République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ahmed DRAÏA - Adrar

Code :

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en :

Filière : Sciences Biologique

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

Effet de l'extrait aqueux décocté de cistanche tinctoria sur quelques souches bactériennes.

Préparé par :

AGUID YAMINA.

BANACEUR KELTHOUM.

BOUAZZA YAMINA.

Membres de jury d'évaluation :

M.	**Président**	**Pr.**	**Univ.Adrar**
M. Kadri Yasser	**Encadreur**	**MCA**	**Univ. Adrar**
M.Nani AbdelHafid	**Co-encadreur**	**MCB**	**Univ. Adrar**
M.	**Examinateur**	**MAA**	**Univ. Adrar**

Année Universitaire : 2021/2022

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République algérienne populaire et démocratique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE AHMED DRAYA - ADRAR

BIBLIOTHÈQUE CENTRALE

Service de recherche bibliographique

N°.....B.C/S.R.B//U.A/2022

جامعة احمد دراية - ادرار

المكتبـــة المركـــزية

مصلحة البحث الببليوغرافي

الرقم.....م .م/م.ب.ب /ج.أ/2022

شهادة الترخيص بالإيداع

انا الأستاذ(ة): قادري ياسر

المشرف مذكرة الماستر.

الموسومة بـــ : Effet de l'extrait aqueux de coque de castanche tendria sur quelques souches bactériennes

من إنجاز الطالب(ة): AGuid Yamine et Bouaza Yamina

و الطالب(ة): BENNacer Keltoum

كلية : العلوم والتكنولوجيا

القسم : SNV

التخصص: Biochimie Appliquée

تاريخ تقييم / مناقشة: 21/06/2022

أشهد ان الطلبة قد قاموا بالتعديلات والتصحيحات المطلوبة من طرف لجنة التقييم / المناقشة، وان المطابقة بين النسخة الورقية والإلكترونية استوفت جميع شروطها.

وبإمكانهم إيداع النسخ الورقية (02) والاليكترونية (PDF).

- امضاء المشرف:

ادرار في: 2022/06/23

مساعد رئيس القسم:

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
قسم علوم الطبيعة والحياة
كلية العلوم والتكنولوجيا

رئيس قسم علوم الطبيعة والحياة
أ.د. أبختي عبد القادر

ملاحظة :لاتقبل أي شهادة بدون التوقيع والمصادقة.

Dédicace:

Je décide ce travail qui est le fruit de plusieurs années d'étude

A tous les membres de ma famille "AGUID"

*A la mission face au……**mon père** (Mouloud).*

*et de ceux qui m'ont appris et n'ont pas réussi à nous inaccompli dans le fait qu'ils ont été frappés par le trophée pour faire l'arbre de tente de moi pour me soulager……**ma mère** (Mehraz Fatima).*

*Au sondé pour l'ère de mon chemin …… **mes frères (Mohamed, Abd Elkader, Abdou) et sœurs** (Aicha, Kelthoum, Khadija, Racha, Meriem).*

A qui vous arrêtez de mon coté était sable dans la rareté et le plaisir…

A ceux qui me connaissent et les connaissez ……

*A qui j'ai les aimants en dieu……**mon fiancé**.*

Aux petites enfants (Akil, Aous Taha)

A mes amies: Hadja, Nwidjam Hada.

Aguid Yamina

Dédicace:

Je dédie cet effort de mes efforts et le fruit de mon travail a' la fontaine de patience, d'optimisme et d'espoir a tous ceux qui existent après dieu et son messager a ma mère que dieu prolonge sa vie et mon père puisse que dieu ait pitié de lui.

Aux cœurs purs et compatissants et aux âmes innocentes aux vents de ma vie mes chères sœurs "Nana"," Fatiha", "Latifa" ,"Naira". A qui je vois de l'optimisme dans ses yeux et de la joie das son rire au visage plein d'innocence mon cher frère "Abdul Ali" et a' sa femme "Aicha Moubarak".

A ma chère sœur Yamina et son honorable mari, "Miloud" au secret des sourires et des rires dans ma vie leur fils "Hitham Waseem, Souhib Amin".

Ames sœurs que ma mère n'a pas enfantées: "Fatima Zohra , Fatiha"" Sayata""Zahra""Mabrouka""Fatima, Naima". et à famille chibani "Ahmed Bataki"

A mes oncles leurs femmes et tous leurs enfants .A tous ceux qui connaissent "Kelthoum" de prés ou de loin. A mes amis "Bouazza Yamina ""Aguid Yamina" mes compagnons d'études et de réussite et a leur famille.

Et a' tous les amis de la Biochimie sans exception.

Banaceur Kelthoum

Dédicace :

Au propriétaire d'une biographie parfumée et d'une pensée éclairée. Il a eu le premier crédit pour mes études supérieures. Mon père "Larbie" bien-aimé, que Dieu prolonge sa vie.

A qui je la préfère à moi-même et pourquoi pas, car elle s'est sacrifiée pour moi, et n'a ménagé aucun effort pour toujours me rendre heureuse, ma mère adorée «Kares Fadila».

A mes frères « Mohamed et sa femme, Abdel-Rahman, Abdelkader, Abu Al-kassem, Abdel-Jabbar et le mari de sœur : Serhani AbdelKader . Les filles : Aicha Mebarka, Zahra, et ma cousine Fatima Al-Zahra », qui ont eu un grand impact sur de nombreux Je n'oublie pas un cadeau spécial pour les amis de la famille, ‹obstacles et difficultés et mes amies «A. Hadjar , A .Fatima Al-Zahra , » et tous ceux qui se tenaient à côté de moi et m'ont aidé avec tout ce qu'ils avaient.

Je ne dois pas oublier mes professeurs, qui ont eu le plus grand rôle en me soutenant et en me fournissant des informations précieuses .Je prie Dieu Tout-Puissant de prolonger votre vie et de vous bénir de bonnes choses.

Bouazza Yamina

Remerciements:

Nous adressons nos sincères remerciements et notre gratitude au professeur encadrarant ***Kadri* Yasser *** qui nous a prodigue tous les précieux conseils et

orientations et l'assistance sur le sujet pour la réussite de cette note et ne nous a rien épargne tout au long de notre parcours.

Nous exprimons nos remerciements et notre gratitude au professeur ***Nani Abdel Hafid ***qui nous a aides dans ses efforts et ses précieuses informations dans les travaux pratiques et nous a ouvert son laboratoire……et au doyen du collège le professeur *** Abkheti Abdel Kader *** et merci au professeur *** Madame Zohour ***qui nous a fourni beaucoup d'informations sur le sujet et au professeur *** Hachemi *** qui nous a ouvert la port le laboratoire et nous-mêmes nous avons fourni tous les moyens de laboratoire pour mener a bien nos expériences.

Et a tous les honorables professeurs qui ont porte le fardeau de nos études pendant les saisons d'études que dieu les récompense tous.

A tous ceux qui nous ont donne des conseils et nous ont orientes vers le droit chemin nous leur adressons nos remerciements notre appréciation notre respect et notre reconnaissance du beau et nous demandons a dieu de nous guider et de réussir dans l'avenir si dieule veut.

Liste des abréviations:

C. tinctoria: Cistanche tinctoria.

g : gramme.

ml: milli litre.

h : heures.

µl: micro litre.

mg/ml: milli gramme sur milli litre.

nm: nono mitre.

mg: micro gramme.

mm: millilitre.

%: Pourcentage.

C°: Dégrée celui.

MS: Matière sèche.

T°: Température.

H: Humidité.

MeOH: Méthanol.

H2O: Eau.

DMSO: Diméthylesulfoxyde.

EC: Escherichia Coli.

BC: Bacillus Cereus.

SA: Staphlococcus Aureus.

PA: Pseudomonas Aeruginosa.

BS: Bacillus Subtilis.

VEF:Enterococcus Faecalis.

Listes des figures:

N°	Figure	Page
01	Cistanche flavasubsp.Bicolor	05

02	le cycle de vie du halouk.	06
09-03	Stades de croissance	07
10	Carte montrant les zones côtières des Etats Arabes du Golfe, Koweït, Emirats, Qatar , l'Est de l'Arabie Saoudite , Bahreïn et Egypt.	09
11	Une carte montrant les zones côtières et désertiques Etats d'Algérie	10
12	Le séchage ;09-01-2022	14
13	après le séchage ; 10-01-2022	14
14	Le séchage dans l'étuve ; 10-01-2022	15
15	sortir le plante en l'étuve broyez ; 11-01-2022	15
16	Détermination de l'humidité	18
17	Schéma d'un appareil de soxhlat	19
18	Photo annotée d'un évaporateur rotatif	20
19	Déférentes étapes de l'extraction d'extrait brut	21
20	Structure de polyphénols.	22
21	Dosage des polyphénols de l'extrait de c. tinctoria	25
22	Bactérie Escherichia Coli	27
23	Bactérie Bacillus Cereus	28
24	Bactérie Staphylococcus Aureus.	28
25	Bactérie du Pseudomonas Aeruginosa.	29
26	Bactérie Bacillus Subtilis.	29
27	Bactérie Enterococcus Faecalis	30

28	Préparation deux géloses Nutritive et Muller Hinton, et préparation les disques de papier.	31
29	Préparation l'inoculum et quelque les étapes de test antibactérienne	32

30	Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de plante par la méthode de diffusion sur disque	33
31	Pourcentage de l'humidité et de matière sèche dans C. tinctoria	35
32	Rendement d'extraction (en%)	36
33	Courbe d'étalonnage des polyphénols	37
34	Diamètre des zones d'inhibition de l'extrait de *Cistanche tinctoria* vis-à-vis des souches bactériennes testées	38
35	Zone d'inhibition de l'extrait de *Cistanche tinctoria* vis-à-vis la souche bactérienne *Staphylococcus Aureus* (SA)	39
36	Zone d'inhibition de l'extrait de *Cistanche tinctoria* vis-à-vis la souche bactérienne *Pseudomonas Aeruginosa* (PA)	40
37	Zone d'inhibition de l'extrait de *Cistanche tinctoria* vis-à-vis la souche bactérienne *Bacillus Cereus* (*BC*)	40
38	Détermination de la CMI de l'extrait décocté de *Cistanche tinctoria* vis-à-vis la souche bactérienne de *Pseudomonas Aeruginosa* (Pa),(25mg/ml , 50mg/ml , 75mg/ml , 100mg/ml).	41
39	Détermination de la CMI de l'extrait décocté de *Cistanche tinctoria* vis-à-vis la souche bactérienne de *Staphylococcus Aureus* (*SA*) (25mg/ml, 50mg/ml, 75mg/ml, 100mg/ml).	42
40	Détermination de la CMI de l'extrait décocté de *Cistanche tinctoria* vis-à-vis la souche bactérienne de *Bacillus Cereus* (*BC*) (25mg/ml, 50mg/ml, 75mg/ml, 100mg/ml)	42

Liste des tableaux:

N°	Tableau	Page

01	Selon Beck et al. (1904), la classification botanique du Cistanche tinctoria est comme suite :	08
02	Matériels et produits chimiques utilisés.	16
03	Défirent poids pour détermination de l'humidité de l'échantillon c. tinctoria.	17
04	Système d'extraction : le solvant ou le mélange de solvants utilisé pour l'extraction (préciser le volume).	22
05	Composition gélose Nutritive.	29
06	Composition gélose Muller Hinton.	29
07	Diamètre des zones d´inhibition de l´extrait de Cistanche Tinctoria vis-à-vis des souches bactériennes testées.	37
08	Concentration minimale inhibitrice de l´extrait de Cistanche Tinctoria.	40

Résumé:

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à une plante médicinale de la région de l'Adrar, connue sous le nom de « Danone ». Notre recherche vise à effectuer le dosage des polyphénols de l'extrait brut de ***Cistanche Tinctoria*** et en évaluant le pouvoir antibactérien de l'extrait de ***Cistanche Tinctoria*** par la méthode de diffusion sur disque contre les souches bactériennes suivantes : *Staphylococcus aureus, Bacillus Cereus, Bacillus Subtilis, Enterococcus Faecalis, Pseudomonas Aeruginosa, Escherichia Coli.*

Les résultats obtenus ont montré que ***Cistanche Tinctoria*** contient un pourcentage élevé de polyphénols, les tests antibactériens ont montré une sensibilité aux souches suivantes : *Staphylococcus Aureus, Bacillus Cereus, Pseudomonas Aeruginosa.*

L'utilisation de ***Cistanche Tinctoria*** en médecine traditionnelle s'explique par le fait qu'il contient une proportion importante de polyphénols, qui sont des composés métaboliques secondaires possédant de nombreuses propriétés biologiques.

Mots clés: ***Cistanche Tinctoria***, polyphénols, et les tests antibactériennes.

Abstract:

In this study, we were interested in a medicinal plant from the Adrar region, known as "Danone". Our research aims to perform the dosage of polyphenols of the crude extract of ***Cistanche Tinctoria*** and by evaluating the antibacterial power of the extract of ***Cistanche Tinctoria*** by the method of diffusion on disc against the following bacterial strains: *Staphylococcus Aureus, Bacillus Cereus, Bacillus Subtilis, Enterococcus Faecalis, Pseudomonas Aeruginosa, Escherichia Coli.*

The results obtained showed that ***Cistanche Tinctoria*** contains a high percentage of polyphénols, antibacterial tests showed sensitivity to the following strains: *Staphylococcus Aureus, Bacillus Cereus, and Pseudomonas Aeruginosa.*

The use of ***Cistanche Tinctoria*** in traditional medicine is explained by the fact that it contains a large proportion of polyphenols, which are secondary metabolic compounds that have many biological properties.

Keywords: ***Cistanche Tinctoria***, polyphénols, anti- bacterial tests.

ملخص :

اعتمدنا في هذه الدراسة على نوع واحد من النباتات الطبية في منطقة* ادرار* المعروفة قديما باسم (***دانون***). يهدف بحثنا لإجراء استخلاص المركبات الفينولية من بصيلات(***Cistanche Tinctoria***) يتم تحديد محتواها عن طريق قياس شدة اللون في المستخلص الخام الذي تم الحصول عليه، وتقييم القوة المضادة للبكتيريا للمستخلص(***Cistanche Tinctoria***) بطريقة الانتشار على القرص ضد السلالات البكتيرية التالية: المكورات العنقودية الذهبية، العضوية الشمعية، العضوية الرقيقة، المكورات المعوية، الزائفة الزنجارية، الاشريكية القولونية.

حيث أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن(***Cistanche Tinctoria***)تحتوي على نسبة عالية من البولفينول، أظهرت الاختبارات المضادة للبكتيريا حساسية لسلالات *Staphylococcus Aureus, Bacillus Cereus, Pseudomonas Aeruginosa)*

ويفسر استخدام (***Cistanche Tinctoria***) في الطب التقليدي لاحتوائها على نسبة كبيرة من البول فينول التي هي عبارة عن مركبات ايضية ثانوية نباتية لها العديد من الخصائص البيولوجية.

كلمات المفتاحية: دانون ,البوليفينول, الاختبارات المضادة للبكتيريا.

Dédicace…….

Remerciements……..

Liste des abréviations……

Liste des figures……

Liste des tableaux……...

Résumé……

Abstract……...

ملخص.....

Table des matières:

Introduction.....01

Première partie: synthèse bibliographique.

Chapitre 01.Cistanche tinctoria.

I. Généralités sur la Cistanche……..02

II. Présentation de la plante Cistanche tinctoria……...04

III. La taxonomie de l'espèce Cistanche tinctoria……08

IV. Distribution géographique de la Cistanche……....09

V. Utilisations traditionnelles……...10

VI.Phytochimie de la cistanche tinctoria……..11

Deuxième partie: partie expérimentale

Chapitre 02: Matériel et méthodes

I. Préparation de matériel biologique végétale……...14

II. Matériels et produits chimiques utilises.....16

III. Méthodes d'analyses physico-chimiques utilisées…….....16

III.1.Détermination de l'humidité …….16

III.2.Préparation de l'extrait brut …….....18

III.3. Dosage des polyphénols……22

Chapitre 03:Test anti microbienne.

I. Évaluation du pouvoir antibactérien……..27

II. Manipulations à réaliser (en bref)…….31

II.1.Préparation des géloses Nutritive et Mueller Hinton……...31

II.2.Préparation de l'inoculum……..32

II.3.Préparation des échantillons d'essai et des disques de papier (Test confermie)…….32

Chapitre4:Résultats et discussion

I. Détermination du taux d'humidité……...36

II. Rendement d'extraction……..36

III. Détermination de la teneur en poly phénols totaux……...37

IV. Évaluation antibactérienne d'extrait de *cistanche tinctoria*……..38

Conclusion……...51

Références bibliographiques……52

Introduction Générale

Introduction:

Depuis l'antiquité ; des anciennes civilisations à nos jours, l'humanité utilise diverses plantes pour le traitement et le soin de diverses sortes de maladies, cette propriété donne aux plantes un rôle capital et primordial dans l'art de guérir (Boumediou et Addou, 2017)

Au niveau des sociétés africaines, l'homme a utilisé les plantes comme principal traitement pour différentes pathologies. Au fil du temps, et à force d'expérimenter les effets des différents traitements à base de plantes, un lien de complémentarité avec la nature a été crée par l'homme pour l'objectif de mieux utiliser la flore (Badiaga, 2011).

Plusieurs disciplines scientifiques s'intéressent à la phytothérapie traditionnelle, parmi lesquelles l'ethnobotanique qui est importante et considérée comme une science qui permet de traduire le savoir-faire populaire en savoir scientifique (Derfalou et Ghadri, 2017).

D'après l'OMS (2002) estime que, pour se soigner, 80% de la population africaine a toujours recourt à la médecine traditionnelle pour laquelle la majeure partie des thérapies implique l'exploitation des principes actifs des plantes médicinales. Ces espèces végétales d'aussi grande importance pour la santé des populations méritent d'être étudiées scientifiquement pour une meilleure utilisation.

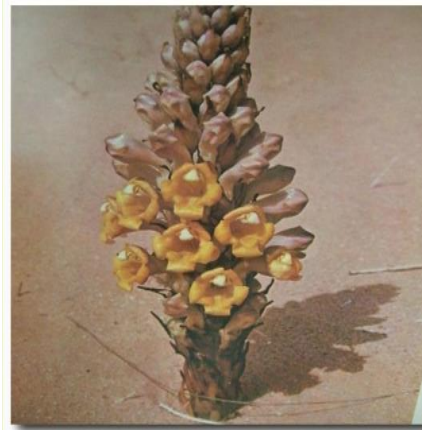
Parmi les caractéristiques primordiales des plantes spontanées sahariennes leur mode d'adaptation particulier à l'environnement désertique très contraignant à leur survie, et leur importance dans différents domaines que ce soit écologique ou fourragère, et elles sont largement utilisées en pharmacopée traditionnelle (Charma et Djebar, 2008).

Dans ce travail l'objectif principal est d'identification de plante médicale (***Cistanche Tinctoria*** jeune) dans la région Adrar ; en comparaison avec certaines recherches antérieures et de se poser des questions sur les utilisations par les personnes qui prennent la médecine traditionnelle car elle est présent dans notre région et ses environs . Ce sont les zones où nous avons trouvé la plante { route de l'aéroport d'Adrar , Tammest (Tittaf ,Eljadid , Baamour), Mekide ,….}.

Chapitre 01 : Cistanche Tinctoria

I. Généralités sur la Cistanche:

Le genre de ***Cistanche*** est considéré comme l'herbe la plus chère de la famille des



Orobanchaceae, et c'est une plante racine infantile trouvée dans les terres sablonneuses qui empiète sur d'autres plantes bénéfiques et leur cause de nombreux dommages. le halo est considéré comme l'une des plantes qui vivent longtemps, car il peut rester vivant dans le sol pendant quarante ans parce que sa graine continue à mûrir même si la plante qui la porte est arrachée ou coupée. Il se propage dans la plupart des régions du monde, en particulier dans les régions tempérées et subtropicales, et le principal centre de distribution de alloc et la région méditerranéenne dans les zones sèches qui reçoivent entre 250-500 précipitations. La référence a' halouk en tant que plante parasite s'est produite dans La période entre371-286avant JC et son parasitisme sur les cultures de légumineuses a été observé depuis le premier siècle après JC .Au XIXe siècle,140 espèces de Halouk ont été identifiées. Elle a été utilisée pour traiter diverses maladies, y compris l'impuissance, l'infertilité féminine, la leucorrhée morbide, métrorragie abondante, sensation de froid dans les reins et les genoux et constipation chronique chez les personnes âgées **(New MédicalCollège, 1977)**. De nos jours, on rapporte qu'il améliore le comportement sexuel et d'apprentissage **(Sato et al, 1985)**, et qu'il possède des effets édatifs et vas relaxants**(MC. Lu, 1998;M. Yoshikawa et al, 2006).**Outre ses utilisations courantes en chine, la Cistanche est également utilisée comme complément alimentaire sain pour les hommes au japon et en Asie du Sud-Est. Les tiges de C. deserticola et C. tubulosa ont été documenté dans la pharmacopée chinois **(édition, 2010) (China pharmacopoeia Committee, 2010).** Ces tiges ainsi que celle de C. salsa sont utilisées traditionnellement comme agents favorisant la circulation sanguine et le traitement d'impuissance, infertilité féminine, lumbago, faiblesse corporelle et tonique **(Namba, 1994;Kobayashi et al.,1987).**

II. Présentation de la plante Cistanche Tinctoria:

La Cistanche est une plante de la famille des **Orobanchacée**.nom arabe (**الهالوك, الدانون**)
C'est une plante parasitaire racine infantile trouvée dans les terres ,0.2 en 1m haute, sableuse, ressemblant a' un champignon , ressemblant a' de gros bourgeons d'asperge au début ,sa tige est épaisse son épaisseur varie entre 3- 5cm et feutrée, et ses fleurs sont brillantes pyramidale a' gradient jaune.ses têtes sont couvertes de bourgeons violet foncé qui s'ouvrent jusqu' a'60-70 il n'a pas de feuilles vertes, mais porte a' la place des écailles brunes alternées, et il est rempli de plantes grasses aquatiques.ses nombreuses fleurs forment un épi dense, aux pétales jaunes, en forme de tube avec une ouverture de le fruit une boite (capsule) et le nombre de capsules sur la plante varie selon le type et les facteurs environnementaux, et ce nombre dépasse rarement 100.la capsule contient des graines de très petite taille, ou le nombre de graines dans le capsule varie de quelques centaines a' plusieurs milliers de graines, selon le type.
Ses nombreuses fleurs forment un épi dense, aux pétales jaunes, en forme de tube de 3-4cm. Ouverture en haut comme la plante apparaît après la pluie, la floraison se produit peu de temps après; cela peut arriver a' n'importe quel moment de l'année dans les hautes montagnes du Sahara central.

C'est une herbe de printemps-été qui pousse naturellement dans un sol humide et fertile riche en certains éléments importants, notamment: acide phosphorique, azote, potassium.

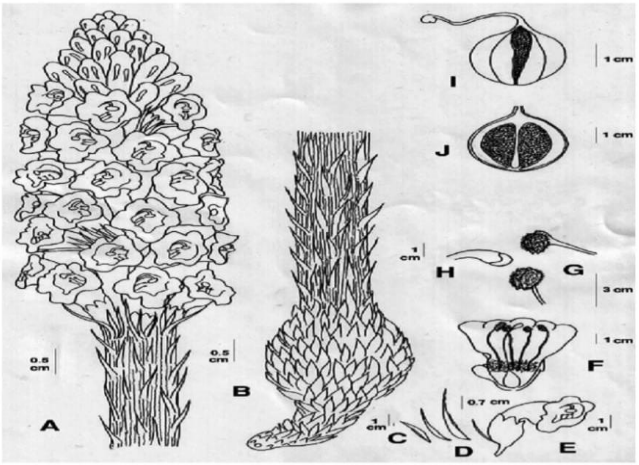


Figure01: Cistanche heflavasubsp.Bicolor.
Mémoire détermination des polyphénols du cistanche tinctoria et évaluation de leur pouvoir antioxydant.

.A)Inflorescence(échelle=0,5cm);B)tige à feuilles écailles (échelle=0,5cm);C) bractées (échelle=1cm); D) bractées (échelle=0,7cm);E) une fleur à calic (la flèche indique le lobe latéral; échelle=1cm) ;F) étamines et ovaire (échelle = 1 cm); G) anthères(échelle = 3 cm); H) stigmates (échelle = 1 cm); I) fruits (échelle =1 cm); J) coupe longitudinale des fruits (échelle = 1 cm) **(Saeidi et Shahi, 2008).**

Le cycle de la vie du halouk:

Halouk appartient a' un groupe de plantes qui ont perdu leur capacité de vivre au cours de leurs stades de développement (dépourvus de chlorophylle).il se spécialise dans l'alimentation de ses famille, ce qui provoque de grave déficience de croissance, car l'hôte pénètre dans l'hôte a' travers un organe spécifique appelé haustoria pour atteindre les vaisseaux de l'hôte afin de s'approvisionner en eau et en nutrition.

Lorsque la croissance de la plante halouk est rapide, ce qui entraine un grave carence en glucides dans les racines de l'hôte, et la pression osmotique dans l'hôte a tendance a' diminuer, tandis que la pression osmotique dans l'halouk augmente dans la mesure où elle augmente.il semblait déshydraté.la plante hôte est gravement affectée par le manque d'eau et la sécheresse de ses tissus en raison du prélèvement d'eau de celle-ci et de son incapacité à absorber l'eau du sol, et les dommages sont également attribués au retrait de sucre influencé par l'enzyme inferens, le niveau de disaccharides a diminué avec l'augmentation des monosaccharides, et l'efficacité de la photosynthèse dans la plante hôte a été réduite en raison de la fermeture des stomates et du manque d'accès au dioxyde de carbone.

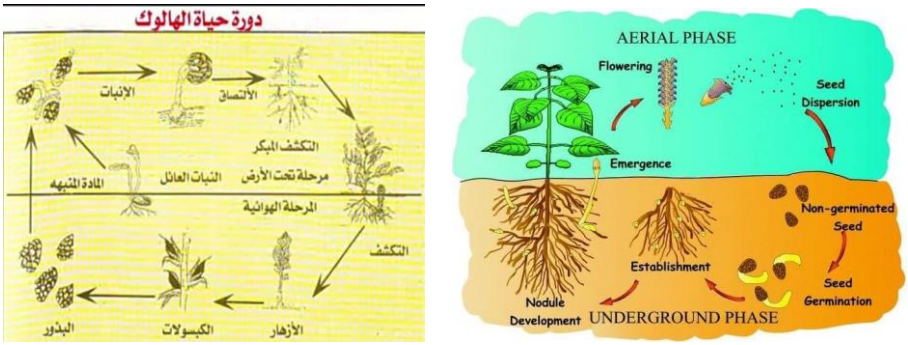


Figure 02:le cycle de vie du halouk
فريق صحة النبات و العيادة النباتية كلية الزرعة- جامعة قناة السويس.

Stades de croissance:

Figure03:
1.bp.blogspot.com

Figure04:
www.albrari.com

Figure05:
www.albrari.com

Figure06:
Mitsalsil.blogspot.co

Figure07:
com.blogspot.mitsals.

Figure08:
Horofar-com

Figure09:
com.blogspot.mitsalsi.

III. La taxonomie de l'espèce Cistanche Tinctoria:

Tableau01: Selon Beck et al. (1904), la classification botanique du ***Cistanche Tinctoria*** est comme suite:

Règne	Plante
Sous-règne	Eucaryotes
Embranchement	Trachéophyta
Sous-embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédone
Sous-classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Orbonchaceae
Genre	Cistanche
Espèce	Tinctoria

IV. Distribution géographique de la Cistanche :

Le genre Cistanche compte une quinzaine d'espèces, surtout asiatiques. À l'exception de deux d'entre elles (Cistanche tinctoria et Cistanche violacea) qui se localisent dans la partie Chaude de la région méditerranéenne et dans les pays arides voisins. Plus particulièrement dans les sols sableux ou limoneux un peu salés du littoral ou de l'intérieur. (Ozenda et Capdepon, 1977).

On trouve principalement dans les zones côtières , y a compris les plages des sables , ou il apparait occasionnellement sous forme de petits fourres.

Figure10: Carte montrant les zones côtières des Etats Arabes du Golfe ,Koweït , Emirats , Qatar , l'Est de l'Arabie Saoudite , Bahreïn et Egypt.
Africapetrenine.net // Trouve sur google.com

Origine :

Endémique commune , également signalée au Koweït , Bahreïn , dans l'Est Arabie Saoudien , aux Emirats arabes unis ,Qatar , Égypte , L'Ouest du Asie ,Turquie , Amérique .

On trouve en Nord d'Afrique comme Algérie (les différentes des wilayat : Bechar, Adrar).

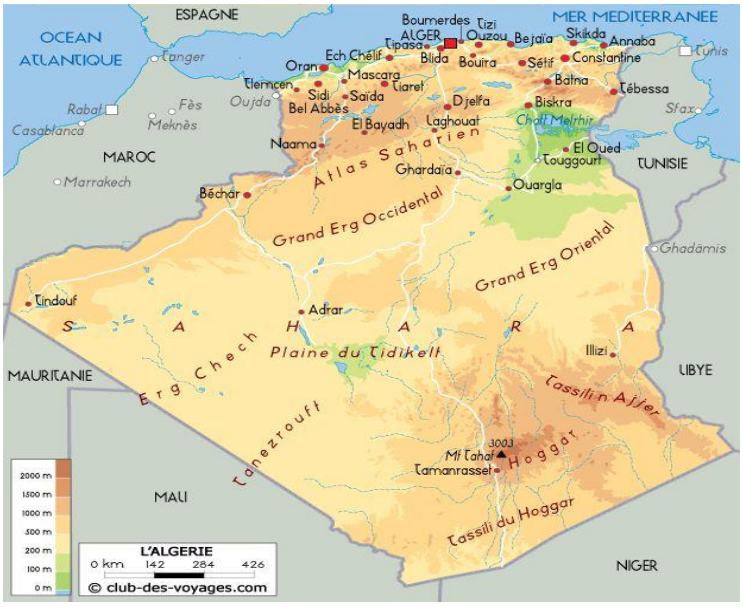


Figure11: Une carte montrant les zones côtières et désertiques Etats d'Algérie

trouve sur googlewww.pinterest.fr

V. Utilisations traditionnelles :

D'après l'enquête réalisée par (Kadri et al., 2018), la partie racinaire de ***Cistanche Tinctoria*** est préparer comme poudre, avec une admission orale est utilisée pour des maladies digestive. Selon (Maiza et Hammiche, 1993) l'usage traditionnelle de ***Cistanche Tinctoria*** dans trois régions et comme suit:

-El Goléa : agalactie, myalgies, Condiment

-Béni Abès : mixtures, condiment. Cette plante est un parasite aux tissus bourrés d'amidon, une fois desséchée et broyée, fourni une farine, (Ozenda, 2004)

Les nomades au Maroc et en Algérie méridionaux mangent la partie inferieure de la plante bouillie dans l'eau ou cuit en cendres et mélangé à des céréales pour faire une sorte de gruau ou d'un pain plat qui est connue également pour ses propriétés aphrodisiaques (Ozenda, 1991). Dans la région de Tissint (Maroc) La plante est utilisée notamment pour bronzer et teindre des peaux. La poudre est principalement appliquée pour les blessures comme homéostat. Une préparation effectuer a partir d'un mélange de la partie plus inferieure sèche de Cistanche, le miel et les feuille d'olivier est utilisé comme crème pour l'hémorroïde. (Bellakhdar, 1997).

Il est utilisé comme teinture rouge, autrefois les bédouins le récoltaient pour le commerce afin d'en extraire la teinture rouge, et cette teinture était mélangée à certains aliments. Les Bédouins utilisent ce colorant pour marquer leur bétail. La cistanche est utilisé dans la région du* Najd* et dans la région orientale, comme une substance amère et appétissante, comme le jammar, et arrête la diarrhée en raison de sa force astringente et de la présence de substances soufrées, et il aide beaucoup à arrêter le saignement du sang.

Nous avons pose de plusieurs questions a ceux qui utilisent des herbes en médecine alternative ou traditionnelle, et nous avons constates qu'elles sont utilisées pour les brûlures en séparent la partie supérieure (sans enlever les fleurs), et en la séchant pendant une semaine , puis en la brulant un peu et en la plaçant sur l'endroit brûle dans les corps.

On dit : qu'ils sont par fois nourris aux chameaux.

-Engraissement et production de lait.

-Quanta la méthode de consommation : on creuse le terre autour d'elle a environ 30 cm et on la retire du sol, puis on coupe la partie enfoncée qui était enfouie dans le sol et on épluche l'écorce externe et on la mâche (comme manger du sucre canne).

V.1- Action pharmacologique et toxicité :

Aucune information n'a été trouvée sur pharmacologie l'action de cette plante, tandis qu'une recherche sur sa toxicité apparaît négatif. Dans médecine traditionnelle et locale il est plusieurs utilisations.

VI.Phytochimie de la Cistanche Tinctoria :

Précédent des recherches sur certaines espèces de ***Cistanche*** ont indique la présence de divers composes et classes phytochimiques dots les huiles essentielles phénylethanoïdes glycosides (PHGs),iridoïdes, lignanes , alditolsoligosaccharides et polysaccharides. Grâce a la détection chimique initiale, il a été constate que l'extrait méthanolique de la plante de truite contient : flavonoïdes, glucides, glycosides, coumarines, résine et tanins.

-Grace a des études antérieures, a été déterminée du l'activité antioxydant et antibactérienne des extraits méthanolique .

VI-1- Lutte contre les mauvaises herbes des Halouk :

-Culture avec des graines propres exemptes des mauvaises herbres, en particulier d'hallucinogènes.

-Culture variétés relativement tolérantes a l'infection Halouk.

-Evitez de planter des fèves dans des terres connues au paravant pour être infestées du halouk .

-Il est préférable de planter des fèves après le riz car cela aide aréduire la propagation du halo a la suite de l'inondation de la terre avec l'eau pendant la croissance de la culture.

-Ne pas répéter la culture des fèves année après année.

-Culture de fève dans le dernier tiers de novembre, en particulier dans les terres connues pour êtreinfectées par halouk car cela réduit l'effet du halo sur les plantes du haricot.

-Enlever les épis Floraux du halouk lorsqu'ils apparaissent dans le champ avant floraison ou la formation des graines , avec la nécessite de ramasser les épiset du les brûler .

VI-2- Lutte chimique contre l'halouk :

Le pesticide de la rhubarbe est utilisé de 2 à 3 fois, la première pulvérisation commence dans les deux semaines suivant le début de la floraison à raison de 75 cm/feddan, puis la deuxième pulvérisation après 21 jours à compter de la première à la même taux de 75 cm / feddan dans la quantité d'eau 100 - 150 litres / feddan en utilisant Le pulvérisateur dorsal à six feuilles pour assurer la répartition uniforme du pesticide sur les plants de haricots, et le processus de pulvérisation peut être répété une troisième fois au cas où d'infection sévère 21 jours après la deuxième pulvérisation et de la même manière, en prenant soin dene pas casser les plants de haricot

Chapitre 02 : Partie Expérimentale

I. Préparation matériel végétal:

La plupart des endroits ou se trouve cette la plante ***C. Tinctoria*** sur le territoire national de l'Algérie se trouve dans sa région sud nous lavons donc abordée depuis la place de l'état de l'Adrar depuis les différents pays mentionnes(Tittaf, Ingezemir ,Zawëit kounta, Tamest.....) pour mettre a jour notre étude au laboratoire plus précisément a l'Université d'Adrar Ahmed Draya au début du printemps de l'année 2022 nous avons nettoyée la plante de ***C. Tinctoria*** immédiatement aprés cela nous le coupons au couteau en tranches fines et large pour faciliter le séchage a l'air libre sur des feuilles de carton pendant une période d'au moins deux jours a une température normale avec un éclairage normale afin qu'il ne soit pas expose au soleil, ensuit séchées a l'étuve pendant 48 h a 70°c, après le séchage de cette plante broyées par la broyage, puis stockée dans flacon , ensuit nous le stockons dans une bouteille en verre a température ambiante afin qu'il soit protégé de la lumière du soleil pour y travailler plus tard, comme le montrent les images suivantes :

Figure12 : Le séchage ;09-01-2022

Figure13 : après le séchage ; 10-01-2022

Figure14: Le séchage dans l'etuve ; 10-01-2022

Figure15: sortir le plante en l'étuve broyez ; 11-01-2022

II. Matériels et produits chimiques utilises:

Tableau02: Matériels et produits chimiques utilisés.

Matériels	Produits chimiques	
Verrerie: béchers, ballons, éprouvettes graduées, entonnoirs, tubes à essai, flacons pour conservation, papier filtre, papier Joseph, cuve -spatule ; -Balance "Kern" Max 120g; -Dessiccateur; -Rotavapor "Nahita"; -Agitateur magnétique, barreaux magnétique; -Etuve isotherme (**Memmert**) ; -Pompe à vide; -Spectrophotomètre UV- visible CT **.60;**	**Produits**	**Formules chimiques**
	-Méthanol. -Eau distillée.	-OHCH3. -H2O.

III. Méthodes d'analyses physico - chimiques utilises:

III.1.Détermination d'humidité:

.Principe:

La détermination de la teneur en eau est effectuée par une dessiccation de l'échantillon dans une étuve isotherme de 105°C jusqu'à une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidités, il convient d'opérer dans vases de tare, placées dans un dessiccateur.

.Mode opératoire:

* Les creusets ont été séchés à l'étuve à 105°C pendant 30 min avec couvercles inclines;

* après refroidissement dans un dessiccateur durant 15à 20 min, les creusets ont été pesés avec leurs couvercles (**P1**) ;

* dans chaque creuset, 2 g de l'échantillon a été introduit, l'ensemble est pesé avec les couvercles fermés (**P2**);

* après un étuvage de 3 h à 105°C, avec couvercles inclinés, puis refroidissement dans un dessiccateur pendant 15 min, les creusets ont été pesés, puis remis à couvercles inclinés dans l'étuve durant une heur à 105°C;

* après refroidissement comme précédemment, les creusets ont été repesés (**P3**);

* l'étape précédente a été répétée jusqu'à l'obtention d'une différence entre deux pesées inférieure à 2 mg.

.Expression des résultats :

Tableau03: différents poids pour détermination de l'humidité de l'échantillon C. tinctoria.

Répétition	P0 (g)	P1 (g)	P2 (g)	P3 (g)
I	105,4835	2,0034	107,4871	107,2606
II	110,0257	2,0664	112,0918	111,8460
III	108,2792	2,0231	110,3016	110,0740

P0 : poids du creuset vide fermé en (g)

P1 : poids de la prise d'essai en (g)

P2 : poids initial (avant la dessiccation) du creuset fermé+la prise d'essai en (g)

P3 : poids final (après la dessiccation) du creuset fermé+ la prise d'essai en (g)

Le taux d'humidité des échantillon est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante:

$$H\% = ((P2-P3)/P1).100$$

Soit**:**

H%: Taux d'humidité en %

A partir du taux d'humidité, nous avons déterminé le taux de la matière sèche qui est donné par la formule suivante:

Taux de matière sèche %=100 – Taux d'humidité%

MS: Taux de matière sèche ou rendement en (%)

Figure16: Détermination de l'humidité

III.2.Préparation des extraits bruts:

En général l'extraction liquide- solide est l'opération fondamentale qui a par but extraire un ou plusieurs composes , d'un mélange initial, sur la base de propriétés chimiques ou physiques.

-Il s'agit d'extraire une substance présente dans un solide pour la faire passer dans un solvant liquide.

-Macération, décoction, infusion, sont des méthodes d'extraction solide –liquide

-Il s'agit d'un opération plus utilisée pour la récupération de molécules bioactives a partir de sources végétales. Elle est largement appliquée en industries agro- alimentaire et pharmaceutiques pour extraire des composes intérêt a partir des plantes pour la production de boissons et de médicaments.

-L'extrait brut d'échantillon de ***C. Tinctoria*** est obtenu selon la méthode de décoction comme suit:

1-L'extraction par soxhlet et filtration:

Principe:

L'appareil de soxhlet est également qualifié (d'extracteur) car il est utilisé pour la réalisation des extractions solide- liquide, lors desquelles une molécule d'intérêt présente dans un solide est

extraite par un solvant. Dans le cas de substances naturelles contenues dans les plantes, les feuilles ou les fleurs réduites en poudre. Ces derniers sont placées dans la cartouche et du solvant constamment distillé assure la solubilisation et le passage des molécules recherchées dans le ballon inferieur (ex : extraction de la caféine des feuilles de the) regarde (figure17).

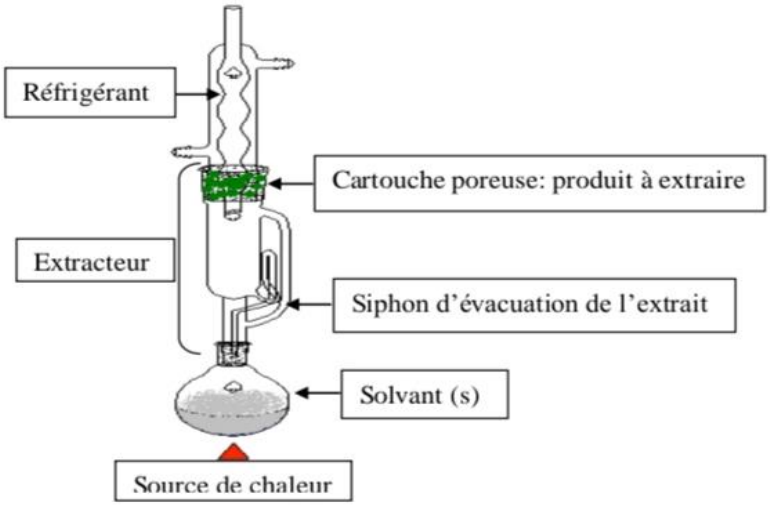


Figure17: Schéma d'un appareil de soxhlet
;https//elearning- deprecated.Univ- Anaba .DZ,2020

Prendre 40g espèces du genre ***C .Tinctoria*** et broyées est soumis à une décoction sous agitation magnétique à température ambiante avec un mélange 550 ml de H2O pendant 5h ensuite, le mélange à été filtré.

2- Evaporation à sec ou l'évaporation rotatif :

On utilise l'appareil de l'évaporateur rotatif qui principe comme la phase organique séchée est un mélange homogène liquide, dont le but est de séparer le solvant des autres constituants du mélange(le produit synthétisé et d'éventuels sous-produits ou impuretés) et base sur l'abaissement du point d'ébullition avec la diminution de la pression, cet appareil permet d'éliminer rapidement un solvant volatil par évaporation (figure18)

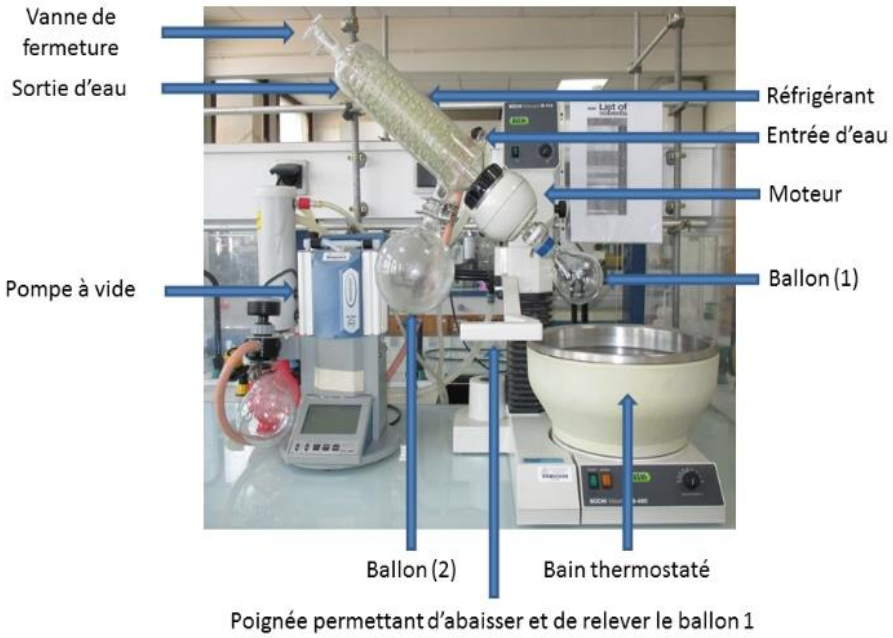


Figure18: Photo annotée d'un évaporateur rotatif.

Après une filtration l'extrait filtré a été évaporé à sec dans un évaporateur rotatif à 45°C sous pression réduite.

3- Récupération dans le MeOH:

Enfin, l'extrait sec récupéré dans 20 ml de méthanol (MeOH) pour d'effacer du l'effet de la solution dans le ballon.

Figure19:déférentes étapes de l'extraction d'extrait brut.

Après évaporation à sec du solvant ternaire utilisé pour l'extraction des métabolites secondaires, le rendement d'extraction est calculé selon la formule suivante:

$$Rdt(\%) = (P2-P1)/M \times 100$$

Tableau04: Système d'extraction : le solvant ou le mélange de solvants utilisé pour l'extraction (préciser le volume).

Système d´extraction	P1(g)	V1 (ml)	P2(g)	P3(g)	V2(ml)	Nom de l´extrait
-H2O -/ -/ -600mL	40	448	341	388	20	CTD

P1 : poids de la prise d'essai en (g)

V1 : volume du filtrat ou des 2 filtrats réunis

P2 : poids du ballon vide (avant l'évaporation à sec) en (g)

P3: poids du ballon + extrait sec (après l'évaporation à sec)en (g)

V2 : volume du MeOH ou de DMSO de l'extrait brut

III.3.Dosage des polyphénols :

Les polyphénols sont une famille de molécules complexes que les plantes produisent naturellement pour se défendre contre diverses agressions.

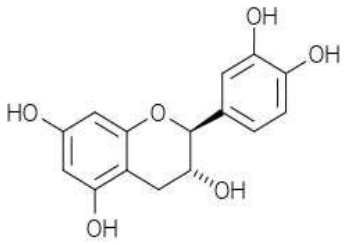


Figure20 : Structure de polyphénols.

https:// www.futura-sciences.com

Des molécules antioxydants bénéfiques pour la santé :

On leur attribues de nombreux bienfaits sur le santé , comme la diminution des risques de maladies cardio-vasculaires , inflammatoires ou neurodégénératives , la prévention du cancer , des effets antiplaquettaires , la régulation de la tension artérielle ,etc. . C´est pourquoi ils sont utilisés en cosmétique et en pharmacologie, comme anti-âge , compléments alimentaires , principes actifs de médicaments , etc .

D'ailleurs, l'homme consomme quotidiennement environ un gramme de polyphénols dont la moitié de ces apports est assurée par les fruits et légumes (**Augustin, 2003**).

Selon **Diallo (2005)**, on trouve :

- **Polyphénols**

Les flavonoïdes : leur activité anti-oxydante est liée à leur structure chimique dont la position et le degré d'hydroxylation est le facteur déterminant.

Les tanins : ce sont des donneurs de protons pour la réduction des radicaux libres lipidiques issus de la peroxydation.

Les coumarines : assurent la prévention de la peroxydation des lipides membranaires et de captation des peroxyles, superoxydes et les radicaux hydroxyles.

Méthode de Folin- Ciocalteu (1927):

Principe:

*La dosage c'est basé sur le couplage du Folin- Ciocalteu avec les composés phénoliques du matériel végétal (Brune et al., 1991).

*Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Singleton et Ross, 1965).

*La réaction est : basée sur la réduction de l'acide phosphomolybdique (H30PM12 O40) du réactif de Folin-Ciocalteu (un acide couleur jaune, constitué de polyphénols acide contenant du molybdène et tungstène) par les polyphénols en milieu alcalin (Catalano*etal*., 1999). Elle se traduit par le développement d'une coloration bleu foncé due à la formation d'un complexe molybdène (M8O23) tungstène (W8O23) mesuré au spectrophotomètre (figure.).

Mode opératoire:

* A 25 µl l'extrait de C. tinctoria et des différentes dilutions de la gamme d'étalonnage, nous avons ajouté: 475 µl MeOH + 2500 µl de Folin-Ciocalteu (dilué 10x) et2000µlNa2CO3 à 7,5%.

*Témoin : 500µlMeOH +2500µl de Folin dilue + 2000µl Na2CO3

* Le mélange a été bien agité puis incubé à l'obscurité pendant 1h à 20°C; La gamme d'étalonnage qui consiste à lire les absorbance des différentes concentrations d'acide galique est préparée comme suit:

* 03mg d'acide gallique sont pesés, puis mélangés avec 20 ml du méthanol à 99,6% ; c'est la solution mère concentration de 0,3 mg/ ml;

* A partir du cette solution mère, nous avons préparé des dilutions filles suivantes: 0.024 – 0.045 – 0.06 – 0.075 – 0.105 – 0.15 – 0.21 mg/ ml;

La lecture de l'absorbance des différentes concentrations est fait contre un blanc à 765 nm

Expression des résultats:

A partir des densités optiques obtenues, nous avons pu déduire la teneur en poly phénols dans l'échantillon selon l'équation suivante:

$$ABS = 10.0338c - 0.353$$

Où:

Abs: absorbance,

C: la concentration des phénols totaux

Figure21: Dosage des polyphénols de l´extrait de ***C. Tinctoria***

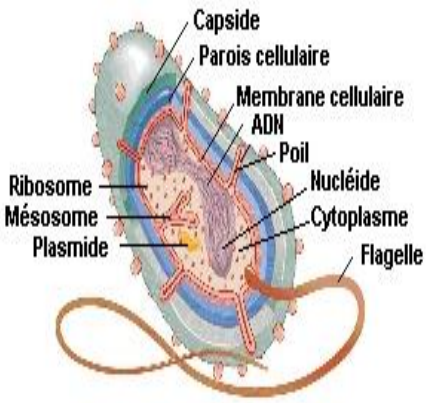
Chapitre 03: Test Anti Microbienne

Protocole étude anti bactérienne:

I. Évaluation du pouvoir antibactérien:

Les tests antibactériens sont réalisés sur six souches bactériennes pathogènes à savoir: S1:*StaphylococcusAureus*(SA),S2:*BacillusCereus(BC)*,S3:*BacillusSubtilis(BS)*,S4: *Pseudomonas Aeruginosa(PA)* , S5: *Enterococcus Faecalis*(EF), S6: *Escherichia Coli (EC).*

Bactérie Escherichia. Coli (EC):



Forme : bacille

Gram : négatif

Culture : aérobie

Genre : Escherichia

Espèce : coli

Nom courant : colibacille

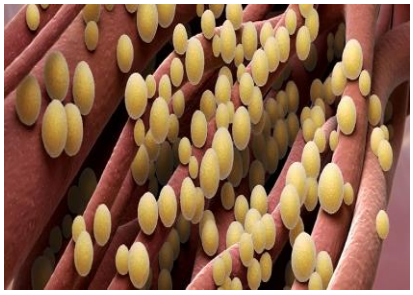
Figure22:bactérie Escherichia Coli , https//:www.anti bio-risposable.fr

Habitat : constitue la majorité de la flore intestinale aérobie; peut se retrouver également au niveau des muqueuses de l'homme et de l'animal.

Escherichia coli, autrement appelé colibacille, est une bactérie à gram négatif.

C'est un bacille, qui se présente sous la forme de bâtonnets allongés.

Bactérie Bacillus. Cereus (BC):



Forme : cocci

Gram: positif de 1,4

Culture :anaérobie.

Genre : Bacillus.

Espèce :Cereus.

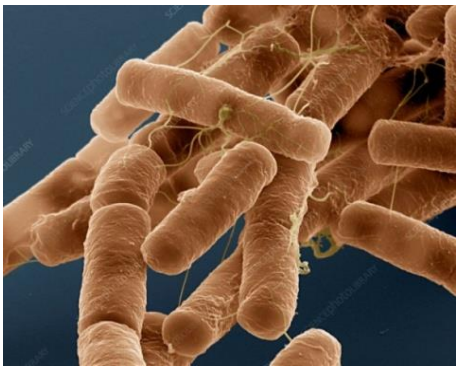
Schéma23: de bactérie Bacillus Cereus

photo.comhttps://canada.com; https://sience

Habituellement: observés en paires ou en chaînettes courtes

Les bactérie Bacillus Cereus est un anaérobie facultatif , et mobile capable de former des endospores, et ses colonies blanches d'aspect granuleux font entre 2 et 7 mm de diamètre . Une croissance est observée à des températures se situant entre 10-20 °C et 35-45 °C, la température optimale étant d'environ 37 °C . Le bacille peut produire six types de toxines, à savoir cinq entérotoxines et une toxine émétique, qui peuvent être thermostables ou thermolabiles, selon les souches.

Bactérie Staphylococcus Aureus (SA):



Forme : cocci

Gram: positif

Culture : aérobie-anaérobie facultatif

Genre : Staphylococcus

Espèce : aureus

Nom courant : staphylocoque doré.

Morphologie: diplocoques ou amas

Schéma24: de bactérie Staphylococcus Aureus.

bio-responsable.fr.https://WWW.anti

net.com.https://www.saute-sur

Habitat : peau, muqueuses et fosses nasales et le pharynx en majorité2

Staphylococcus aureus, autrement appelé Staphylocoque à coagulase positive, est une bactérie à gram positif.

C'est un coccus, de forme arrondie, qui se présente sous la forme de diplocoques (des coccis associés par deux) ou sous la forme d'amas ayant la forme de grappes de raisin.

Bactérie du PseudomonasAeruginosa (PA):

Division: Proteobacteria.

Classe: Gamma proteo-bacteria.

Ordre: Pseudomonadales.

Famille: Pseudomonadaceae.

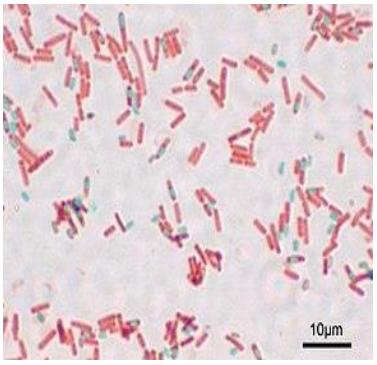
Genre: Pseudomonas.

Schéma25: de bactérie du Pseudomonas Aeruginosa.

techdo-seince.enthttps://www

Pseudomonas Aeruginosa, autrement connue sous le nom de bacille pyocyanique, est une bactérie gram-négative du genre Pseudomonas. Les bacilles sont fins, droits et très mobiles grâce à un flagelle polaire : ciliature mono triche, dépourvus de spores et de capsules. Ils apparaissent la plupart du temps isolés ou en diplobacilles.

Bactérie Bacillus Subtilis (BS):



Domaine: Bacterie Phylum.

Embranchement: Firmicutes.

Classe: Bacilles

Ordre: Bacillales.

Famille: Bacillaceae.

Genre: Bacillus.

Espèce: Bacillus Subtilis.

Schéma26:de bactérie Bacillus Subtilis.

https://images.app.goo.gl/ut BmkvyFtyZro9jc8

Bactérie de l'Enterococcus Faecalis (EF)

-Est une bactérie commensale à Gram positif.

-habitant le tube digestif des humains et d'autres mammifère.

Se présente comme un microorganisme non-mobile, anaérobie facultatif, il fermente le glucose sans production de gaz et ne produit pas de réaction catalase en présence de péroxyde .d'hydrogène.

Schéma27: de bactérie Enterococcus Faecalis

https://www.bateriologie.wikibis.com

II. Manipulations à réaliser (en bref):

II.1. Préparation des géloses Nutritive et Mueller Hinton:

-A l'aide le balance et bécher peser par la spatule la composition gélose nutritive(tableau)

-Chauffer jusqu'à à ébullition

-Autoclave à 121°C pendant 15 min. Ou 28/1L d'eau distillée (figure.)

Provenance des souches bactériennes.

Tableau05: composition gélose Nutritive

Composition gélose Nutritive	
Ingrédients	Gramme/litre
Peptone	5g
Extrait de viande	3g
Sel	5g
Agar	15g

-Préparation de gélose Mueller Hinton à la même méthode de préparation de gélose Nutritive mais différente dans la composition.

Tableau06: composition gélose Mueller Hinton

Composition gélose Mueller Hinton	
Ingrédients	Gramme/litre
Peptone	17,5g
Extrait de viande	2g
Amidon	1,5g
Agar	17g

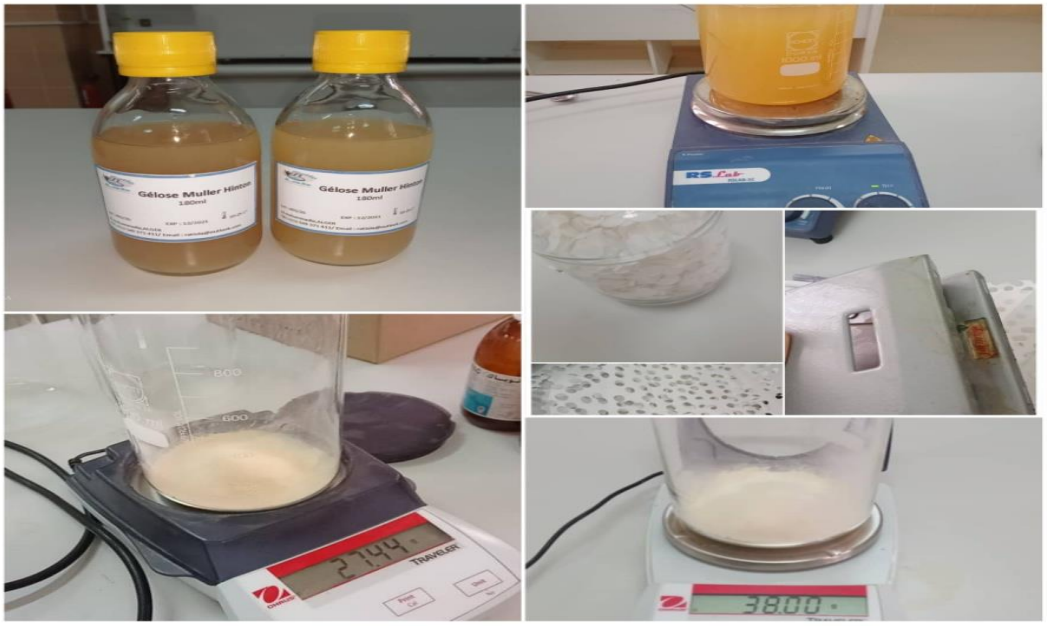


Figure28: Préparation deux géloses Nutritive et Muller Hinton, et préparation les disques de papier.

II.2.Préparation de l'inoculum:

La revivification est réalisée à l'aide d'une gélose nutritive, on doit racler quelques colonies isolées d'une culture pure de la souche bactérienne.

Pour obtenir une suspension bactérienne, on décharge la pipette pasteur dans 10 ml d'eau physiologique, on agite la suspension bactérienne; son opacité doit être équivalente à 0,5 MFU MC FarlandUnits, correspond à peu près à une densité de culture de 1,5 . 10^8cellules/ ml, ou à une densité optique (D.O) égale à 0,08 à 0,10 , lue à la longueur d'onde de 625 nm.

II.3. Préparation des échantillons d'essai et des disques de papier (Test confermie):

Cent milligrammes d'extraits de plantes ont été dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) tandis que 0,5 mg de streptomycine a été dissous dans 1 ml d'eau déminéralisée stérile. Dix microlitres de 100 mg/ml de extrait sec de chaque plante (équivalent à une dose de 1 mg), 10 *uL* de 0,5 mg/ml de streptomycine (équivalent à une dose de 5 ug) et 10ul de DMSO ont été appliqués à 6 mm disques de papier filtre stérile. Les disques imprégnés d'extraits et de DMSO ont été préparés un jour avant chaque expérience tandis que les disques d'antibiotiques étaient préparés le jour même de l'expérience.

3- Test antibactérien:

3.1.évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de la plante:

Les extraits obtenus vont être testés vis-à-vis six les souches bactériennes.

La méthode choisie "méthode de diffusion sur disque".

3.1.1.Méthode de diffusion sur disque:

La méthode utilisée a été citée par Gherairia*etal*, (2019) , basée sur la mesure du diamètre de la zone d'inhibition, de la croissance microbienne autour d'une source antibactérienne, déposée à la surface de la gélose Mueller-Hinton prés ensemencé, en utilisant des écouvillons trempés dans la suspension bactérienne. La mesure de la zone d'inhibition est réalisée après 24h d' incubation à 37°C. Donc, nous avons utilisés la méthode de l'antibiogramme par diffusion à partir de disques imprégnés des extraits des plantes médicinales étudiées. Nous avons utilisés la suspension bactérienne pour ensemencer les boites de pétrie dans lesquelles, nous avons coulés le milieu de culture gélosé de Mueller-Hinton. Les disques de papier filtre whatman, imprégnés des extraits des plantes médicinales étudiées, sont déposés sur le milieu ensemencé par l'une des six souches bactériennes. Trois répétitions sont réalisées pour chaque extrait (03 disques du même extrait et de la même concentration par boite) . Le quatrième disque (contrôle négatif) est imprégné du solvant de DMSO pure et le cinquième disque imprégné par la streptomycine (figure29).

Figure29: Préparation l'inoculum et quelque les étapes de test antibactérienne

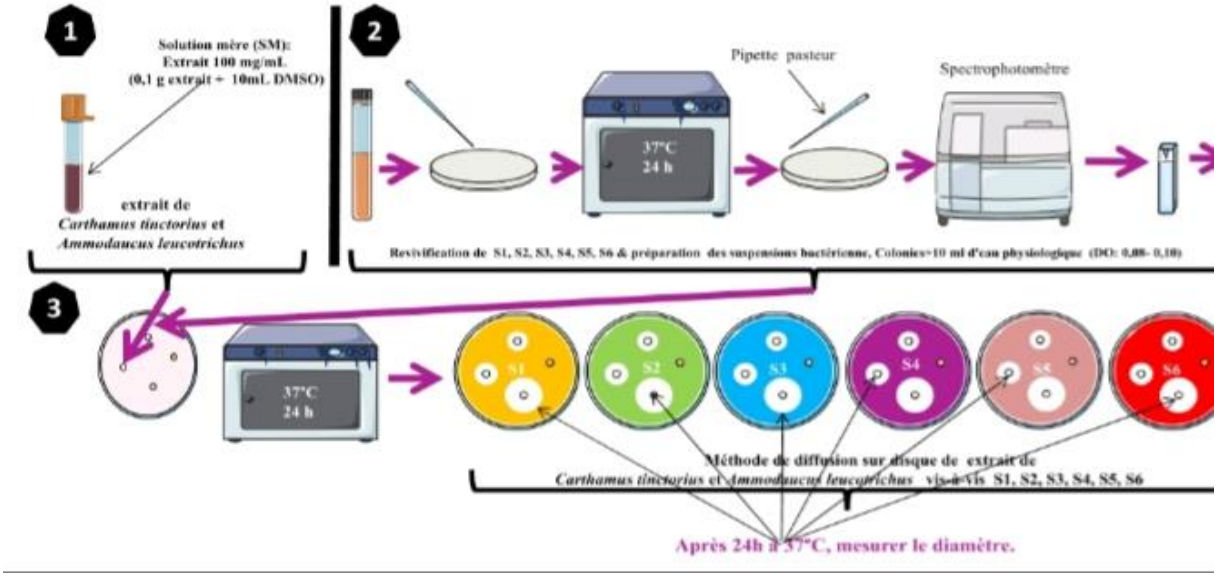


Figure30: évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de la plante par la méthode de diffusion sur disque ; Docteur Kadri Yasser .

Chapitre 04: Résultat et discussion

I. Détermination du taux d'humidité:

La dessiccation de poudre de plantes ***C. Tinctoria***, nos résultats ont révélé des taux moyens d'humidité très rapprochés entre les cultivars étudiés, le cultivar ***C. Tinctoria*** présente un taux estimé à 7,779%.

Les valeurs d'humidité, nous ont permis de calculer le pourcentage de matière sèche (M.S) 92,23% pour le cultivar ***C. Tinctoria***, Figure: détermination du taux d'humidité

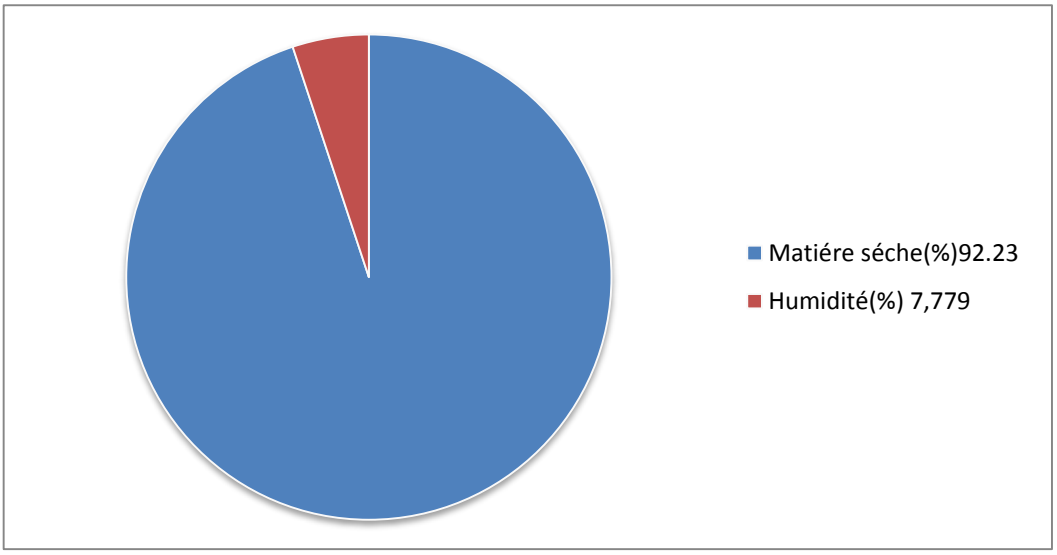


Figure 31: Pourcentage de l'humidité et de matière sèche

II. Rendements d'extractions des métabolites de c. tinctoria:

Après avoir dégraissé le filtrat et évaporer le solvant d'extraction, le rendement d'extraction le rendement d'extraction est déterminé par méthode gravimétrique. Il s'avère que le ***C.tinctoria*** est riche en métabolites secondaires qui se révèle par un rendent d'extraction estimé à 92,221%. Le rendement calculé dans notre étude est signification supérieur à celui déterminé par **Bensaid(2019)** quia rapporté un rendement de2,40 %. Cette différence pourrait être liée au système du solvant de l'extraction ainsi, à la durée de l'extraction semble influencer les résultats obtenu or nous avons procédé une extraction consécutives au lieu deux faites par **Bensaid** (**2019**).Une autre étude a montré que le rendement de l'extraction de *cistanche violacea* est d'environ 37,60% (**Bouchouka, 2016**).

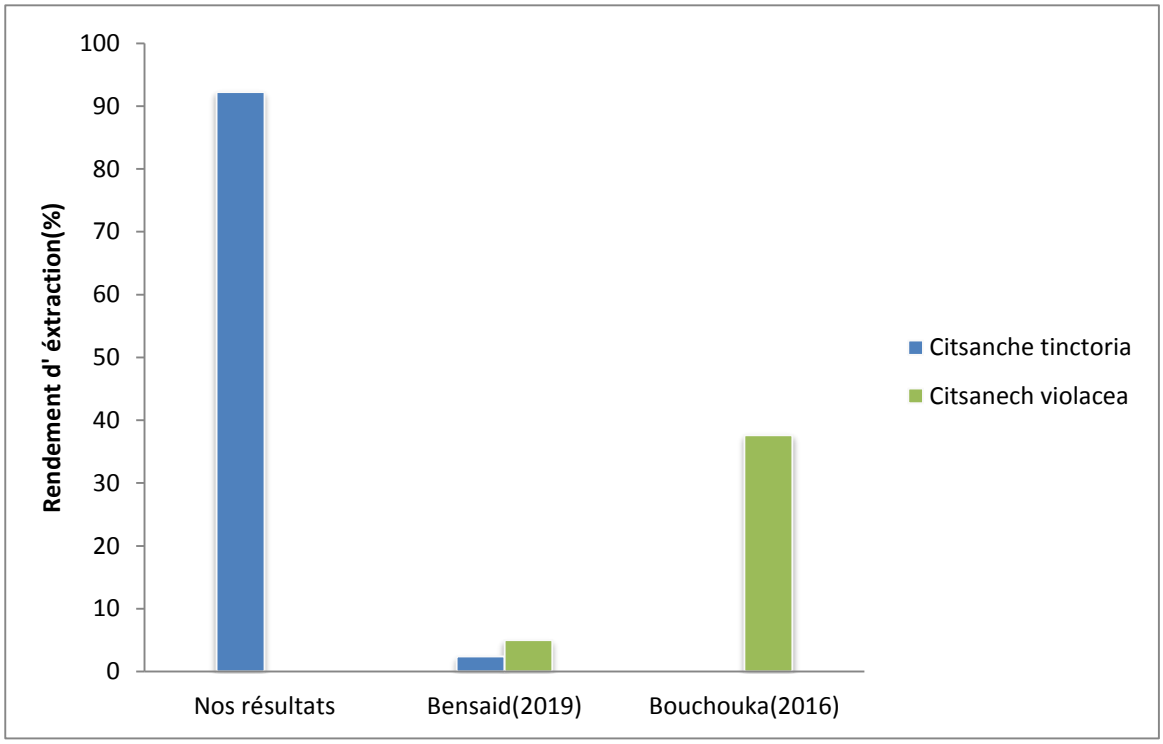


Figure32: Rendement d' extraction(%)

III. Détermination de la teneur en poly phénols totaux:

La concentration en poly phénols de l'extrait de ***Cistanche Tinctoria*** a été déterminée grâce à l'équation de régression linéaire suivante: Abs = 10.0338x – 0.353. Après le calcul, la teneur de poly phénol trouvée est exprimée en milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/ g M. S.) dans (**figure33**).

Peu de travaux ont été réalisés sur phytochimie de la cistanche et l'espèce cistanche violacea est la plus étudées **(Debouba *etal*., 2012; Bouchouka, 2016; BOUGANDOURA *etal*., 2016 ;Zhang *etal*. 2019 ; Piwowarczyk *etal*., 2020)**. Toutefois, à notre connaissance, aucune étude publiée n'a rapporté la teneur en phénols dans l'espèce *cistanche tinctoria*. Le dosage des poly phénols a montré que les bulbes du *cistanche tinctoria* contiennent une teneur importante en poly phénols de 16,14 mg EAG/ g MS. **Wong *etal*. (2006)** ont trouvé des teneurs de poly phénols qui s'oscillent entre 13 et 21, 1 mg/g dans cistanche deserticola. Les mêmes auteurs ont montré que l'extrait aqueux est le plus riche en poly phénols en le comparant avec l'extrait méthanolique. Une étude récente a révélé que la composition substances phytochimiques tels que les dérivés de l'acide caféique est comprise entre 5,8 et 20,46 mg/ g dans *cistanche armena*, et cette disparité dépend surtout à l'hôte de cette plante parasite **(Piwowarczyk *etal*., 2020).** Plusieurs facteurs

pourraient influencer le contenu en polyphénols tels que les facteurs biotiques à savoir: l'espèce, l'organe, et le stade physiologique. Les facteurs abiotiques, en d'autres parts, ont un impact sur la teneur en poly phénols; on cite l'environnement, les solvants et le procédé d'extraction **(Ksouri *etal*., 2008)**.

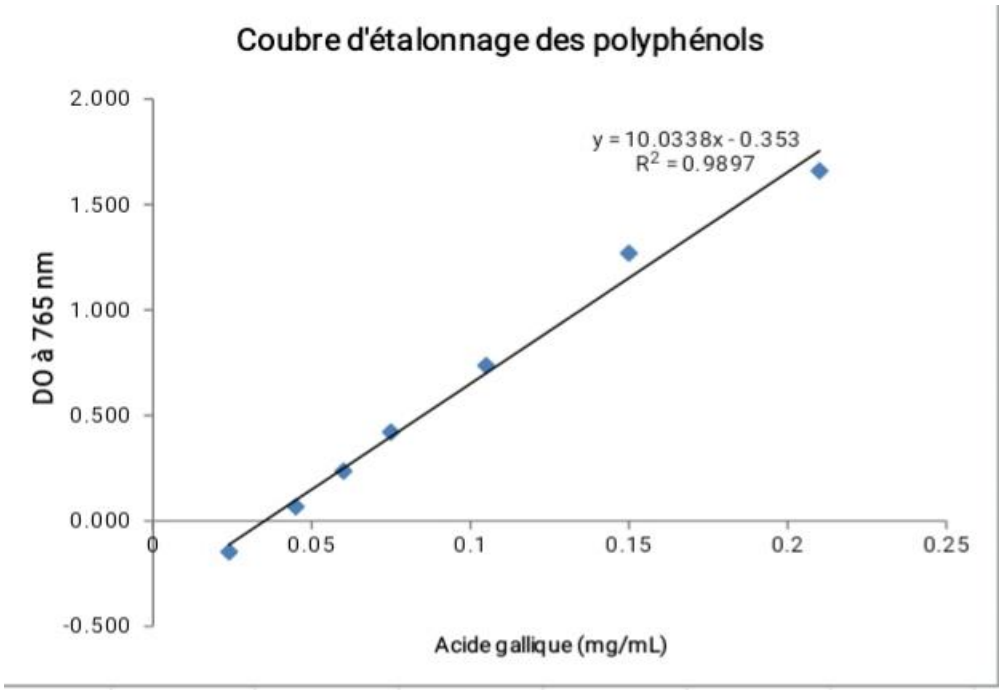


Figure33: courbe d'étalonnage des poly phénols

IV. Évaluation antibactérienne d'extrait de *Cistanche Tinctoria*

IV.1. Résultats de la méthode de diffusion par disques

Nous avons utilisé de la méthode de diffusion par disques, décrite par Gherairia *et al.*, en 2019. La mesure du diamètre d'inhibition est réalisée avec une simple règle. La présence d'une zone d'inhibition démontre l'existence d'une sensibilité évidente des souches étudiées vis-à-vis de l'extrait testé (Adouane, 2016), et la sensibilité est classée en fonction du diamètre d'inhibition de la manière suivante :

- Non sensible ou résistante : diamètre < 8mm

-Sensible : diamètre compris entre 9 à 14 mm

-Très sensible : diamètre compris entre 15 à 19 mm

- Extrêmement sensible : diamètre > 20 mm

-D'après les résultats présentés dans le tableau 7 et figure 33, nous trouvons :

La plante ***Cistanche Tinctoria*** possède un pouvoir antibactérien, et le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 10 mm à 12 mm, où nous trouvons que le diamètre d'inhibition chez le bactérie *Bacillus Cereus* (BC) est égale à 12mm, et celui de *Staphylococcus Aureus* (SA) est égale à 10 mm et par contre celui de *Pseudomonas Aeruginosa* (PA) est égale à 11mm. Toutes les autres souches à savoir *Escherichia Coli(EC), Enteroccocus Feacalis (EF), Bacilus Subtilis*(BS) n'ont montrés aucune sensibilité a l'extrait de ***Cistanche Tinctoria.***

Tableau 07: Diamètre des zones d'inhibition de l'extrait de *Cistanche tinctoria* vis-à-vis des souches bactériennes testées

Souches Bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
Staphylococcus Aureus (SA)	10
Bacillus Cereus (BC)	12
Escherichia Coli (EC)	6
Enteroccocus Feacalis (EF)	6
Bacilus Subtilis (BS)	7
Pseudomonas Aeruginosa (PA)	11

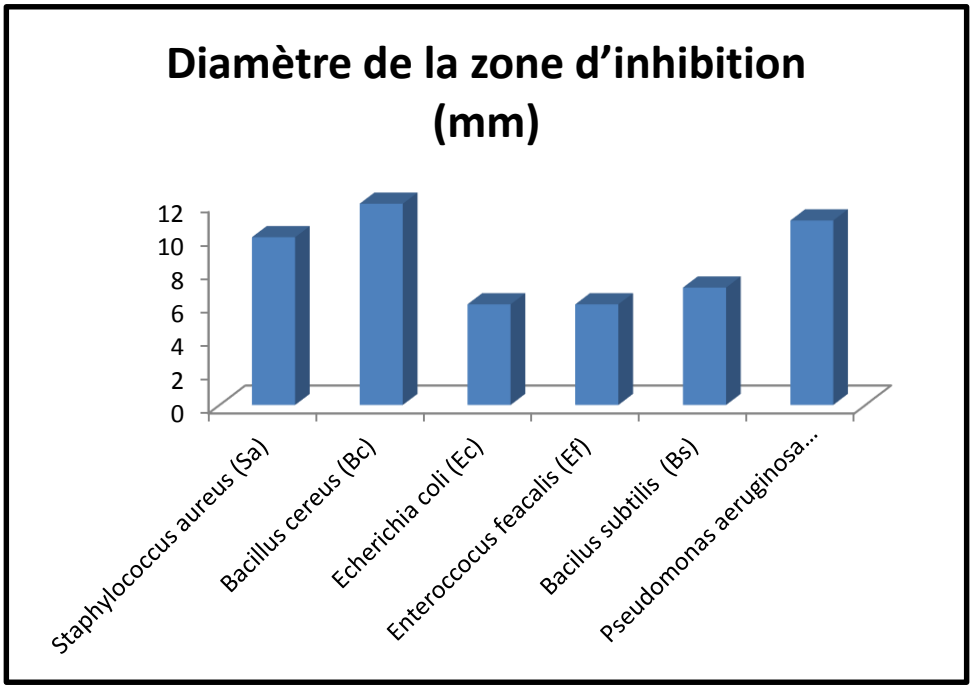


Figure 34: Diamètre des zones d'inhibition de l'extrait de ***Cistanche Tinctoria*** vis-à-vis des souches bactériennes testées

Figure 35: Zone d'inhibition de l'extrait de ***Cistanche Tnctoria*** vis-à-vis la souche bactérienne *Staphylococcus Aureus* (SA)

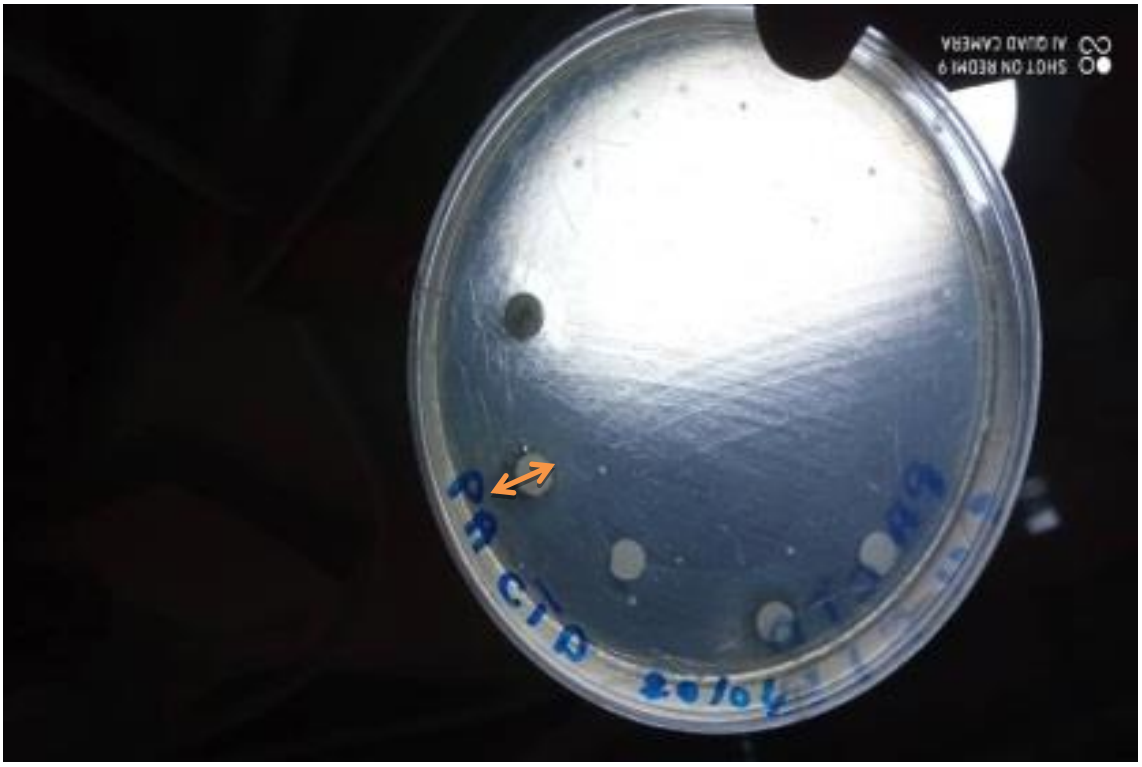


Figure 36: Zone d'inhibition de l'extrait de ***Cistanche Tinctoria*** vis-à-vis la souche bactérienne *Pseudomonas Aeruginosa* (PA)

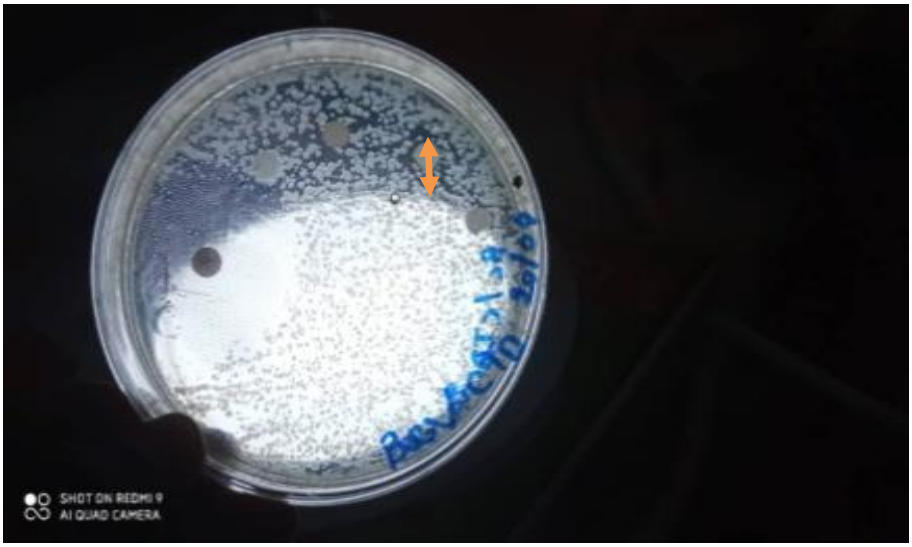


Figure37: Zone d'inhibition de l'extrait de *Cistanche tinctoria* vis-à-vis la souche bactérienne *Bacillus Cereus* (*BC*)

La concentration minimale inhibitrice et bactéricide (CMI et CMB) de l'extrait de *Cistanche Tinctoria*

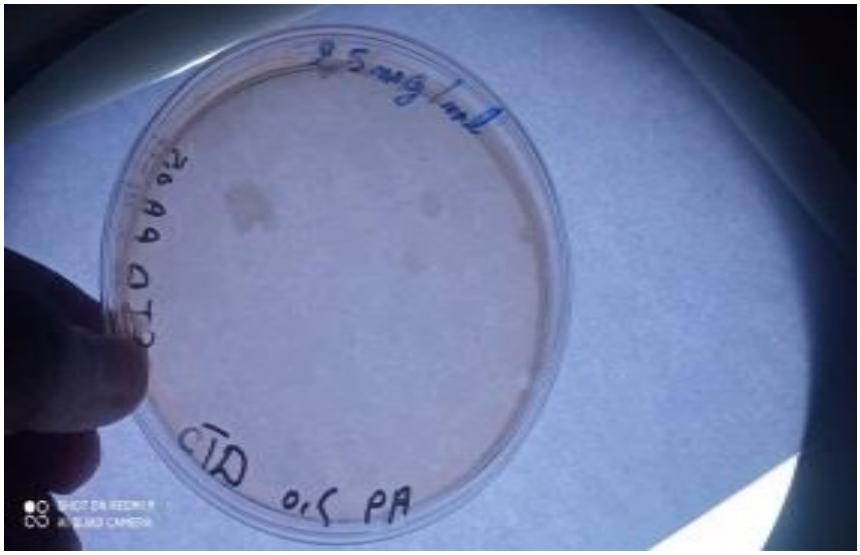
La CMI

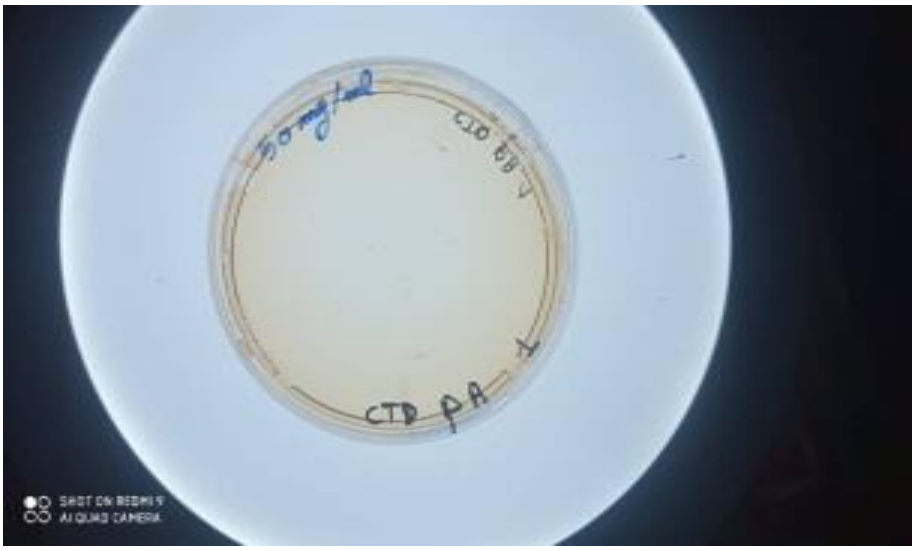
Pour la souche *Pseudomonas Aeruginosa* (Pa) la CMI obtenue est égale à 50mg/ml, ainsi que pour la souche *Staphylococcus Aureus* (Sa), égale aussi à 50 mg/ml, et pour la souche *Bacillus Cereus* (BC) la CMI est égal aussi à 50 mg/mL. (Tableau 8).

Tableau 08: La concentration minimale inhibitrice de l'extrait de ***Cistanche Tinctoria***

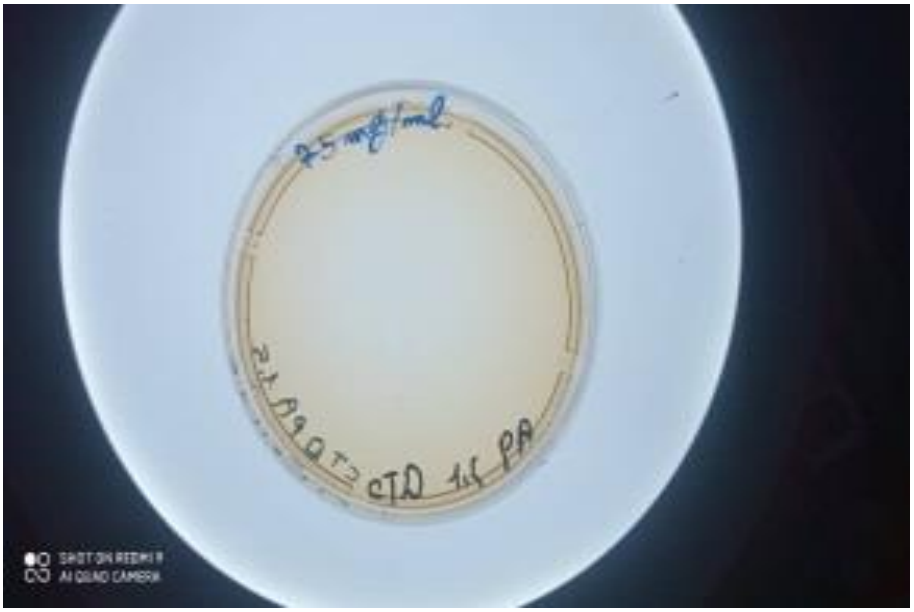
Les souches bactériennes	C M I
Pseudomonas Aeruginosa (PA)	50mg/ml
Staphylococcus Aureus (SA)	50mg/ml
Bacillus Cereus (BC)	50mg/ml

Croissance bactérienne à25mg/ml





Aucune Croissance
Bactérienne à 75mg/ml



Aucune Croissance Bactérienne à 100mg/ml

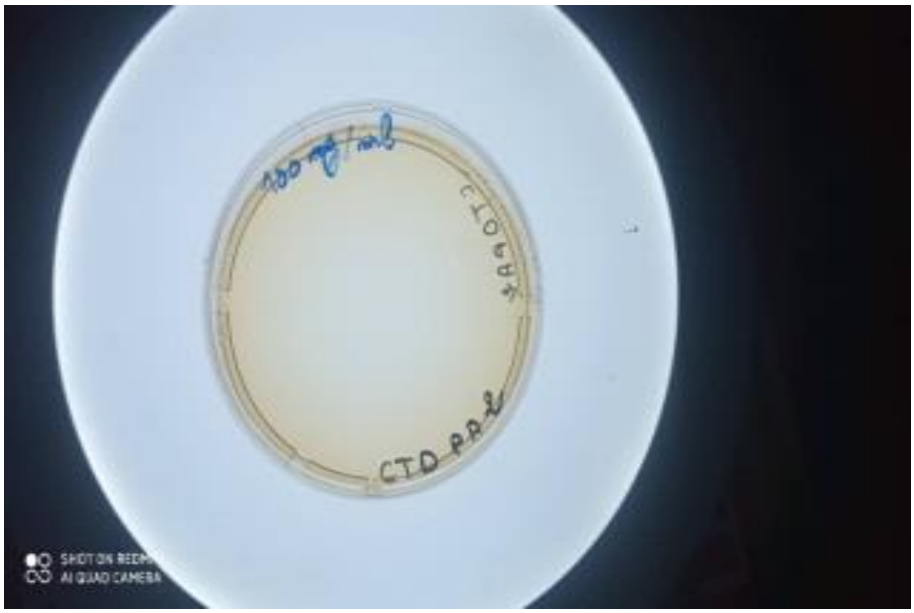
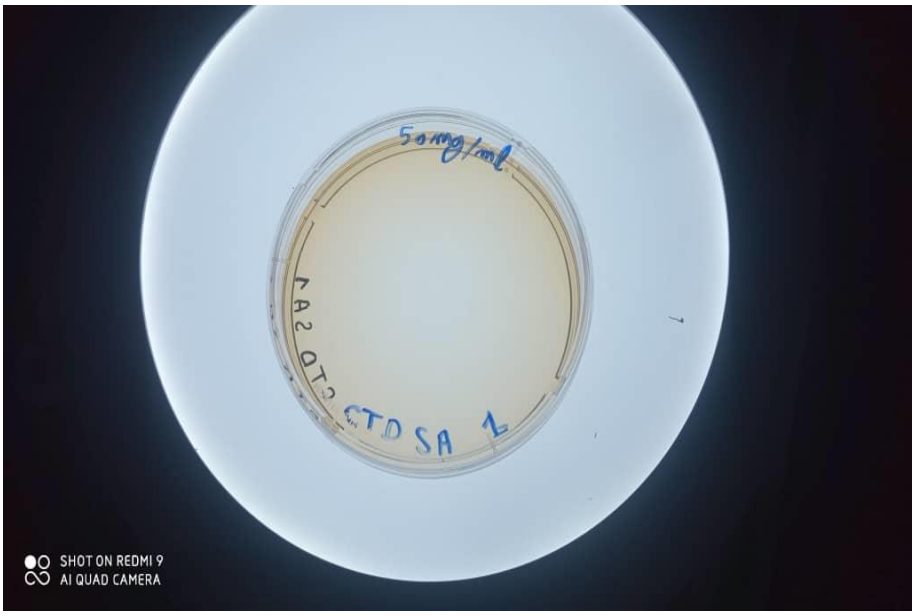
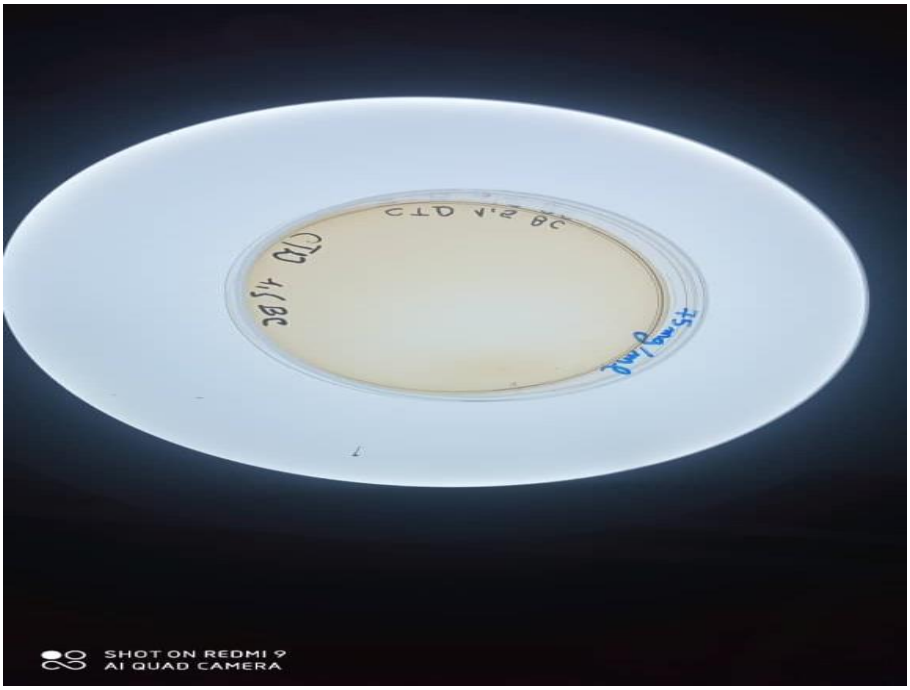


Figure 38 : Détermination de la CMI de l'extrait décocté de *Cistanche tinctoria* vis-à-vis la souche bactérienne de *Pseudomonas Aeruginosa*(Pa).

Croissance bactérienne à 25mg/ml



Croissance bactérienne à 50mg/ml



Aucune Croissance
Bactérienne à 75mg/ml

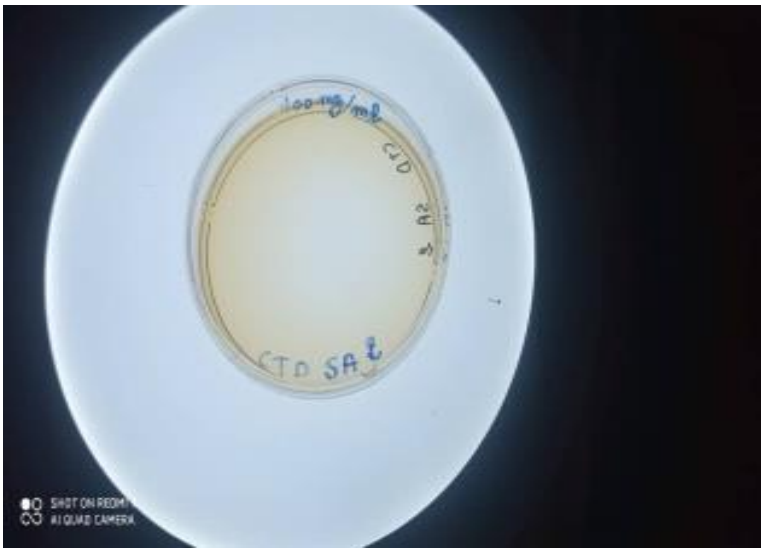
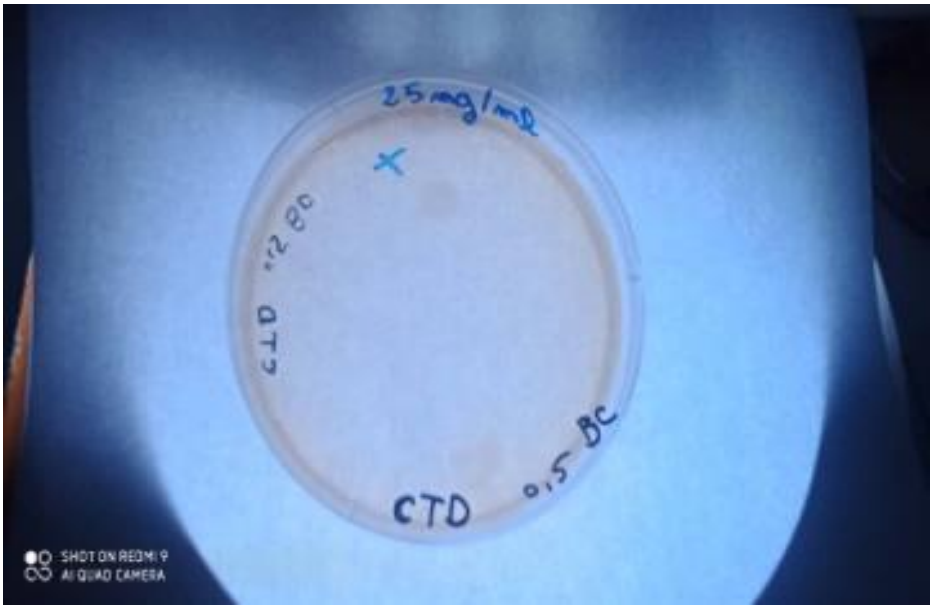
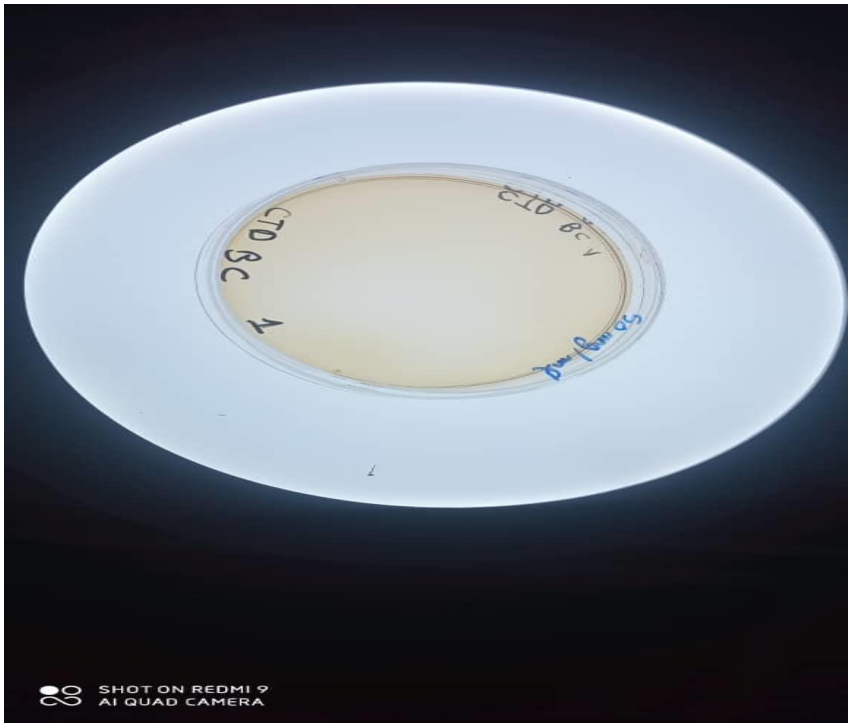


Figure 39: Détermination de la CMI de l'extrait décocté de *Cistanche tinctoria* vis-à-vis la souche bactérienne de *Staphylococcus Aureus* (Sa) (CMI= 50mg/ml).

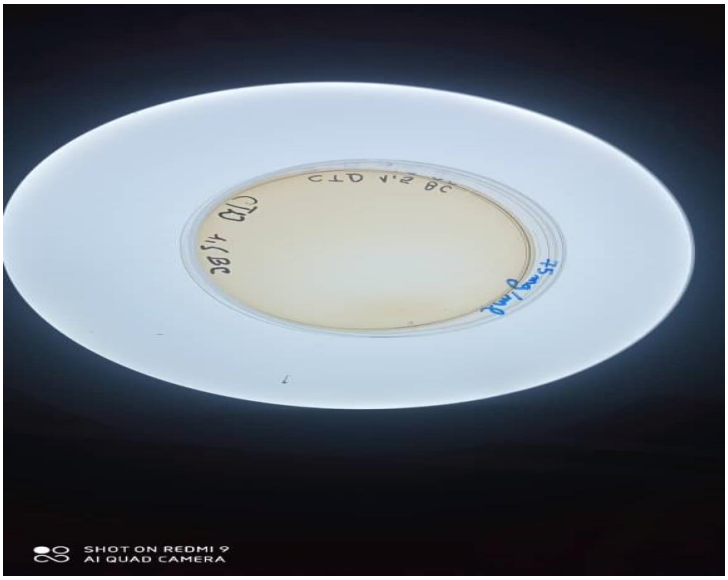
Croissance bactérienne à 25mg/ml



Aucune Croissance Bactérienne à 50 mg/ml



Aucune Croissance Bactérienne à 75mg/ml



Aucune Croissance Bactérienne à 100mg/ml

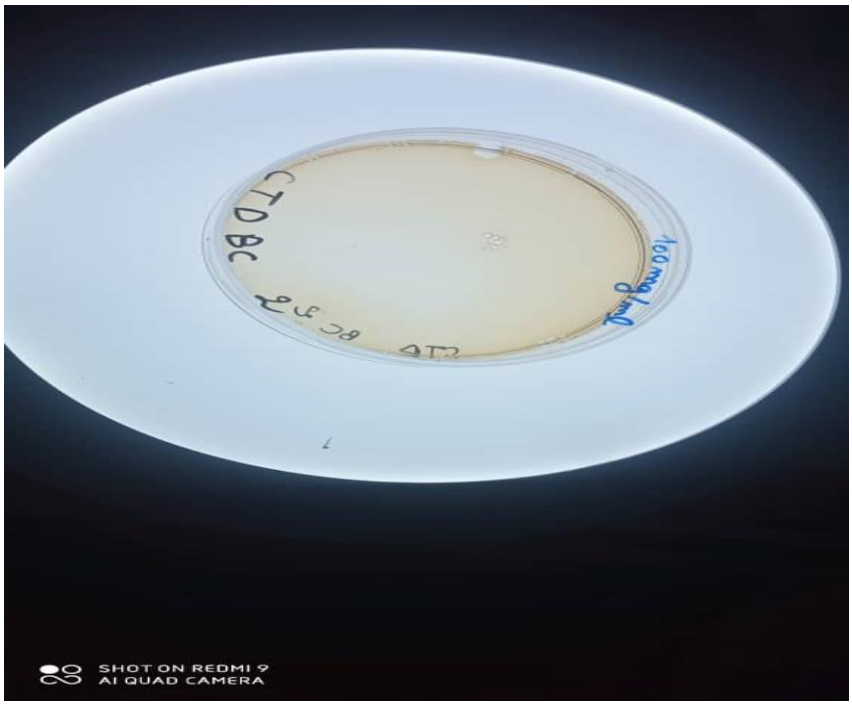


Figure 40: Détermination de la CMI de l'extrait décocté de *Cistanche tinctoria* vis-à-vis la souche bactérienne de *Bacilus Cereus (BC*) (CMI= 50mg/ml).

Conclusion Générale

Conclusion:

Cistanche Tinctoria est une plante parasite appartenant a la famille Orobanchecea qui pousse dans la région d'Adrar où elle est connue par son appellation vernaculaire * Danone *.Il est a plusieurs utilisée sont arrêt la diarrhée , en raison de son pouvoir de rétention et de sa teneur en substances soufrées , et il aide beaucoup à arrêter les saignements .

Les plantes riches en Polyphénols suscitent un intérêt croissant pour leurs les caractéristiques physiques et chimiques. Les résultats obtenus ont montré que le plante C .Tinctoria contient une teneur en polyphénols de 1.19 mg EAG / g MS. Dans ce travail , nous nous sommes concentrés sur l´évaluation de l´activité antimicrobienne de l´extrait de ***C.Tinctoria*** , ou des résultants ont été obtenus dans trois souches différentes , pour le bactérie Bacillus Cereus sensible avec des diamètres de zone d´inhibition de 12 mm (sensible) , le bactérie Pseudomonas Aeruginosa à était de 11mm (sensible) , et dans le bactérie Staphylococcus Aureus égale a 10 mm (sensible) .

Il serait intéressant de poursuivre des études sur cette plante afin de déterminer ses propriétés et les bienfaits dans le traitement des maladies humaines.

Au final, concluons par rapport aux recherches précédentes , que cette technique utilisée na trouve aucun résultat , peut-être que la différence de technique donne un meilleur résultat .

Références Bibliographiques

Référence:

Arabe :

-ابن البادية ،فوائد نبات الهالوك ،عبر الرابط https://kanzalaashab-blogspot.com

حرر بتاريخ 2مايو 2018

-د. أسامة بدير، مكافحة حشيشة الهالوك في الفول البلدي،عبر الرابط https://alfallahalyoum.news

حرر بتاريخ.15 févr 2017.

-د.أسامة بدير،المكافحة الكيماوية للهالوك ،عبر الرابط https://alfallahalyoum.newsحرر بتاريخ.15 févr 2017.

- فيديو: فريق صحة النبات والعيادة النباتية كلية الزراعة- جامعة قناة السويس, Omarmero2011 ,

-مجهول ،ما هو نبات الهالوك ، فوائد نبات الهالوك ،عبر الرابط https://qloob3.com

- مجهول، الهالوك ،عبر الرابط https://kenannaonline.com حرر بتاريخ 12 سبتمبر 2010.

-مجهول،الطب النبوي والأعشاب نبات الهالوك ،عبر الرابط https://ashab-hawahome.com

Français :

-Anonyme, Classification de Staphylococcus Aureus, https://www.antibio-responsable. fr.

-Anonyme, Image, https://www.sante sur le net.com

-Base sur l'abaissement du point d'ébullition avec la diminution de la pression, cet appareil permet d'éliminer rapidement un solvant volatil par évaporation" , https: // www. La chimie. Fr, 10/05/2022, 14:29.

-***Ben Hassan Fatiha***, ***Boukhetache Ishak***, évaluation de l'activité antioxydant et antibactérienne des composés phénoliques des deux cultivars du millet (*pennisetumglaucum*) de la région d'Adrar, mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master en chimie de l'environnement, département des sciences de la matière, Université d'Adrar, 2015/2016, page 37 et 46.

-***Ben Said Achour,*** étude ethnobotanique et antifongique de ***Cistanche Tinctoria*** et ***Cistanche Violacea*** dans la wilaya d'Adrar (cas de la daïra d'Adrar et de timimoune), mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master en science agronomiques, spécialité système de prouduction agro- écologique, département des sciences de la nature de la vie, Université d'Adrar, 2018/2019, page 23.

-***Blbachir Marwa***, ***Mezaouli Oum Elaid***, Mémoire Master Académique, système de production Agro-écologique, sciences agronomiques, faculté de sciences et de la technologie, Université Ahmed Daria d'Adrar, 2020/2021, page(21) et page (30à 32).

-**Bourdim Fatima et Yakoub Amira,** Détermination des Polyphénols du Cistanche Tinctoria et évaluation de leur pouvoir antioxydant,, Mémoire Master Académique ,Université Ahmed Draïa Adrar ,2019/2020,page 14,15.

- ***Bourdim Fatima***, ***Yakoub Amria***, détermination des polyphénols du cistanche tinctoria et évaluation de leur pouvoir antioxydant, Mémoire Master Académique, système de production Agro-écologique, sciences Agronomiques, faculté de sciences et de technologie, Université Ahmed Daria d'Adrar, 2019/2020, page (21et 34).

-**Bourdim Fatima et Yakoub Amira,** Détermination des Polyphénols du Cistanche Tinctoria et évaluation de leur pouvoir antioxydant,, Mémoire Master Académique ,Université Ahmed Draïa Adrar ,2019/2020,page 14,15.

- Classification de bactérie Bacilus Cereus, https://canada.Ca

- Classification de bactérie Bacilus Subtilis, https://images.app.goo.gl/utBmKVyFtyZro9jc8.

- Classification de bactérie Enterococcus Faecalis, https://www.bacteriologie.wikibis.com

- Classification de bactérie Escherichia Coli, https://tpeoxy.free.fr/javel/?p=1b.

- Classification de bactérie Pseudomonas Aeruginosa,https://www.techno-science. Net
- Compiled by Dr. **Salima Benhouhou**, Article Cistanche phelypaea(L) Continuo Orobanchaceae ,A Guide to Medicinal Plants in North Africa, page 85.
- Comme la phase organique séchée est un mélange homogène liquide, dont le but est de séparer le solvant des autres constituants du mélange(le produit synthétisé et d'éventuels sous-produits ou impuretés) ", https: // culture sciences. Chimie. ens. Fr, 10/05/2022, 14:22.
-Des molécules antioxydates bénéfiques pour la senté ,https://www .futura-sciences.com
-Définition des polyphénols , Miconutrition : tout savoir sur les polyphénols laboratoire lescuyer ,https://www . laboratoire-lescuyer.com
- **Dr. Sadou** N, extraction des SN, Master 1 BV, Univ- Anaba. Dz, 2019/ 2020, page (1), https: // elearning- deprecated. Univ- Anaba. Dz
- Image de bactérie Bacilus Cereus , https://images.app.google
-Image de bactérie Bacilus Subtilis , https://images.app.goo.gl/utBmKVyFtyZro9jc8.

-Image de bactérie Enterococcus Faecalis , https://www.sciencephoto.com.

- Image de bactérie Escherichia Coli , https://tpeoxy.free.fr/javel/?p=1b.
- Image de bactérie Pseudomonas Aeruginosa , https://www.techno-science. Net
- **Naglaa Khaled,** Photochemical and Antioxidant Investigation of Cistanche Violacea (Desf.) Beck**,** etchants Magestere 2010,University of Tripoli.

Résumé:

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à une plante médicinale de la région de l'Adrar, connue sous le nom de « Danone ». Notre recherche vise à effectuer le dosage des polyphénols de l'extrait brut de ***Cistanche Tinctoria*** et en évaluant le pouvoir antibactérien de l'extrait de ***Cistanche Tinctoria*** par la méthode de diffusion sur disque contre les souches bactériennes suivantes : *Staphylococcus aureus, Bacillus Cereus, Bacillus Subtilis, Enterococcus Faecalis, Pseudomonas Aeruginosa, Escherichia Coli.*

Les résultats obtenus ont montré que ***Cistanche Tinctoria*** contient un pourcentage élevé de polyphénols, les tests antibactériens ont montré une sensibilité aux souches suivantes : *Staphylococcus Aureus, Bacillus Cereus, Pseudomonas Aeruginosa.*

L'utilisation de ***Cistanche Tinctoria*** en médecine traditionnelle s'explique par le fait qu'il contient une proportion importante de polyphénols, qui sont des composés métaboliques secondaires possédant de nombreuses propriétés biologiques.

Mots clés: ***Cistanche Tinctoria***, polyphénols, et les tests antibactériennes**.**

Abstract:

In this study, we were interested in a medicinal plant from the Adrar region, known as "Danone". Our research aims to perform the dosage of polyphenols of the crude extract of ***Cistanche Tinctoria*** and by evaluating the antibacterial power of the extract of ***Cistanche Tinctoria*** by the method of diffusion on disc against the following bacterial strains: *Staphylococcus Aureus, Bacillus Cereus, Bacillus Subtilis, Enterococcus Faecalis, Pseudomonas Aeruginosa, Escherichia Coli.*

The results obtained showed that ***Cistanche Tinctoria*** contains a high percentage of polyphénols, antibacterial tests showed sensitivity to the following strains: *Staphylococcus Aureus, Bacillus Cereus, Pseudomonas Aeruginosa.*

The use of ***Cistanche Tinctoria*** in traditional medicine is explained by the fact that it contains a large proportion of polyphenols, which are secondary metabolic compounds that have many biological properties.

Keywords: ***Cistanche Tinctoria***, polyphénols, anti- bacterial tests.

ملخص:

اعتمدنا في هذه الدراسة على نوع واحد من النباتات الطبية في منطقة* ادرار* المعروفة قديما باسم (***دانون***). يهدف بحثنا لإجراء استخلاص المركبات الفينولية من بصيلات(***Cistanche Tinctoria***) يتم تحديد محتواها عن طريق قياس شدة اللون في المستخلص الخام الذي تم الحصول عليه، وتقييم القوة المضادة للبكتيريا للمستخلص(***Cistanche Tinctoria***) بطريقة الانتشار على القرص ضد السلالات البكتيرية التالية: المكورات العنقودية الذهبية، العضوية الشمعية، العضوية الرقيقة، المكورات المعوية، الزائفة الزنجارية، الاشريكية القولونية.

حيث أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن(***Cistanche Tinctoria***) تحتوي على نسبة عالية من البولفينول، أظهرت الاختبارات المضادة للبكتيريا حساسية لسلالات (*Staphylococcus Aureus, Bacillus Cereus, Pseudomonas Aeruginosa)*

ويفسر استخدام (***Cistanche Tinctoria***) في الطب التقليدي لاحتوائها على نسبة كبيرة من البول فينول التي هي عبارة عن مركبات ايضية ثانوية نباتية لها العديد من الخصائص البيولوجية.

كلمات المفتاحية : دانون ,البوليفينول , الاختبارات المضادة للبكتيريا.