issue de Garaët Etaref (sebkha) de la wilaya de Khenchela.

Elle est réalisée sur la partie aérienne (fleurs) de la plante pendant la période de floraison (première saison).

I-2-préparation des échantillons

Nous avons nettoyé et séché les feuilles dans l'air libre (4jours) a l'abri de la lumière, puis on a broyé ces dernières par un mortier et on a passé la matière sèche au tamisage pour obtenir une poudre .

II -l'extraction des Flavonoïdes

II-1-Protocole d'extraction

L'extraction a été réalisée au niveau de laboratoire de chimie au niveau de l'université de Khenchela. L'extraction des flavonoïdes est réalisée selon le schéma présenté par Lebreton (1967) modifié par Boutard (1972), Gonnet (1973) et Jay (1975) cité par (**Elâgoun, 2003**) (**ATHAMEN ,2009**) ; qu'on a modifié au laboratoire.

II-1-1-Préparation de l'extrait brut

Pour 1g de plante sèche rendue en poudre placé dans un récipient en verre (fiolle, erlen ou bécher), couvert de 10ml de mélange hydroalcoolique (méthanol/eau 7 /3 : v/v).

Le tout est chauffé à 70°C pendant 5minutes (ce procédé tue le tissu végétale, empêchant l'oxydation ou l'hydrolyse enzymatique), l'échantillon est laissé macérer durant une nuit (24 heures) à température ambiante. Le tout par la suite est filtré sur papier Whatman, l'extraction est refaite plusieurs fois avec renouvellement du solvant. Le solvant est éliminé du filtrat par évaporation rotatif dans un rotavapor. L'extrait sec résultant est conservé à +5°C .

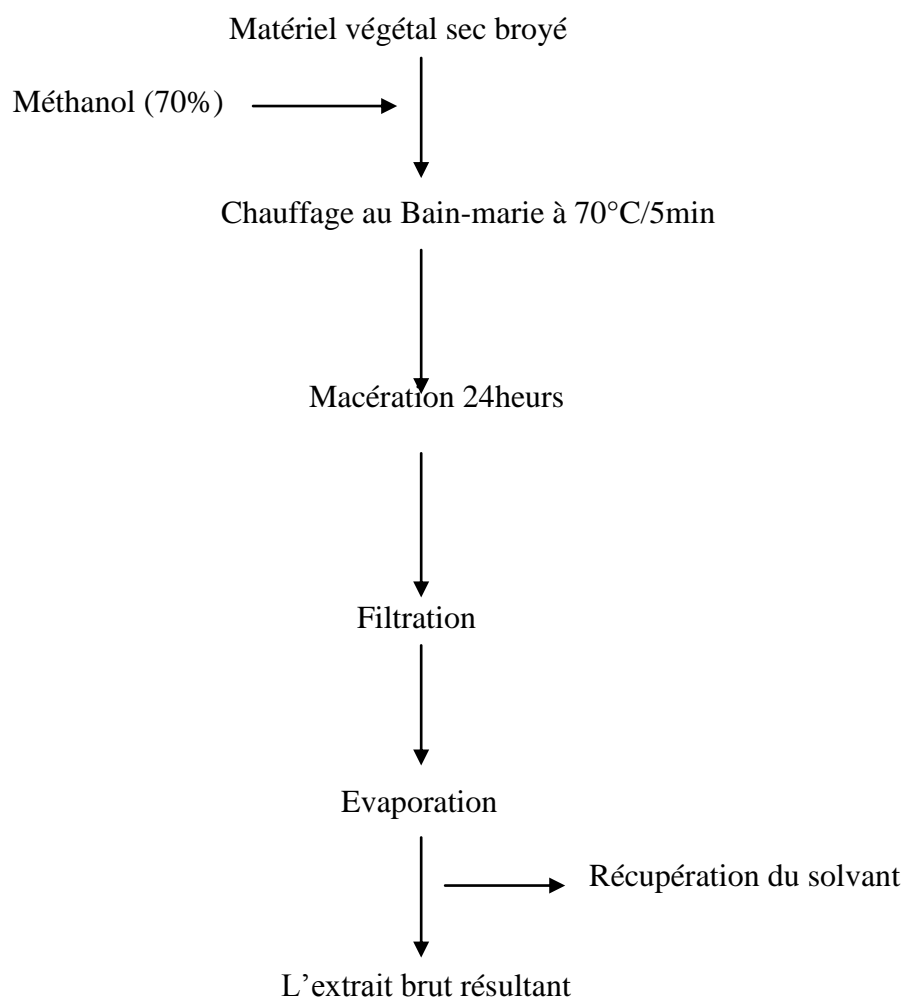


Figure 14: Protocole d'extraction générale

II-1-2-Extraction liquide-liquide

Nous avons mis en œuvre une série d'extraction liquide-liquide dans des ampoules à décanter par des solvants pratiquement non miscibles.

L'extrait brut est mélangé avec de l'eau distillée bouillante et laissé à agiter dans une température ambiante. Ce dernier est épuisé successivement par 2 solvants (l'éther de pétrole et l'acétate d'éthyle).

L'extrait brut est initialement mélangé avec l'éther de pétrole, le mélange est laissé décanter et la phase organique supérieure est récupérée. L'extraction est refaite plusieurs fois jusqu'à ce que le solvant devienne transparent. L'éther de pétrole est par la suite évaporé et l'extrait résultant est considéré comme étant la fraction d'éther de pétrole.

La phase aqueuse résiduelle est soumise à une autre extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle en suivant les mêmes étapes que la première extraction. La Figure 15, résume les étapes de fractionnement de l'extrait brut.

La série d'extraction permet d'obtenir quatre fractions ; l'extrait brut hydro-méthanoïque, la fraction d'acétate d'éthyle, la fraction d'éther de pétrole, et la fraction aqueuse résiduelle. Les extraits sont conservés jusqu'à utilisation.

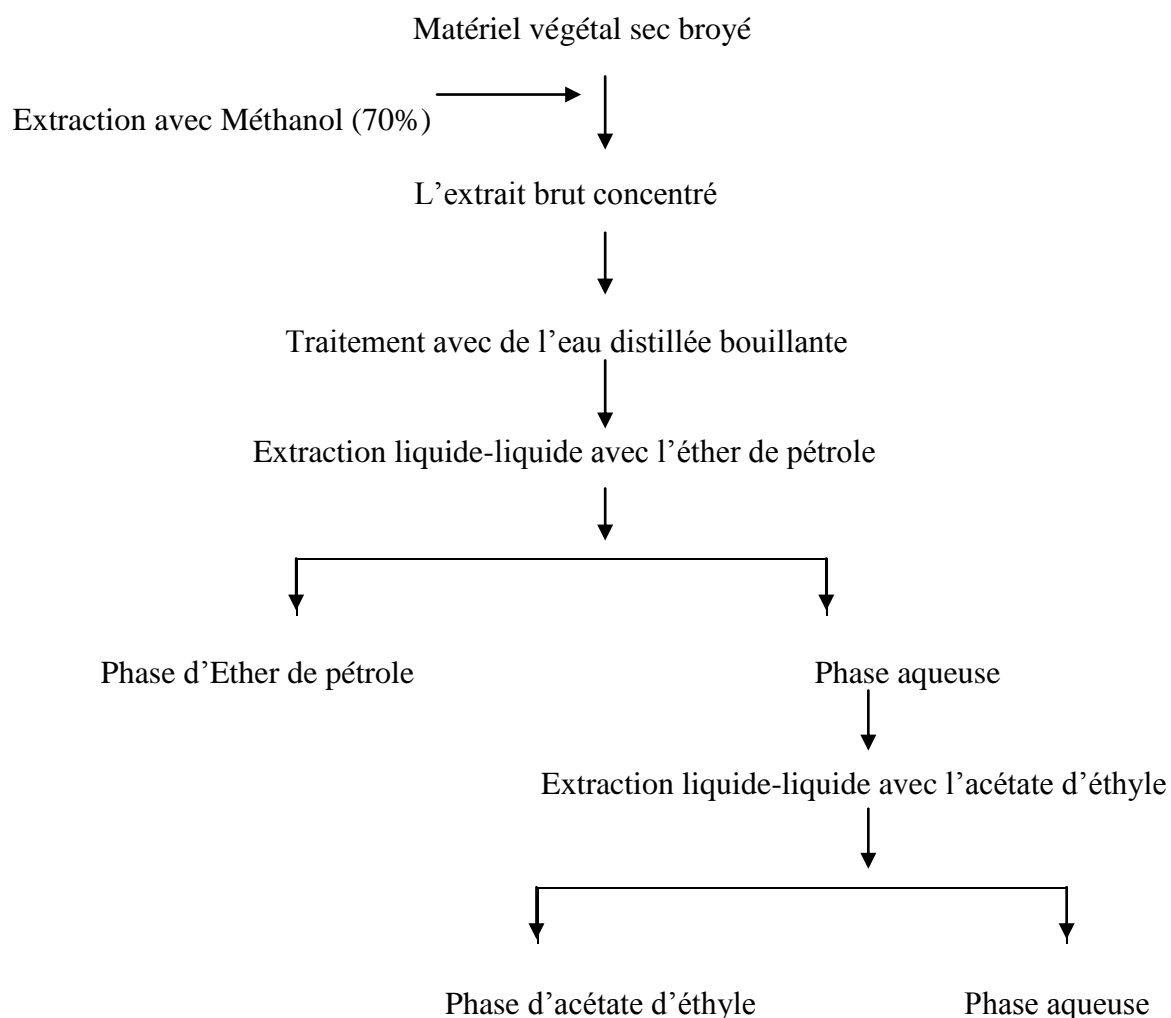


Figure 15: Les étapes d'extraction liquide-liquide par solvant organique des poudres de feuilles de *Tamarix sp.*

II- 2-Détermination du rendement

Le Poids de chaque extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après élimination du solvant par évaporation rotatif) et le poids du ballon vides.

III-Etude phytochimique des extraits

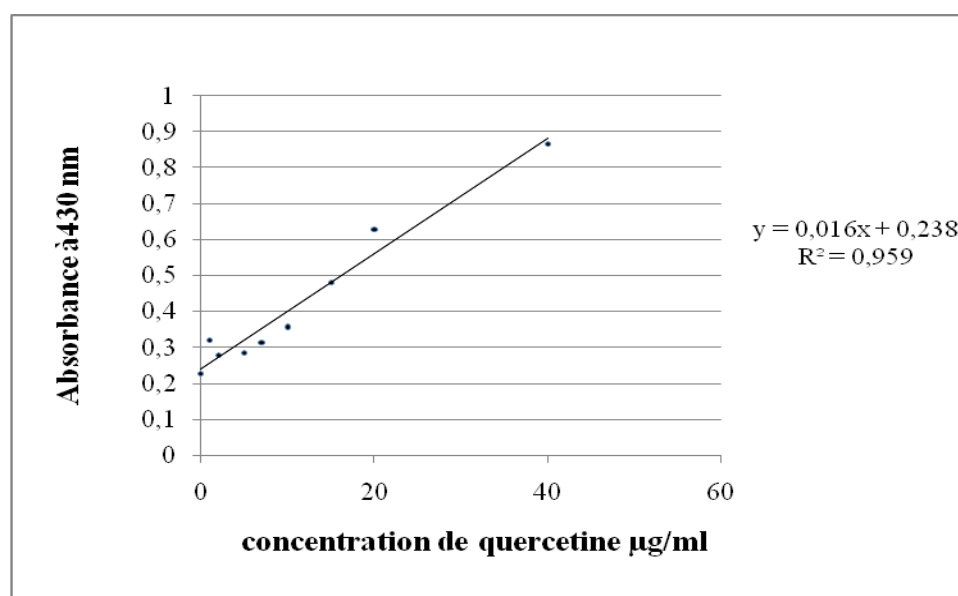
Dans le but de caractériser les extraits préparés à partir de la plante *Tamarix sp* des analyses et quantitatives et qualitatives ont été effectuées.

III-1- Détermination quantitative des flavonoïdes

La méthode au $AlCl_3$ (Lamaison et Carnet, 1990 ; Huang et al, 2004) a été employée pour la détermination de la teneur totale en flavonoïdes des extraits.

1ml de la solution de l'extrait à été ajoutée à un volume égal d'une solution de 2% $AlCl_3$; (2g dans 100ml méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité, et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

La concentration des flavonoïdes dans l'extrait a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage $y = ax + b$ établie avec la quercétrine à différentes concentrations (0-40 $\mu g / ml$), chacune a été préparée dans le méthanol pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en de ces derniers à été exprimé en milligrammes équivalents de quercétine par grammes du poids d'extrait (mg EqQ/ g d'extrait).



Chaque point de la courbe représente la moyenne (n = 3)

Figure 16 : Droite d'étalonnage de la quercétine

III-2- Analyse qualitative des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince ‘CCM’ des différents extraits

- **Principe :**

La CCM est une technique analytique simple, rapide et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites. Elle repose principalement sur les phénomènes d'adsorption et de partage, où les molécules à séparer s'adsorbent à la surface d'un support (phase stationnaire) et seront entraînées à travers ce dernier par un éluant (phase mobile), donc la séparation est fonction des différences d'adsorption des composants de l'échantillon sur la phase stationnaire et des différences de leur solubilité dans la phase mobile (Braithwaite et Smith,1999).

- **Méthode :**

Les analyses par chromatographie sur couche mince ont été effectuées avec des plaques de Silicagel G60 ; 0.25mm, sur support rigide en verre ; 20/20cm.

Deux microlitres (2µl) de chaque extrait est déposée à des points repères à 1.5cm du bord inférieur des plaques, qui sont ensuite introduites dans des cuves conventionnelles en verre préalablement saturée par la phase mobile, qui peut être généralement un mélange binaire ou ternaire de solvants. Dans notre cas ; après une série d'essais réalisée dans le but d'une recherche d'un éluant favorable pour la séparation des différents composants, deux systèmes de solvants ont été utilisés sur les deux fractions de la phase methanolique : fraction acétate d'éthyle et fraction éther de pétrole

- Ether de pétrole - Acétate d'éthyle (10 :10 V/V)
- Chloroforme/Méthanol (8 :12 v/v)

Après développement dans une cuve en verre et séchage, les plaques ont été observées sous chambre UV à 254et 366nm. Les couleurs des spots ont été enregistrées ainsi de même pour les Rapports frontaux.

IV- Tests des effets biologiques

IV-1- Evaluation de l'activité antimicrobienne

Ces tests ont été réalisés au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université – kenchela.

IV-1-1-Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé standardisée par (NCLLS) cité par (Celiktas *et al.* 2007).

IV-1-1-2- Souches bactériennes

Cinq souches bactériennes ont été testées :

Escherichia coli ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (sensible aux antibiotique), *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (souche résistante), *Salmonella sp.*

IV-1-1-3- Milieux de culture

Selon les souches, nous avons utilisé comme milieux de culture les milieux suivants : Gélose Nutritive et Gélose Mueller Hinton.

IV-1-1-4-Préparation de l'inoculum bactérien

Chaque souche a étéensemencée en stries sur une gélose nutritive pour obtenir des colonies bien isolées. Après incubation de 24 heures à 37 °C, on a choisi 4 à 5 colonies bien isolées avec une anse de platine stérile est transféré dans un tube stérile contient 5ml d'eau physiologique stérile, incubé dans une étuve 37°C pendant 20minutes.

IV-1-1-5-Préparation des solutions

Les extraits ont été repris avec le méthanol, et de l'eau distillée exceptionnellement pour l'extrait de phase aqueuse avec une concentration de 20mg /ml pour chaque extrait.

IV-1-1-6-Méthode de diffusion en milieu gélosé

Les boîtes de Pétries contenant le milieu gélosé préalablement liquéfié Muller Hinton, milieu de culture usuel utilisé pour le développement de ce type de souches.

A l'aide d'un écouvillon stérile, prélever des échantillons qui se trouvent dans l'eau physiologique et ensemencer sur le milieu gélosé à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60°c après chaque application dont le but d'avoir une distribution égale de L'inoculum. Enfin, on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose.

Par la suite on a préparé les disques de papier Whatman, on les imbibe dans les extraits (30µl pour chaque disque), ces derniers sont déposés stérilement à l'aide d'une pince sur la surface de la gélose.

Ainsi des témoins imbibés dans le méthanol (et dans l'eau distillée pour l'extrait de phase aqueuse) et autres dans un antibiotique (ici le Sulfate de Gentamicine 20mg/ml) ont été déposés sur les boîtes de pétries (les disques chargés de 30µl de chaque solution) ; pour mettre en évidence l'activité antibactérienne des germes pathogènes vis-à-vis des antibiotiques et des extraits.

En fin les boîtes de pétrie ensemencées sont placées à l'étuve pendant 24 heures à 37°C.

L'expérience est répétée trois (03) fois pour chaque extrait et pour chaque espèce bactérienne.

IV-1-2- Evaluation de l'activité antifongique

L'activité antifongique des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé cité par (Sacchetti *et al.*, 2005) et (Rasooli *et al.*, 2008).

IV-1-2-1- les souches étudiées

Penicillium sp : nous avons effectué notre étude à partir d'une colonie (pré-culture) existante déjà dans le laboratoire

Podospaera leucotricha : agent de l'oïdium de pommier prélevé à partir d'un arbre infecté au niveau de la région Ensigna dans la wilaya de kenchela.

Après identification microscopique, nous avons évalué l'efficacité de nos extraits contre les souches étudiées.

IV-1-2-2-Identification microscopique de l'oïdium

Selon la méthode classique en microbiologie; un simple scotch-test :
Sur les échantillons, l'identification du *Podospaera leucotrichia* a été rendue possible suivant les étapes ci-après :

Nous avons appliqué un morceau de scotch sur les surface de la feuille de pommier malade apparaissant en couleur blanche, retirer doucement le scotch de manière à prélever les structures en poudre, qui est ensuite collé sur une lame sur laquelle une goutte de colorant (bleu de méthylène) a été déposée.

On a fixé l'image du champignon sur un microscope optique et observer les structures à l'aide des différents grossissements.

IV-2-2-3-Milieus de culture

Selon les souches, nous avons utilisé le milieu de culture sur la base d'extrait de malt.

IV-1-2-4- Préparation des solutions

Les extraits ont été repris avec le méthanol, et de l'eau distillée exceptionnellement pour l'extrait de phase aqueuse avec une concentration de 20mg /ml pour chaque extrait.

IV-1-2-5- Méthode de diffusion en milieu gélosé

- **Méthode:**

Les feuilles et des rameaux infectés par l'agent pathogène du pommier sont préalablement rincés avec de l'eau et découpés en petits morceaux. Et par la suite on les introduits dans un tube à essais contenant de l'eau physiologique qui vont subir une agitation à l'aide d'un barreau magnétique dont le but est la séparation des spores agglutinés en amas ou en chapelets ; après une série des dilutions ; une suspension contenant les spores est donc prête pour l'inoculation. Nous avons prélevé une goutte de l'échantillon à l'aide d'une anse de platine stérile etensemencé sur le milieu gélosé (extrait de malt) après l'addition de chloramphénicol pour inhiber la croissance des éléments de la flore bactérienne.

Les disques de papier Whatman, sont imbibés dans les extraits (30µl pour chaque disque), ainsi les témoins négatifs (méthanol et l'eau distillée) sont déposés stérilement à l'aide d'une pince sur la surface de la gélose.

Pour le *penicillium sp* ; on a prélevé quelque colonies de la culture mère à l'aide d'une anse stérile et les imprégnés dans l'eau physiologique, et par la suite les même étapes sont été suivies pour l'inoculation.

Les souches ont été incubées pendant quelques jours en atmosphère normale (température de laboratoire).

-L'expérience est répétée trois (03) fois pour chaque extrait et pour chaque souche fongique.

IV-3- Evaluation de l'activité antioxydante

Ces test a été réalisé au niveau du laboratoire de biochimie de l'université –khenchela.

L'activité antioxydante des quatre extraits a été testée par la méthode de Blois (Kujala *et al.*, 2000 ; Sanchez-Moreno *et al.*, 2000) radical libre DPPH instable Possède une coloration violette foncée, lorsqu'il est réduit, la coloration devient jaune Pâle.

IV-3-1- Solution d'extrait

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (C₁₈H₁₂N₅O₆, M=394.33), est solubilisé dans le méthanol absolu pour en avoir une solution de 100 µl

Pour le test, les échantillons ont été préparés par dissolution dans le méthanol absolu.

Nous avons préparé des solutions dans le méthanol absolu et celle de phase aqueuse dans l'eau distillée à raison de 20mg/ml pour chaque extrait, qui présentent des solutions mères, qui ont subi ensuite des dilutions pour en avoir différentes concentrations à l'ordre de : 10mg/ml, 5mg/ml, 2.5mg/ml, 1.25mg/ml, 0.61mg/ml, 0.30mg/ml, 0.15mg/ml, 0.075mg/ml. Et des témoins des antioxydants de référence ici c'est l'acide ascorbique.

IV-3-2-Test du DPPH

Dans des tubes secs et stériles, on introduit 30 µl de la solution à tester, on ajoute 3ml de la solution au DPPH, après agitation par un vortex, les tubes sont placés à l'obscurité, à la température ambiante pendant 30 minutes, pour chaque concentration, le test est répété 3 fois. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm dans un spectrophotomètre.

Pour chaque dilution, on a préparé un blanc constitué de 3 ml de la solution DPPH et 30µl de méthanol.

Le pourcentage de décoloration du DPPH, en solution dans le méthanol détermine l'activité antioxydante.

Les résultats ont été exprimés par la moyenne de trois mesures. Le pourcentage de l'activité anti-radicalaire est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = [(A_c - A_t) / A_c] \times 100$$

A_c : absorbance du contrôle.

A_t : Absorbance du test.

VI- 4-Expression des résultats

L'activité antibactérienne et antifongique ont été déterminées en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition.

Les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type (n=3) pour chaque cas ainsi les histogrammes sont réalisés par l'Excel.

Chapitre III

Résultats et discussions

I- Etude phytochimique

I-1-Le rendement des extractions

Le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme) et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité. D'autre part, la méthode d'extraction affecte également le contenu total en phénol et flavonoïdes.

Les rendements en masse enregistrés avec les extraits a l'ordre de : acétate d'éthyle, éther de pétrole, extrait de phase aqueuse et l'extrait brut, ont donné des teneurs varient entre (30g± 0,20g), a partir d'une matière végétale de *Tamarix* 57g (de la partie aérienne).

Il est exprimé en pourcentage ,de masse d'extrait par rapport à la masse de la plante fraîche, le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait methanolique (26,31 %), suivi par l'extrait de la phase aqueuse (19.29 % m/m), et l'extrait d'acétate d'éthyle avec un pourcentage faible (0,87 %) ,enfin l'extrait de l'éther de pétrole avec un rendement le plus faible (0,18%) . Les extraits obtenus sont de couleur et d'aspect différents.

Le rendement qui est exprimé en pourcentage a été calculé par la formule suivante :

$$\angle R = \text{PE/PA} \times 100.$$

Où

$\angle R$ = Rendement de l'extrait en pourcentage.

$\angle \text{PE}$ = Poids de l'extrait en gramme.

$\angle \text{PA}$ = Poids de la plante en gramme.

Tableau 04 : Aspect, couleur et rendement de différents extraits de *Tamarix sp*

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement %
Méthanoïque	Pâteux	brune rougeâtre	26,31 %
phase Aqueuse	Pate huileuse	marron foncé	19.29 %
Acétate d'éthyle	Pâteux	Marron orangé	0,87 %
Ether de pétrole	Poudre fine	Vert cristallin	0,18%

les flavonoïdes que pourraient contenir les différentes fractions issues de l'extrait méthanolique seraient comme suit: l'extrait éther de pétrole qui est en générale constitué de flavonoïdes aglycones hautement méthoxylés, l'extrait d'acétate d'éthyle contient les flavonoïdes aglycones et flavonoïdes glycosylés en particulier monoglycosylés (Marfak, 2003).

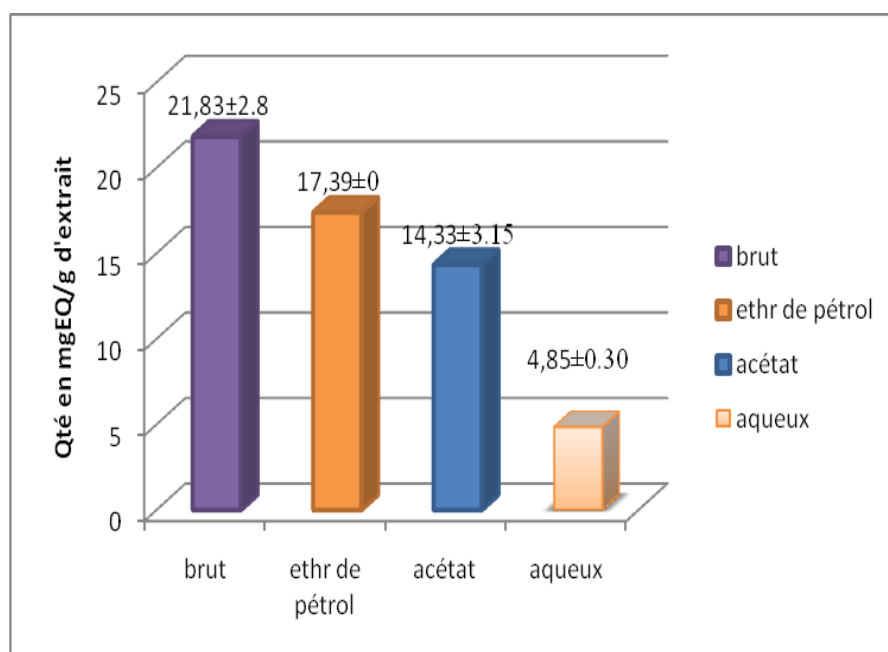
I- 2-Résultats de l'étude quantitative

I-2-1-Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes dans les extraits ont été estimées par la méthode utilisant $AlCl_3$.

La spectrophotométrie a permis de quantifier les flavonoïdes dans les extraits de la plante étudiée. La courbe d'étalonnage est tracée en utilisant différentes concentrations de la quercétine, un flavonoïde très connu de la famille des falvonols

La raison principale pour la quelle on a choisi cette classe de polyphénols, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (Gomez-Caravaca *et al.* 2006).



Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

Figure 17 : Teneur en flavonoïdes totaux (mgEQ/gE)

Suivant la figure ci-dessus, les teneurs en flavonoïdes, exprimés en mg équivalent quercétine par g extrait sont: 21,83 mg, 17,39mg et 14.33mg, 4,85mg respectivement avec les extraits **brut, ether de pétrol et acétate d'éthyle. L'extrait de la phase aqueuse.**

la teneur la plus élevée est celle d'extrait brut Cette observation est soutenue par plusieurs travaux dont ceux de Moroh et de Bagré, qui ont montré que l'extrait hydroalcoolique permet une meilleure concentration des principes actifs, tandis que La teneur la plus basse a été obtenue avec l'extrait de la phase aqueuse.

Cependant les résultats obtenus avec les fractions issues de l'extrait méthanolique montrent d'une manière générale que le contenu flavonique des deux phases, éther de pétrole, acétate d'éthyle est bien élevé. Cette distribution dépend de la nature des substances phénoliques contenues dans chaque extrait brut, de leur solubilité et la polarité de chaque solvant.

I-3 Résultat de l'étude qualitative

I- 3-1-Résultat de la chromatographie sur couche mince des différents extraits de *Tamarix sp*

La chromatographie sur couche mince (CCM) des extraits de *Tamarix sp* est basée principalement pas seulement sur la phase mobile, mais aussi sur la phase stationnaire, le type de plaque utilisé est constitué d'une phase stationnaire : le gel de silice.

Plusieurs essais en été effectués pour avoir une bonne séparation, mais deux systèmes de solvant ont été utilisés pour les deux fractions éther de pétrole et acétate d'éthyle :

- Ether de pétrole - Acétate d'éthyle (10 :10 V/V)
- Chloroforme/Méthanol (96 :4 v/v)

Ont permis d'avoir une séparation et une visibilité acceptable des spots. L'identification des composés était basée sur la comparaison des RF et couleurs observés sous lampe UV des taches apparues sur CCM.

La variation des types et des taux des flavonoïdes ont été liés à des conditions environnementales, la croissance des plantes.

Les résultats sont exprimé dans **les tableaux** dont lesquels les RF des différents spots apparues selon les solvants utilisés ainsi les différentes couleurs, sont marqués dans la chambre UV. Qui représente les différents composés pour *Tamarix sp*.

Les résultats obtenus à partir de cette méthode sont :

➤ **Système Ether de pétrole - Acétate d'éthyle (10 :10 V/V) :**

Cinq composés sont résulte respectivement 2 spots pour l'extrait éther de pétrole et 3 spots pour l'extrait acétate d'éthyle chacune des deux fractions; éther de pétrole et acétate d'éthyle, Différentes composés polyphénoliques ont été séparé mais une grande partie probablement appartient aux classes des flavonols. Les résultats sont répétés deux fois pour chaque fraction.

Tableau05 : Résultat de la CCM de la fraction éther de pétrole et acetate d'éthyle

Système solvant : Ether de pétrole - Acétate d'éthyle (10 :10 V/V)

Adsorbant : gel de silice

	Couleur sous UV 365 (nm)	Rf (cm)	Type flavonoïde possible
Fraction	Violet vif	0.09	Flavones
Acétate d'éthyle	Jaune pale	0.23	Flavonols
	Jaune	0.34	Flavonols
Fraction éther de pétrole	violet	0.06	flavones
	Jaune	0.30	Flavonols

➤ **Système Chloroforme/Méthanol (8 :12 v/v)**

Aussi cinq composés en résulte pour les deux fractions respectivement éther de pétrole (2spots) et acétate d'éthyle 3spots ; Les spots sont visualisés par la lumière UV ; la séparation permet d'avoir la migration des composés polyphénolique appartenant aux :

Anthocyanidine 3-glycosides, et les acide phénols et les flavonols ; elle montre également une richesse considérable en substances. Les résultats sont répétés deux fois pour chaque fraction.

Tableau06 : Résultat de la CCM de la fraction éther de pétrole
Système solvant : Chloroforme/Méthanol (96/4)
Adsorbant : gel de silice

	Couleur sous UV 365 (nm)	Rf (cm)	Type flavonoïde possible
Fraction d'acétate d'éthyle	Bleu blanc fluorescent	0.71	Flavonols, flavones, isoflavones, flavanones
	Jaune	0.82	flavonols
	Rouge	0.93	Anthocyanidine 3-glycosides
Fraction d'éther de pétrole	Bleu blanc fluorescent	0.74	Flavonols, flavones, isoflavones, flavanones
	Rouge	0.89	Anthocyanidine 3-glycosides

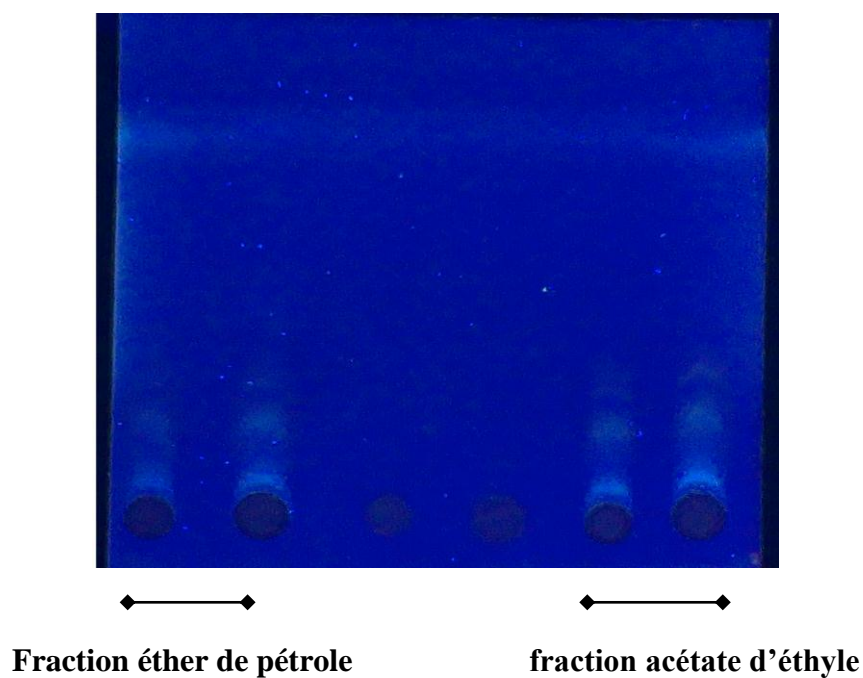


Figure 18: Photo de chromatogramme résultant de l'analyse des extrait acétate d'éthyle et éther de pétrole par chromatographie sur gel de silice par le système solvant: (Ether de pétrole - Acétate d'éthyle (10 :10 V/V)) (sous UV), $\lambda=365\text{nm}$

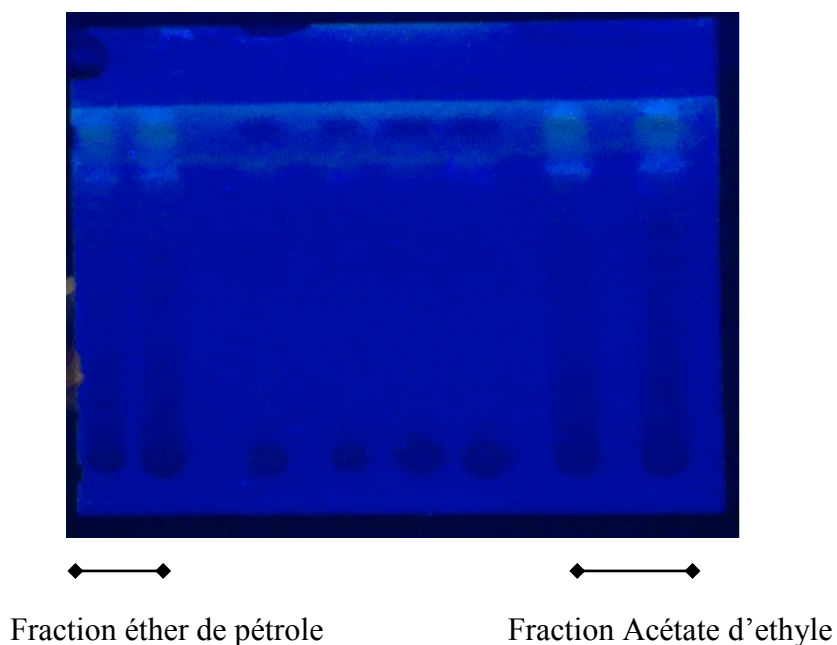


Figure 19 : Photo de chromatogramme résultant de l'analyse des extrait acétate d'éthyle et éther de pétrole par chromatographie sur gel de silice par le système solvant:(Chloroforme/Méthanol (96 :4 V/V)) (sous UV), $\lambda=365\text{nm}$

II-Résultats des tests Biologiques

II-1- Evaluation des activités antimicrobiennes

II-1-1- L'activité antibactérienne testée par la méthode de diffusion sur gélose

La méthode des disques ou méthode de diffusion sur gélose a pour but d'étudier l'activité antibactérienne des substances naturelles. Elle a permis d'obtenir les résultats mentionnés dans le tableau et les figures :

Tableau 07 : Diamètre des zones d'inhibition

Les souches bactériennes	Diamètres de zone d'inhibition (mm) de chaque extrait				
	E .Methanolique	E .Acétate d'éthyle	E. Ether de pétrole	E .de la phase aqueuse	Genta
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC43300	PA	PA	PA	24 ±1	37
<i>Escherichia coli</i>	PA	PA	PA	8±0	30
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	8±0,5	PA	8±0	20±1	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PA	PA	PA	10±2	27.5±1
<i>Salmonella spp</i>	PA	PA	PA	PA	30

PA : pas d'activité, Genta : l'antibiotique utilisé, E : extrait, (diamètre moyen ± Écart type en mm)

-Diamètre : $D < 8\text{mm}$, $9 \leq D \leq 14\text{mm}$, $15 \leq D \leq 19\text{mm}$, $D > 20\text{mm}$ est considérée respectivement comme souche résistante (-), sensible (+), très sensible (++) , extrêmement sensibles (+++).

Aucune zone d'inhibition n'a été observée autour des disques à la charge 30µl/disque après fin d'incubation des cultures bactériennes de *Salmonella sp*. Cette souche possède un potentiel de résistance très élevé contre l'action antibactérienne de ces extraits.

Les résultats obtenus avec la fraction d'acétate d'éthyle ne montrent aucune activité antibactérienne sur toutes les souches étudiées.

Escherichia coli n'était pas sensible (8 ± 0 mm) à l'extrait de la phase aqueuse ; et également pour tous les extraits testés aucune sensibilité marqué.

Les substances végétales d'extrait de la phase aqueuse , ont montré un grand pouvoir antibactérien dont le diamètre d'inhibition le plus élevé est de (24 ± 1 mm), observé pour *Staphylococcus aureus ATCC43300* une forte sensibilité, et grand diamètre d'inhibition de (20 ± 1 mm) pour *Staphylococcus aureus ATCC 2592*, souches extrêmement sensibles contre cette fraction. Et également contre les autres extraits méthanolique et éther de pétrole ($8 \pm 0,5$ mm) et (8 ± 0) respectivement. *Pseudomonas aeruginosa* présente une sensibilité modérée avec cet extrait de la phase aqueuse résiduelle.

Les contrôles négatifs (méthanol et l'eau distillée) n'ont montré aucune activité contre les neuf souches testées.

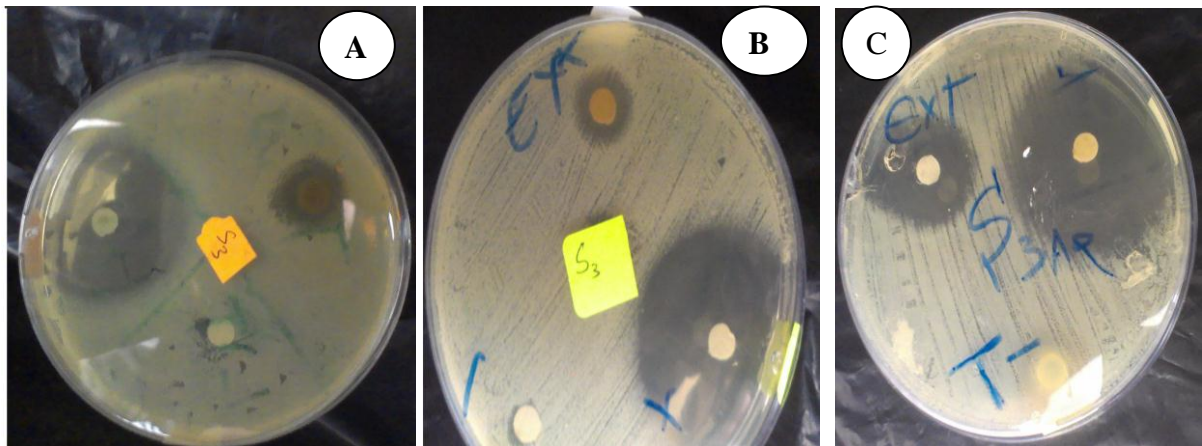


Figure 20 : Photo montrant l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique (A) et l'extrait Ether de pétrole (B), l'extrait de phase aqueuse (C) Contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

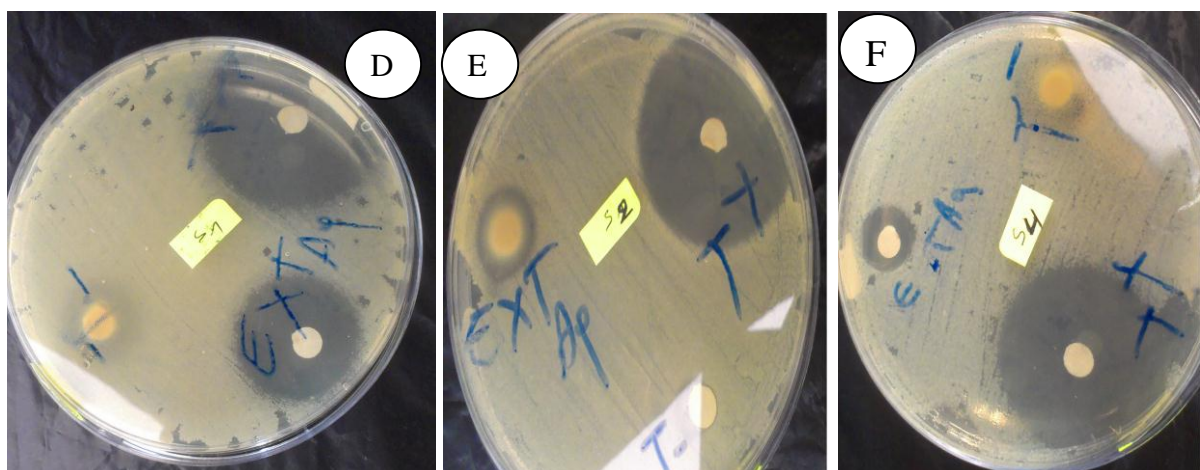


Figure 21 : Photo montrant l'effet antibactérien de l'extrait de phase aqueuse contre *Staphylococcus aureus* ATCC43300 (D), *Escherichia coli* (E), *Pseudomonas aeruginosa* (F).

II-1-2-Evaluation de l'activité antifongique

11-1-3- Identification microscopique de l'oïdium

La coloration à l'état frais nous a permis de voir les éléments mycéliens qui présentent la partie fondamentale du champignon, ainsi les spores en abondance.

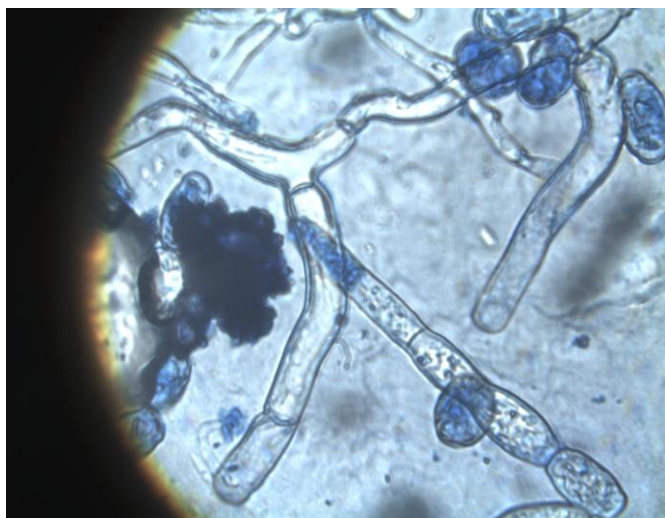


Figure 22 : coloration a l'état frais du *Podosphaera leucotrichia* agent causal de l'oïdium du pommier (grossissement optique x100).

II-1-4- L'activité antifongique testée par la méthode de diffusion sur gélose

La méthode des disques ou méthode de diffusion sur gélose a pour but d'étudier l'activité antifongique des substances naturelles extraites a partir de la plante *Tamarix sp.* Contre des champignons pathogènes obligatoires ; le diamètre du halo d'inhibition est mesuré au bout de cinq jours, ou plus suivant la vitesse de croissance des champignons. Des résultats positifs satisfaisant sont validés pour une zone d'inhibition d'un diamètre supérieur à 15 mm

Les témoins négatifs ont montré des résultats négatifs contre les deux moisissures.

Les résultats se présentent comme suit :

Tableau 08 : Diamètre des zones d'inhibition des moisissures

Les souches fongiques	Diamètres de zone d'inhibition (mm) de chaque extrait			
	E .Méthanolique	E .Acétated' éthyle	E. Ether de pétrole	E .de la phase aqueuse
<i>Podosphaera leucotrichia</i>	20±0.0	20±1	10±0,5	15±0.0
<i>Penicillium spp</i>	5±1.0	PA	20±	PA

PA : pas d'activité, E : extrait, (diamètre moyen ±Écart type en mm)

Toutes les fractions méthanoliques ainsi l'extrait de la phase aqueuse ont montré un grand pouvoir inhibiteur contre *Podosphaera leucotrichia*, agent de l'Oïdium, en particulier le germe a présenté une extrême sensibilité contre l'extrait méthanolique et celui de la phase acétate d'éthyle, en revanche la phase éther de pétrole n'a aucun effet remarqué sur cette souche (faible inhibition).

Penicillium sp a manifesté une résistance modérée contre les substances végétales de la phase acétate d'éthyle et l'extrait de la phase aqueuse. par contre le diamètre le plus élevé est celui de la phase Ether de pétrole un pouvoir d'inhibition (20mm de diamètre) est mis en évidence.

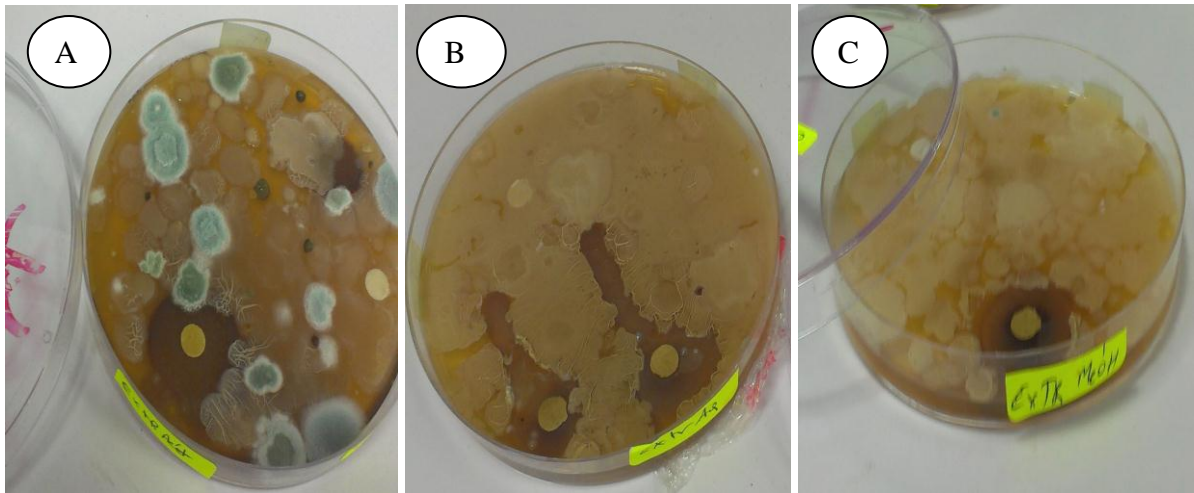


Figure 23: Photo montrant l'effet antifongique de l'extrait acétate d'éthyle (A) l'extrait de la phase aqueuse (B), l'extrait brut (C) contre *Podosphaera leucotrichia*

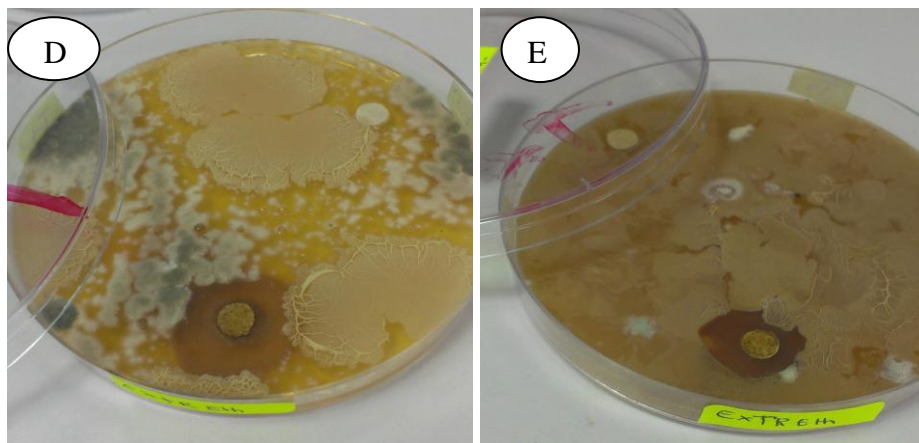


Figure 24 : Photo montrant l'effet antifongique de l'extrait éther de pétrole contre *Penicillium spp* (D) et *Podosphaera leucotrichia* (E).

II-1-3-Evaluation de l'activité antioxydante :

Les résultats peuvent être exprimés en tant que : pourcentage de l'activité antiradicalaire ou en pourcentage de DPPH restant ou peuvent également être exprimés en utilisant le paramètre IC50, qui est défini comme la concentration du substrat qui cause une Perte de 50% de l'activité de DPPH (Markowicz Bastos *et al.* 2007).

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique dans notre étude.

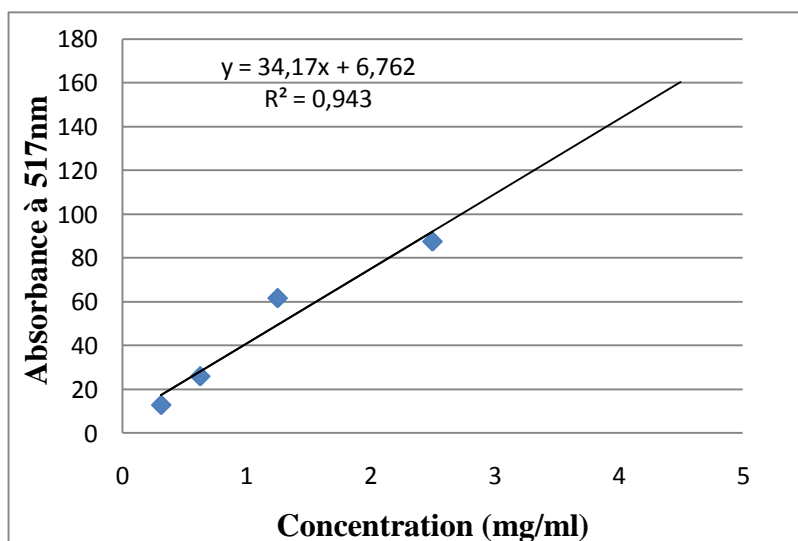


Figure 25 : La courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

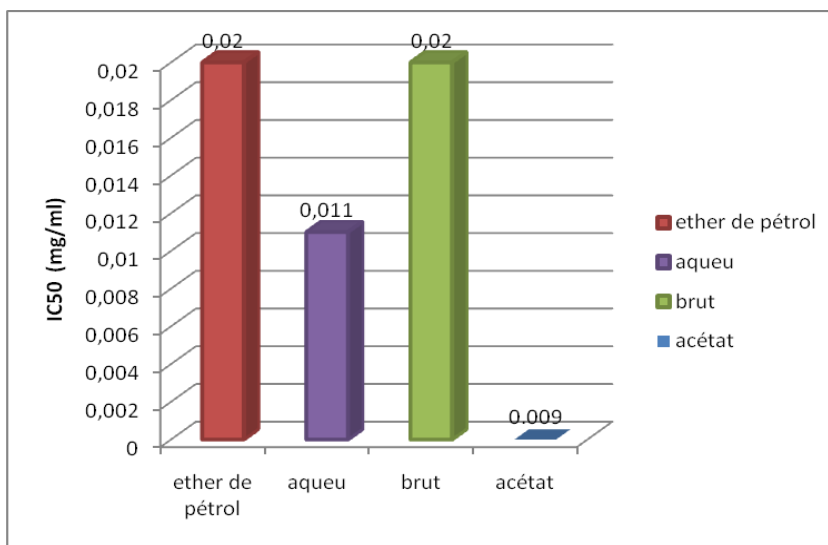


Figure 26 : histogramme des différentes IC50 des extraits étudiés.

Tableau 09 : Représente Le pourcentage de réduction de radical DPPH

concentrations		Le pourcentage de réduction de radical DPPH de chaque fraction			
Concentration Initiale mg/ml	Concentration dans le mélange réactionnel mg/ml	Ether de pétrole	Acétate d'éthyle	méthanolique	Extrait de la phase aqueuse
10	0.1	95.36 ± 0.11	95.83 ± 0.23	93.9 ± 0.47	95.42 ± 0.10
5	0.05	95.02 ± 0.11	95.70 ± 0.40	93.74 ± 0.09	95.04 ± 0.18
2.5	0.025	60.67 ± 0.26	95.27 ± 0.24	80.48 ± 5.16	93.08 ± 0.81
1.25	0.0125	43.67 ± 5.63	94.37 ± 0.12	44.79 ± 0.94	78.13 ± 0.65
0.60	0.006	23.09 ± 1.53	94.15 ± 0.09	26.29 ± 3.03	31.77 ± 0.62
0.31	0.0031	14.98 ± 0.16	75.49 ± 4.70	14.01 ± 0.67	18.97 ± 1.78
0.15	0.0015	/	71.55 ± 0.86	10.5 ± 1.03	12.24 ± 2.81
0.075	0.00075	/	63.54 ± 0.00	7.02 ± 0.09	12.61 ± 2.41

Dans cette étude L'acétate est l'extrait le plus actif avec une IC₅₀ de l'ordre de 0.009mg/ml, Il peut être expliqué par le fait que les substances contenues dans cette fraction réagissent directement et très rapidement avec radicaux libre de DPPH. L'acétate d'éthyle est souvent utilisé comme solvant d'extraction avec une sélectivité dans l'extraction des composés phénoliques à faible poids moléculaire (**Bonina et al.1996**).

Cependant la capacité antiradicalaire des autres extraits est moins faible que la fraction acétate, l'extrait de la phase aqueuse par IC₅₀ de 0.011mg /ml a montré un excellent pouvoir de neutralisation du radical DPPH; également nous constatons qu'il n'y a pas de différence significative entre l'activité des deux extraits éther de pétrole et l'extrait brut par IC₅₀ de 0.02mg/ml. Notons que les piègeurs les plus efficaces du radical libre DPPH sont ceux possédant les valeurs IC₅₀ les plus basses.

Il est bien évident que les fractions de *Tamarix* possèdent un extrême pouvoir antioxydant et protecteur supérieur à celui de l'acide ascorbique (IC₅₀ 1.26± 0.00).

En conclusion, les activités mesurées évaluent la capacité de nos extraits à inhiber les radicaux libres. Les composés flavoniques contenus dans la plante, sont doués d'un pouvoir antioxydant important qui a montré une meilleure inhibition (95.83%). Une activité antioxydante plus significative ($IC_{50} = 0.009\text{mg/ml}$), pourraient être exploitée pour la recherche de nouvelles molécules antioxydantes, des solutions pour les multiples conséquences du stress oxydatif, et même utile contre les maladies induites par les radicaux libres telles que le cancer, l'athérosclérose et le vieillissement des tissus.

Conclusion

Conclusion

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Dans le présent travail, différents extraits de *Tamarix sp* ont été étudiés ; quelques propriétés phytochimique et activités antioxydantes et antimicrobiennes des fractions d'extraits bruts ont mis en évidence.

L'extraction de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir des rendements qui diffèrent en fonction des solvants utilisés, alors que la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes était conséquente.

L'activité antioxydante des différents extraits de *Tamarix spp* a été évaluée par la méthode de réduction de radical libre DPPH. Les résultats sont très satisfaisants ; un pouvoir antioxydant intéressant induit par les substances végétatives de cette plante.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur cinq souches, selon la méthode de diffusion disque, Les résultats indiquent que les quatre extraits à l'exception de fraction acétate d'éthyle ; possèdent une activité antimicrobienne sur toutes les souches testées, l'extrait de la phase aqueuse a permis d'avoir des diamètres de 20mm autour des germes ce qui explique la richesse de cette fraction en substance bioactives. Sauf la souche *Salmonella spp* qui manifeste une résistance pour tous les extraits, sachant que certains microorganismes peuvent d'ailleurs dégrader les composés phénoliques qui leur servent alors de substrats carbonés et favorisent ainsi leur croissance.

L'activité antifongique sur les deux souches a montré également un effet acceptable ; en particulier l'oïdium de pommier a manifesté une extrême sensibilité contre toute les fractions étudiées en principe ; l'extrait brut et l'acétate d'éthyle.

Ces résultats ont montré que la plante tamarix est capable de prévenir la contamination fongique des espèces potentiellement phytopathogènes.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelles biologiquement actives, une étude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antioxydante et antimicrobienne des extraits de cette plante.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Alkurd A, Hamed T.R, Al-Sayyed H, 2008.**Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences* 4: 265 - 274.
- Amjed Houssain M. (2005)** Neem seed oil:Bangladesh. Exemples of the Development of Pharmaceutical Products from Medicinal Plants. Bangladesh Council of Scientific and Industrial Ressearch (BCSIR). 10, 59-63.
- Anderson, C. L. Bremer, K., & Fris, E. M. 2005,** Dating phylogenetically basal eudicots using rbcL sequences and multiple fossil reference points, *American J. Bot.* 92: 1737-1748.
- Anonyme, 2001,** Monographie de la Wilaya de Khenchela, Direction Générale du Budget DPAT de la Wilaya de Khenchela, 166p.
- Anonyme, 1960a,** la carte topographique au 1/50000 de Ouazerne, feuille N°324, B-14, C-28, édition 1960, Institut de géographie, Paris
- Avissar N, WhitinJ.C., and Allen P.Z. (1989).** Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase.*J. Biol. Chem.* 2: 15850-15855
- Atawodi S. E. (2005).** Antioxidant potential of African plants.*African J. of Biotec.*4 (2): 128-133.
- ATHAMENA Souad2009,** Etude Quantitative Des Flavonoides Des Graines De *Cuminum Cyminum* Et Les Feuilles De *Rosmarinus Officinalis* Et L'évaluation De L'activité Biologique, *Biochimie Appliquée* :126
- Ansel Salima,Bettiche Kawther 2012,** l'effet du milieu sur la teneur en métabolite secondaire et leurs effet bactéricide chez tamarix sp dans les régions arides de khenchela,mémoire de master,université Abbes Laghrour de khenchela,77p

B

- Bahorum T. (1997)** Substances Naturelles Actives: La Flore Mauricienne, Une Source D'approvisionnement potentielle.AMAS. Food and Agricultural Research Council.Réduit Mauritius
- Balentine, C.W, Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., Duong, D.Q, Pohlman, F.W. (2006)** The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science.* 73: 413-421.
- Bonina F, Lanza M, Montenegro L, Puglisi C, Tomaino A, Trombetta D, Castelli F, Saija A.** Flavonoids as potential protective agents against photo-oxidative skin damage. *International Journal of Pharmaceutics* 1996, 145(1-2), 87-94.
- Beta T, Nam S, Dexter J. E.Sapirstein HD.(2005),** phenolic Content and Antiooxidant Activity of Pearled Wheat and Roller-Milled Frarctions.*Cereal Chem.* 82(4),390-393.
- BESTAOUI KH; 2001**Contribution à une étude syntaxonomique et écologique des Matorrals de la région de Tlemcen. Th. Magistère en biologie. Ecol. Vég. Dép. Bio.Fac. Sci. Univ. Abou Bakr Belkaïd Tlemcen.184 p + annexes
- Braithwaite A., Smith F. J. (1999)** Chromatographic Methods. 5ème Ed *Kluwer Academic Publishers.* London. 548 p.
- Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie, Phyttochimie, Plantes médicinales, (3^{ème} éd). Paris : Edition médicinales internationales. Editions Tec+Doc Lavoisier. 1120p.

Références bibliographiques

Bruneton J, 1993. Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales. Paris, France: Lavoisier. 278 - 279p.

Brouillard R, 1986. The flavonoids Advances. *Research science*: 525-538 p.

Boussaboua H., Janvier 2002: Elements de microbiologie générale, p (160,161,) Ed de l'université Mentouri Constantine.

Boyd B., Ford C., Koepke M.C., GaryK., Horn E., McAnalley S., and McAnalley B. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience & Nutrition*. **4 (6):7.** (cited in Mohammedi Z, 2005).

C

Caiser, M. 1976, Biosystematic study of the family of *Tamaricaceae* from Pakistan, thesis submitted for the requirement of degree of D Ph, department of botany, University of Karachi, Pakistan, 409p.

Cohen Y et Jacquot C. (2001). Pharmacologie. 5ème Ed. Masson. Paris. 350p

Chambers H. F., (1997) Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin. Microbiol. Rev.* **10** : 781-791.

CHAÂBANE A., 1993 Etude de la végétation du littoral septentrional de Tunisie: Typologie, Syntaxonomie, et éléments d'aménagement. Th. Doct. Es-sciences en Ecologie. Uni. Aix-Marseille III; 205P+annexes

CE : commission européenne, Juin 2001 : proposition de la commission en matière de lutte contre la résistance microbienne. BRUXELLE.

Crowan M. M. (1999), Plant products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4), 564-582.

Crins, W.J. 1989, the *Tamaricaceae* in the Southeastern United States. *J. Arboretum* 70:403-425

Celiktas, O.Y , Hames Kocabas, E.E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T, Baser, K.H.C. (2007a) Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem.* **100**: 553-559.

Celiktas, O.Y, Bedir, E., Vardar Sukan, F. (2007b) In vitro antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide. *Food Chem.* 101: 1457-1464
Chaibi, A., Ababouch, L.H., Belasri, K., Boucetta, S., Busta, F.F. (1997) Inhibition of germination and vegetative growth of *Bacillus cereus* and *Clostridium botulinum* spores by essential oils. *Food Microbiology*. **14**:161-174.

Cronquist, A. 1988. The Evolution and Classification of Flowering Plants. Second Edition. Bronx, NY: The New York Botanical Garden.

Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press, N.Y. and 1988. The evolution and classification of flowering plants, ed. 2. New York Botanical Garden, N.Y.

D

Dastidar S. G, Manna A., Kumar K A, Mazumdar K, Dutta N K, Chakrabatary A N, Dekhinat. S. 2005, étude des potentialités morpho-pédogénétiques des sols aurassiens, Laboratoire de recherche LAPAPEZA, Université de Batna, 60p.

Motohashi N et Shirataki Y. (2004) Studies on the antibacterial potentiality of isoflavones. *International journal of Antimicrobial Agents*, 23, 99-102.

Références bibliographiques

Dauguet J.C, Foucher J.P., (1982), Les flavonoïdes de *Arbutus unedo* L. (Ericacées), *Plants médicinales et phytothérapie*, vol. 16, N° 3, pp. 185-191

Donatien Kone,2009 Enquête Ethnobotanique De Six Plantes Médicinales Maliennes-Extraction,Identification d'alcaloïdes -Caractérisation, Quantification De Polyphénols : Etude De Leur Activité Antioxydante, Docteur De L'universite De Bamako (Mention Chimie Organique), L'universite Paul Verlaine De Metz –Upv- M (France) :188p

Diasa Nzambi , 2007, Contribution à l'évaluation du pouvoir Antifongique des extraits des *Hélianthus annuus* sur trichophyton rubrun, TFC, 2007, ISTM/Kinshasa, Inédit.
<http://www.memoireonline.com/04/11/4523/Evaluation-in-vitro-des-pouvoirs-antifongique-des-extraits-de-feuille-de-papayer-sur-des-souches-de-.html>.

E

Euzéby, 2005 : J.O n° 104 page 7859 abrégé de bactériologie générale et médicale.

Elghozi J.L., Duval D. (1992). Pharmacologie 2ème Ed : Médecine Flammarion. Paris. 289p.

F

Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J., 2005. Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes* pp 121-216.

Fouché J. G., Marquet A. et Hambuckers A.(2000), les plantes médicinales, de la plante au médicament Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman.

Favier A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. pp: 108-115.

foundation in natural–Singh SB, Barrett JF (2006) Empirical antibacterial drug discovery products. *Biochem. Pharmacol.* 71: 1006-1015

G

Gàbor M, Cody V, Middleton E J, Harborne J B, Beretz A, Liss A R, 1988. *Plants Flavonoids in biology and Medecine II; Biochemical, Cellular and Medecinal properties*. New York, 1-15 p.

Gamet-Payrastre, L., Manenti, S., Gratacap, M.P.,Tulliez, J., Chap, H., Payrastre, B. (1999)

Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. *General Pharmacology*. **32**: 279-286.

Gangoué piéboji, J. (2007) caractérisation des beta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thèse de doctorat. Liège.

González-Gallego J., Sánchez-Campos S. et Tuñón M. J. 2007. Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutrición hospitalaria*, 22 (3) : 287-293.

Gurbuz I., Yesilada E., Ito S., 2009. An anti-ulcerogenic flavonol diglucoside from *Equisetum palustre* L. *Journal of Ethnopharmacology* 121: 360 -365.

Guinard JL., 1998: Botanique 11ème Ed révisée .Masson, Paris, (49-152,272).

Garcia-Ruiz A., Bartolomé B., Martínez-Rodríguez A.J., Pueyo E., Martín-Alvarez P.J., and Moreno-Arribas M.V. (2008). Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*. 19: 835–841.

Références bibliographiques

Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V. M., Azzolini Ana ECS et Fonseca Maria J.V. (2003). Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. *AAPS Pharm Sci.* **5** (2):5p.

H

Hadi M.(2004), la quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en science de l'Université Louis Pasteur Domaine : Pharmacochimie. 155p.

Harbone J B, 1967. Comparative biochemistry of the flavonoides. Academic press. New York, 1-130 p.

Hellal Zohra, 2011 Contribution à l'étude de propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *citrus* application sur la sardine (*sardine pilchardus*) Magister en biochimie appliquée et biotechnologie; Université Mouloud maameri tiziouzou :120p

Hitara T., Fujii M., Akita K., Yanaka N., Ogawa K., Kuroyanagi M., Hongo D., 2009. Identification and physiological evaluation of the components from Citrus fruits as potential drugs for anti-obesity and anticancer. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **17**: 25-28.

Huang Guangrong., Jiang Jiabin., and Dai Dehui. (2008). Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala* S. Moore. *African Journal of Biotechnology* **7** (9): 1335-1338.

I

Ito C., Itoigawa M., Onoda S., Hosokawa A., Ruabgrungsi N., Okuda T., Tokuda H., Nishino H. Furukawa H., 2005. Chemical constituents of *Murraya siamensis*: three coumarins and their anti-tumor promoting effect. *Phytochemistry* **66**: 567-572. **97**: 1-6.

J

JACKSON. NELROY E, 1996, Chemical Control of Saltcedar (*Tamarix ramosissima*), Saltcedar Management Workshop, The Agricultural Group, Monsanto Company

Jacques B, and André R. (2004). *Biochimie métabolique* Ed ellipses .Paris. pp: 217-219-220-223-225.

Jutiviboonsuk A., Zhang H., Tan T.G., Ma C., Van Hung N., Cuong N.M., Bunyapraphatsara N., Soejarto D D., Fong H H S., 2005. Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. *Phytochemistry* **66**: 2745 - 2751.

Jürgen R., Paul .S., Ulrike S., and Reinhard S. (2009). Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties– an Overview: *Forsch Komplementmed.* **16**: 79–90.

K

Kim J Y., Lim H J., Lee D Y., Kim D H., Jeon R., Ryu J H., 2009. In vitro anti-inflammatory activity of lignans isolated from *Magnolia fargessii*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **19**: 937-940.

Références bibliographiques

Kempf S. Zeitouni. (2009). Coût biologique de la résistance aux antibiotiques: analyse et conséquences Pathologie Biologie : article in press

Kubata BK., Nagamune K., Murakami N, Merkel P., Kabututua Z., Martin SK., Kalulug TM., Mustakuk H., Hoshida M., Ohnishi-kameyama M., Kinoshita T., Duszenko M., Uradea Y., 2005. Kola acuminata proanthocyanidins: a class of anti-trypanosomal compounds effective against trypanosome brucei. *International Journal for Parasitology* 35: 91- 103.

L

Lee K.W, Kim Y.J, Lee H.J. et Lee C. Y. (2003), Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* 51, 7292-7295.

Lugasi A, Hovari J, Sagi K.V. et Biro L. (2003) The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis.* 47(1-4), 119-125.

Iyon L, et Nambiar D. (2005), un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec le VIH. CATIE. 60p.

M

Manach C., Scalbert A., Morand C., Jiménez L., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* 79:727 - 747.

Marfrak A. (2003), Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : Formation de dépsides. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'Université de Limoges. Spécialité : Biophysique. 187p.

Martin S., Andriantsitohaina R. (2002) Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie.* 51: 304-315.

Martinez-Cayuela M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochem.* 77: 147-161.

Masquelier J, Dumon M et Dumas J, 1979. Stabilisation des collagènes par des oligomères procyanidoliques. *Acta thérapeutique* 1, 101-104 p.

Markowicz Bastos, D. H., Saldanha, L. A., Catharino, R. R., Sawaya, A.C.H. F., Cunha, I B.S., Carvalho, P. O. Eberlin, M. N. (2007) Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules.* 12: 423-432.

Médie-sarrie M, Jasprica I, Smolcic-Bubalo A. Et Mornar A. (2003) Optimization of chromatographic Conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids. *Croatian Chemical Acta.* 77(1-2), 361-366.

Milane, H., (2004) La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.

Mohamedi Zohra (2013) Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie thèse doctorat. Spécialité substance naturelles Activités Biologiques et Synthèses Tlemcen. 145P.

Medjbar M., Bouyoucef A., Benayad T., Zerrouki K. (2008) Caractérisation des salmonelles dans les tueries avicole de la wilaya de Blida. *Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie.* Pp :158-161.

Références bibliographiques

Marfak, A. (2003) Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de Leur reactivite avec les radicaux issus des Alcools: formation de depsides. Thèse de doctorat. Limoges.
Markowicz Bastos, D. H., Saldanha, L. A., Catharino, R. R., Sawaya, A.C.H. F., Cunha, I B. S., Carvalho, P. O. Eberlin, M. N. (2007) Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules*. **12**: 423-432.

N

Narayana K.R, Reddy M. S, Chavluvadi M. R. et Krishna D.R. (2001), Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effect and therapeutic Potential. India journal of pharmacology. 33, 2-16
Nataro J. P., Kaper J. B., (1998) Diarrheagenic *E. coli*. *Clin Microbiol Rev.* 11 : 142-201.
Nauciel, C. (2000) Bactériologie médicale. Masson (Ed).Paris, 276p.
Nebeling L., 2002. Phytochemicals, the color of a Healthy Diet. Health Promotion Research Branch National Cancer Institute, Maryland.
Nostro A., Germano M.p., D'Angelo V., Marino A et Cannatelli M.a. (2000), Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity, *Lettres en microbiologie appliquée*.30(5),p379.

O

Okamura H, Mimura A, Yakou Y, Niwano M, Takahara Y, 1993. Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. *Phytochemistry* 33: 557-561.
Ounissi. Y et Zemmochi. N. H. 2004, cartographie de la végétation de Garat Temrguanine, Mémoire de fin d'étude, écologie et environnement, Université d'Oume El Bouaghi, 142p

P

Porter N. (2001), Essential oils and their production. *Crop + Food Research*. Number 39.
Psotova J, Lasovsky J. et Vicar J. (2003), Metal-chelating Properties, Electrochemical Behavior. Scavenging And Cytoprotective Activities Of Six Natural Phenolic. *Biomed, Papers*147(2), 147-153.
Prescott M, Harley P, Klein A., 2003 : Microbiologie 2^{ème} édition française, traduction de la 5^{ème} édition américaine par Claire Michelle Bacq Calberg et Jean Dusart (Univ de Liège) p (139-142-144-118-119).
Pitt J.I., (1988), Laboratory guide to common *Penicillium* species, Academia Press editor, London

R

Ribereau G P, 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris, 254 p.
-Rijke, E., Out P., Niessen, W. M.A., Ariese, F., Gooijer, C., Brinkman, U.A.T. (2006) Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J Chromatography A*.**1112**: 31-63.
Rasooli, I., Fakoor, M.H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., Rezaei, M.B. (2008) Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum*

Références bibliographiques

L. essential oils. *International J of Food Microbiology*.122:135-139.

S

Sakagami H., Hashimoto K., Suzuki F., Ogiwara T., Satoh K., Ito H., Hatano T., Takashi Y., Fujisawa S., 2005. Molecular requirements of lignin–carbohydrate complexes for expression of unique biological activities. *Phytochemistry* 66: 2108 -**Silvie.M. , 2004,** Botanique”biologie et physiologie végétale, Maloine, Paris, 775p

Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D., Corke , H. (2007) The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International J Food Microbiology*. 117: 112-119.

Shon H Y, Son K H, Kwon C S, Kang S S. , 2004. Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medical plants: Morus alba Echinosophara koreesis Nakai. *Phytomedecine* 11: 666 – 672.

Sefi M., Fetoui H., MakniM., and Najiba Zeghal N. (2010). Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J. Food. Chem.Toxicol.*48: 1986–1993.

Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R.(2005) Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem.* 91: 621-632.

Smallfield B, (2001) Introductio to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop + Food Research*. Number 45,4p.

Smyth T; Ramachandran V. N.; Smyth W. F, 2009. A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. *International journal of antimicrobial agents* 33: 421 - 426.

Sannomiya M., Fonseca V B., Da silva M A., Rocha LRM. Dos Santos L C, Hiruma-Lima C A., Britoc A R M S, Vilegas W., 2005. Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. *Journal of Ethnopharmacology*

Santhos A. S., Caetano L.C., Sant“ana A.E.G., 1998. A 12a - hydroxyrotenoid from roots of *Boerhaavia coccinea*. *Phytochemistry* 49: 255 - 258

Svoboda K.P. et Hampson J.B.(1999), Bioactivity of essential oil selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activites. *Plant Biology* Departement, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK, KA65HW.

T

Tripoli E., Guardia M L Giammanco S. Di Majo D. Giammanco M., 2007. Review Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: *Food chemistry* 104: 466 - 479.

Tsai T. H., Tsai P. G. et Ho S. C. 2004. Antioxidant and anti-inflammatory activities of several commonly used species. *Journal of food science.*, 70 (1) : C93-C97.

Tapas A. R., Sakarkar D. M. et Kakde R. B. 2008. Flavonoids as nutraceuticals. *Topical journal of pharmaceutical research.*, 7 (3) : 1089-1099.

Références bibliographiques

W

Wang J, et Mazza G.(2002), Effects of Anthocyanins and Other Phenolic Compounds on the Production of Tumor Necrosis Factor in the LPS/INF* μ -Activated RAW 264.7 Macrophages. *J Agric. Food Chem.* 50, 4183-4189.

Wangensteen H., Alamgir M., Rajia S., Samuelsen A.B., Malterud K. E., 2005. Rotenoids and isoflavones from *Sacalobus globosus*. *Planta medica* 71: 754 - 758.

Wollgast J., Anklam E., 2000. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33: 423 - 447.

Wilken, D. H. 1993. *Tamaricaceae*. P. 1080 in J. C.Hickman (ed). *The Jepson Manual*. Univ. California Press. Berkeley.

Z

Zhang, H., Kong, B., Xiong, Y .L, Sun,(2009) Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 °C. *Meat Science*. 81: 686-692

Zegahd nadia.2008 obtention de grade Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne .spécialité Biologie végétale

* (1) **Paul Binet, « Halophytes »**, Encyclopædia Universalis [en ligne], consulté le 22 mars 2015. URL : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/halophytes> .

Annexes

Annexe 01.Résultat de l'activité antioxydante exprimant en % d'inhibition

Tous les résultats de chaque test sont exprimés par la moyenne de trois répétitions (n=3) chaque moyenne est représentée par (la moyenne \pm sd), sd : écart type

Les histogrammes et les courbes sont réalisés par l'excel.

***extrait acétate d'éthyle :**

concentration	blanc	10	5	2,5	1,25	0,61	0,30	0,15
R1	1,070	0,042	0,048	0,053	0,059	0,062	0,295	0,315
R2	1,074	0,045	0,049	0,048	0,060	0,064	0,205	0,299
R3	1,073	0,047	0,041	0,051	0,058	0,062	0,288	0,301
moy	1,072	0,044	0,046	0,050	0,059	0,062	0,26	0,30
I%		95%	95%	95%	94%	94%	75%	72%

$$\text{Moy} = \frac{R1 + R2 + R3}{3}$$

$$\text{I\%} = \frac{\text{Absorbance du blanc} - \text{Absorbance (moy d'extrait)}}{\text{Absorbance du blanc}} \times 100$$

***Extrait Ether de pétrole**

concentration	blanc	10	5	2,5	1,25	0,61	0,30
R1	1,070	0,051	0,054	0,424	0,533	0,816	0,908
R2	1,074	0,049	0,052	0,421	0,640	0,814	0,913
R3	1,073	0,049	0,054	0,420	0,639	0,844	0,914
moy	1,072	0,049	0,053	0,42	0,604	0,82	0,91
I%		95%	95%	60%	43%	23%	15%

***Extrait de phase aqueuse**

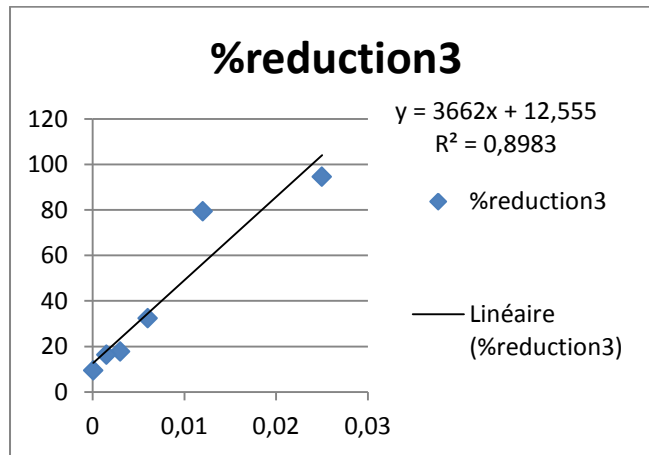
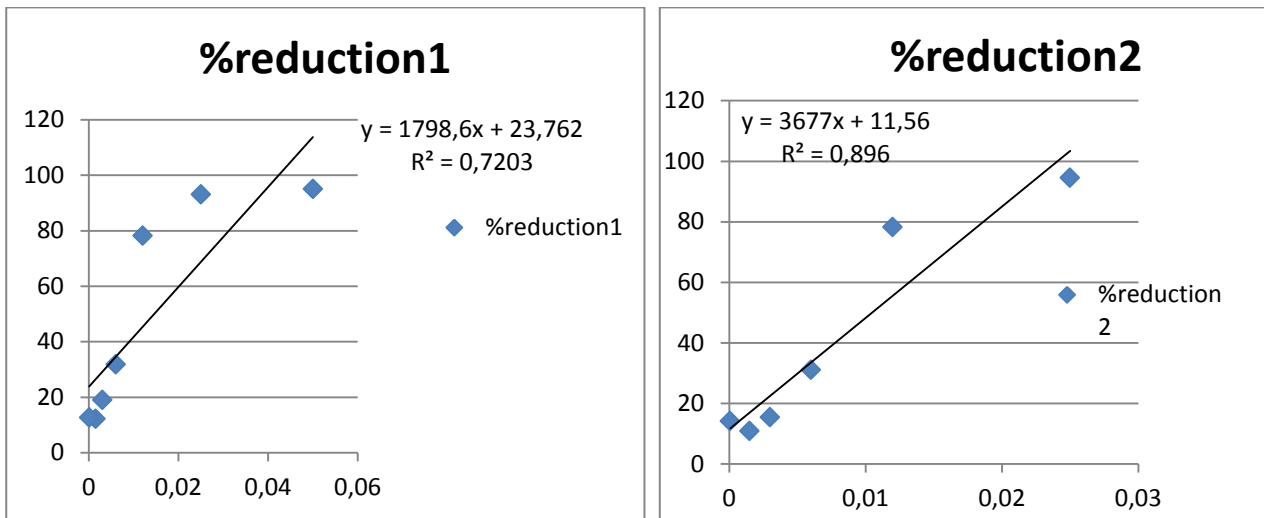
concentration	blanc	10	5	2,5	1,25	0,61	0,30	0,15	0,075
R1	1,070	0,049	0,053	0,074	0,234	0,730	0,867	0,939	0,935
R2	1,074	0,051	0,056	0,059	0,234	0,740	0,908	0,957	0,922
R3	1,073	0,049	0,057	0,059	0,222	0,726	0,883	0,898	0,972
moy	1,072	0,049	0,055	0,063	0,23	0,732	0,886	0,93	0,943
I%		95%	94%	94%	78%	31%	17%	13%	12%

***Extrait brut**

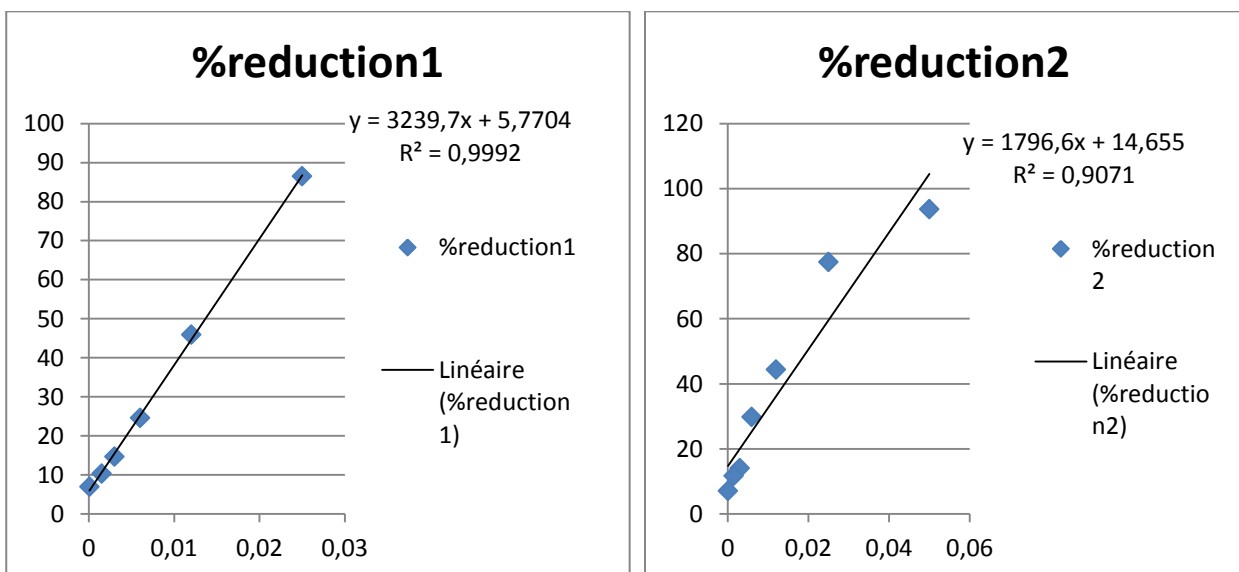
concentration	blanc	10	5	2,5	1,25	0,61	0,30	0,15	0,075
R1	1,070	0,071	0,067	0,145	0,579	0,807	0,913	0,960	0,996
R2	1,074	0,062	0,068	0,243	0,598	0,754	0,923	0,949	0,998
R3	1,073	0,063	0,066	0,240	0,599	0,810	0,930	0,970	0,997
moy	1,072	0,065	0,067	0,20	0,592	0,79	0,922	0,95	0,997
I%		93%	93%	81%	44%	26%	13%	11%	6%

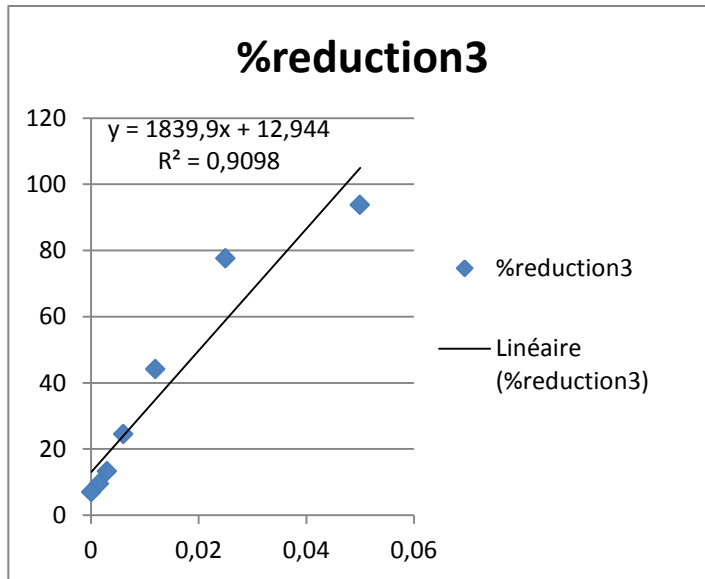
Annexe2.les courbes d'ic50 de chaque extrait

- **Extrait de la phase aqueuse**

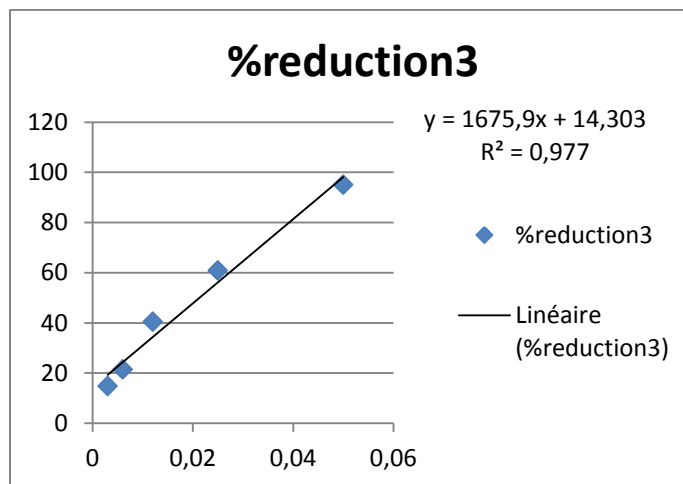
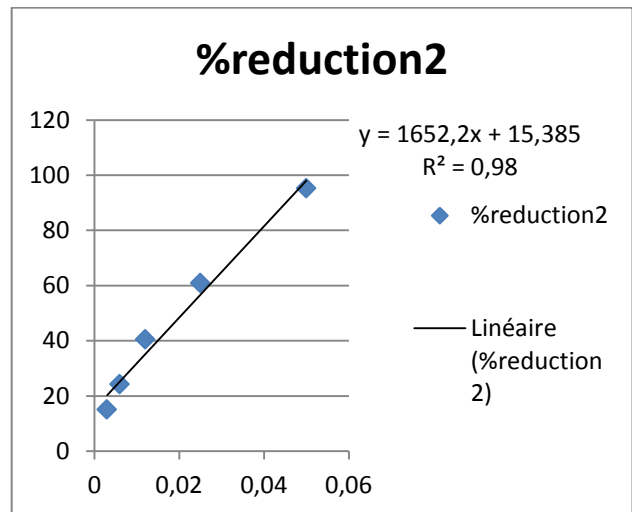
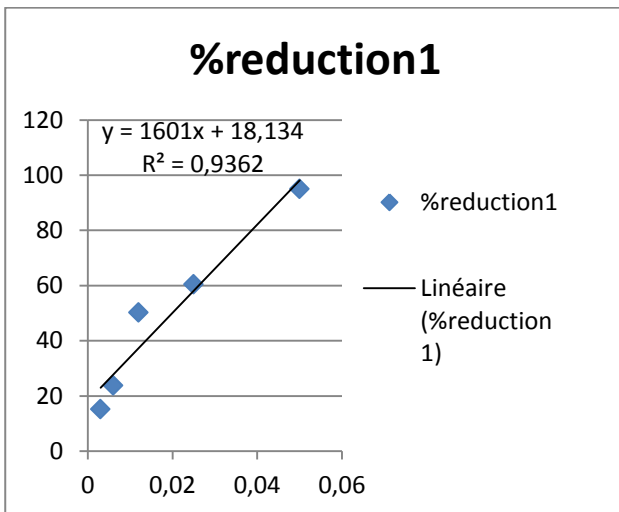


- **Extrait brut**

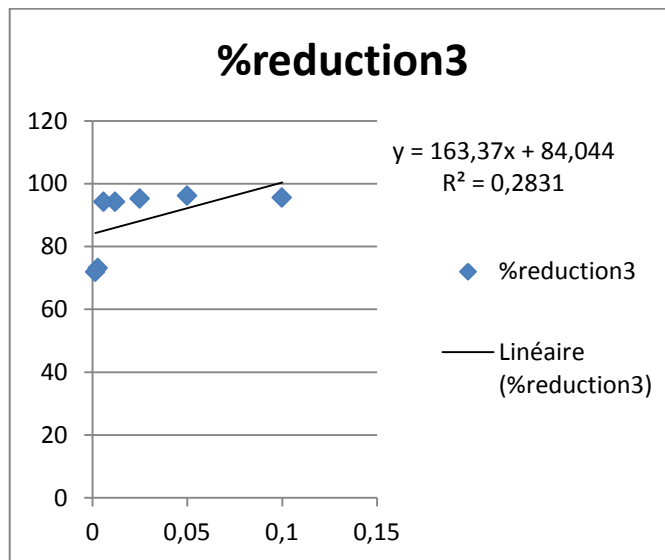
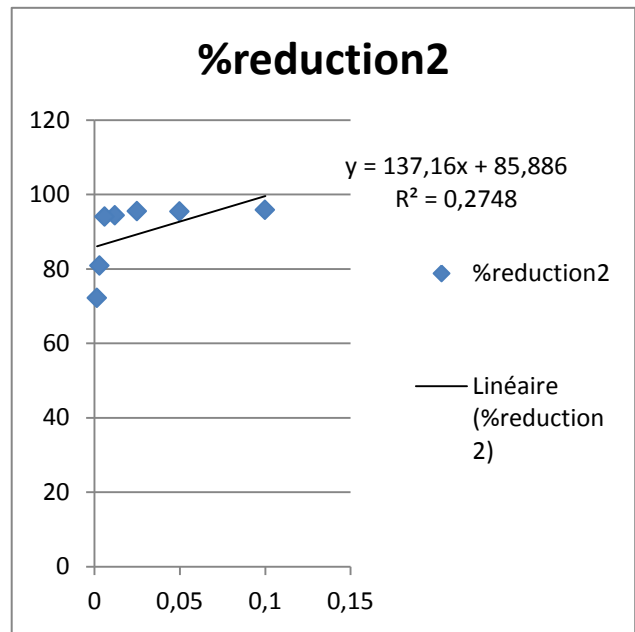
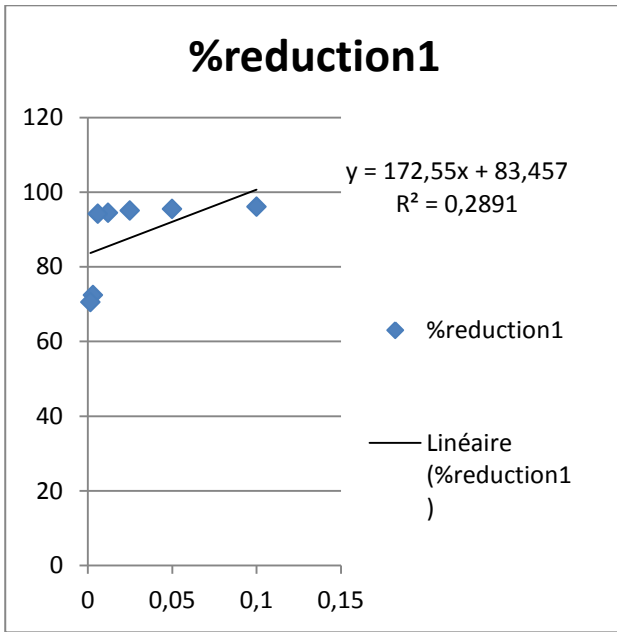




- **Extrait éther de pétrole**



- **Extrait Acétate d'éthyle**



Annexe 03. Dosage des flavonoïdes

***Extrait Acétate :**

concentration	1mg/ml	0,5mg/ml	0,25mg/ml
blanc	0,089	0,030	0,013
R1	0,501	0,337	0,186
R2	0,590	0,329	0,202
R3	0,588	0,320	0,180
Moy R1 R2 R3/3	0,55	0,32	0,18

***Extrait Ether de pétrole**

concentration	1mg/ml	0,5mg/ml	0,25mg/ml
blanc	0,058	0,028	0,016
R1	0,576	0,200	0,100
R2	0,479	0,125	0,167
R3	0,508	0,209	0,099
Moy R1 R2 R3/3	0,521	0,178	0,122

***Extrait de la phase aqueuse**

concentration	1mg/ml	0,5mg/ml	0,25mg/ml
blanc	0,042	0,031	0,012
R1	0,216	0,178	0,112
R2	0,239	0,168	0,090
R3	0,227	0,182	0,098
Moy R1 R2 R3/3	0,227	0,176	0,10

***Extrait brut :**

concentration	1mg/ml	0,5mg/ml	0,25mg/ml
blanc	0,046	0,025	0,018
R1	0,622	0,543	0,501
R2	0,686	0,589	0,405
R3	0,599	0,540	0,367
Moy R1 R2 R3/3	0,63	0,55	0,42

Annexe 04.les milieux de cultures utilisés

Gélose Mueller Hinton

La gélose Mueller-Hinton est le milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques. Sa formulation est conforme aux recommandations du de l'O.M.S.

Elle peut également être additionnée de sang pour réaliser l'antibiogramme des germes fragiles, tels que *Haemophilus influenzae*, *Neisseria*, *Enterococcus sp* et *Streptococcus pneumoniae*.

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Infusion de bœuf.....	300,00	Ph final à 25°C : 7,3 ± 0,2
Peptone de caséine.....	17,50	Le milieu en flacons ou boîtes se conserve entre 2 et 8°C
Amidon.....	1,50	
Agar.....	17,00	

Gélose nutritive

La Gélose Nutritive est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants. Elle est recommandée dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses des aliments, des laitages, de l'eau et d'autres produits.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone.....	5,00	Ph final à 25°C : 6,8 +/-0,2
Extrait de viande de bœuf.....	3,00	
Agar.....	15,00	

Le milieu en flacons et tubes se conserve entre 15 et 25°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage. Le milieu en boîtes se conserve entre 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

Extrait de malt

-A forte pression osmotique :

Extrait de malt	50g
Gélose.....	15g
Saccharose.....	30g
NaCl.....	70g
Eau distillée.....	1000ml

Résumé

Dans le cadre d'une valorisation des ressources naturelles notre étude à été portée sur les métabolites secondaires de *Tamarix sp.* Les extraits végétaux ont été obtenus par fractionnement de l'extrait brut en utilisant deux solvants: acétate d'éthyle et Ether de pétrole, dont le but est l'évaluation d'une étude phytochimique et biologique des différentes substances bioactives. des résultats importants ont été mis en évidence *in vitro* en montrant un grand pouvoir antioxydant des différentes fractions; en particulier celui d'acétate d'éthyle qui inhibe à 100% l'oxydation et fait piégé les radicaux libres. Ainsi la détermination des activités antimicrobiennes a montré également des bons résultats sur les germes bactériens étudiés surtout les bactéries de Gram+ et également sur les souches fongiques potentiellement phytopathogènes ; en citant l'oïdium de pommier qui a révélé une extrême sensibilité contre les extraits étudiés.

Mots clés : *Tamarix sp.*, extraits végétaux, métabolites secondaires, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

Abstract

In the context of a development of natural resources our study was focused on secondary metabolites of *Tamarix sp.* The plant extracts were obtained by fractionating the crude extract using two solvents ethyl acetate and petroleum-Ether, whose goal is the evaluation of phytochemical and biological study of different bioactive substances. important results have been demonstrated *in vitro* by showing a great antioxidant power of the different fractions; in particular that of ethyl acetate which inhibits 100% oxidation and makes the trapped free radicals. Thus the determination of antimicrobial activities also showed good results on bacterial germs studied mainly Gram + bacteria and also on potentially phytopathogenic fungal strains; citing the apple powdery mildew which showed extreme sensitivity against the studied extracts.

Keywords: *Tamarix sp.*, plant extracts, secondary metabolites, antimicrobial activity, antioxidant activity.

ملخص

في إطار تنمية الموارد الطبيعية تم التركيز في دراستنا على المركبات الثانوية لنبتة الأثل. تم الحصول على المستخلصات النباتية عن طريق تجزئة المستخلص الخام المثانولي استخدمنا كل من المذيبين: خلات الاثيل و اثير البترول, بهدف تقييم دراسة كيميائية نباتية وبيولوجية لمختلف الجزيئات النشطة بيولوجيا. حيث تم الحصول على نتائج هامة على مستوى المخبر تتم عن قوة النشاط المضاد للأكسدة لمختلف المستخلصات المدروسة خاصة فيما يتعلق بالمستخلص الاثيلي الذي ثبت 100% لعملية الأكسدة باقتناصه للجذور الحرة. كما تم أيضا تحديد الأنشطة المضادة للميكروبات التي أظهرت نتائج جيدة على السلالات البكتيرية المدروسة خاصة نوات غرام +، كذلك بالنسبة للسلالات الفطرية المضرة للنبات حيث أثبت الفطر الأبيض المضر بأشجار التفاح على وجه الخصوص حساسية كبيرة ضد المستخلصات المدروسة.

الكلمات المفتاحية: الأثل, المستخلصات النباتية, المركبات الثانوية, النشاط المضاد للميكروبات, النشاط المضاد للأكسدة.