

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



CENTRE UNIVERSITAIRE SALHI AHMED -NAAMA-



Institut des Sciences et Technologies

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de

Master Académique en Sciences Biologiques

Spécialité « Microbiologie Appliquée »

Thème

---

**Extraction, analyses des polysaccharides pariétaux des racines de  
Retama raetam et Retama monosperma et évaluation de l'activité  
antimicrobiennes**

---

Présenté par :

*M<sup>elle</sup>* Ajdir Meriem

*M<sup>elle</sup>* Moubyen Sarra

**Soutenu le 13-09-2020 devant le jury :**

*M<sup>r</sup>* . GHERIB Mohamed

Maitre de conférences A

Président

*M<sup>r</sup>* . AMROUCHE Abdel-ilah

Professeur

Encadreur

*M<sup>r</sup>* . DEROUCHE Salima

Maitre-assistant B

Examinatrice

Année Universitaire : 2019-2020

## Remerciements

Louange à Dieu le tout miséricordieux l'unique, le puissant, maître des cieux et de la terre pour nous avoir guidé, protégé, aidé et permis de mener à bien ce travail.

C'est avec un grand plaisir que nous réservons ces lignes en signe de gratitude et de reconnaissance à ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail :

Tous nos remerciements d'abord pour notre responsable de formation Professeur **AMROUCHE ABDELILAH**, l'encadreur de ce travail. Nous le remercions pour sa confiance qu'il nous a accordée, son soutien, sa disponibilité, ses encouragements et ses conseils apportés durant toutes ces années. Nous le remercions également pour tout ce qu'il a fait pour nous afin de réussir dans notre mission. Notre gratitude pour sa simplicité, sa générosité et son humanisme. Qu'il trouve dans cette mémoire l'expression de notre profond respect.

Nous tenons aussi à exprimer toute notre gratitude à Dr : **GHERIB .M** pour avoir accepté le président de ce jury.

Nos vifs remerciements s'adressent aussi à Mme : **DEROUICHE.S** qui a accepté d'examiner notre travail avec bienveillances et nous en sommes très honoré.

Nous remercions pleinement Mr : **BENARADJ.A** pour ses conseils.

Nous souhaitons également remercier Mlle : **FATIMA** technicienne de laboratoire de microbiologie pour son aide, ses conseils et sa gentillesse.

Nous remercions très sincèrement tous l'équipe des laboratoires pour l'aide et le soutien durant notre travail et toutes ces années d'études.

Nous adressons nos plus sincère remerciements à tous nos enseignants qui ont tout donné pour nous encouragés et aidés aux moments difficiles au cours de nos études. Merci à toutes et à tous.

## *Dédicace*



J'ai l'honneur de dédier ce travail modeste à mes parents qu'aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel pour les sacrifices qu'ils ont consenti pour mon instruction et mon bien être. Que Dieu puisse leur accorder santé, bonheur et longue vie.

A mes grands –mères que j'aurais tant aimé qu'elles soient présentes parmi nous. Que Dieu ait leurs âmes dans sa sainte miséricorde.

A mes frères et sœurs bien aimés, dont la présence à mes côtés m'a été d'un soutien solide durant tout ma vie : Khelifa, et sa femme Noura ; Nasreddin ; Fatima et son marie et aux petits fils : Djawed, Achref, Slimane, Mounir, Zahr Din.

A ma famille : Ajdir et Khatou et en témoignage de mon affection familiale je vous souhaite une longue vie prospère et pleine de bonheur.

A mes professeurs ; votre encadrement tellement précieux a toujours suscité mon profond respect, mes conseillers qui m'ont assisté dans les moments difficiles, je vous suis très reconnaissante et je ne vous remercierai jamais assez pour vos aides o combien précieuses.

A ma chère binôme « Moubyen Sarra » et à toute sa famille.

A mes chères amies ; Choumane Fatima, Bel djilali Halima, Amari Zahira, Bahra Wahiba, Djalouli Asma, Arbaoui Djamila.

A mes collègues ; en souvenir de notre sincère et profonde amitié, veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

Enfin à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail et à tous ceux ou celles que j'ai omis de citer.

Mes remerciements les plus intenses à tout ce beau monde.

AJDIR MERIEM 

# Dédicace



*À ma petite famille, elle qui doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui Particulièrement,*

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

*À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon cher père.*

*À mon âme sœur « Yusra » et mon lien dans la vie mon cher frère « Ayoub Yesser » pour l'encouragement et l'aide qu'ils ma toujours accordé, pour l'amour qu'ils me réservent, je leur souhaite une vie pleine du bonheur et de succès.*

*À ma grande mère « Meriem »*

*À la mémoire de ma grande mère « Fatma », mon grand père « Samet » et ma tante « Nadia » que Allah les garde dans son vaste paradis.*

*À toute la famille « Moubyen » et « Kalfia ».*

*À ma soutien moral, ma campagne de mon chemin, Ma proche copines « Meriem ».*

*À mes chères copines : Fatima, wahiba, Halima, Asma, Zahira, Djamilia.*

*À toutes mes amies de la promotion de microbiologie appliquée.*

Sarra

# Résumé

---

## - Résumé

Le présent travail est une contribution à la valorisation des ressources végétales de la région de saharienne par une analyse biochimique et la recherche des activités antimicrobiennes des hémicelluloses des racines d'une plante médicinale *Retama raetam*.

L'utilisation de le protocole expérimentale qu'a été proposé par (Chanda et al., 1950) ,a montré que l'estimation pondérale de différentes catégories des polysaccharides pariétaux montre que la cellulose représente largement la fraction la plus abondante dans la paroi des racines tandis que les hémicelluloses viennent en deuxième position.

Le dosage colorimétrique après hydrolyse acide des hémicellulose délignifiés montre leur richesse en oses neutres avec une faible quantité en oses acides.

Les résultats obtenus lors de l'analyse par CCM des hémicelluloses révèlent une composition osidique de type Arabino-xylo-glucane.

L'étude de l'activité antimicrobienne des hémicelluloses extrait des racines de *Retama raetam* a montré que la fraction brute a effet inhibiteur plus important que celle délignifié contre la majorité de souches bactériennes étudiées.

La méthode de la dilution en milieu solides a donné des CMI plus importante pour l'extrait brut sur *E.coli* et *S.aureus* et la plus faible sur *Bacillus cereus*.

**Mots clés :** polysaccharides pariétaux, hémicellulose, CCM, activité antimicrobiennes, *Retama raetam*.

## - Abstract

This work contributes to the enhancement of plant resources in the Saharan region by a biochemical analysis and research of antimicrobial activities of hemicelluloses roots of a medicinal plant *Retama raetam*.

The use of the experimental protocol that was proposed by (Chanda et al., 1950), showed that the weight estimation of different classes of cell wall polysaccharides shows that the cellulose largely represents the most abundant fraction in the wall of root while hemicelluloses is ranked second.

The colorimetric assay after acid hydrolysis of delignified hemicelluloses shows their rich neutral monosaccharides with a small amount in acid monosaccharides.

The results obtained during the CCM analysis reveals a hemicellulose saccharide composition type-arabino-xylo-glucan.

The study of the antimicrobial activity of hemicelluloses extracted from the roots of *Retama raetam* showed that the crude fraction has a greater inhibitory effect than delignified against the majority of bacterial strains studied.

The dilution method in solide medium have higher MIC for the crude extract on *E.coli* and *S. aureus* and the lowest on *Bacillus cereus*.

**Key words:** cell wall polysaccharides, hemicellulose, CCM, antimicrobial activity, *Retama raetam*.

**-الملخص**

يساهم هذا العمل في تبيين الموارد النباتية في منطقة صحراوية وذلك عن طريق التحليل الفيزيوكيميائي والبحث عن الخصائص المضادة للجراثيم للهيميسيليلوز المستخلص من جذور نبتة رتم. أظهر استخدام البروتوكول التجريبي المقترح أن التقدير الكمي لمختلف السكريات المتعددة لجدار خلية النبتة المدروسة على أنّ مادة السيليلوز تمثل النسبة الأكبر بينما تأتي مادة الهيميسيليلوز في المرتبة الثانية بينت نتائج المعايرة اللونية لمادة الهيميسيليلوز المستخلصة من جذور الرتم منزوعة اللجنين غناها بالسكريات البسيطة المحايدة كما بينت أيضا تواجد نسبة قليلة من السكريات البسيطة الحمضية. أسفرت نتائج الفصل اللوني على الطبقة الرقيقة للهيميسيليلوز الخام ومنزوع اللجنين عن وجود ثلاث سكريات بسيطة هي: سكر العنب، سكر الخشب وسكر البكتين. أظهرت دراسة النشاط المضاد للكائنات الحية الدقيقة للهيميسيليلوز المستخرج من الجذور تأثير كبير على معظم السلالات المرجعية من البكتيريا حيث كان جزؤه الخام ذو فعالية أكبر مقارنة بجزئه منزوع اللجنين. أفضت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا بطريقة التخفيف في الوسط الصلب إلى تراكم دنيا مثبطة للجزء الخام ومنزوع اللجنين ع ضد السلالات البكتيرية الحساسة حيث تم الحصول على أهم تركيز ضد الأشيرشيا القولونية والمكورات العنقودية الذهبية ضد العصوية الشمعية.

**الكلمات المفتاحية:** سكريات جدار الخلية، هيميسيليلوز، CCM، النشاط المضاد للكائنات الحية الدقيقة، الرتم.

## Liste des abréviations

**ACC** : *1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid*

**AG** : Arabinogalactane

**AGP** : Protéine à arabinogalactanes (*arabinogalactanprotein*)

**Api** : Apiose

**ATCC** : American type culture collection

**CLSI** : Clinical and laboratory standards institute

**EDTA** : Ethylène diamine tétra-acétate

**EXT** : Extensine

**Gal** : Galactose

**GalA** : Acide galacturonique

**GRP** : Protéine riche en glycine (*hydroxyproline/proline-richprotein*)

**HeD** : Hémicellulose délignifié

**HeL** : Hémicellulose lignifié

**HeTC** : Hémicellulose délignifié traité par la chaleur humide

**HRGP** : Glycoprotéine riche en hydroxy proline (*hydroxyproline-richglycoprotein*)

**IgG** : Immunoglobulines G

**MHBP** : Méta-hydroxy diphényle

**mM** : milli Molaire

**PFM** : pectines faiblement méthylées

**PHM** : pectines hautement méthylées

**PRP** : Protéine riche en proline (*proline-rich protein*)

**RG I:** Rhamnogalacturonane I

**RG II:** Rhamnogalacturonane II

**Rha :** Rhamnose

**RMN :** résonance magnétique nucléaire

**RP :** Résidu pariétal

**XG :** Xyloglucane

**XGA :** Xylogalacturonane

**Xyl :** Xylose

## Liste des figures

<b>Figure I-1</b> : Photos des Fleurs du genre <i>Retama</i> (Selami, 2015). a. <i>Retama raetam</i> , b. <i>Retama monosperma</i> , c. <i>Retama sphaerocarpa</i> .....	05
<b>Figure I-2</b> : Photo de l'Arbuste <i>Retama raetam</i> (Bokhari, 2015).....	06
<b>Figure I-3</b> : Photo de l'Arbuste de <i>Retama monosperma</i> (Selami, 2015).....	06
<b>Figure I-4</b> : Photo de l'Arbuste de <i>Retama sphaerocarpa</i> (Bokhari, 2015) .....	07
<b>Figure II-5</b> : Paroi des cellules végétales montrant ses différents niveaux d'organisation (Sjöström et Westermarck, 1999).....	11
<b>Figure II-6</b> : structure chimique de la cellulose, une longue chaîne linéaire de glucose en $\beta$ (1-4) (Ben Salah, 2007).....	12
<b>Figure II-7</b> : structure de la pectine (Kamnev et al, 2015).....	14
<b>Figure III- 1</b> : Localisation de la station d'étude « Ouarka » dans la wilaya de Naâma...	26
<b>Figure III-2</b> : A photo des racines de <i>Retama raetam</i> .B photo de poudre végétale des racines De <i>Retama raetam</i> .....	29
<b>Figure III-3</b> : Protocole expérimentale pour la préparation de résidu pariétal d'après Harach et al, (1990).....	30
<b>Figure III-4</b> : Délignification de résidu pariétal selon Gabrielli et al, (2000).....	31
<b>Figure III-5</b> : Protocole expérimentale pour la préparation de résidu pariétal d'après Harach et al, (1990).....	33

<b>Figure III-6</b> : Chambre de développement à cuve verticale et plaque de CCM (Rouessac, 2004).....	38
<b>Figure III-7</b> : photo de culture pure d'Escherichia coli après 24h d'incubation.....	42
<b>Figure III-8</b> : photo de culture pure de Pseudomonas aeruginosa après 24h d'incubation..	43
<b>Figure III-9</b> : photo de culture pure Staphylococcus aureus après 24h d'incubation.....	44
<b>Figure III-10</b> : photo de culture pure de Bacillus cereus après 24h d'incubation.....	44
<b>Figure III-11</b> : photo de culture pure de Listeria Monocytogenes après 24h d'incubation....	45
<b>Figure IV -1</b> : caractérisation par CCM des hémicelluloses pariétaux des racines brutes de <i>Rétama raetam</i> après hydrolyse acide par H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentré.....	51
<b>Figure IV -2</b> : caractérisation par CCM des hémicelluloses pariétaux des racines délignifiées de <i>Rétama raetam</i> après hydrolyse acide par H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentré. ....	51
<b>Figure IV -3</b> : Photo d'inhibition de la croissance d' <i>E.coli</i> ATCC 25912 et limites d'activité des hémicelluloses ( <b>A</b> : délignifié <b>B</b> : brute).....	54
<b>Figure IV -4</b> : Photo d'inhibition de la croissance de <i>S.aureus</i> ATCC 25923 et limites d'activité des hémicelluloses ( <b>A</b> : délignifié <b>B</b> : brute).....	55
<b>Figure IV -5</b> : Photo d'inhibition de la croissance de <i>E.faecalis</i> ATCC 49452 et limites d'activité des hémicelluloses ( <b>A</b> : délignifié <b>B</b> : brute).....	55

**Liste des tableaux :**

<b>Tableau III-1 :</b> Localisation de la partie la plus occidentale de l'Atlas saharien.....	26
<b>Tableau III-2 :</b> souches bactériennes à tester .....	27
<b>Tableau III-3 :</b> Gamme étalon de glucose.....	35
<b>Tableau III-4 :</b> Absorbation de différentes solutions d'hémicellulose.....	36
<b>Tableau III-5 :</b> gamme étalon d'acide glu uronique .....	37
<b>Tableau III-6 :</b> Différentes concentrations des hémicelluloses à doser.....	37
<b>Tableau IV -1:</b> Facteur de rétention (Rf) des spots apparus en comparant avec les sucres témoins.....	50
<b>Tableau IV -2 :</b> Résultats de l'analyse quantitative par CCM des hémicelluloses de plantes ligneuses.....	52
<b>Tableau IV -3 :</b> Résultats des tests de confirmation des souches bactériennes testées ..	53

---

**Tables des matières**

Remerciements .....	i
Dédicace .....	ii
Résumé .....	iv
Abstract .....	v
المخلص .....	vi
La liste des abréviations .....	vii
La liste des figures .....	ix
La liste des tableaux .....	xi
Introduction.....	1

**Partie bibliographique**
**Chapitre I : Généralités sur le matériel végétal étudié**

I-2- Biologie du genre <i>Rétama</i> et ses micro symbiotes.....	3
I-2-1- Genre <i>Rétame</i> .....	3
I-2-2- Les <i>Rétames</i> .....	4
I-2-3- Description générale du genre <i>Rétama</i> .....	4
I-2-4- Description des espèces.....	5
I-2-4-1- <i>Rétama raetam</i> .....	5
I-2-4-2- <i>Rétama monosperma</i> .....	6
I-2-4-3- <i>Rétama shaerocarpa</i> .....	7
I-3- Répartition géographique des Fabacées.....	7
I-4- Systématique du genre <i>Rétama</i> .....	8
I-5-Intérêts des <i>rétames</i> .....	9
I-5-1-Intérêts écologiques.....	9
I-5-2- Intérêts pharmacologiques.....	9
I-5-3- Intérêts industriels et économiques .....	9

**Chapitre II : Données bibliographiques sur les macromolécules pariétales**

II-1- Organisation générale de la paroi des cellules végétales.....	10
II-1-1- Lamelle moyenne.....	10

II -1-2- Paroi primaire.....	10
II -1-3- Paroi secondaire.....	10
II -2- Principaux constituants chimiques de la paroi végétale.....	11
II -2-1- Polysaccharides.....	11
II-2-1-1 Cellulose.....	12
II -2-1-2 Hémicelluloses.....	12
a. Xyloglucanes.....	13
b. Xylanes.....	14
c. Mannanes.....	14
II -2-1-3 Pectines.....	14
a. Homogalacturonanes(HGA).....	15
b. Rhamnogalacturonanes de type I.....	15
c. galacturonanes substitués.....	15
II -2-1-4 Exsudats et mucilages.....	15
II -2-2 Composés phénoliques.....	16
II -2-3 Protéines de la paroi.....	16
II-2-3-1 protéines structurales.....	16
II-2-3-2 Protéines enzymatiques.....	17
II -3 Applications des polysaccharides.....	18
II -3-1 Applications industrielles.....	18
II -3-2 Applications alimentaires et nutritionnelles.....	18
II -3-3 Applications pharmaceutiques.....	19
II-4 Activités biologiques des polysaccharides extraits des plantes.....	19
II -4-1 Activité antibactérienne.....	20
II -4-2 Activité antioxydant.....	20
II -4-3 Activité anti-inflammatoire.....	20
II -4-4 Activité immunomodulatrice.....	21
II -4-5 Activité antiviral.....	22
II -4-6 Activité prébiotique.....	23

## **Partie expérimentales**

### **Chapitre III : Matériel et méthodes**

III-1- Matériel utilisé.....	25
III-1-1 Matériel végétal.....	25
III-1-2 situation géographique du site de récolte « Ouarka ».....	25

III -1-3 Espèces bactériennes à tester.....	26
III-1-4 Espèce fongique à tester.....	28
III-2- Méthodes d'obtention des extraits pariétaux.....	28
III-2-1- Préparation de la poudre végétale.....	28
III-2-2- Obtention de résidu pariétal (RP).....	29
III-2-3- La délignification.....	31
III -2-4- Obtention des celluloses et des hémicelluloses.....	32
III-2-5-Calcul du rendement.....	34
III-3-Analyse des polysaccharides pariétaux.....	34
III-3-1- Dosage colorimétrique.....	34
III-3-1-1- Dosage des oses neutres (Dubois et al, 1956).....	34
III-3-1-2- Dosage des acides uronique.....	36
III-4-Analyse par CCM.....	37
III-4-1 Technique.....	38
III-5- Recherche de l'activité antimicrobienne.....	40
III-5-1 Préparation des solutions à tester et des solutions témoins.....	40
III-5-1-1 Solution à tester.....	40
III-5-1 -2 Solution témoins.....	40
III-6 -Test anti bactérienne.....	40
III-6-1-Revivification des souches et tests de confirmation.....	40
III-6-1-1 L'examen Microscopique.....	41
III-6-1-2 Test catalase.....	41
III-6-1-3 Type respiratoire.....	41
III-6-1-4 Test Mannitol mobilité.....	41
III-6-2 Préparation de l'inoculum.....	44
III-6-3 Ensemencement.....	45
III-6-3-1 Technique de diffusion sur gélose.....	45
III-7- Test antifongique.....	46
III-7- 1 Préparation de la Souche fongique.....	46
III-7- 2 Ensemencement des boites.....	46
III-7- 3 Lecture.....	47
III-8- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	47
III-8-1- Méthode de dilutions en milieu solide (méthode directe).....	47

**Chapitre IV : Résultats et discussion**

IV - Résultats et discussions.....	48
IV -1- Résultats et discussions de l'extraction et d'analyses des polysaccharides pariétaux	48
IV -1-1- Détermination de la teneur en eau.....	48
IV -1-2- Rendement de paroi brute.....	48
IV -1-3- Rendements d'extraction des fractions polysaccharidiques.....	48
IV -1-3-1- Obtention de résidu pariétal (RP) et délignification.....	48
IV -1-3-2- obtention de la cellulose et hémicellulose.....	48
IV -1-4- Dosage colorimétrique des oses neutres et des oses acides.....	49
IV -1-5- Analyse quantitative de la fraction hémicelulosique par CCM.....	50
IV -2- Résultats et discussions de l'activité des hémicelluloses sur la croissance des microorganismes.....	53
IV 2-1-Résultats des tests de confirmation .....	53
IV 2-2-Résultats et discussions de l'activité antimicrobienne des hémicelluloses .....	54
IV 2-2- 1-Résultats et discussions de l'activité antibactérienne des hémicelluloses .....	54
IV 2-2- 2- L'activité antifongique des hémicelluloses.....	57
a. Résultats et discussions de l'activité antifongiques des hémicelluloses.....	57
<b>Conclusion générales</b> .....	59
<b>Références bibliographique</b> .....	61
<b>Annexes</b> .....	75

# Introduction

---

## - Introduction

Les cellules végétales sont entourées par des parois cellulaires. La structure et la composition de ces parois sont constamment modifiées au cours de la croissance, du développement des plantes, et en réponse aux contraintes environnementales (**Knox, 2008 ; Lee et al., 2011; Roppolo et Geldner, 2012**). Ainsi, les parois contribuent à la forme des cellules et au port dressé des plantes terrestres et assurent la communication entre les cellules (**Wojtaszek, 2000**). De plus, elles contribuent à l'adaptation des plantes à leur environnement et à leur protection contre les stress environnementaux (**Somerville et al., 2004; Keegstra, 2010; Albersheim et al., 2011**).

Le monde prend de plus en plus conscience du potentiel médical des ressources naturelles qui fournissent des matières premières nécessaires à la fabrication des médicaments à base de plantes et des produits cosmétiques naturels. Malgré ces divers usages, les plantes médicinales du Sahara Algérien sont très peu exploitées malgré leurs potentialités, leur rôle dans la médecine traditionnelle et la préservation de la biodiversité (Cheriti et al., 2005). Les informations phyto-chimiques disponibles sur les plantes utilisées dans la médecine traditionnelle du Sahara Septentrional Est algérien concernent des propriétés anti-oxydantes (**Ge et al., 2009 ; Liang et al., 2011 ; Liu et al., 2017**), prébiotiques (**He et al., 2016 ; Mueller et al., 2017**), anti-diabétiques (**Tong et al., 2008 ; Zou et al., 2010 ; Guo et al., 2017**), immunomodulatrices (**Wu et al., 2016 ; Bo et al., 2017 ; Sun et al., 2017**) et anti microbiennes.

Les plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. A cet effet, les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses études (**Djeridane, 2008**). Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (**Bahrounet al., 1996**). Des métabolites primaires aussi peuvent jouer le rôle de principes actifs notamment dans le cas des polysaccharides végétaux qui sont largement utilisés en pharmacopée traditionnelle (**Beudieux, 2007 ; Waarand, 2004**).

Les polysaccharides sont les macromolécules les plus abondantes sur terre et dans les Océans (**Waarand., 2004**). Ces macromolécules sont les éléments structuraux majeurs de la paroi des végétaux et peuvent être impliquées dans des mécanismes de reconnaissance de type végétaux/environnement (**Theo et al., 2008**). Les polysaccharides forment un groupe diversifié de glucides et peuvent être classés selon : leur origine c'est-à-dire animale ou végétale, leur nature soit de réserve ou, leur solubilité dans l'eau ou leur digestion dans le

système gastro-intestinal humain (**Patterson., 2008**).

Les polysaccharides peuvent être utilisées dans la biosorption de métaux (**Hachem et al., 2012**); ou dans la biosorption de cholestérol (**Copikova et al., 2013**); certaines hémicelluloses présentent des propriétés immun stimulatrices (**Ebringerova et Heinze, 2000 ; Caffall et Mohnen, 2009**) ou inhibitrices de la prolifération cellulaire (**Barbat et al., 2010**); cependant, les travaux ont porté essentiellement sur les parois des organes aériens (tiges, feuilles et fruits).

Peu de travaux ont concerné les parois des racines (**Leucci et al., 2008**). C'est pourquoi il nous a semblé utile d'entreprendre l'étude biochimique des parois des racines de *R. raetam*. Cette espèce de la famille des Fabaceae colonise les sables dunaires des hauts plateaux et du Sahara algérien grâce à un système racinaire vertical et horizontal très développés pouvant atteindre 20 m, elle puise l'eau dans les profondeurs (**Ighil et Hariz, 1990**) d'où l'augmentation significative de la stabilisation du sol.

En outre les espèces de *Rétama* contribuent à une bio fertilisation de sols pauvres par leur aptitude de s'associer avec des bactéries fixatrices d'azote communément appelée Rhizobia (**Valladares et al., 2002, Boulila, 2009, Selami et al., 2014**); Ainsi, les espèces du genre *Rétama* sont incluses dans un programme de ré-végétalisation dédiés aux régions dégradées dans les conditions semi-arides méditerranéennes (**Caravaca et al., 2003**).

Le travail est structuré en quatre chapitres. Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique, rappelant des généralités sur le matériels végétal étudié. Le second chapitre est consacré sur les données relatives aux différentes macromolécules pariétales, leurs structures, leurs associations et leurs intérêts dans différents domaines.

Le troisième chapitre de ce travail est consacré aux expérimentations, porte essentiellement sur la méthodologie de travail sur l'étude des polysaccharides pariétaux des racines de *R.raetam*. Le quatrième chapitre présente les principaux résultats obtenus suivis de discussion, une conclusion générale.

# **Chapitre I**

## Généralités sur le matériel végétal étudié

---

## I- 1- Rappels sur les Fabaceae

La famille des *Fabacées* (anciennement nommées Légumineuses) est une des plus importantes parmi les dicotylédones, c'est la famille végétale qui fournit le plus grand nombre d'espèces utiles à l'homme, qu'elles soient alimentaires, industrielles ou médicinales.

Le terme Légumineuse vient du mot légume, apparu en Français en 1530 et qui désigne les aliments de l'homme d'origine végétale sous forme de graines sèches ou d'herbes fraîches. En latin le mot «Legumen» signifie graines qui se forment dans les gousses de certaines plantes, nommées pour cette raison « Légumineuse ».

Cette famille contient environ 20 000 espèces, la plaçant en seconde position après les poacées en termes de diversité. Les fabacées présentent une grande diversité. La préférence des légumineuses aux habitats arides à semi-arides est liée à la demande du métabolisme de l'azote, qui est considéré comme une forme d'adaptation aux variations climatiques (McKey, 1994). Une caractéristique de la biologie des Légumineuses est la fixation de l'azote atmosphérique par le biais de bactéries rhizobiales en formant des nodosités au niveau des racines, est juste une façon parmi plusieurs (en plus des mycorhizes arbusculaires, des ectomycorhizes et absorption de composés inorganiques d'azote) dans lesquels les Légumineuses peuvent obtenir des niveaux élevés d'azote pour satisfaire les exigences de leur métabolisme (Sprent, 2001). Les Légumineuses jouent un rôle important dans le cycle de l'azote terrestre, indépendamment de leur pouvoir de former des nodosités racinaires (Sprent, 2001).

## I -2- Biologie du genre *Retama* et ses micro symbiotes

### I -2-1- Genre *Rétame*

Les Légumineuses du genre *Rétama*, comptent quatre espèces

- *R.monosperma*
- *R.raetam*
- *R.sphaerocarpa*
- *R.dasycarpa*

## I -2-2- Les *Rétames*

Les *rétames* sont des Légumineuses arbustives, occupant les zones arides, semi-arides et côtières, qualifiées de plantes fixatrices de dunes, leur nom dérive du nom biblique (ROTEM) qui fut changé par les arabes en (R'tem) ou (retam) (Zohary, 1962 ; Shallaby et al., 1972).

Le genre *Rétama* fut depuis longtemps confondu avec les genres *Genista* et *Spartum* (Brongniart et al., 1843) on les désigna par *Genista retam* (Forkel, 1775), ensuite on utilisa le *Spartium* pour désigner les deux espèces : *Spartium sphaerocarpa* et *Spartium monosperma*, la nomination a ensuite été changée et le nom de *Rétama* a été considéré comme un genre regroupant ces deux espèces (Boissier, 1939).

Les *rétames* sont des plantes pérennes, ce sont des arbustes monoïques, pouvant atteindre jusqu'à 3 mètres de long, caractérisés par un tronc trapu et court, portant de nombreux rameaux denses, arqués, flexibles et retombants, fortement sillonnés et peu feuillés, les jeunes arbustes sont soyeux d'un vert argenté à gris argenté (Beniston, 1985 ; Ozenda, 1982).

## I -2-3- Description générale du genre *Rétama*

Le genre *Rétama* est un genre d'espèces représenté par des arbustes ou Arbrisseaux de un à quatre mètres de longs rameaux «joncailles» dépourvus ou avec Peu de feuilles (xéromorphes) dans le but de s'adapter au milieu désertique où l'eau est Rare. La chlorophylle se trouve dans l'écorce des rameaux qu'ils sont donc verts et remplacent les feuilles dans le phénomène d'assimilation chlorophyllienne. Les stomates sont rares et sont confinés dans des cryptes revêtues entourées de poils où l'air y est toujours humide et l'évaporation est fortement réduite. Les tiges sont rigides, Leurs parois externes sont épaisses et l'épiderme est recouvert d'une épaisse cuticule (Evanari et al., 1971 et Shallaby et al., 1972). Les fleurs sont en grappe de couleur Blanche ou jaune selon les espèces (Shallaby et al., 1972).



**Figure I- 1 :** Photos des Fleurs du genre *Retama* (Selami, 2015).  
*a. Retama raetam, b. Retama monosperma, c. Retama sphaerocarpa*

#### **I -2-4- Description des espèces**

En Algérie, trois espèces appartenant à ce genre sont signalées : *Retama raetam*, *Retama monosperma* et *Retama shaerocarpa*

##### **I -2-4-1-*Rétama raetam***

Arbuste saharien de 1 à 3.5 m de hauteur à rameaux volutés, les fleurs blanches, grandes (8-10 mm), en grappes pauciflores de 5 à 10 fleurs gousses ovoïdes, aigues, termine en bac. Les rameaux fortement sillonnés en long. Elle se trouve dans les dunes et lits des oueds (Ozenda, 1991), les feuilles linéaire sont très caduques, les inférieures sont trifoliolés, les supérieures simple et unifoliées (Quezed&Santa, 1962).

Les floraisons de plante d'Avril à Mai (Maghrani et al., 2003). Les fruits est une étroite gousse indéhissante de moins de 2 cm acumines, avec une extrémité aigüe, portant une à deux graines (Quezed& Santa, 1962).



**Figure I -2:** Photo de l'arbuste *Retama raetam* (Bokhari, 2015).

#### **I -2-4-2-*Rétama monosperma***

Arbuste de 2 à 4 m des dunes littorales, fleurs blanches de 14-15 mm étendards plus court que la carène, légèrement veiné de pourpre corole blanche, gousse à suture ventrale dilatée, ovoïde, portant un seul grain de couleur vert olive (Quezed& Santa, 1962).



**Figure I -3 :** Photo de l'arbuste de *Retama monosperma* (Selami, 2015).

### **I -2-4-3- *Rétama shaerocarpa***

Arbrisseaux de 1 à 2 m à rameaux pubescents plus ou moins dressés , caractérisés par de petits fleurs jaunes ( 5-6mm) , situées en grappe latérales sur les rameaux âgés, feuilles très petites , gousse globuleuse, jaune brun de 713x 5-7 mm pâturage rocailleux (Quezed& Santa ,1962).



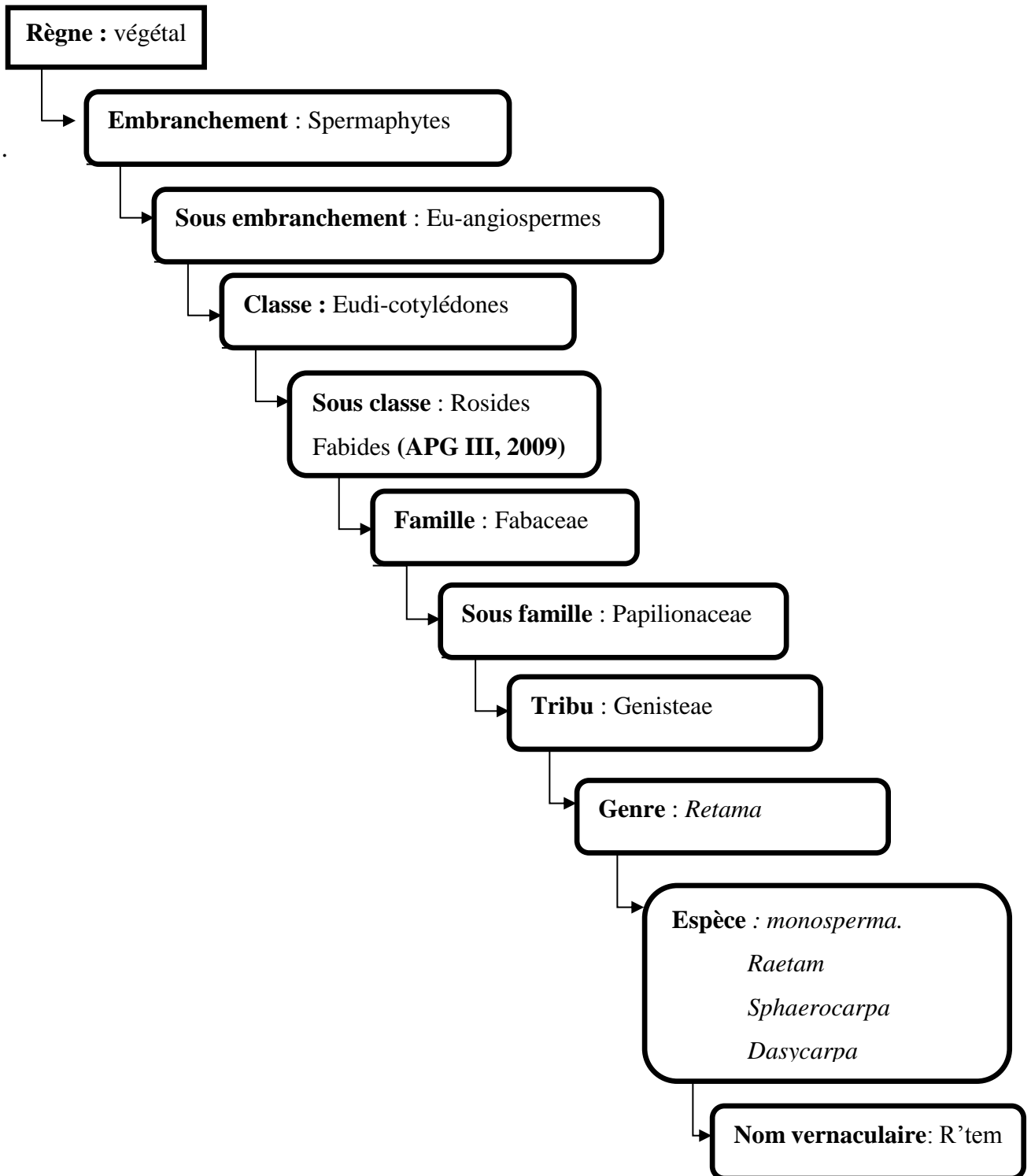
**Figure I -4 :** Photo de l'Arbuste de *Retama sphaerocarpa* (Bokhari, 2015).

### **I -3- Répartition géographique des Fabacées**

Le principal centre de la diversité des *Fabacées* est situé en Amérique du centre et du sud. D'autres centres de la diversité sont localisés également en Afrique et en Asie. En général, les *Fabacées* sont distribuées dans tous les biomes terrestres. Leur répartition est cependant variable selon la sous-famille. Les *Faboidées* sont cosmopolites et se retrouvent presque dans tous les milieux du globe terrestre. Les *Cesalpinioideae* occupent surtout les régions tropicales et subtropicales de l'Amérique, de l'Afrique et de l'Asie. Les *Mimosoideae* dominent les régions tropicales et subtropicales, colonisent aussi les zones arides et semiarides de l'Afrique, de l'Amérique et de l'Australie (Ndayishimiye, 2011).

## I -4- Systématique du genre *Retama*

Selon la nouvelle classification le genre *Retama* et ses espèces suivent le taxon suivant :



## **I -5-Intérêts des rétames**

Le genre *Retama* regroupe des espèces très intéressantes, du point de vue biochimique, moléculaire et écologique.

### **I -5-1-Intérêts écologiques**

Les espèces de *Retama* ont été utilisées à différentes usages, dans la fixation et la fertilisation des sols pauvres. Leurs arbustes, de trois à quatre mètres de long, créent une barrière naturelle qui peut prévenir contre la fragilisation des écosystèmes et contre la désertification. Ces espèces de Fabacées sont importantes dans la bio-fertilisation des sols grâce à la fixation symbiotique avec un *Rhizobium* de l'azote (**Bokhari, 2015**)

*Retama raetam*, grâce à son potentiel germinatif élevé, sa tolérance au stress hydrique et son mode de ramification racinaire, peut être considéré comme un espèce pionnière apte à coloniser les cordons dunaires, son utilisation dans les opérations de ré-végétation de ces milieux est recommandable grâce à leur très grande capacité symbiotique, les rétames contribuent à la bio fertilisation des sols salins et pauvres, et jouent un rôle important dans le cycle de l'azote (**Farchichi,1996**).

### **I -5-2- Intérêts pharmacologiques**

Les rétames ont été répertoriés comme étant des plantes médicinales des régions arides (**Unesco, 1960**) en médecine traditionnelle, *Retama raetam* est utilisée dans le traitement de plusieurs maladies comme l'eczéma. Elle est utilisée dans le sud dans les soins en cas de morsures de serpents (**El hamrouni, 2001**) le pouvoir des *Retama raetam* due à la présence de certains Alcaloïdes. En plus, *Retama raetam* a une activité antioxydante (**Maghrani et al., 2005**), ainsi qu'antimicrobienne et cytotoxique. De ce fait, on constate la large capacité pharmacologique des rétames et leur éventuelle utilisation en phytothérapie et donc la nécessité d'approfondir les connaissances sur ces espèces, au niveau moléculaire et génétique

### **I -5-3- Intérêts industriels et économiques :**

Les rétames sont considérés comme un excellent fourrage. De plus leur bois est utilisé en chauffage, ils sont riches en fibres, dont la longueur moyenne atteint 1,93mm (**Maghrani et al., 2004**). Les rétames pourraient donc être valorisés dans l'industrie papetière. Les rétames sont aussi des plantes ornementales en raison de leurs multiples fleurs odorantes. Les graines des rétames contiennent des pectines, protéines allergènes, utilisées par la plante dans les mécanismes de défense contre les insectes, ce qui pourrait donc être valorisé dans l'industrie des bio insecticides

Chapitre II :

Données bibliographiques sur  
les macromolécules pariétales

---

## II -1- Organisation générale de la paroi des cellules végétales

Les cellules végétales se différencient des cellules animales par la présence, à la périphérie de l'ensemble intracellulaire, d'une enveloppe : la paroi végétale (**Carpita et Mccann, 2000**). On distingue trois couches : la lamelle moyenne, la paroi primaire et la paroi secondaire (**Figure 5**).

### II -1-1- Lamelle moyenne

C'est une jonction intercellulaire qui apparaît lors de la mitose, à la suite de la fusion de vésicules golgiennes au niveau du phragmoplaste (**Samuels et al., 1995**). La lamelle moyenne est constituée principalement de substances pectiques et dépourvue de cellulose. De la callose est présente transitoirement dans la lamelle moyenne et semble indispensable au bon déroulement de la mitose (**Thiele et al., 2009**). Le rôle de la lamelle moyenne est d'assurer la cohésion entre les cellules.

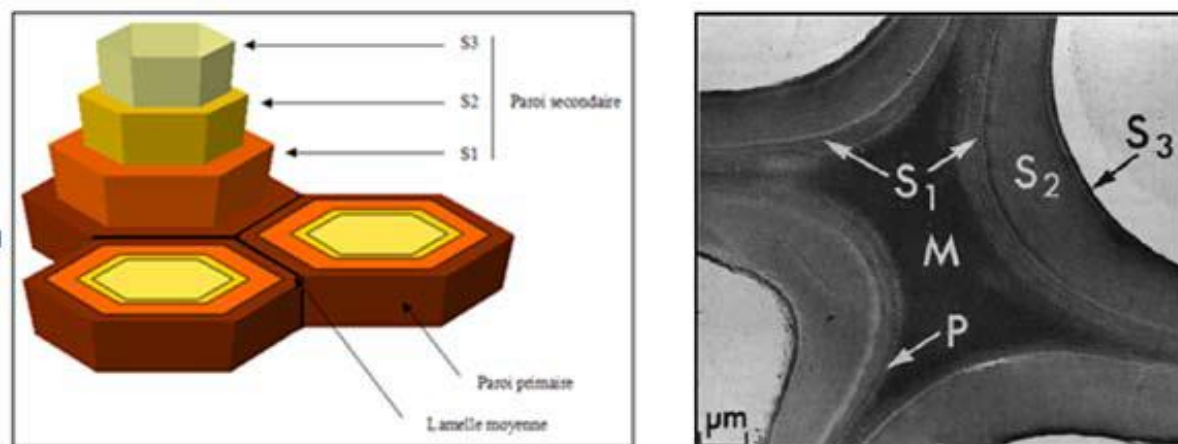
### II -1-2- Paroi primaire

C'est un réseau très hydraté qui est mis en place après la formation de la lamelle moyenne. Elle est composée de cellulose, d'hémicelluloses, de pectines et de protéines. Ces différents composants s'organisent et interagissent entre eux. La structure de la paroi primaire et sa composition chimique évoluent au gré de la croissance cellulaire. Elle est à la fois extensible et résistante. Son épaisseur est extrêmement faible relativement à l'épaisseur totale de la paroi.

### II -1-3- Paroi secondaire

Dans certains tissus, les cellules déposent progressivement, une fois leur croissance terminée, des couches pariétales supplémentaires sur la face interne de la paroi primaire. L'ensemble de ces couches constitue la paroi secondaire. Il s'agit d'une structure rigide, inextensible, faiblement hydratée (20% d'eau maximum) et beaucoup plus épaisse que la paroi primaire. Elle est constituée essentiellement de microfibrilles de cellulose cristalline organisées en couches concentriques parallèles entre elles et d'hémicelluloses (**Roland, 1980**).

Cette structure secondaire peut être renforcée par des dépôts hydrophobes de polymères phénoliques, les lignines ; c'est par exemple le cas des tissus conducteurs (xylème) ou de soutien (sclérenchyme).



**Figure 5 :** Paroi des cellules végétales montrant ses différents niveaux d'organisation (Sjöström et Westermarck, 1999).

**A.** Représentation schématique. **B.** Coupe vue en microscopie électronique. **M :** lamelle moyenne ; **P :** paroi primaire ; **S1, S2, S3 :** paroi secondaire.

La paroi cellulaire végétale est donc formée majoritairement de polysaccharides dont la structure et les relations intermoléculaires peuvent expliquer cinq grandes fonctions : (1) elle assure l'extension du réseau intercellulaire, (2) elle contribue à l'adhésion des cellules dans la lamelle moyenne, (3) elle limite la porosité de la paroi cellulaire, (4) elle contribue au maintien de l'équilibre physico-chimique du symplaste (eau et ions) et (5) elle assure la transduction de signaux extracellulaires vers le milieu intra-cellulaire au travers de la libération d'oligosaccharides bioactifs (Perez et al., 2003). Malgré sa localisation extracellulaire, par-delà la membrane plasmique, la paroi cellulaire est aujourd'hui considérée comme un compartiment métabolique dynamique de la cellule la rapprochant ainsi davantage – en référence à la cellule animale – d'une véritable matrice extracellulaire.

## II -2- Principaux constituants chimiques de la paroi végétale

La paroi des plantes supérieures est composée de polysaccharides, de composés phénoliques ainsi que de protéines (Darvill et al., 1980 ; Fry, 1988).

### II -2-1- Polysaccharides

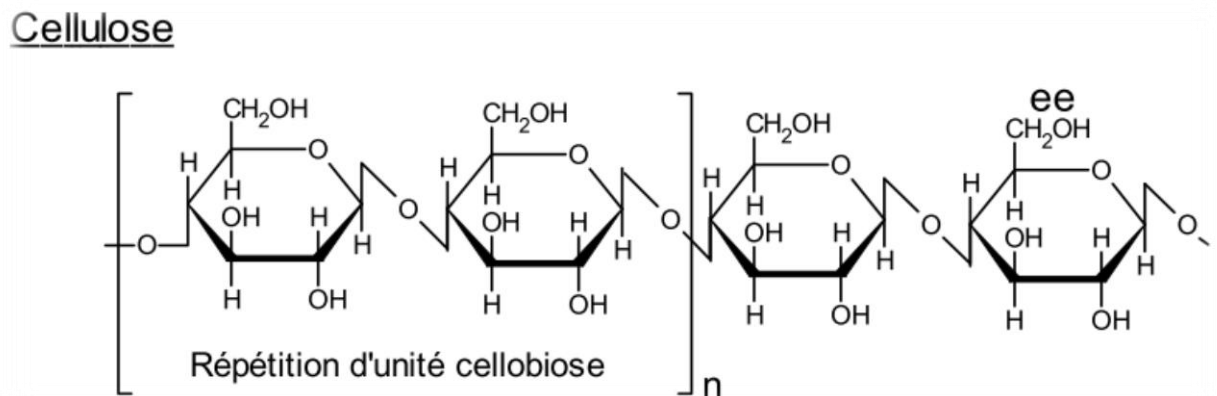
Les polysaccharides sont de longues chaînes de molécules de sucres représentant jusqu'à 90 % en masse des constituants pariétaux. La cellulose, les hémicelluloses et les pectines sont les trois composés polysaccharidiques majeurs présents dans la paroi des

cellules végétales (**Carpita et Gibeaut, 1993**). Ces polymères interagissent entre eux et forment de véritables réseaux.

### II-2-1-1 cellulose

La cellulose est un homoglycane formé par l'enchaînement de résidus glucose relié en  $\beta$  (1-4) (Cette jonction rigide confère au polymère une structure secondaire en feuillet permettant l'établissement de réseaux de liaisons hydrogènes intra – et Intermoléculaire (**Ruff, 2008**).

La cellulose est la molécule organique la plus abondamment synthétisée sur la planète hors de la photosynthèse elle joue un rôle essentiel dans la structure des plantes et c'est la constituant majeur des fibres végétale (**Marouf et al., 2009**).



**Figure 6** : structure chimique de la cellulose, une longue chaîne linéaire de glucose en  $\beta$  (1-4) (**Ben Salah, 2007**).

### II-2-1-2 Hémicelluloses

Les hémicelluloses sont une classe de polysaccharides hétérogènes plus ou moins ramifiés dont les unités osidiques sont de nature variée et reliées entre elles par des liaisons osidiques  $\alpha$  ou  $\beta$ . Ces monomères essentiellement présents sous forme pyranose, sont des hexoses (glucose, galactose, mannose), des pentoses (rhamnose, xylose), des déoxyhexoses (rhamnose, fucose) et des acides uroniques (acide galacturonique, acide glucuronique) (**Alén, 2000**). Concernant la nomenclature des hémicelluloses, le suffixe "ane" désigne la nature polymérique de l'axe osidique, précédé directement par le nom de la chaîne principale.

Deuxième polysaccharide le plus abondant après la cellulose, la valorisation des hémicelluloses est en plein essor.

Les hémicelluloses présentes dans les parois végétales sont : les xyloglucanes,

les xylanes, les mannanes (galacto-/glucomannanes), les glucuronomannanes et les glucanes mixtes. La structure des hémicelluloses dépend de leur origine variétale, du tissu ou du type cellulaire, de l'âge des cellules et de leur localisation dans la paroi secondaire.

Dans la plupart des cas une hémicellulose est prédominante tandis que d'autres sont présentes en plus faibles quantités. Ainsi les xyloglucanes sont les hémicelluloses majoritaires dans les parois primaires des Dicotylédones (**Vincken et al., 1997**) alors que chez les Monocotylédones se sont les arabinoxylanes (**O'Neill et York, 2003**). De même, dans les parois secondaires, les xylanes sont prédominantes chez les angiospermes et les glucomannanes chez les Gymnospermes.

### **a. Xyloglucanes**

Les xyloglucanes sont des types d'hémicellulose constitutive de la paroi cellulaire végétale primaire de type I. La paroi primaire de type I, est composée principalement de cellulose, de xyloglucanes, de pectines et d'extensine (**Brudieux, 2007**). Des xyloglucanes constituent un nouvel exemple d'oligosaccharines naturels exerçant une activité d'hormones végétales (**Wotovic, 1989**).

Les xyloglucanes sont construits à partir d'une chaîne de glucose, substitué par des unités xylose. Ils forment des liaisons covalentes avec les autres polymères non cellulosiques constituant la paroi végétale (pectines, arabinogalactanes) pour former un réseau (**Brudieux, 2007**). Des xyloglucanes sont utilisés comme des épaississants, des stabilisants et des gélifiants dans les aliments, les textiles de dimensionnement et de tissage, comme adhésive ou un agent collant. Les exemples d'agents collant sont les xyloglucanes extraits des graines de tamarin (**Bordenave, 2009**). Les xyloglucanes extraits des grains de tamarin ont plusieurs activités biologiques telles que l'effet inhibiteur sur les virus de la famille des Polyomavirus et sur l'activité immunomodulatrice. Ils ont aussi des activités biologiques sur la prolifération des cytokines dans différentes lignées des cellules de la peau (**Angone et al., 2010**).

La structure des xyloglucanes des graines, est constituée principalement d'une chaîne  $\beta$ D (1-4) glucane liée à des branchements d' $\alpha$  (1-6) D-xylopyranosyle, ou des résidus de  $\beta$ -Dgalactopyranosyle (1-2)-D-xylopyranosyle (**Buckeridge et al., 2000**). Les xyloglucanes sont des hémicelluloses majoritaires dans les parois primaires des Dicotylédones, l'extraction séquentielle de la paroi permet l'obtention de ce type de polysaccharide (**Lopez, 2007**).

## b. Xylanes

Sont des hétéropolymères à courtes ramifications, le degré de polymérisation est faible, inférieur à 200 (Marlene et al., 2001). Les xylanes sont les hémicelluloses principales des parois secondaires, et regroupent ; les glucuronoxylanes où des résidus soit d'acide glucuronique soit de l'acide 4-O-méthylglucuronique sont greffés sur la xylose de la chaîne principale.

Les arabinoxylanes où les résidus xylose sont substitués par des résidus arabinose, les Glucuronoarabinoxylanes qui ont un squelette de résidus xylose sur lequel se greffent Des résidus arabinose et acide glucuronique (Tinamri et Lagmi, 2014).

## c. Manannes

Les mannanes sont, l'un des groupes types des hémicelluloses les plus connus. Ils sont constitués essentiellement par la condensation de mannose par des liaisons  $\beta$  (1-4). La famille des mannanes représente une famille chimique renfermant le mannane pur, les glucomannanes et les galactomannanes (Buckeridge, 2010).

Les pectines sont une classe de polysaccharides hétérogènes trouvés dans les parois cellulaires de la plante. La pectine commerciale est extraite de citrus, de pomme, ou d'autres plantes supérieures.

### II-2-1-3 pectines

Elle est utilisée en tant que stabilisant, épaississant, agent gélifiant, émulsifiant, et comme véhicule de médicaments dans les industries alimentaires et pharmaceutique. Les structures des pectines varient grandement en raison de ses diverses sources et méthodes d'extraction, mais elles peuvent être classées en trois catégories en fonction de caractéristiques communes à savoir homogalacturonane, rhamnogalacturonane-I et galacturonanes substitués (Zhang et al., 2015).

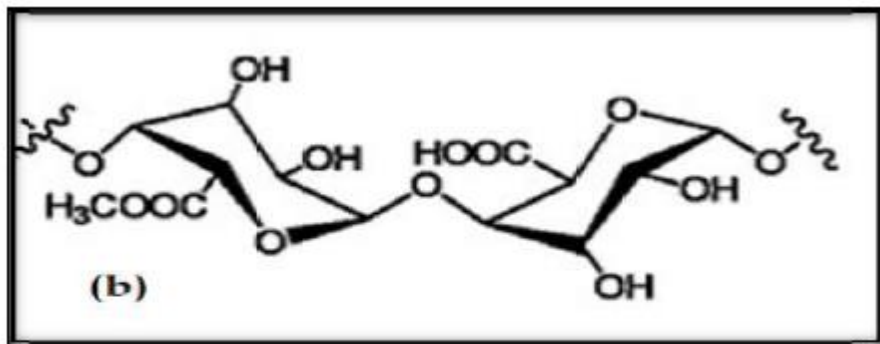


Figure 7 : structure de la pectine (Kamnev et al., 2015).

### **a. Homogalacturonanes(HGA)**

Egalement nommés zones lisses, les HGA représentent 50 à 70% de la pectine (**Jackson et al., 2007**). Il s'agit de chaînes linéaires de 100 à 200 résidus de GalA liés en  $\alpha$ -(1,4). Les également des groupements méthyle en positions O-2, O-3 et O-6 des GalA. Les HGA sont d'excellents polyanions et échangeurs d'ions et leurs propriétés biologiques et physico-chimiques sont souvent corrélées à leur capacité d'établir des interactions électrostatiques. Le degré d'estérification au sein des HGA est variable (la cellule est capable d'estérifier de manière réversible les groupements carboxylique grâce à une pectine méthylestérase) et on dénombre trois catégories d'acides pectiques en fonction du degré de méthylation (DM).

### **b. Rhamnogalacturonanes de type I (RG-1)**

Les RG-1 constituent les zones hérissées et sont composés d'une chaîne principale alternant des résidus  $\alpha$ -(1,4)-D-GalA et  $\alpha$ -(1,2)-L-Rha. Ils représentent un peu moins de 15% de la pectine avec des DP proches de 1000 (**Jackson et al., 2007**). Les résidus Rha sont très souvent substitués en position O-4 par des chaînes latérales très variables portant des unités Gal et Ara (**Ebringerová et al., 2005**) reportent également quelques branchements en position O-3 des Rha. En général, les chaînes latérales d'AG sont de type II même si on trouve occasionnellement du type I.

Certains auteurs ont aussi reporté des groupements acétyle en positions O-2 et O-3 (**Perrone et al., 2002**) ainsi que des acides phénoliques (acides férulique ou coumarique) au niveau des fonctions hydroxyle en position O-6 des résidus Gal ou en position O-2 des résidus Ara (**Bonnin et al., 2002**).

### **c. galacturonanes substitués**

Des substitutions de l'homogalacturonane existent, notamment par le Xyl en position C3 des GalA, formant ainsi les xylogalacturonanes (**Schols et al., 1995; Renard et al., 1997; Vincken et al., 2003**), ou par l'apiose (Api) en position C2 et C3, formant alors un domaine apiogalacturonane (**Ridley et al., 2001**).

## **II -2-1-4 Exsudats et mucilages**

Les polymères constitutifs des mucilages sont en général des xylanes ou des dérivés pectiques et renferment le plus souvent des oses neutres (xylose, arabinose, galactose, rhamnose,...) et des acides uroniques (acide galacturonique, acide glucuronique) (**Delattre, 2005**). Ce sont des constituants normaux des plantes. Ils ont un rôle protecteur (préviennent la déshydratation des graines et leur conservent leurs facultés germinatives) (**Vercaitere, 2011**).

Notons que la différence entre gommes et mucilages reste aujourd'hui encore ambiguë puisque les premières sont plutôt collantes et proviennent de la surface des arbres alors que les seconds sont des hydrocolloïdes visqueux issus de graines ou de tissus souples (**Voragent *al.*, 1995**).

Les polysaccharides constituant ces mucilages sont souvent polaires et très hydrophiles, de très hautes masses molaires, hautement ramifiés et composés de différents monosaccharides (**Petera, 2016**). Le rôle physiologique du mucilage n'est pas négligeable puisqu'il permet à la plante d'absorber et stocker des quantités hydriques importantes. En cas de besoin, la libération progressive de l'eau vers d'autres tissus est possible en période de sécheresse. Inversement, en présence de quantités d'eau trop importantes, le gonflement du mucilage peut entraîner l'éclatement des tissus (**Fabrice, 2008**).

## **II -2-2 Composés phénoliques**

La lignine est un composant majeur des végétaux, sa proportion varie en fonction de l'espèce variétale. Dans son état naturel, la lignine est une macromolécule amorphe issue de la polymérisation aléatoire oxydative de trois monolignols (alcool phénylpropénoïques) : l'alcool coumarylique, l'alcool coniférylique et l'alcool sinapylique (**Lewis et Yamamoto, 1990**).

La lignine est impliquée dans la structure et la cohésion de la paroi mais également dans la résistance aux microorganismes.

La proportion des différents précurseurs composant la lignine est très variable en fonction de l'espèce et des tissus considérés.

## **II -2-3 Protéines de la paroi**

En plus des polysaccharides précédemment décrits, la paroi cellulaire est constituée de protéines de structure et protéines enzymatiques qui participent à son élaboration, son remodelage et à la défense contre les agents pathogènes.

### **II-2-3-1 protéines structurales**

Il existe plusieurs catégories de protéines structurales pouvant être classées en fonction de leurs compositions en acides aminés et leurs degrés de glycosylation. On distingue principalement les protéines riches en glycine (GRP) ou en hydroxyproline (HRGP) (**Jose-Estanyol et Puigdomenech, 2000**).

Les GRP sont associées aux cellules lignifiées ce qui suggère une interaction possible avec les lignines (**Keller *et al.*, 1989 ; Ye *et al.*, 1991 ; Cassab, 1998**). Par ailleurs, les GRP

peuvent être exprimées en réponse aux stress biotiques ou abiotiques (**Showalter, 1993 ; Cassab, 1998 ; Sachetto-Martins et al., 2000**).

Les HRGP regroupent trois grandes familles de protéines : les protéines riches en proline (PRP), les extensines et les AGP (**Sommer-Knudsen et al., 1998**). Comme les PRP, les extensines semblent jouer un rôle dans la défense contre les pathogènes.

De plus, ces protéines sont clairement impliquées dans l'architecture pariétale ; de par leur capacité à établir des liaisons covalentes inter- et intramoléculaires entre elles mais aussi avec les polysaccharides de la paroi, elles auraient un rôle dans la rigidification des parois et par conséquent dans la régulation de la croissance cellulaire (**Kieliszeswski et al., 1994 ; Brady et al., 1996 ; Held et al., 2004**).

Enfin, les AGP sont associées à la fois à la paroi et à la membrane plasmique (**Du et al., 1996**). De nombreux rôles ont été proposés pour ces glycoprotéines telles que l'implication dans la division et la différenciation cellulaire, l'adhésion et/ou la communication intercellulaire, la mort cellulaire programmée ou encore la défense des plantes face aux pathogènes (**Showalter, 2001 ; Sun et al., 2004**).

### **II-2-3-2 Protéines enzymatiques**

De nombreuses enzymes sont aussi présentes dans la paroi et réalisent des fonctions diverses (**Fry, 1995**). Par exemple, les chitinases et les glucanases interviennent dans la défense des plantes face aux pathogènes. Les invertases, les peroxydases (**Passardi et al., 2005**), les phosphatases et les déshydrogénases ou encore les endoglucanases, les xylosidases et les pectinases sont impliquées dans la modification des polysaccharides pariétaux (**Fry, 1995**).

Les expansines sont impliquées dans la régulation du relâchement et de l'extension de la paroi durant la croissance cellulaire en permettant la relaxation du réseau cellulose-hémicelluloses (**Cosgrove, 2000a et 2000b**). Les xyloglucane-endo-transglucosidases/hydrolases participent également au contrôle du relâchement de la paroi mais aussi au remodelage de l'architecture pariétale en clivant les chaînes de xyloglucanes ou en participant à l'incorporation des XG entre les microfibrilles de cellulose (**Campbell et Braam, 1999 ; Cosgrove, 2005**).

## II -3 Applications des polysaccharides

La biomasse représente une importante source renouvelable de polymères pouvant être diversement valorisés. L'utilisation de ces ressources reste négligeable en comparaison avec les produits issus de l'industrie pétrolière. La cellulose, l'amidon, l'hémicellulose et la pectine sont les principaux polysaccharides d'origine végétale exploités dans des secteurs variés tels que les industries agroalimentaire ou pharmaceutique.

### II -3-1 Applications industrielles

Les polysaccharides, en particulier les xylanes peuvent être utilisées comme substrats de base pour l'élaboration de films plastiques potentiellement biodégradables. Face à l'épuisement des ressources pétrolières, les scientifiques s'intéressent à la fabrication de ces nouveaux films d'origine végétale. De nombreuses études décrivent l'utilisation d'autres ressources naturelles ou de co-produits comme matière première pour la synthèse de plastiques. C'est le cas de la paille de blé (**Fredon, 2001**), des polysaccharides d'algues rouges (**Ruiz, 2005**), de la cellulose (**Joly, 2003**) ou encore des hémicelluloses (**Hansen et Plackett, 2008**).

Ces derniers, dans le cas d'arabinoxylanes d'orge, peuvent former des films sans ajout de plastifiant (**Höije et al., 2005**). Les films alors obtenus par casting, sont rigides, assez cassants, hygroscopiques et amorphes.

### II -3-2 Applications alimentaires et nutritionnelles

Les polysaccharides sont employés en tant que fibres alimentaires. Ils ne sont pas dégradés par les enzymes digestives humaines et permettent ainsi d'accélérer le transit intestinal. En outre, leur ingestion diminuerait de manière significative l'accumulation des lipides dans le foie et le taux de cholestérol sanguin (**Chanliaud, 1995**).

Les hémicelluloses tous comme les pectines, sont utilisées comme additifs alimentaires, épaississants, émulsifiants, agents gélifiants, adhésifs et adsorbants. Les pectines sont utilisées ces dernières années comme substitut de la graisse ou du sucre dans les aliments à faible teneur en calories (**Thakur et al., 1997**).

### II -3-3 Applications pharmaceutiques

La cellulose et les hémicelluloses sont des fibres insolubles qui selon **Garrett et Grisham (2000)**, stimulent les fonctions normales du colon, et réduiraient ainsi le risque de cancer du côlon. Quant aux pectines, solubles dans l'eau, forment des suspensions visqueuses, ce qui ralentirait la vitesse d'absorption intestinale de nombreux nutriments, y compris des oses; elles abaisseraient dans certains cas le taux du cholestérol sanguin. La littérature est abondante à ce propos et témoigne de l'intérêt des polysaccharides dans ce domaine et, en particulier, les xylanes suscitent un intérêt croissant. Des propriétés antioxydantes ont été rapportées sur des coquilles d'amandes (**Ebringerová et al., 2008**) et des extraits de sauge (**Capek et al., 2009**).

Des activités anti-tussives (**Kardosová et al., 2002**) et des effets anti-ulcéralents (**Cipriani et al., 2008**) rapportées sur des plantes médicinales. Les xylanes sulfatés, présentent, quant à eux, des propriétés anti-coagulantes et anti VIH (**Stone et al., 1998, Yoshida et al., 2001**).

### II-4 Activités biologiques des polysaccharides extraits des plantes

Les polysaccharides sont des macromolécules biologiques importantes, ils se trouvent dans les plantes, les animaux et les micro-organismes et sont de bonnes sources de fibres alimentaires et prébiotiques avec des activités antioxydants et anti tumorales ainsi que autres avantages pour la santé (**Nie et al., 2018**).

La diversité structurale des polysaccharides quelle que soit leur origine (animale, végétale ou microbienne) confère à ces macromolécules de nombreuses activités biologiques. Ainsi grâce à leurs propriétés interactives et régulatrices, les polysaccharides participent au contrôle de l'activité cellulaire (prolifération, différenciation, adhésion et migration) mais également de l'activité de nombreuses enzymes. De telles molécules aux multiples fonctions spécifiques peuvent être exploitées en thérapeutique (**Colliec-Jouault et al., 2004**).

Dans l'étude de **Berri et al (2015)**, ont montré que les extraits bruts d'*Ulva armoricana* récoltée en Bretagne (France) contiennent dans leur cellule polysaccharides sulfatés hydrosolubles ayant une activité biologique potentielle tels qu'anticoagulants, antiviraux, antibactériens et activités immunomodulatrices qui sont explorées pour être utilisées comme une alternative efficace aux antibiotiques.

## II -4-1 Activité antibactérienne

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris, agents antibactériens. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections (Cce , 2001). Le mode d'action de ces agents sur les bactéries, peuvent être : Bactériostatique, lorsque la substance inhibe la multiplication des bactéries ou bactéricides : lorsque la substance détruit totalement les bactéries. En général, bactérie GRAM - sont plus résistantes que les GRAM + grâce à la structure de leur membrane interne (Ouis, 2015).

Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales, ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries (Jurgen 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'industrie pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle (Huang et al., 2008).

## II -4-2 Activité antioxydant

La plupart des études récentes dans le domaine de la glycobiochimie montrent que les extraits des polysaccharides d'origine végétale et en particulier les plantes médicinales possèdent des effets protecteurs contre les espèces réactives de l'oxygène. Leur rôle essentiel est de bloquer l'action des radicaux libres. La capacité des extraits polysaccharidiques diffère d'une plante à l'autre et d'une fraction à l'autre.

## II -4-3 Activité anti-inflammatoire

La réaction inflammatoire est un mode de réponse de l'organisme à une agression de type infectieuse, immunologique, tumorale, etc. Cette réaction est souvent bénéfique mais il arrive parfois qu'elle endommage les cellules et les tissus. On appelle système du complément, un groupe de protéines sériques impliqué dans la phagocytose et la lyse des bactéries (Rioux., 2010).

Les fucanes sont des polysaccharides sulfatés présents dans la matrice intercellulaire des algues brunes Phaeophyceae. In vitro, ces polysaccharides induisent l'agrégation plaquettaire.

Certains fucanes sont anti-inflammatoire et plusieurs fucanes présentent également des potentialités anti-tumorales (**Bruneton, 2009**).

Finalement, ces travaux ont permis de développer des procédés de dépolymérisations enzymatiques d'arabinogalactanes issus des gommes végétales afin de générer différentes fractions oligosaccharidiques présentant des propriétés prébiotiques plus importantes que le arabinogalactanes non traité enzymatiquement (**Gavlighi et al., 2013**).

## II -4-4 Activité immunomodulatrice

Un agent immunomodulateur permet de stimuler ou d'inhiber divers acteurs du système immunitaire et de prévenir des maladies infectieuses ou cancéreuses. L'une des nouvelles tendances de la recherche dans le développement d'agents immunomodulateurs est l'identification de produits naturels présentant une toxicité faible ou tolérable dans les applications cliniques (**Huang et al., 2014**).

Plusieurs polysaccharides d'origine fongique sont capables de stimuler simultanément tels différentes composantes du système immunitaire, ce qui leur confère différentes propriétés thérapeutiques, notamment des propriétés antitumorales et anti-inflammatoires. Pour cette raison, ils sont appelés immunomodulateurs, immunostimulateurs ou modificateurs de la réponse biologique (**Sanchez, 2006**). Puisque les polysaccharides, y compris les  $\beta$ -glucanes, ne peuvent pénétrer dans les cellules en raison de leur grande taille moléculaire, Ils exercent leur action en se liant à des récepteurs spécifiques à la surface des cellules Immunes telles que les macrophages, les neutrophiles, les cellules cytotoxiques naturelles (NK) et les lymphocytes T (**Djabali et al., 2016**).

Parmi ces récepteurs, le CR3, un des plus importants récepteurs membranaires chez les phagocytes impliqués dans la reconnaissance des pathogènes, a été identifié comme un des récepteurs des  $\beta$ -glucanes. L'affinité différentielle montrée par les récepteurs vis-à-vis les différents  $\beta$ -glucanes varie en fonction du poids moléculaire, de la conformation acquise en solution, ainsi que du degré de ramification de ces molécules. Cette affinité différentielle affecte de manière significative leur activité immunomodulatrice (**Sanchez , 2006**).

Les polysaccharides sulfatés, y compris ceux provenant d'algues, possèdent des activités immunomodulatrices qui peuvent être utiles pour stimuler la réponse immunitaire ou contrôler l'activité des cellules immunitaires pour atténuer les effets négatifs associés tels que l'inflammation. Les polysaccharides sulfatés peuvent affecter plusieurs cibles dans les systèmes immunitaire et inflammatoire qui peuvent avoir un impact sur la progression de la

maladie et les résultats, y compris la progression tumorale et la métastase (**Jaiet *al.*, 2011**). *Biophytum petersianum Klotzsch* est une plante médicinale du Mali utilisée pour plusieurs maladies telles que l'inflammation, la fièvre, le paludisme, les maux de tête et les blessures. Il y a deux polysaccharides de cette plante (AG-I et AG II) présentent une activité immunomodulatrice qui stimulerait les leucocytes, les macrophages et les cellules dendritiques. Ces polysaccharides induisent aussi une légère activité sur les cellules T, B et les NK (**Angon *et al.*, 2010**) .

Dans l'étude de **Kim *et al* (2017)**, il y a de polysaccharide immunostimulant (BLE-PI), qui possède une grande proportion d'arabinoxylane, a aussi été isolé à partir de feuilles de *Hordeum vulgare* L. L'activité stimulée des macrophages a montré que ce polysaccharide présentait un rôle dans l'expression de l'activité immunomodulatrice. Les auteurs soulignent d'ailleurs que l'activité immunomodulatrice est probablement liée à la complexité structurale de l'arabinoxylane .L'étude faite sur l'*Angelica sinensis* montre que les polysaccharides acides et neutres isolés à partir des racines de cette plante renferment présentant un effet immunomodulateur sur les macrophages (**Yang *et al.*, 2007**). D'autre part, ce traitement augmente la sécrétion d'IL-12, IL-2, et le pourcentage des cellules TCD4+ (**Mingliang *et al.*, 2012**). En outre, les polysaccharides acides activent les LB et les cellules dendritiques (**Yanget *al.*, 2007**).

## II -4-5 Activité antiviral

Les maladies infectieuses virales mettent gravement en danger la santé humaine. Dans la recherche de médicaments antiviraux efficaces, les chercheurs ont trouvé que les polysaccharides ont une bonne activité antivirale. En tant que composant antiviral efficace et peu toxique, les polysaccharides ont de larges perspectives d'utilisation médicinale et méritent d'être étudiées plus avant (**Chen et Huga, 2018**) .

Les polysaccharides obtenus à partir d'*Azadirachta indica* agissent contre PV-1 en inhibant la phase initiale de la réplication virale. Fait important, les polysaccharides d'origine ont montré un meilleur effet virucide que leurs dérivés sulfatés à toutes les concentrations testées. Cette étude fournit une base scientifique pour les utilisations passées et présentes ethno médicales de cette plante (**Yamamoto *et al.*, 2012**).

Aussi le polysaccharide extrait de la feuille de *rhizophora apiculata* a été évaluée dans des systèmes de culture cellulaire, par son activité contre les virus de l'immunodéficience humaine et simienne Ce dernier est composé principalement de galactose, galactosamine et d'acide uronique (**Martinez *et al.*, 2005**).

## II -4-6 Activité prébiotique

Le terme prébiotique a été introduit par **Gibson et Rober froid (1995)** qui ont défini un prébiotique « un ingrédient alimentaire non digestible qui améliorent la santé de l'hôte en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité métabolique d'un ou d'un nombre limité de bactéries bénéfiques dans le côlon ». Donc, Le concept de prébiotiques est défini par certains critères tels que la résistance à l'acidité gastrique, à l'hydrolyse par des enzymes des tractus digestifs de mammifères et à l'absorption gastro-intestinale (**Cani, 2009**).

Par exemple, *Malva parviflora* est une plante spontanée à caractère médicinal pousse dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien). La chromatographie haute performance sur échangeurs d'anions des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Malva parviflora* indique la présence de galactose (56,86%), d'acide glucuronique (20,57%), d'arabinose (9,04%), de rhamnose (8,46%) et de mannose (5,05%). L'effet prébiotique des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *malva parviflora* L. sur *Bifidobacterium longum* est notable (**Boul et al., 2013**).

# Chapitre III

## Matériel et méthodes

---

Ce chapitre affiche la méthodologie engagée pour mettre en œuvre l'extraction des différentes fractions pariétales ainsi que l'évaluation du potentiel biologique des polysaccharides pariétaux (hémicelluloses) des racines de *Retama reatam*.

La partie expérimentale a été organisée comme suit :

- ▣ Collection du matériel végétal.
- ▣ Préparation de la fraction pariétale.
- ▣ Extraction des hémicelluloses.
- ▣ Une caractérisation structurale de ces polysaccharides (hémicelluloses) par des méthodes colorimétriques et chromatographiques.
- ▣ Recherche des activités antimicrobiennes des hémicelluloses.

### **III-1- Matériel utilisé**

#### **III-1-1 Matériel végétal**

Les échantillons qui ont fait l'objet de cette étude sont des racines de *Retama reatam*. La collection des racines de la plante a été faite en mois de février 2020 dans la région d'Aïn Ouarka à 110 km de la ville de Naâma.

L'identification de l'espèce *Retama reatam* a été faite par **Mr. Benaradj A** maître-de conférences au centre universitaire de Naâma.

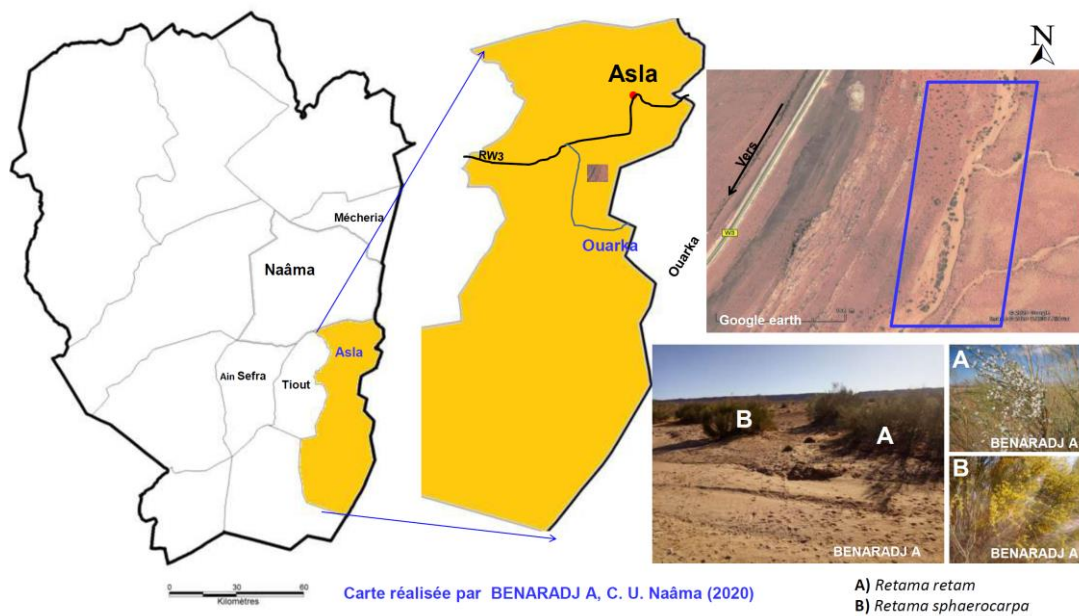
#### **III-1-2 situation géographique du site de récolte « Ouarka »**

La station d'étude est localisée au niveau de la région d'Ain Ouarka (Daira d'Asla) qui se trouve à 25 km d'Ain Ouarka et 13Km de la ville d'Asla à l'aproximité de la route wilaya n°3. Géographiquement, la station fait partie du secteur de l'atlas saharien, sous-secteur AS1 au sens de **Quezel et Santa (1962)**. C'est à dire dans la partie la plus occidentale de l'Atlas saharien. La localisation est résumée dans le **Tableau III-1**

**Tableau III-1** : Localisation de la partie la plus occidentale de l'Atlas saharien

	X	Y	Z
Point 1	32°48'34.13"N	0°13'57.46"O	1154
Point 2	32°48'34.10"N	0°13'49.88"O	1143
Point 3	32°48'8.18"N	0°14'4.12"O	1137
Point 4	32°48'8.26"N	0°13'57.80"O	1136

Le choix de la station est basé sur la présence d'une population de genre *R'tem* (*Retama raetam* et *Retama sphaerocarpa*) sur bas versant, qui a fait l'objet de notre étude.



**Figure III- 1** : Localisation de la station d'étude « Ouarka » dans la wilaya de Naâma

### III -1-3 Espèces bactériennes à tester

Nous avons 7 espèces bactériennes

**Tableau III-2 : souches bactériennes à tester**

Bactéries	Morphologie	Gram	Habitat	Pouvoir pathogène
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25912	Coco Bacille	-	Tube digestif de l'homme et l'animaux, sol ,eau	Infection intestinal ou bien extra intestinal. Infection urinaire
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacille bâtonnets, renflé avec un flagelle polaire	-	Surtout hydrique l'homme et les animeaux	Opportuniste qui envahisse souvent le tissu de leur hôte et cause une infection et une bactériémie chez les hôtes immunodéprimés
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452	Cocci	+	Fait de la flore normale du tractus gastro-intestinal, des voies génitales féminines et (dans une moindre mesure) de la cavité orale.	Infection urinaire Plaies et des tissus mous Bactériémie
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Cocci (coque) Isolées ou groupés en diplocoque ou en amas.	+	Air ,sol, eau . Peau et muqueuse de l'homme et les animaux.	Intoxication alimentaire. Provoque chez l'homme : Abscés, furoncle, acnés, angine, Rhinite, plaie.
<i>Listeria Monocytogenes</i> ATCC 15313	Bacille	+	Sol, eau et sur les végétaux	Opportuniste provoque la méningite ,listériose et septicémie
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 21332	Bacille groupés en chaînettes	+	saprophyte du sol, de l'eau, de l'air et des plantes	En réponse à des conditions défavorables, cette bactérie a donc la capacité de former par enkystement des endospores (Pauline, 2013).
<i>Bacillus cerus</i> ATCC 10876	Bacille	+	Produit alimentaire	Intoxication alimentaire  Maladie de charbon.

### III-1-4 Espèce fongique à tester

Nous avons 7 souches fongiques qui sont :

- ✓ *Aspergillus flavus*
- ✓ *Aspergillus ochraceus*
- ✓ *Penicillium expansum*
- ✓ *Fusarium oxysporium*
- ✓ *Alternaria sp*

### III-2- Méthodes d'obtention des extraits pariétaux

#### III-2-1- Préparation de la poudre végétale

Les racines fraîches de *R.raetam* sont découpées en petits fragments de quelques millimètres et pesées pour déterminer leur poids frais (PF). Ils sont ensuite étalés sur une plaque métallique et avant d'être mis à sécher à l'étuve à une température de 50 C° pendant une semaine. Les fragments sont repesés pour déterminer le poids secs (PS).

La teneur en eau estimée en pourcentage est calculée en appliquant la formule suivant :

$$TE = [(PF - PS) / PF]$$

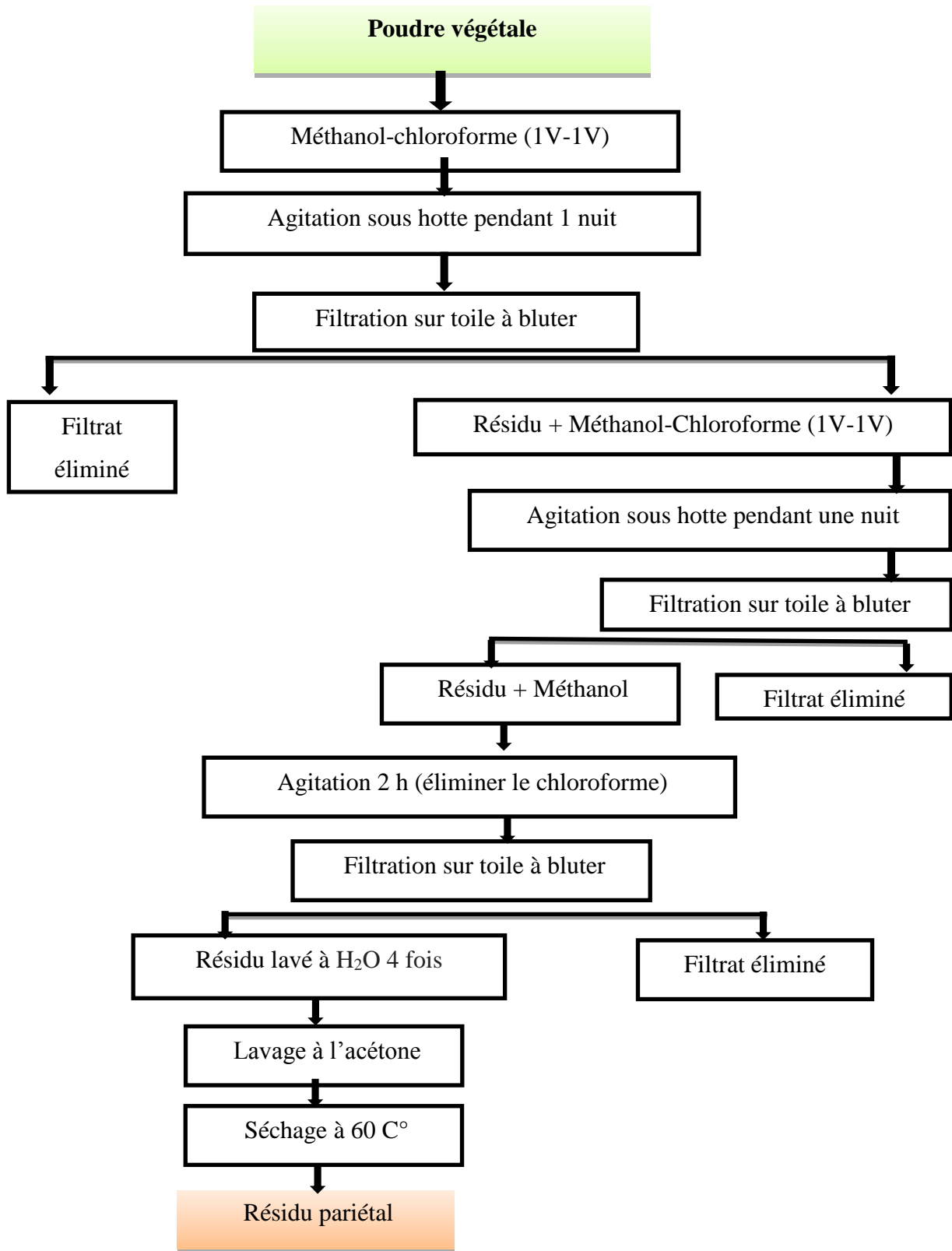
Les fragments secs des racines de *Rétama raetam* sont broyés à l'aide d'un moulin à grain puis réduire en poudre fine ans un moulin électrique à café.



**Figure III-2 :** A-photo des racines de *Rétama raetam* .B-photo de poudre végétale des racines de *Rétama raetam*

### III-2-2- Obtention de résidu pariétal (RP)

L'obtention du résidu RP nécessite l'élimination des composés tels que les phénols, les lipides .Ces derniers sont éliminés par passage de la poudre végétal dans différents extractans chimiques. Nous avons utilisé le protocole de **Harche et al., (1990)**. La quantité initiale de poudre végétale utilisé est 30 g, sont introduits dans un erlen contenant un mélange de méthanol et chloroforme (1V-1V) et mis sous agitation pendant 14 heures sous hotte, cette opération est répétée deux fois. Après filtration sur toile à bluter, le RP est mis dans le méthanol pour agitation pendant deux heures pour éliminer les traces de chloroformes, le résidu est ensuite rincé avec l'eau distillée, puis à l'acétone et mis à sécher à l'étuve à 60C°. Le résidu obtenu contient les lignines, la cellulose, les hémicelluloses et les pectines (**Figure III-3**).



**Figure III-3** : Protocole expérimentale pour la préparation de résidu pariétal d'après **Harche et al., (1990)**.

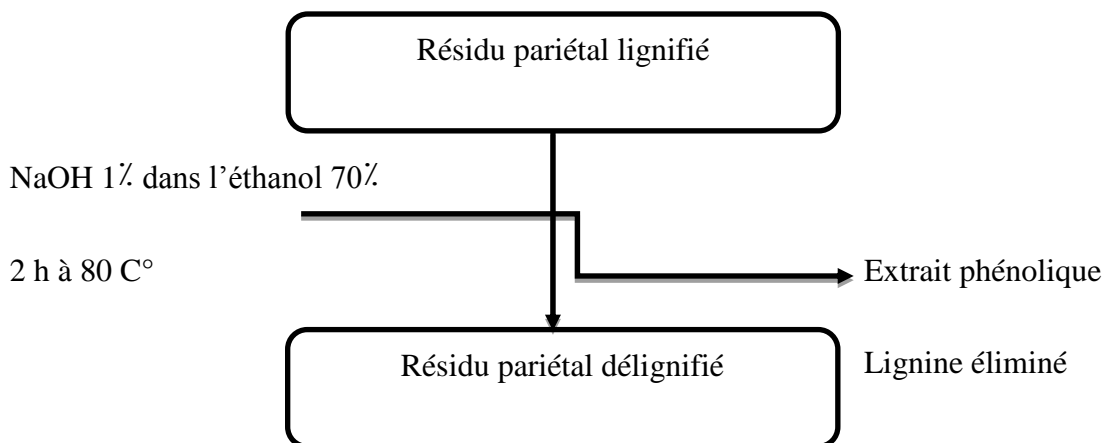
### III-2-3- La délignification

La délignification augmente l'accessibilité des réactifs aux constituants de la matière végétale, elle permet l'entraînement de la lignine par rupture des liaisons avec les polysaccharides.

Théoriquement la procédure de la délignification devrait éliminer totalement les lignines sans dissolution ou modification des polysaccharides ; cependant aucune méthode n'est totalement satisfaisante et toutes présentent l'inconvénient de dégrader partiellement les hémicelluloses sans pour autant totalement éliminer la matière ligneuse.

Pour la délignification de résidu pariétal des racines de *Retama raetam*, nous avons choisi la méthode de **Gabrielli et al., (2000)** qui utilise la soude diluée dans l'éthanol. 5g de résidu pariétal sont placés dans 100ml de NaOH 1% dans l'éthanol 70% sous agitation pendant 2 h à 80 C°. Le résidu est rincé 4 à 5 fois par l'eau distillé puis séché à l'étuve à 60 C° pendant 24 h.

La délignification étant réalisé avant l'extraction des polysaccharides pariétaux, celle-ci va se dérouler par étapes successives.

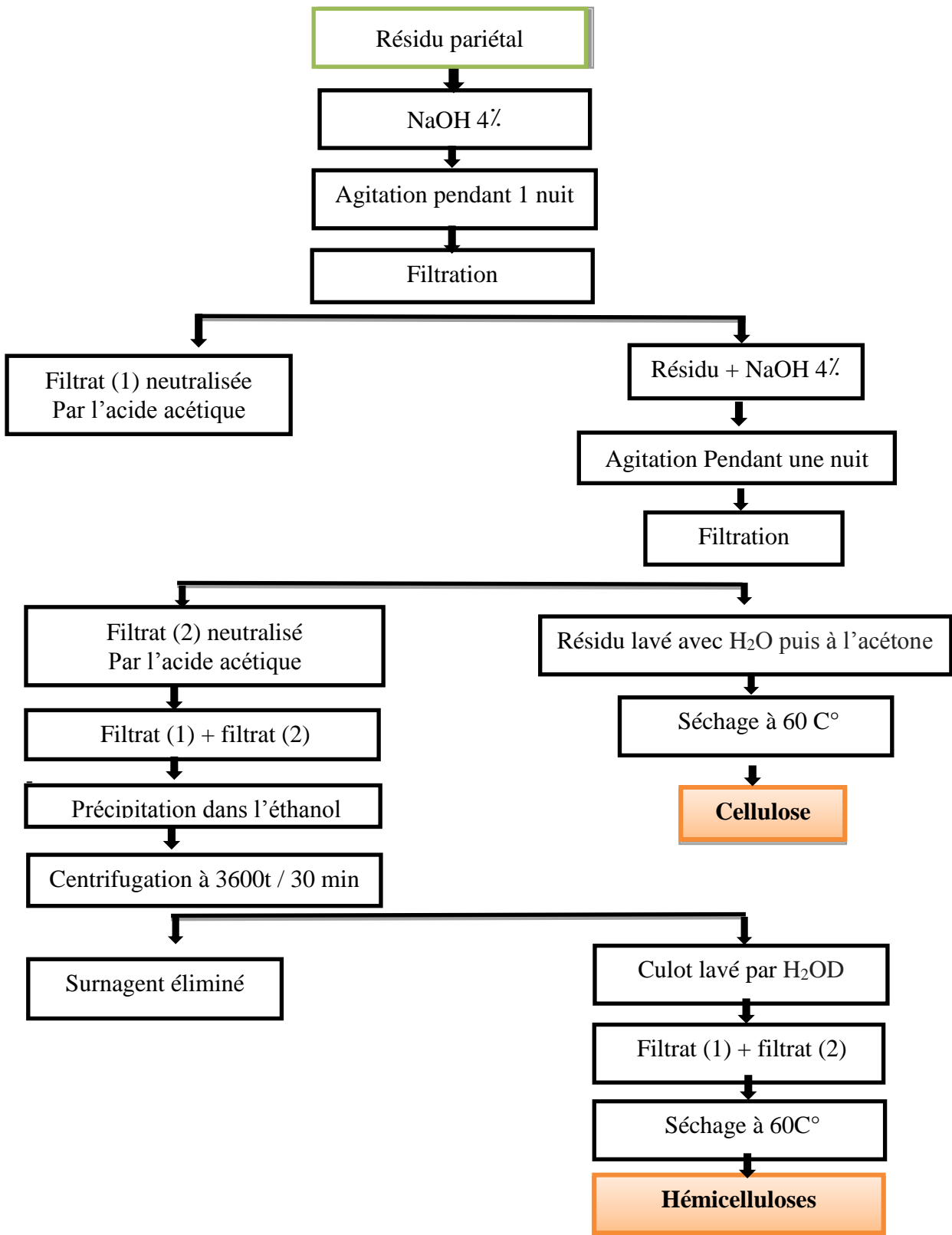


**Figure III-4 :** Délignification de résidu pariétal selon **Gabrielli et al., (2000)**.

### III -2-4- Obtention des celluloses et des hémicelluloses

On parle rarement de l'extraction de la cellulose mais plutôt de purification des celluloses cette purification résulte de l'élimination des autres extractans qui peuvent exister. L'extraction des hémicelluloses qui sont majoritaires dans les dicotylédones est réalisée par des solutions alcalines. Ces hémicelluloses sont liées aux autres polysaccharides par des liaisons hydrogènes. Lors de l'extraction alcaline, les hémicelluloses deviennent solubles à la fois suite à la saponification de ces esters et suite aux réactions de rupture de ces liaisons. Nous avons choisi un protocole qui permet à la fois la purification de la cellulose et l'extraction des hémicelluloses, c'est le protocole de **Chanda et al., (1950)**. (**Figure III-5**).

5g de résidu pariétal sont introduits dans un erlen contenant de NaOH 4% et mis sous agitation pendant une nuit. Cette opération est renouvelée sur le résidu pour récupérer le maximum des hémicelluloses. Après filtration sur toile à bluter, le résidu est lavé avec l'eau distillée puis avec l'acétone, ensuite séché à l'étuve à 60°C pendant une nuit, il représente la fraction cellulosique. Les deux filtrats obtenus sont neutralisés par l'acide acétique pur, puis précipités dans l'éthanol (1V-3V) pendant une nuit. Après centrifugation à 3600t/min pendant 30 minutes, le culot est lavé par l'eau distillée puis à l'acétone, ensuite lyophilisé et conservé à -18°C. Cela représente la fraction hémicellulosique.



**Figure III-5 :** Protocole d'extraction de la cellulose et des hémicelluloses d'après **Chanda et al., (1950)**.

### III-2-5-Calcul du rendement

Le calcul du rendement est défini comme étant le rapport entre la masse des polysaccharides obtenus et la masse de matière végétale à traiter

$$R_{HE} = MHE / MS. 100$$

**R HE** : Rendement en extrait fixe en g /100g

**MHE** : Quantité d'extrait récupéré en gramme

**Ms** : Quantité de matière végétale utilisée pour l'extraction exprimée en gramme

### III-3-Analyse des polysaccharides pariétaux

#### III-3-1- Dosage colorimétrique

La quantification des oses constitués de polysaccharides, s'effectue essentiellement par dosage colorimétrique. Ils reposent sur la réaction des dérivés furfuriques obtenus par action à chaud, d'un acide concentré comme l'acide sulfurique( $H_2SO_4$ ), pour divers composés aromatiques, tel que le phénol pour le dosage des oses neutres (**Monsigny et al., 1988**), et la méta-hydroxydiphényle pour le dosage des acides uroniques (**Blumenkrantz&Asboe-Hansen, 1973**).

En présence d'acide sulfurique concentré et à chaud, les liaisons glycosidiques des polysaccharides subissent une hydrolyse quantitative. La déshydratation des unités osidiques libérées conduit à la formation de dérivés furfuriques. Les dérivés furfuriques, se condensent avec les composés phénoliques (résorcinol et méta-hydroxydiphényle) lors du dosage (**Monsigny et al., 1988**). La mesure des absorbances, à 520nm pour les oses acides et à 492 nm pour les oses neutres, sont effectués par un spectromètre ultraviolet-visible. La concentration en oses neutres est obtenus par référence à une gamme de glucose et celle des oses acides avec une gamme étalon d'acide glucuronique(**Monsigny et al., 1988**).

#### III-3-1-1- Dosage des oses neutres (Dubois et al., 1956)

##### ➤ Principe

Sous l'action de l'acide sulfurique concentré, les polysaccharides sont hydrolysés en oses neutres (pentoses et hexoses) et en acides uroniques. Les oses neutres libérés sont transformés en dérivés furfurals qui se condensent avec le phénol pour donner une coloration jaune. L'intensité de la coloration dépend de la concentration en et de la nature du monosaccharide.

➤ **Mode opératoire**

- ✓ à 200 microlitre de la solution à doser, on ajoute 200 microlitre d'une solution aqueuse de phénol à 5%. (pds/vol)
- ✓ le volume est homogénéisé au vortex puis 1 ml d'acide sulfurique concentré est rapidement introduit dans le milieu réactionnel.
- ✓ Après homogénéisation, le mélange est porté au bain marie à 100<sup>0</sup> durant 5 min.
- ✓ Les tubes sont refroidis est placés à l'obscurité pendant 30 min.
- ✓ La coloration jaune apparait. la lecture des absorbance est réalisée à 492 nm.
- ✓ Les quantités des sucres en solution peuvent être établies en comparaison avec une gamme étalon de glucose de concentration croissante.

**Tableau III-3** : gamme étalon de glucose

SM (Glu) 2 g/l en micro litre	0	20	40	60	80	100	120	140	160
Eau qsp 2 ml en microlitre	2000	1980	1960	1940	1920	1900	1880	1860	1840
Concentration de glucose en mg / ml	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10	0.12	0.14	0.16
Absorption	0	0.043	0.097	0.096	0.249	0.257	0.309	0.362	0.408

**Tableau III-4** : Absorption de différentes solutions d'hémicellulose

SM (Glu) 2 g/l en micro litre	10	20	30	40	50	60	70	80	90
Eau qsp 2 ml en microlitre	990	980	970	960	950	940	930	920	910
Concentration de glucose en mg / ml	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.35	0.4	0.45
Absorption	0.01120	0.230	0.248	0.387	0.610	/	/	0.708	0.907

### III-3-1-2- Dosage des acides uronique

Les acides uroniques sont dosés par la méthode de Métahydroxydiphenyl (MHDP). Le principe de cette réaction consiste en un dosage des acides uroniques par condensation des dérivés furfurals formés par chauffage en milieu acide avec le réactif MHDP.

#### ➤ Mode opératoire

- ✓ A 200 ml de solution à doser, on ajoute 1.2 ml d'une solution de tétra borate de sodium à 0.125 M dans l'acide concentré.
- ✓ Les tubes sont homogénéisés au vortex puis portés à 100<sup>0</sup> C au bain marie durant 5 min.
- ✓ Après refroidissement dans un bain de glace. on ajoute 20 ml d'une solution de MHDP à 0.5 %
- ✓ Les tubes sont agités
- ✓ La lecture des absorbances est réalisée à 520 nm
- ✓ Les quantités de sucres acides en solution peuvent être établies en comparaison avec une gamme étalon d'acide glu uronique de concentrations croissantes.

**Tableau III-5 :** gamme étalon d'acide glu uronique

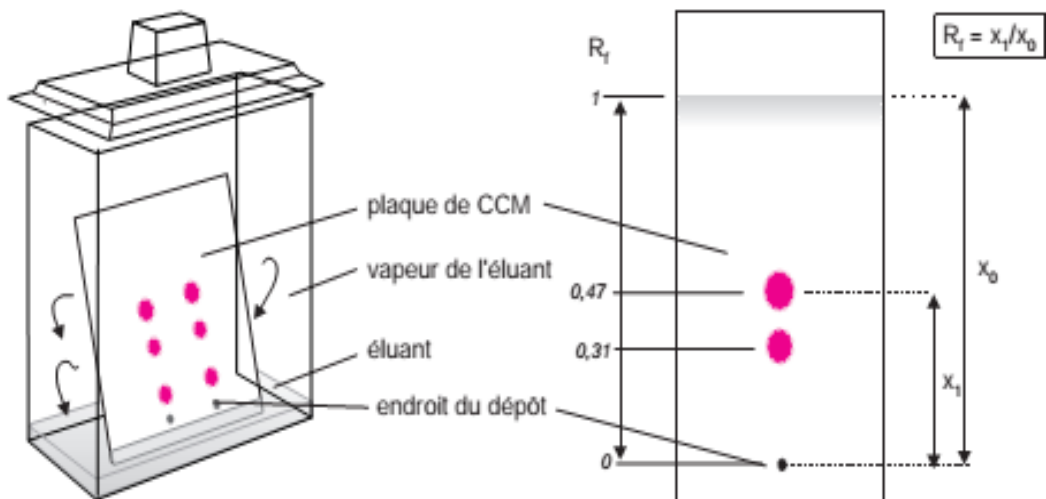
SM 0.5mg/ml (Ac glu) en micro litre	0	20	40	60	80	100	120	140	160	180
Eau qsp 1 ml	1000	980	960	640	920	900	880	860	840	820
(AC glu) mg/ml	0	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09
Abs 520 nm	0.024	0.229	0.250	0.287	0.316	0.420	0.514	0.658	0.711	0.74

**Tableau III-6 :** différentes concentrations des hémicelluloses à doser

SM(Hem) 5 mg/ml en micro litre	10	20	30	40	50	60	70	80	90
Eau qsp 1 ml en microlitre	990	980	970	960	950	940	930	920	910
Concentration d'Hem en mg/ml	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.35	0.4	0.45
Abs 520 nm	0.086	0.084	0.096	0.094	0.114	0.101	0.115	0.135	0.175

### III-4-Analyse par CCM

La CCM est une méthode physicochimique rapide de contrôle, dont l'absorbant ou phase stationnaire est constitué d'une couche mince et uniforme de 0.25 mm d'épaisseur, d'une substance séchée est finement pulvérisée, appliqué sur un support approprié. La phase mobile ou étalon migre à la surface de la plaque par capillarité une hydrolyse acide partielle permet de déterminer la composition en ose des hémicelluloses.



**Figure III-6 :** Chambre de développement à cuve verticale et plaque de CCM  
(Rouessac, 2004).

### III-4-1 Technique

- **Préparation des solutions de sucre témoin**

Les sucres témoins préparé à une concentration de 0.025 g/ml dans l'eau distillée. Il s'agit du D-glucose, D-mannose, D-arabinose, D-xylose et D-galactose.

- **Préparation du solvant de migration des oses selon Adachi (1965)**

Les constituants de solvant de migration et leurs concentrations sont comme suit :

Acétate d'éthyle : 60ml

Acide acétique : 15 ml

Méthanol : 15 ml

Eau distillé : 10ml

- **Préparation de révélateur des oses d'après Giri et Niger (1953)**

Le révélateur est l'aniline diphenylamine (DPA), acide phosphorique dont la composition est la suivante :

**Solution A** : 2% d'aniline dans l'acétone.

**Solution B** : 2 % DPA dans l'acétone.

A l'emploi, mélanger A et B et 10 ml d'acide phosphorique.

- **Préparation de solution à analyser**

Nous avons utilisé la méthode d'hydrolyse partielle décrite par **Reis (1975)**. Dans des tubes à vis contenant 100 mg de la fraction hémi cellulosique ou pectique et 2 ml d' $H_2SO_4$  (1N).

Ces tubes sont placés pendant 4 h au bain marie à une température de 100<sup>0</sup> C.

Les hydrolats sont filtrés 3 fois sous vide filtre Buchner en verre fritté N7.

Le résidu insoluble est rincé à l'eau distillée puis éliminé. Les filtrats sont neutralisés par le carbonate de strontium puis gardé à une température de 0<sup>0</sup> C au congélateur jusqu'à l'analyse.

- **Dépôts**

Nous avons déposé 5 gouttes pour chaque solution témoin et 20 gouttes pour les solutions à analyser à l'aide d'une seringue.

**N.B :-** les gouttes ne doivent pas dépassées 2mm

- séchage des chromatogrammes.

- **Migration**

La plaque est placé dans la cuve de développement contenant le solvant de migration déjà préparé et à saturation. La migration est arrêtée au bout de 3h lorsque le solvant atteint le front de migration.

- **Révélation**

Après séchage de la plaque à l'air libre. La révélation a été faite sous hotte suivi d'un séchage à l'étuve à 60<sup>0</sup> C jusqu'à l'apparition des spots (10min).

Le facteur de rétention (Rf) a été déterminé par la relation suivante :

$Rf = \text{distance parcourue par la substance} / \text{distance parcourue par le solvant.}$

## **III-5- Recherche de l'activité antimicrobienne**

### **III-5-1 Préparation des solutions à tester et des solutions témoins**

#### **III-5-1-1 Solution à tester**

Le test de l'activité antimicrobienne et antifongique de 3 types d'hémicellulose précédemment préparé :

\*Extrait hémi cellulosique lignifié HeL

\*Extrait hémi cellulosique délignifié HeD

\*Extrait hémi cellulosique traité par la chaleur humide Hetc

Les hémicelluloses ont été désouttes dans une solution de Nacl (5mm), nous avons utilisé des concentrations progressives allant de 25 mg/ml /100 mg/ml pour chaque extrait.

### **III-5-1 -2 Solution témoins**

Solution de Nacl (5Mm), toute ces solution sont stérilisés par une filtration sur filtre millipore 0.22 micromètre.

## **III-6 Test anti bactérienne**

### **III-6-1 Revivification des souches et tests de confirmation**

A partir des souches de référence conservées sur GN, on ensemence des tubes en BN stérile ensuite les cultures de bouillon sont ensemencé en stries sur le milieu Gélose nutritive.

La strie sur le milieu GN permettant la vérification de la pureté de la souche.

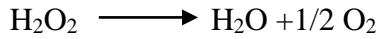
#### **III-6-1-1 L'examen Microscopique**

L'état frais permet l'observation de la forme, du mode de groupement et de la mobilité suivies par une coloration spécialisé de Gram met en évidence la forme et les propriétés tricontoriales de la bactérie.

La coloration de Gram est fondée sur l'action successive des colorants, le résultat apparait comme suivant les bactéries Gram + violettes et les bactéries Gram – roses (Aissaoui, 2013).

#### **III-6-1-2 Test catalase**

C'est une enzyme qui catalyse la dégradation de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), produit toxique des métabolismes aérobie de nombreuses bactéries.



### III-6-1-3 Type respiratoire

-La recherche s'effectue en tube étroit et profond rempli d'une gélose semi solide.

-Ensemence par pique centrale puis incube 24h à 37°C.

Selon l'apparition des cultures dans les tubes on distingue trois respiratoires :

- ❖ Les aérobies stricts (croissance en surface)
- ❖ Les anaérobies stricts (croissance en profondeur)
- ❖ Les aéro-anaérobies facultatif (croissance tout le long du tube).

### III-6-1-4 Test Mannitol mobilité

#### ➤ Principe

Le milieu de Mannitol mobilité permet la mise en évidence de la mobilité et la dégradation du mannitol.

#### ➤ Manipulation

Ensemencer par pique centrale à l'aide d'un fil bien droite, chargée de culture en milieu semi solide puis incubé 24h à 37°C. Ce milieu n'est utilisable que par les bactéries fermentatives (Aissaoui, 2013).

#### ➤ Lecture

La fermentation du Mannitol entraîne le virage au jaune du milieu. Les bactéries mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement en créant un trouble de milieu et les bactéries immobiles croissent uniquement le long de la pique d'ensemencement (Aissaoui, 2013).

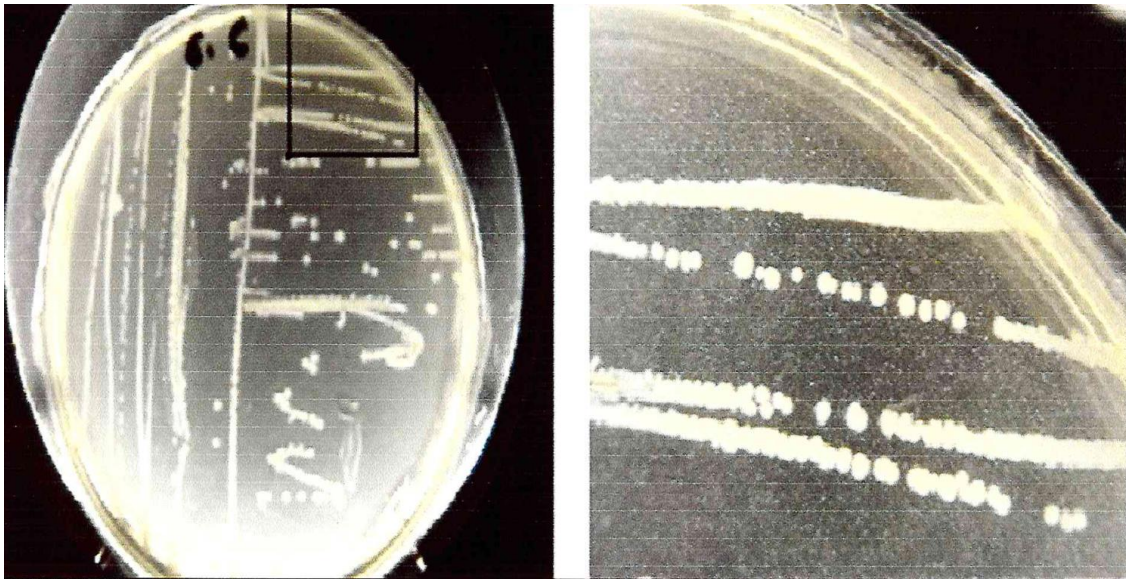


Figure III-7 : photo de culture pure d'*Escherichia coli* après 24h d'incubation

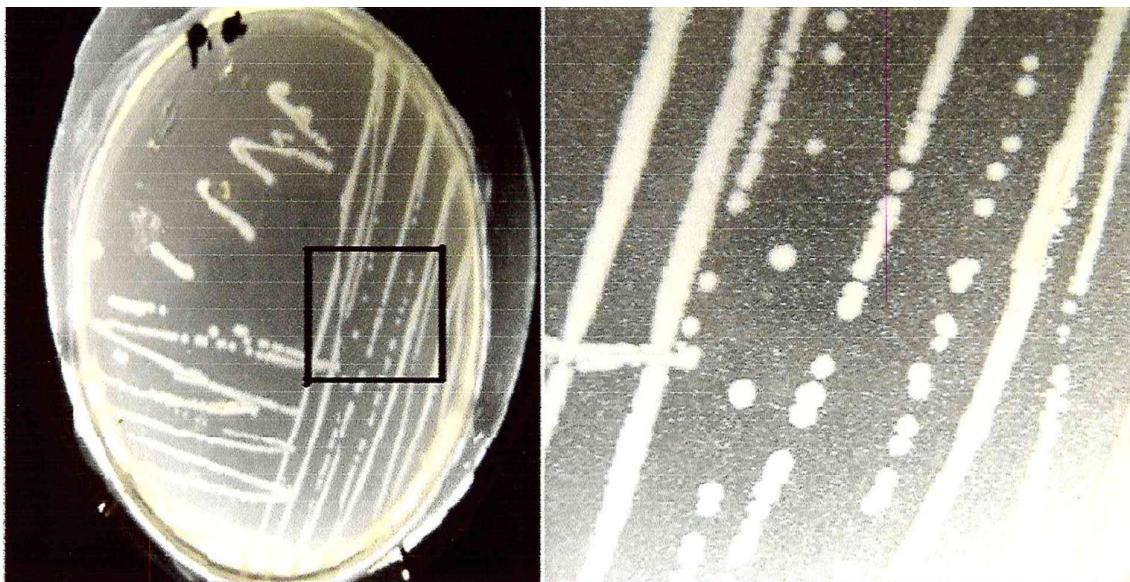


Figure III-8 : photo de culture pure de *Pseudomonas aeruginosa* après 24h d'incubation.

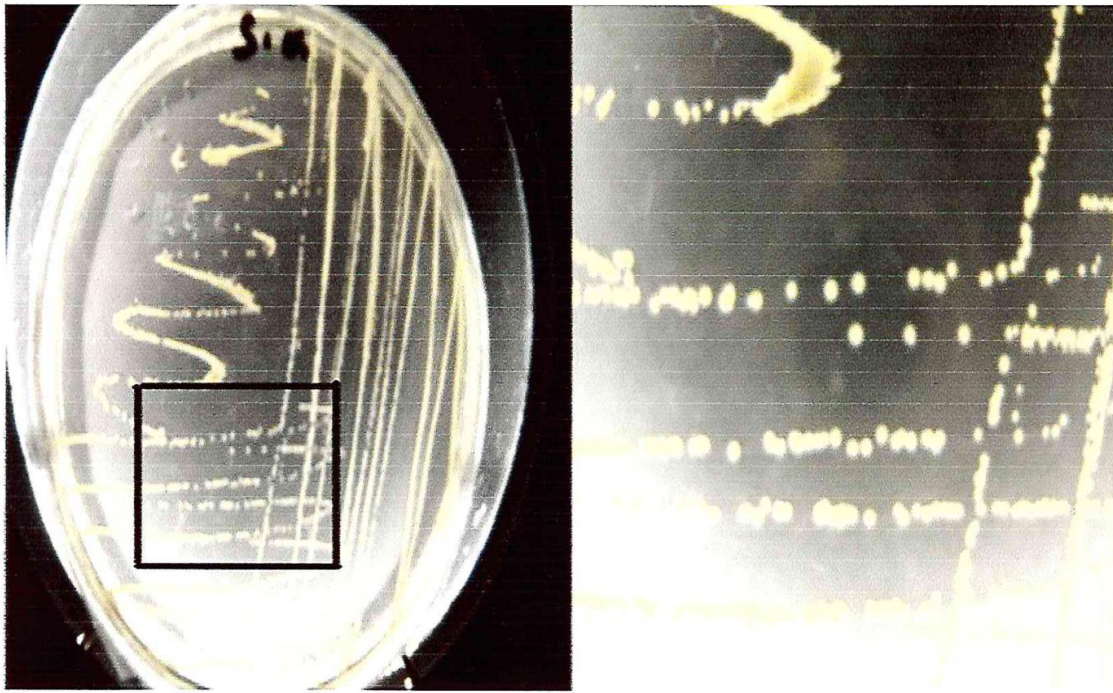


Figure III-9 : photo de culture pure *Staphylococcus aureus* après 24h d'incubation

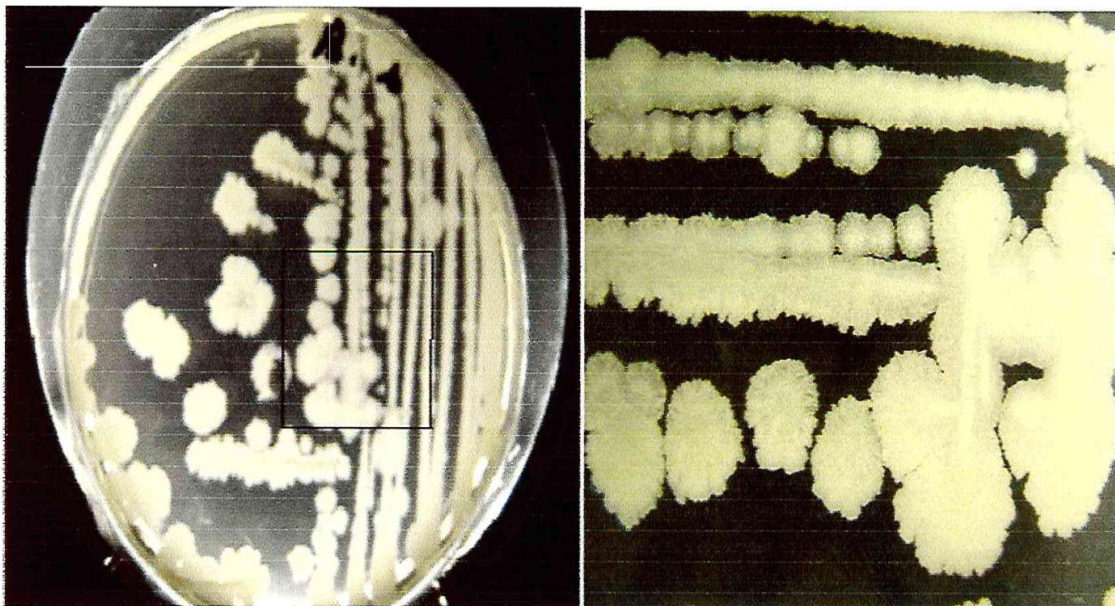
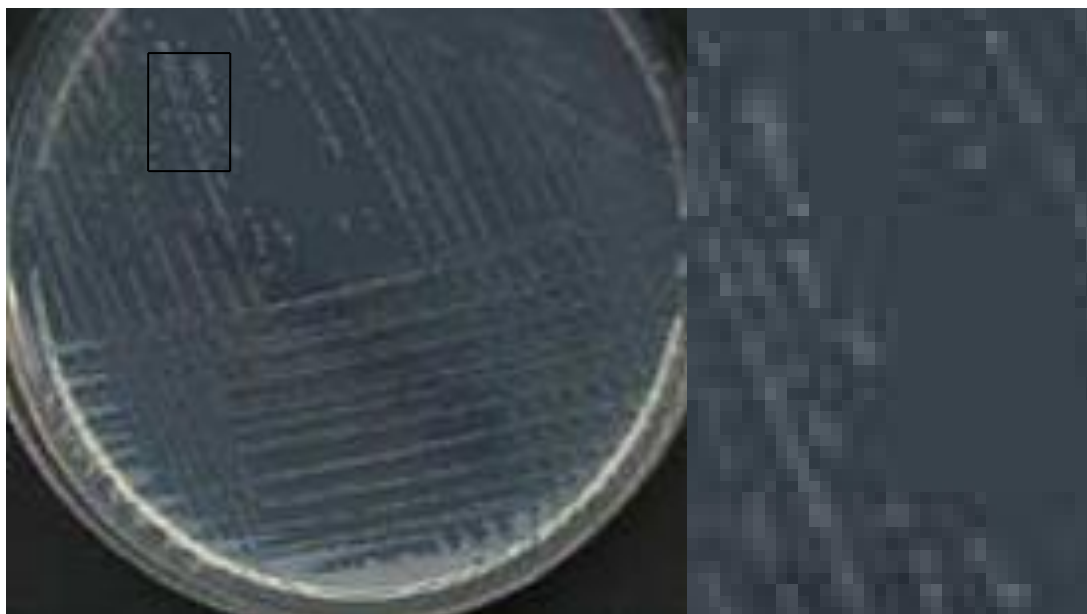


Figure III-10 : photo de culture pure de *Bacillus cereus* après 24h d'incubation



**Figure III-11** : photo de culture pure de *Listeria Monocytogenes* après 24h d'incubation

### **III-6-2 Préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture pure des bactéries sur milieu d'isolement (GN) ayant au maximum 24h. On racle à l'aide d'une pipette pasteur scellée quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Ensuite, on décharge la pipette pasteur dans 10 ml d'eau physiologique stérile et on homogénéise la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une D.O égale à 0.08 à 0.10, lue à la longueur d'onde de 625 nm qui correspond à 10 UFC/ ml (Gachkar et al., 2007) .

### **III-6-3 Ensemencement**

#### **III-6-3-1 Technique de diffusion sur gélose**

La méthode des disques permet de déterminer la susceptibilité des bactéries aux agents antibactériens. Cette technique est réalisée selon les recommandations de Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI M02 –A10 (CLSI, 2009).

Des disques en papier filtre Wattman n°4 de 6 mm de diamètre sont stérilisés par autoclavage, puis imprégnés par les extraits à tester.

Le milieu de culture recommandé est le Mueller Hinton à PH 7.2 à 7.4.

L'ensemencement se fait par écouvillonnage de l'inoculum sur la gélose grâce à des stries serrées toute en tournant la boîte à 60° à 3 reprises. Ensuite les disques sont déposés dans les boîtes sur la gélose préalablement ensemencé.

Après 15 min de l'application des disques, les boîtes sont incubées à 30 ±2 °C pendant 18 à 24 heures.

La lecture des résultats se fait par la mesure de diamètres des zones d'inhibition uniformément circulaire (mm) .Les résultats sont exprimé par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souche vis-à-vis de l'extrait (**Ponce et al., 2003**).

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre inférieur à 8mm.
- Sensible(+) diamètre compris entre 9à 14 mm.
- Très sensible (++) diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) diamètre supérieure à 20 mm.

### **III-7- Test antifongique**

Ce test est réalisé de la même manière du test antibactérien en remplaçant la suspension bactérienne par un implant de champignon préalablement revivifié.

#### **III-7- 1 préparation de la Souche fongique**

Pour revivifier une souche fongique il est nécessaire de :

-Transférer un implant mycélien de 8 mm de diamètre de la souche fongique conservée dans des boîtes contenant le milieu PDA.

-on observe qu'après une semaine d'incubation de 25<sup>0</sup>C à l'étuve, la culture recouvre toute la surface du milieu.

➤ **Confirmation de la souche fongique**

L'examen direct montre des champignons (mycètes) d'aspect filamenteux caractérisés par une structure tubulaire, ramifiée, et plurinucléé avec une présence d'une organisation particulière (hyphes- mycélium- spores- thalle...) qui les distingues des autres.

### **III-7- 2 Ensemencement des boites**

La méthode utilisée est celle précédemment décrite pour les bactéries (méthode de diffusion) en remplaçant le milieu Mueller Hinton par celui du milieu PDA.

Dans cette méthode le milieu de culture utilisée est la gélose de PDA à un pH de 7.2 à 7.4, l'inoculum est préparé par suspension de 5 colonies distincte d'une culture jeune de 24 h dans 5 ml d'eau physiologique stérile. L'inoculum est ajusté par standard 0.5 Mc Farland par un spectrophotomètre à 530 nm soit une densité de 0.12 à 0.15 pour avoir  $1 \text{ à } 5 \times 10^6$  cellule /ml. Après 15 minute de préparation de la suspension fongique, la surface de gélose PDA est ensemencée par écouvillonnage 3 fois avec une rotation de la boite de pétri de  $60^0$  pour assurer une bonne distribution de l'inoculum.

Des disques stériles en papier filtre (6 mm) sont imprégnés par les extraits à test et sont déposés sur la gélose.

### **III-7- 3 Lecture**

La sensibilité et la résistance de champignon est appréciée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition en (mm), de croissance microbienne autour du cylindre ou du disque. (Benhassaini et *al.*, 2003).

### **III-8- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

#### **III-8-1- Méthode de dilutions en milieu solide (méthode directe)**

Une solution-mère de concentration de 100 mg/ml est obtenue par dissolution de 1g de l'extrait sec de chaque plante dans 10 ml d'eau distillée stérile. Des volumes de 0.25 ml, 0.5 ml, 0.75 ml, 1 ml, 1.25 ml, 1.5 ml, ....3.5 ml et 4ml sont pris et complétés jusqu'à 15 ml par le milieu MH ; La gamme des concentrations finales ainsi obtenues correspond à 1.66 mg/ml – 3.33 mg/ml – 5 mg/ml – 6.66 mg/ml – 8.33 mg/ml – 10 mg/ml - ...26.33 mg/ml. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, la croissance est comparée à celle du témoin. On agite jusqu'à la dispersion des extraits dans la gélose puis on coule les milieux dans des boites de pétri, tous les essais sont réalisés trois fois.

La CMI est définie comme la plus petite concentration d'extrait pour laquelle aucune croissance n'est visible comparativement au témoin sans extrait (**Guinoiseau, 2010**).

---

# **Chapitre IV**

## Résultats et discussions

---

## IV - Résultats et discussions

### IV -1- Résultats et discussions de l'extraction et d'analyses des polysaccharides pariétaux

#### IV -1-1- Détermination de la teneur en eau

D'après les résultats d'un travail de (Madouri, 2015) qui a été faite dans la région de Bécher il est trouvé que : la teneur en eau représente plus que la moitié du poids frais des racines de *Rétama raetam* avec un taux de 61.33 %.

Selon (Bokhari, 2016) : La teneur en eau est plus importante dans les racines jeunes que dans les racines adultes néanmoins dans les racines adultes elle n'est pas négligeable 50.6%.

#### IV -1-2- Rendement de paroi brute

Le travail de (Madouri, 2015) a montré que : rendement de paroi brute des racines de *Rétama raetam* étudiée est important puisqu'il représente plus que 2/3 de la poudre végétale et ces résultats sont comparables avec ceux obtenus par (Bokhari, 2016) qui a constaté que le rendement de paroi brute des racines de *Rétama raetam* adulte est de 65.66 % ce dernier est plus élevé que ceux des rameaux, 58.80 % de la même espèce.

### IV -1-3-Rendements d'extraction des fractions polysaccharidiques

#### IV -1-3-1-Obtention de résidu pariétal (RP) et délignification

Afin d'obtenir les RP des racines de *R.raetam*. Nous avons utilisées le protocole qu'a été adopté par de (Harche et al., 1990) .Le schéma générale du Protocol est présenté dans la partie expérimentale. Puis, après cette étape vient l'étapes de délignification qui consiste à éliminer les lignines sans désoultion ou modification des polysaccharides, et pour cette étape, nous avons utilisées la méthodes de (Gabrielli et al., 2000) qu'est basée sur l'utilisation de la soude à 1% diluer dans l'éthanol à 70 % .

#### IV -1-3-2- obtention de la cellulose et hémicellulose

Afin de caractériser les pectine, les celluloses et les hémicelluloses des racines de *R.raetam*, le protocole expérimental utilisés pour l'extraction séquentielle et sélective des polysaccharides pariétaux à été adopté à celui proposé par de (Chanda et al.,1950) le schéma général de l'extraction est présenté dans la partie expérimental, Les résultats de l'extraction du

(Madouri,2015) de ces polysaccharides pariétaux par ce protocole montrent une légère différences de pourcentage en cellulose du résidu lignifié et délignifié, il est de 84% et 80% respectivement.

Le teneur en cellulose est plus élevée dans la fraction lignifiée que délignifiée ce qui signifie qu'une partie de la cellulose pourrait être dégradée et perdue au cours de traitement de la délignification.

Aussi d'après le même travail, les pectines et les lignines représentent environ 04 % des polysaccharides pariétaux des racines de *R.raetam*.

(Bendahou et al., 2007) ont trouvé que la cellulose extrait de rachis de *Phoenix dactylifera* représente 44 % et celle extrait des feuilles seulement 33%, dans le même contexte il y'a aussi les travaux de (Boual et al., 2009) qu'ont trouvé que chez d'*Astragalus armatus*, une autre fabaceae des zones arides, la cellulose représente 79% du résidu pariétal une teneur parfaitement comparable à celle de la cellulose de *Rétama raetam*.

D'après ces résultats, le taux des hémicelluloses est faible par rapport à celui de la cellulose et les fractions lignifiées sont supérieures à celui délignifié. Les hémicelluloses sont en plus faible proportion dans les parois secondaires et sont plus difficiles à extraire dans les tissus secondaires(Bokhari et al.,2015).

L'estimation pondérale de différentes catégories des polysaccharides pariétaux montre que la cellulose représente largement la fraction la plus abondante (80%) dans la paroi des racines de *Rétama raetam* adultes tandis que les hémicelluloses (12%, 16%) viennent en deuxième position (Bokhari et al., 2015)

#### IV -1-4- Dosage colorimétrique des oses neutres et des oses acides

D'après (Madouri, 2015) qu'a utilisé la méthode de dosage par MHBP, la moyenne des rapports massiques entre les concentrations des oses acides et les concentrations des hémicelluloses de *R.raetam* est de 0.08 mg/ml. Donc la teneur en oses acides pour cette méthode est de 8%.

Ces résultats montrent que les hémicelluloses des racines de *Rétama raetam* sont très riches en oses neutres telle que le glucose, la xylose et l'arabinose ce qu'est parfaitement comparable avec les résultats obtenues par (Bokhari et al., 2015) dont le pourcentage des oses neutres

dans les hémicelluloses des racines de *Rétama raetam* est de 80% en moyenne tandis que les oses acides sont de l'ordre de 3.6 %.

Selon (Madhava et al., 2011) qu'ont montré que les graines d'*Astragalus armatus* sont riches en oses neutres avec  $55.62 \pm 0.89\%$  par rapport des graines de *Fenugrec* ( $51.2 \pm 0.28\%$ ).

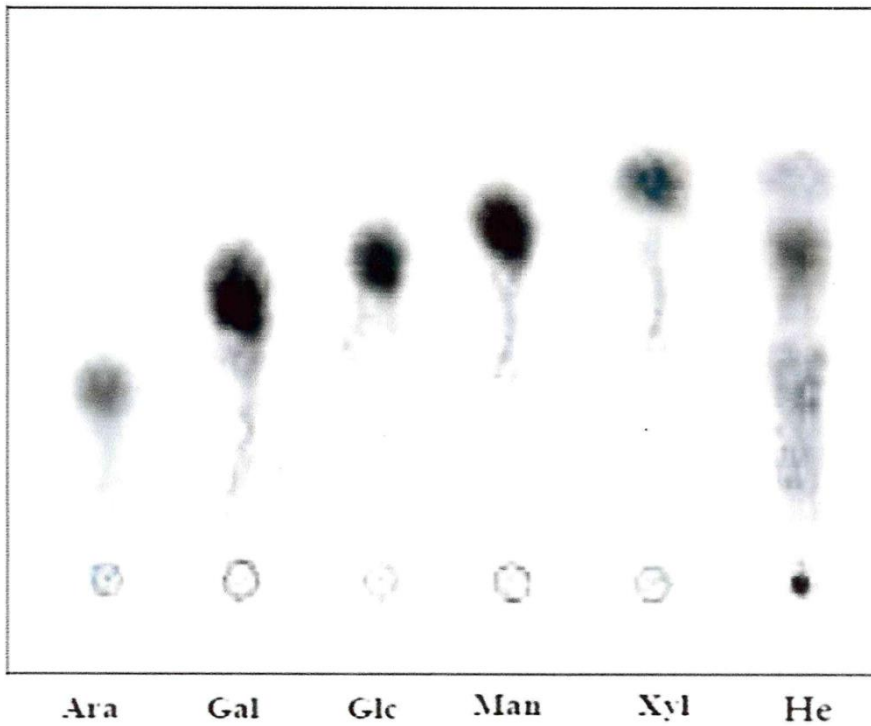
D'autre étude sur une autre espèce des zones arides *Plantago psyllium*, le pourcentage le plus élevé est celui des oses neutres 84.98 % avec une teneur de 12% des oses acides (Quin et al., 2007).

#### IV -1-5- Analyse quantitative de la fraction hémicellulosique par CCM

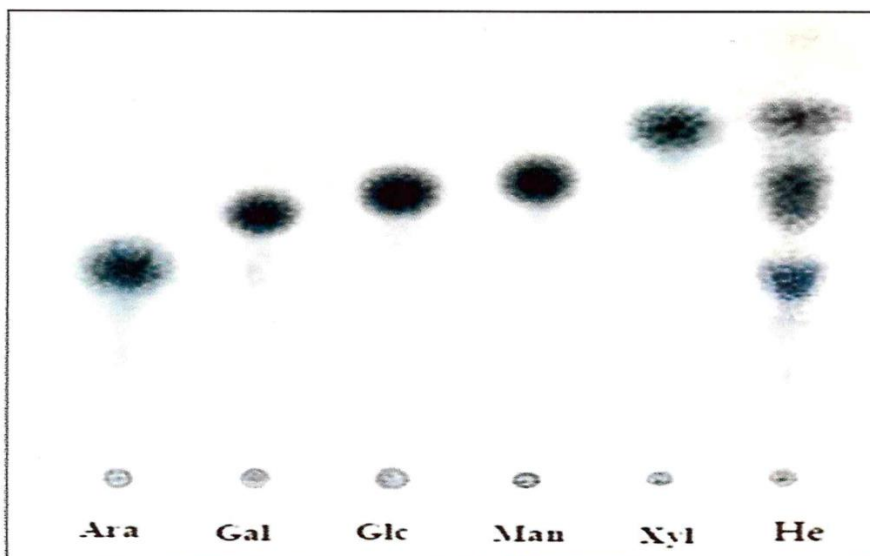
Les résultats obtenues par (Madouri, 2015) ont montré que l'analyse chromatographique de l'hydrolysat de la fraction hémicellulosique des racines de *R.raetam* obtenue à partir du résidu pariétal brute extrait par le protocole de (Chanda et al., 1950) a révélé la présence de glucose, xylose et d'arabinose (Figure IV-1 et Figure IV -2) ainsi que l'identification des spots a été faite par la calculé du Rf et leur comparaison avec les Rf des sucres témoins (Tableau IV -1) et d'après ces résultats il est trouvé que les hémicelluloses sont de type xyloglucanes.

**Tableau IV -1** : facteur de rétention (Rf) des spots apparus en comparant avec les sucres témoins

Ose (sucre)	Rf	Présence dans les hémicelluloses
Xylose	0.48	+
Glucose	0.42	+
Galactose	0.39	-
Arabinose	0.35	+
Mannose	0.44	-



**Figure IV -1 :** caractérisation par CCM des hémicelluloses pariétaux des racines brutes de *Rétama raetam* après hydrolyse acide par  $H_2SO_4$  concentré.



**Figure IV -2 :** caractérisation par CCM des hémicelluloses pariétaux des racines délignifiées de *Rétama raetam* après hydrolyse acide par  $H_2SO_4$  concentré.

Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par (Bouredja et al., 2014) où l'hémicellulose des racines de *Rétama monosperma* est de types xyloglucanes dont la chaîne principale est constituée de glucose avec des ramifications xylose.

Les glucanes comme des constituants des parois secondaires, elles contiennent souvent de l'arabinose et de l'acide glucoronique elles sont alors nommées xylo arabino glucane (**Barnoud et al., 1973 ; Comtat et Joseleau., 1981**).

Des résultats similaires ont été obtenus chez les rameaux de la même espèce où les hémicelluloses sont de type xyloglucanes (**Bokhari, 2014**).

**Tableau IV -2** : résultats de l'analyse quantitative par CCM des hémicelluloses de plantes ligneuses.

Genre et espèce	Organe étudié	Hémicelluloses	Références
<i>Opuntia ficus indica</i>	Raquettes (variété comestible)	Xylose Glucose Galactose	<b>Mehtougui, 2008</b>
<i>Opuntia ficus indica</i>	Raquettes (variété non comestible)	Xylose Glucose Galactose Sucre non identifié	<b>Mehtougui, 2008</b>
<i>R.monosperma</i>	Rameaux	Xylose Glucose Galactose	<b>Bokhari,2004</b>
<b>R.raetam</b>	Rameaux	Glucose Xylose	<b>Bokhari, 2014</b>

## IV -2- Résultats et discussions de l'activité des hémicelluloses sur la croissance des microorganismes

### IV 2-1-Résultats des tests de confirmation :

Les résultats des tests de confirmation sont résumés dans le **Tableau IV -3 :**

**Tableau IV -3 :** Résultats des tests de confirmation des souches bactériennes testées

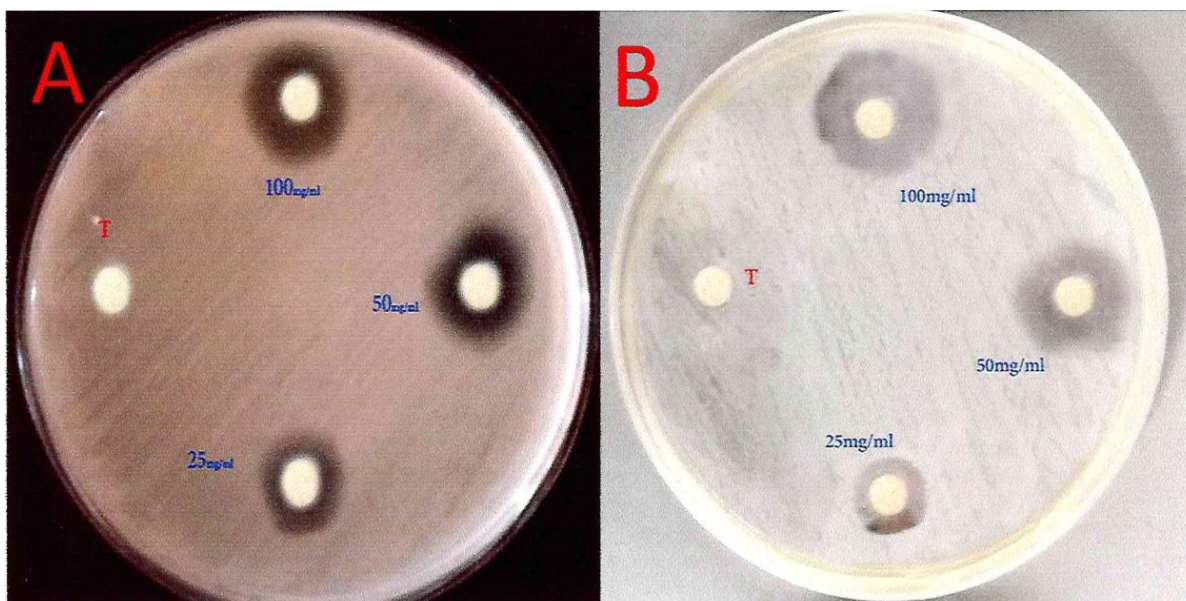
	<b>Examen microscopique</b>	<b>Coloration de Gram</b>	<b>Catalase</b>	<b>Mannitol mobilité</b>	<b>Type respiratoire</b>
<b><i>E.coli</i> ATCC 25912</b>	Coco-bacilles	-	-	Mobile	Aéro- anaérobie facultatif
<b><i>P.aureuginosa</i></b>	Bacille	-	+	Mobile	Aérobie strict
<b><i>S.aureus</i> ATCC 25923</b>	Cocci en amas	+	+	Immobile	Anaérobie facultatif
<b><i>L.Monocytogenes</i> ATCC 15313</b>	Bacille	+	+	Mobile	Aéro- anaérobie facultatif
<b><i>E.faecalis</i> ATCC 49452</b>	Coque courte Chaines	+	-	Immobile	Anaérobie facultatif
<b><i>B.subtilis</i> ATCC 21332</b>	Bacille	+	+	Mobile	Aéro- anaérobie facultatif
<b><i>B.cereus</i> ATCC 10876</b>	Bacille	+	+	Mobile	Aérobie ou aéro- anaérobie

#### IV 2-2-Résultats et discussions de l'activité antimicrobienne des hémicelluloses

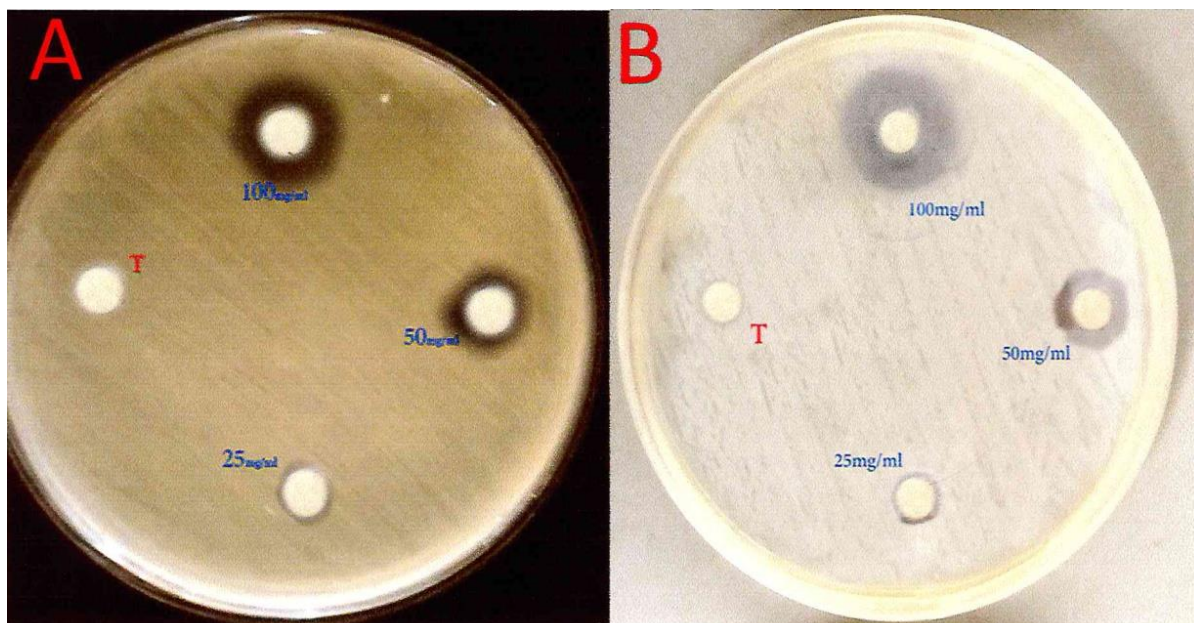
Ce travail a porté sur la recherche de l'activité antifongique et antibactérienne des polysaccharides pariétaux et particulièrement l'hémicellulose des racines de *R.raetam*.

##### IV 2-2- 1-Résultats et discussions de l'activité antibactérienne des hémicelluloses

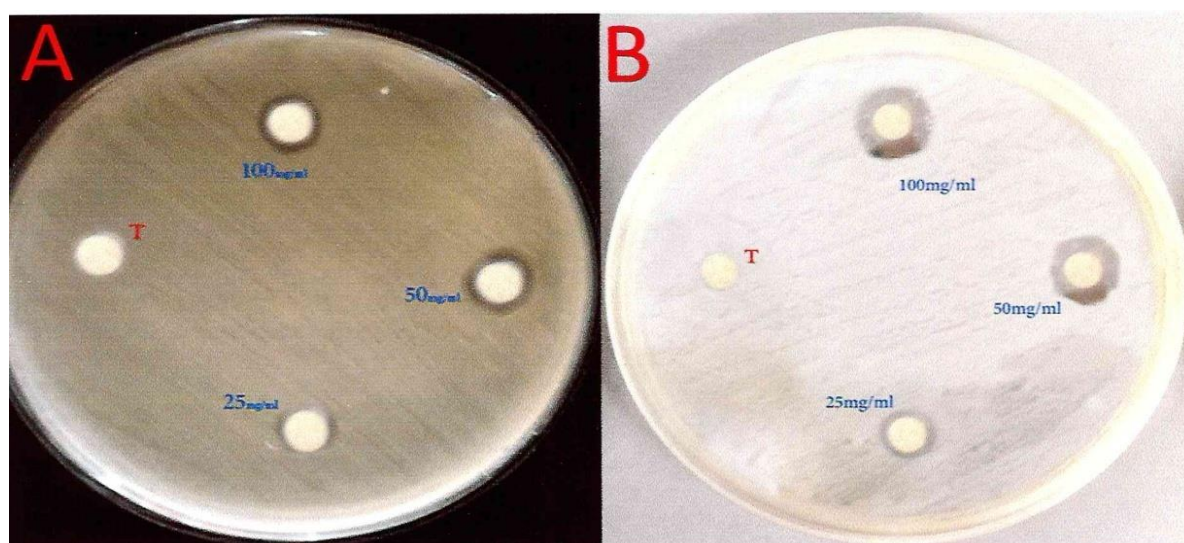
(Madouri, 2015) a montré que l'évaluation de l'activité antimicrobienne des hémicelluloses par la méthode de diffusion a permis de mettre en évidence différents niveaux d'efficacité de cette substance sur les souches bactériennes. Cette sensibilité est caractérisée par des zones d'inhibitions (Figure IV -3...Figure IV – 5) et leurs diamètres qui sont variables d'une souche à l'autre et dépendent de la concentration des hémicelluloses et de la structure de ces dernières ainsi que ce travail a montré que les hémicelluloses extraites des racines de *R.raetam* ont un effet inhibiteur sur la croissance de la majorité des espèces bactériennes testées.



**Figure IV -3 :** Photo d'inhibition de la croissance d'*E.coli* ATCC 25922 et limites d'activité des hémicelluloses (A : délignifié B : brute)



**Figure IV -4 :** Photo d'inhibition de la croissance de *S.aureus* ATCC 14028 et limites d'activité des hémicelluloses (A : délignifié B : brute)



**Figure IV -5 :** Photo d'inhibition de la croissance de *E.faecalis* ATCC29212 et limites d'activité des hémicelluloses (A : délignifié B : brute).

Les résultats des tests d'activité antimicrobienne des 2 fractions hémicellulosique HeL et HeD qui sont faites par (Madouri,2015) ont montré que la fraction lignifiée a un effet inhibiteur plus important que celle délignifiée et cela pour toutes les souches bactériennes qu'ont montré une sensibilité ,ainsi que ces hémicelluloses ont inhibés la croissance des deux bactéries l'une à G+ (*Staphylococcus aureus*)et l'autre à G- (*E.coli*) et ces dernier sont considérés comme les plus sensibles parmi les bactéries testés tandis que *B.cereus* c'est la souche la plus résistante .

D'après (Madouri, 2015) fraction hémicelullosique lignifié réagie positivement contre la majorité des souches testées avec des faibles CMI, alors que la fraction hémicelullosique délignifié réagie avec des valeurs de CMI plus élevés, ce qui montre une résistance progressives des souches en absence des lignines.

Les résultats obtenues par ce travail montrent que ,la plus grande activité a été observée pour des concentrations de l'ordre de 100 mg/ml et la plus faible pour des concentrations de 25 mg/ml avec une activité nulle pour le témoin négatif et montrent aussi que *E.coli* et *S.aureus* sont les souches les plus sensibles alors que *B.cereus* représente la souche la plus résistante.

(Madouri, 2015) a montré aussi que l'hémicellulose traité par la chaleur humides ne présente aucun effet inhibiteur sur toutes les souches testées quel que soit sa composition.

Peu de travaux ont été réalisés sur l'activité antimicrobienne des polysaccharides et l'hémicelluloses particulièrement parmi eux on trouve :

Les travaux de (Edziri et al., 2012)ont montré que les fleurs de *Rétama raetam* présentent une activité importante contre des bactéries responsables des infection nosocomiales (*Staphylococcus aureus* ATTC 25923 , *Escherichia coli* ATTC 25922, *Enterococcus faecalis* ATTC 29912, *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 29950) .

D'autres études sur les extraits brutes des polysaccharides de *Ferula communis* (une autre espèce saharienne) présentent une activité antibactérienne remarquable sur *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 27853 avec une zone d'inhibition de diamètre 36 mm à une concentration de 5mg/ml et sur *E.coli* pour la même concentration avec un diamètre de 7.5 mm. Pour *Listeria Monocytogenes* aucun effet n'est observé dans toutes les concentrations (Abekhti et Ben Ahmed, 2019).

Des études antérieurs comme (Qian en 2014), trouve que les polysaccharides hydrosolubles issus de la citrouille *Cucurbita moschata* (Cucurbitaceae), sont isolés par

la cellulase. Ce polysaccharide a une activité antibactérienne élevée contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* à concentration de 100 mg/ml.

Les propriétés antimicrobiennes de polysaccharides naturels sont dues à leur structure chimique où la présence d'un groupe carbonyle hautement réactif a été détectée. Le groupe carbonyle est capable de lier des amines primaires pour produire une Combinaison stable entre les polysaccharides et des protéines (glyco conjugués) (Boukmara, 2017).

D'après (Wasser, 2002) la différence dans l'activité biologique des polysaccharides peut être corrélée avec la solubilité dans l'eau, la taille de la molécule, taux ou le nombre de ramification.

(Oussalah et al., 2007) ont rapporté que la différence dans les activités antibactériennes des extraits des plantes notamment les polysaccharides peut être liée à la concentration, à la nature et le contenu, aux groupements fonctionnels, à la configuration des composés et leur interaction synergique possible.

Selon (Wang et al., 2007) les fractions chromatographiques obtenues après HPLC.MS qui ont une activité antibactérienne sont composés de Glu-Xyl, Glu-Rha-Rha ou Rh-Glu-Rha, et Glu-Glu-Glu-Xyl-Xyl. Avec des poids moléculaires 533 Da, 452Da et 678Da.

D'après (Benaoun, 2017) qu'est basée sur l'analyse par RMN, elle est trouvée que Les spectres RMN<sup>13</sup>C/<sup>1</sup>H ont révélé des signaux complexes caractéristiques de polysaccharides possédant différents motifs de substitutions.

Pour cela il serait intéressant d'identifier la structure des fractions hémicellulosique racinaires qui ont donné des résultats significatifs, en utilisant HPLC, RMN...

#### IV 2-2- 2-L'activité antifongique des hémicelluloses

##### A.Résultats et discussions de l'activité antifongiques des hémicelluloses

Actuellement, il n'existe pas des travaux qui sont étudiées l'activité antifongique des fractions hémicellulosique racinaires lignifié et délignifié de *Rétama raetam* sur la croissance mycélienne et la sporulation des souches fongiques cités dans ce travail

Mais il existe d'autres travaux qui sont étudiées l'effet antifongique des déférentes substances naturelle prévenants de différentes parties de la plantes « *Rétama raetam* ».Parmi ces travaux on trouve :

Les travaux de (**Benzohra et al., 2019**) qui sont évaluées l'activité antifongique de l'extrait méthanolique de la partie aérienne composés des rameaux et des feuilles de *R. raetam* sur la croissance mycélienne et la sporulation de *Fusarium oxysporum*, ils sont utilisées le test de l'extrait en puits. Ils sont trouvée que Les extraits méthanolique sont montré un taux d'inhibition important qui a atteint jusqu'à 62,6% sur la croissance mycélienne des colonies des souches *F.oxysporum* et a dépassé 70% sur la sporulation pour la concentration à 10-1 g/ml de l'extrait.

D'après (**Abushaala et al.,2017**) ont montré que l'extrait du R'tem présente une importante capacité antifongique sur plusieurs espèces fongiques telluriques comme :*Fusarium oxysporum*, *Fusarium sp.*, *F. solani*, *Aspergillus flavus*, *Alternaria alternata*.

L'importance des extraits de la plante *Rétama raetam* contre les agents phytopathogènes a été rapportée par (**Edziri et al.,2010 ; 2012**) contre les espèces fongiques de *Candida*, par (**Belabid et al.,2010**) contre *Fusariumoxysporum f. sp.albedinis*, agent de flétrissement vasculaire de la lentille.

(**Al-Rahmah et al., 2013**) ont rapporté que le taux d'inhibition a arrivé jusqu'à 100% contre les agents de fonte de semis (*Pythiu multimum*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*), par l'utilisation de l'extrait de la plante *Salvador persica*.

# Conclusion

---

## Conclusion

L'émergence récente de la résistance aux antibiotiques à travers toutes les souches bactériennes pathogènes a profondément troublé le milieu médical, exprimant un besoin urgent pour de nouvelles classes d'antibiotiques. C'est pourquoi l'investigation pharmacologique des Plantes médicinales traditionnelles reste importante pour offrir des bases scientifiques pour l'usage traditionnel des plantes et fournir à la société de nouvelles sources de médicaments sains et efficaces. Les objectifs visés par ce travail sont l'extraction des polysaccharides pariétaux à partir des tissus des racines de *Rétama raetam*, à l'effet de les analyser ainsi que la recherche de l'activité antimicrobienne des hémicelluloses.

L'extraction et l'analyses du résidu pariétal des tissus racinaires de la plante étudiée ont montré la présence de trois polysaccharides, cellulose, hémicelluloses et pectine, sachant que la cellulose reste le composant majeur des polysaccharides de la paroi.

Les résultats obtenus montrent que le taux de la cellulose et d'hémicelluloses est variable selon la fraction étudiée (brute ou délignifiée).

Le dosage colorimétrique après hydrolyse acide des hémicelluloses délignifiés montre leur richesse en oses neutres avec une faible quantité en oses acides.

L'analyse biochimique qualitative par CCM après hydrolyse acide a révélé la présence de trois oses : glucose, xylose et arabinose, donc un polysaccharide de type arabino-xylo-glucane et cela quel que soit la fraction hémicellulosique étudiée.

Les hémicelluloses des tissus racinaires de *R. raetam* sont possèdent une bonne activité antimicrobienne, la meilleure activité a été observée avec *Staphylococcus aureus* et *E.coli* par contre *B.cereus* reste la bactérie la plus résistante.

D'après les résultats obtenus au cour de cette étude, l'importance de l'activité inhibitrice contre la majorité des souches bactérienne étudiées de HeL par apport au HeD a montré que la délignification a affecté la confirmation (ramification) de ces polysaccharides, cette dernière semble l'agent responsable de l'effet inhibiteur de cette biomolécule.

Les résultats obtenus aussi ont montré que la concentration, la nature et la dispersion des chaînes latérales des polysaccharides sont des facteurs qui influent sur leurs activités antimicrobiennes.

Les résultats de ce travail ouvrent la voie à de nombreuses études plus approfondies, dont l'objectif final sera de comprendre le mode d'action des hémicelluloses sur les microorganismes, aussi d'étudier l'effet et le mode d'action de ces hémicelluloses sur les moisissures toxigènes.

Il serait intéressant aussi de :

- Identifier la structure des polysaccharides qui ont donné des résultats significatifs, en utilisant HPLC, RMN.
- Rechercher d'autres activités biologiques de ces polysaccharides tels que l'activité antalgique, cytotoxique, hémostatique, anti-inflammatoire ...

L'activité antibactérienne révélée dans les hémicelluloses des racines de *Rétama raetam* confère à la plante des vertus thérapeutiques vis-à-vis certaines pathologies.

# Références bibliographiques

---

1. **Abekhti et Ben Ahmed.** Activités biologiques des polysaccharides hydrosolubles de deux plantes spontanées du Sahara algérien. Mémoire de Master. Université Echahid Hamma Lakhdar, El oued, (2019) :60pp+annexes.
2. **Abushaala, Benramadan & Fahej.** In vitro antifungal activity of some plant extract against seedborne pathogens. IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS).Vol .10(04),(2017) : pp 49-57
3. **Adachi, 1965.** In: **Ghebregzabher, Rufinis, Monaldi, Lato.** Thin-layer chromatography of carbohydrates. J. Chromatogr.Vol.127, (1976): pp 133-162.
4. **Aissaoui.** Etude de molécule d'antibiotique biosynthétisées par une bactérie extremophile issue d'une Sebkhia Algérienne d'EL Goléa.Thèse de magistère, université de Tlemcen, (2013) :134+annexes.
5. **Albersheim, Darvill, Roberts, Sederoff & Staehelin.** Plant cell walls: from chemistry to biology. Garland Science, New York, (2011).
6. **Alèn.** Structure and chemical composition of wood, Papermaking Science and Technology.Vol. 3, (2000):pp11-57.
7. **Al Rahmah, Mostafa, Abdel-Majeed, Yakout & Hussein .**Fungicidal activities of certain methanolic plant extracts against tomato phytopathogenic fungi. African Journal of Microbiology Research .Vol.07 (06), (2013): pp 517-524.
8. **APG, 2009.**In : **Benelhadj .**Rôle de symbioses végétales dans la réhabilitation de la sablière de Terga (wilaya d'Ain temouchent). thèse, diplôme de doctorat (LMD). Faculté des sciences de la nature et de vie, université d'Oran Ahmed ben bella, (2018) :140pp+annexes.
9. **Bahroun , Gressier , Trotin , Brunet , Dine , Luycks , Vasseur , Cazin , Cazin & Pinkas.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. Arznei. Forschung, vol.46, (1996):pp1086-1089.
10. **Barbat, Moine, Krausz & Gloaguen.** Extraction, characterization and biological properties of a 4-O-methyl glucuronoxylan from hard wood. A review. In Comprehensive Bioactive Natural Products. Vol. 6, (2010): Extraction, Isolation & Characterization.

11. **Barnoud**, 1973. In : **Mehtougui** . Extraction et analyses qualitative et quantitative des deux variétés d'*Opuntia ficus indica*. d'âge différent. Mémoire de Magister, USTO, Oran, (2008) :103pp.
12. **Belabid, Simoussa & Bayaa** .Effect of some plant extracts on the population of *Fusarium oxysporum f. sp. lentis*, the causal organism of lentil wilt. Advances Environmental Biology .04(1), (2010): pp95-100.
13. **Benaoun**. Caractérisation Structurale et Potentiel Biologique des Polysaccharides issus de *Plantago notata Lagasca (Plantaginaceae)* et *Urginea noctiflora Batt.et Trab. (Liliaceae)*. Thèse doctorat, Université Kasdi Merbah, Ouargla, (2017) : 208 pp.
14. **Bendahou, Benyoucef, Benkhedda, Elissa costa**. Influence of the processes extraction on essential oil of *Organum glandulisom*. Journal of applied sciences.Vol.8, (2007):pp1152-1157.
15. **Beniston** .Fleurs d'Algérie. Entreprise national des arts graphiques. Ed : Reghaia, Algérie, (1985) :112pp.
16. **Ben Salah**. Les glucides. Biochimie Cours et exercices. Cours de publication universitaires. Ed, Centre de publication universitaire. Tunisie. (2007) : pp 39-52.
17. **Benzohra, Megateli, Belaidi et Toumi**. Activité antifongique de l'extrait méthanolique de R'tem (*Rétama raetam*) sur la croissance mycélienne et la sporulation de *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*, agent de Bayoud du Palmier dattier. Journal Algérien des Régions Arides (JARA).Vol 13(2), (2019) : 01-11 -2019:11pp.
18. **Berche, Kayal, Nassif et Poyart**. Bactériologie systémique. Faculté de medecine Necker-Enfants malades, (2013) :14pp.
19. **Blumenkrantz & Asboe-Hansen**. New method for quantitative determination of uronic acids. Analytical biochemistry. Vol. 54, (1973): pp 484 - 489.
20. **Bo, , Zheng , Xing , Luo, Niu, , Huang, , Liu, , Hu, , Liu, Wu, & Wang** .The immunological activity of *Lycium barb arum* polysaccharides liposome in vitro and adjuvant city against PCV2 in vivo. International Journal of Biological Macromolecules. Vol.85, (2017): pp 294-301.
21. **Boissie** ,1939. In Bouredja. Etude anatomique et biochimique des protéines et des acides aminés foliaires de *Rétama monosperma(boiss)* .Mémoire de magistère, université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, (U.S.T.O),Oran,(2005) .
22. **Bokhari**. Contribution à l'étude de deux légumineuses ligneuse : *Rétama monosperma* et *Rétama raetam*. Histologie, Histochimie, biométrie des fibres des tiges caulinaires et

- analyses biochimiques des polysaccharides pariétaux, Thèse de magistère, USTO, Oran, (2004).
- 23. Bokhari, Faugeron, Hachem, Kaid-Harche and Vincent.** Investigation of parietal polysaccharides from *Retama raetam* roots. African journal of biotechnology. Vol.14 (29), (2015): pp 2327-2334, 22 July, 2015.ISSN 1684-5315.DOI:10.5897/AJB2015.14754.Article number: B28C75B54263.
- 24. Bokhari.** Extraction, dosage et analyse de polysaccharides pariétaux des racines de *Rétama raetam*. Thèse, diplôme de doctorat en science, université des sciences et de technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, Oran, (2016) :93pp.
- 25. Bonnin, Saulnier, Magali, &Thibault.** Release of ferulic acid from agro industrial by-products by the cell wall-degrading enzymes produced by *Aspergillus niger* I-1472. Enzyme Microbiology Technology.Vol. 31,(2002) :pp 1000-1005
- 26. Boual .**Contribution à l'étude des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est Algérien). Mémoire Magister Biochimie et Analyse des Bioproduits, université Kasdi Merbah , Ouargla,(2009) : 80pp.
- 27. Boudjouref.** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire de magistère, Université Ferhat Abbas, Sétif, (2011) :74pp+annexes.
- 28. Boukemara.** Effet de deux plantes médicinales *Anvillea garcinii* et *Zygophyllum gaetulum* sur le système immunitaire. Thèse de doctorat, université 8 mai 1945, Guelma, (2017) : 96 pp+annexes.
- 29. Boulila F ., Depret , Boulila A ., Belhadi , Benallaoua et Laguerre.***Retama* species growing in different ecological climatic areas of north eastern Algeria have a narrow range of *Rhizobia* that form a novel phylogenetic clade within the *Bradyrhizobium* genus. Systematic and Applied Microbiology. Vol. 32, (2009): pp 245–255.
- 30. Bouredja N, Mehdadi & Bouredja M.** Extraction and valuation of the hemicelluloses of the cell of *Retama monosperma boiss* in the pharmaceutical domain Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences Special Issue:1,(2014).
- 31. Brongniart et Decaisne.** Annales des sciences naturelles .seconde série. Tome xx-Botanique.Parie.Fortin, Masson and C,libraires. Ed :place de l'école de médecine,N.1.1843 Pb :S.n.,1843 copie de l'exemplaire de l'université Complutense de Madrid,(1843).numérisé le 2 juin 2008.

32. **Brudieux.** Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. A l'occasion de la relation structure/activité à la dermo cosmétique. Thèse de Doctorat, Université de Limoges, (2007) : 220pp.
33. **Caffall & Mohnen.** The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides. Carbohydrate Research. Vol. 344, (2009): pp 1879–1900.
34. **Campbell & Braam** , 1999. Co- and/or post-translational modifications are critical for TCH4 XET activity. Plant J.Vol. 15, (1999):pp 553-561.
35. **Capek, Machova & Turjan.** Scavenging and antioxidant activities of Immune modulating polysaccharides isolated from *Salvia officinalis L.* International Journal of Biological Macro molecules. Vol. 44, (2009): pp 75-80.
36. **Carpita**, 1984. Fractionation of hemicelluloses from maize cell walls with increasing concentrations of alkali. Phytochemistry. Vol. 23(5), (1984): pp 1089-1093.
37. **Carpita & Gibeaut.** Structural models of primary cell walls in flowering plants, consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. Plant J.Vol. 3, (1993): pp 1-30.
38. **Chanda, Hirst, Jones & Persival.** The constitution of xylan from esparto grass (*stipe tenasissima L.*J.chem.Soc. (1950): pp 1289-1297.
39. **Chanliaud.** Extraction, caractérisation et propriétés fonctionnelles des hétéro xylènes de son de maïs. Thèse de Doctorat de l'Université de Paris VII, Paris IX, et E.N.S.I.A, (1995) : 129 pp+annexes.
40. **Cheriti, Belboukhari & Hacini.** Savoir Traditionnel Et Valorisation Des Plantes Médicinales Du Sud Ouest Algerien. Annales de l'Université de Bechar. Vol. 1, (2005) :pp 4-8.
41. **Cipriani, Mellinger, Souza, Baggio, Freitas, Marques, Gorin, Sasaki & Iacomini.** Acidic hetero xylans from medicinal plants and their anti-ulcer activity. Carbohydrate Polymers. Vol. 74, (2008):pp 274-278.
42. **Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI**, 2009. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standards. CLSI document M02-A10.10 édi. Wayne.PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.
43. **Comtat et Joseleau**, 1981. In: Cartier. Les polysaccharides de la paroi primaire des cellules de *Rubus fruticosus* cultivées en suspension. Intervention des polysidases endogènes dans leur réarrangement au cours de la croissance. Thèse de doctorat d'État. Université de Grenoble, 1986 :447pp.

- 
44. **Copikova, Taubner, Tuma, Synytsya, Duskova & Marounek.** Cholesterol and fat lowering with hydrophobic polysaccharide derivatives. 3rd International Polysaccharide Conference, EPNOE, 21-24 October 2013, Nice-France, (2013).
  45. **Cosgrove.** New genes and new biological roles for expansins. *Curr. Opin. Plant Biol.* Vol. 3, (2000):pp 73-78.
  46. **Cosgrove.** Growth of the plant cell wall. *Nature Rev. / Mol. Biol.* Vol. 6, (2005):pp 850-851.
  47. **Darvill, Mc Neil, Albersheim & Delmer.** The primary cell wall of flowering plants. In: Stumpf P.k. & Conn E.E. (Eds), *Biochemistry of plants.* Academic Press, New York .Vol.1, (1980): pp 91-162.
  48. **Delattre .** Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de glucuronanes. Thèse de doctorat, université de Picardie Jules Verne, Valois Santerre, (2005) : 172p.
  49. **Du, Clarke & Bacie,** 1996. Arabino galactanproteins: a class of extracellular matrix proteo glycans involved in plant growth and development. *Trends Cell Biol.* Vol. 6: 411-414.
  50. **Dubois, Gilles, Hamilton, Rebers & Smith.** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry.* Vol.28,(1956):pp 350-356.
  51. **Ebringerova & Heinze.** Xylan and xylan derivatives- biopolymers with valuable properties. Naturally occurring xylans structures, isolation procedures and properties *Macromolecul. Rapid Commun.* Vol. 21, (2000): pp 542-556.
  52. **Ebringerová .** Structural diversity and application potential of hemicelluloses. *Macro molecular Symposia .* Vol.232, (2005): pp 1-12.
  53. **Ebringerová, Hromádková, Kost'alová & Sasinková.** Chemical valorization of agricultural by-products: isolation and characterization of xylan-based antioxidants from almond shell biomass. *BioResources.* Vol. 3, (2008): pp 60-70.
  54. **Edziri, Maha, Cheraif et Mahjoub.** Chemical composition and antibacterial, antifungal and antioxidant activities of the flowers oil of *Retama raetam (Forssk)*. Webb from Tunisia. *Natural Product Research.* Vol.24, (2010):pp789-796.
  55. **Edziri, Mastouri, Mahjoub, Mighri, Mahjoub & Verschaeve.** Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of two flavonoids from *Retama raetam* flowers. *Molecules.* Vol .17, (2012):pp 7284-7293.
  56. **El Hamrouni.** Conservation des zones humides littorales et des écosystèmes côtiers du Cap-bon. Rapport de diagnostic des sites .partie relative à la flore et la végétation.
-

- République Tunisienne .Ministère de l'environnement et de l'aménagement du territoire .agence de protection et d'aménagement du littoral,(2001) ; pp 6-38.
- 57. Evanari, Shanan & Tadmor.** The Negev. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, (1971).
- 58. Farchichi,** 1996.In : **Mahnane.** Appréciation de la diversité génétique du genre *Rétama* par les marqueurs biochimiques. Mémoire, diplôme de magistère, université Mentouri, Constantine, (2010) :42 pp+annexes.
- 59. Forkel ,**1775. In : Bouredja. Etude anatomique et biochimique des protéines et des acides aminés foliaires de *Rétama monosperma* (boiss) . Mémoire de magistère. UNIV.des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf (U.S.T.O) Oran, (2005).
- 60. Fredon.** Obtention de films plastiques hydrophobes à partir de polysaccharides contenus dans des co-produits agricoles. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse, (2001) :173 pp.
- 61. Fry.** Polysaccharides-modifying enzymes in plant cell wall. Annu.Rev. Plant Physiol. Vol. 46, (1995): pp 497-520.
- 62. Gabrielli, Gatenholm, Glasser, Jain & Kenne.** Separation, characterization and Hydrogel-formation of hemicelluloses from aspen wood.Carbohydr.Polym. Vol.43, (2000): pp 367-374.
- 63. Garrett & Grisham.** Biochemistry. 2nd Ed., DeBoeck University, (2000):1254 p.
- 64. Ge, Duan, Fang, Zhang & Wang.** Polysaccharides from fruit calyx of *Physalis Alkekengi* var *francheti*: Isolation, purification, structural features and antioxidant activities, Carbohydrate Polymers .Vol.77,(2009) :pp 188-193
- 65. Giri & Nigam,** 1953. In: **Ghbregzabher, Rufinis, Monaldi & Lato** .Thin-layer Chromatography of carbohydrates. Jour. Chromatogram. Vol. 127, (1976):pp 133-162.
- 66. Guinoseau.** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat, université de Corse, Pasquale Paoli, (2010) :143pp+annexes.
- 67. Guo, , Li S., Li, J., Ren, Chen & Wang, .** Anti hyperglycemic activity of polysaccharides from calyx of *Physalis alkekengi* var. *franchetii* Makino on alloxan-induced mice. International Journal of Biological Macromolecules Vol. 99, (2017): pp 249-257.

- 68. Hachem, Astier, Chaleix, Faugeron, Krausz, Kaid-Harche & Gloaguen.** Optimization of Lead and Cadmium Binding by Oxidation of Biosorbent Polysaccharidic Moieties. *Water, Air, & Soil. Pollution*. Vol. 223(7), (2012): pp3877-3885.
- 69. Hansen & Plackett.** Sustainable Films and Coatings from Hemicelluloses: A Review. *Bio macromolecules* .Vol.9 (2008): pp 1493-1505.
- 70. Harche.** Différenciation et structure pariétale des fibres foliaires de l'Alfa (*Stipa tenacissima L.*). Thèse de Doctorat d'Etat, univ. Pierre et Marie Curie, (1990) : 88pp +annexe.
- 71. He, Wang, Zhang, , Wang, , Suna , Wang, , Cao, , & Ye.** Isolation and prebiotic activity of water-soluble polysaccharides fractions from the bamboo shoots (*Phyllostachys praecox*). *Carbohydrate Polymers*. Vol.151, (2016) :295-304.
- 72. Höije, Gröndahl, Tommeraas & Gatenholm.** Isolation and characterization of physical and material properties of arabino xylans from barley husks. *Carbohydrate Polymers*.Vol.61, (2005) :pp 266-275.
- 73. Huan.** Recherche de la fonction de protéines riches en hydroxyproline dans les parois végétales.Thèse de doctorat, université de Toulouse, (2015) :209pp+annexes.
- 74. Ighil - Hariz.** Etude du comportement physiologique biochimique et structurale du *Rétama raetam L. (R'tem)* vis à vis du chlorure de sodium. Thèse de magister, ISN, université d'Oran, (1990): 120pp.
- 75. Immune.** Modulating polysaccharides isolated from *Salvia officinalis L.* *International Journal of Biological Macro molecules* .Vol. 44: pp 75-80.
- 76. Jackson.** Pectin induces apoptosis in human prostate cancer cells: correlation of apoptotic function with pectin structure. *Glyco biology*.Vol.17, (2007): pp 805-819.
- 77. Josè-Estanyol & Puigdomènech.** Plant cell wall glycol proteins and their genes. *Plant Physiol. Biochem*. Vol.38, (2000): pp 97-108.
- 78. Kardosová, Maloviková, Pätoprsty, Nosàl'ová & Matàkovà.** Structural characterization and anti tussive activity of a glucurono xylan from *Mahonia aquifolium (Pursh)* Nutt. *Carbohydrate Polymers*.Vol. 47, (2002): pp 27-33.
- 79. Keegstra.** Plant cell walls. *Plant Physiol* .Vol.154, (2010):pp 483-486.
- 80. Keller, Templeton & Lamb.** Specific localization of a plant cell wall glycine-rich protein in proto xylem cells of the vascular system. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 86, (1989): pp 1529-1533.

- 
81. **Kieliszewski & Lamport.** Extensin : repetitive motifs, functional sites, post-translational codes and phylogeny. *Plant J.* Vol. 5, (1994): pp 157-172.
  82. **Knox.** Revealing the structural and functional diversity of plant cell walls. *Curr Opin Plant Biol.* Vol.11, (2008): pp 308-313.
  83. **Lee, Marcus & Knox.** Cell wall biology: perspectives from cell wall imaging. *Mol Plant.* Vol. 4, (2011):pp 212–219.
  84. **Leucci, Lenucci, Piro & Dalessandro.** Water stress and cell wall polysaccharides in the apical root zone of wheat cultivars varying in drought tolerance. *Journal of Plant Physiology.* Vol.165, (2008):pp1168-1180.
  85. **Lewis & Yamamoto.** Lignin: Occurrence, Biogenesis and Biodegradation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*Vol. 41(1), (1990): pp 455-496.
  86. **Liang, Jin & Liu.** Water-soluble polysaccharide from dried *Lycium barb arum* fruits: Isolation, structural features and antioxidant activity. *Carbohydrate Polymers .*Vol. 83, (2011):pp1947-1951.
  87. **Liu, , Cao, Zhuang, , Han, Guo, , Xiong & Zhang.** Rice bran polysaccharides and oligosaccharides modified by *Grifola frondosa* fermentation: antioxidant activities and effects on the production of NO. *Food Chemistry.*Vol. 223, (2017b):pp 49-53.
  88. **Lolona.** Etude chimique et toxicologique de deux plantes toxique malgaches :*Dioscorea antaly* Juin et Perr (*Dioscorreaceae*) et *Rhodocodon madagascariensis* Baker (*Hyacinthaceae*).Thèse de doctorat, Université d'antananarivo,(2009) :205pp.
  89. **Madhava, Shymala, Pura naik, Sulochanamma &Srinivas.**Chemical composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of fenugreek seeds. *Food Science and Technology.*Vol.44, (2011):pp451-456.
  90. **Madouri.** Extraction,analyse des polysaccharides pariétaux des racines de *Rétama raetam* et recherche de leurs propriétés antimicrobienne.Mémoire de magister,université Tahri MOammed , Bécher,(2015):84pp+annaxes.
  91. **Maghrani, Lemhad, Jouad, Michel & Eddouks.** Effect of the desert plant *Retama raetam* on glycaemia in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology.*Vol. 87, (2003):pp21–25.
  92. **Maghrani , Lemhad ,Jouad , Michel & Eddouks .**Effect of *Retama raetam* on lipid metabolism in normal and recent-onset diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacologie.*Vol. 90, Issue 2-3, (February 2004): pp 323-329.
-

- 93. Maghrani, Lemhad, Jouad, Michel & Eddouks.** Acute diuretic effect of aqueous extract of *Retama raetam* in normal rats. *Journal of ethno pharmacology*. Science direct. Vol 99, issue1, (2005) : pp31-35.
- 94. Marlene et Elisabeth .**Biochimie des aliments distiques du sujet bien portant, Biosciences et techniques sciences des aliments .2éd, Welters Kluwer, France, (2001) :pp68.
- 95. Marouf et Gérard.** Abrégé de biochimie Appliqué .Edition EDP science, (2009à : pp20-21.
- 96. McKey.** Legumes and nitrogen : the evolutionary ecology of a nitrogen demanding lifestyle. In **Sprent, Mckey**, Eds, *Advances in Legume Systematics, Part 5: The Nitrogen Factor*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK, (1994) :pp 211-228.
- 97. Monsigny, Petit & Roche.** Colorimetric determination of neutral sugars by a resorcinol sulfuric acids micromethod.*Analytical biochemistry*.Vol.175,(1988):pp 525-530.
- 98. Mueller, Čavarkapa, Unger, Viernstein, & Praznik.** Prebiotic potential of neutral oligo- and polysaccharides from seed mucilage of *Hyptis suave lens*, *Food Chemistry*. Vol. 221, (2017): pp 508-514.
- 99. Ndayishimiye.** Diversité, endémisme, géographie et conservation des *Fabaceae* de l'Afrique Centrale. Thèse de Docteur en Sciences: Service d'Ecologie du Paysage et Systèmes de Production Végétale. Bruxelles: Ecole Inter facultaire de Bio ingénieurs, (2011) : pp 12.
- 100. O'Neill & York.** The composition and structure of plant primary cell walls. In: *The plant Cell Wall*. Rose, J.K.C., Annu. Plant Rev. CRC Press .vol.8, (2003) : pp1-54.
- 101. Oussalah, Caillet, Saucier & Lacroix.** Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E.coli* O157:H7, *Salmonella tyohimurium*,*S.aureus* et *Listeria monocytogenes* .*FoodControl*.Vol.18,(2007):pp 414-420.
- 102. Ozenda, 1982 .In Mekki.** Contribution à l'étude écologique de l'Arthropodofaune dans quelques stations à *Rétama raetam* (Fabacées) dans la région de Naâma. Mémoire, Diplôme de Magister, Université Aboubakr belkaid – Tlemcen,(2016) :120pp+annexes.
- 103. Ozenda.** Flore de Sahara .3<sup>ème</sup> édition mise à jour et augmentée. Ed.C.N.R.S, Paris, (1991) :662pp+cartes.
- 104. Passardi, Cosio, Penel &Dunand.** Peroxidases have more functions thanaswissarmyknife. *Plant Cell. Rep*.Vol. 24, (2005):pp 255-265.

105. **Patterson** . Polysaccharide (d'origine végétale) pour la santé de l'intestin. A. Agriculture et Agroalimentaire Canada,(2008) :pp 1-3 .
106. **Pauline**. Etude de la spore de *Bacillus subtilis* : caractérisation des structures impliquées dans sa résistance. Thèse de doctorat, université de Bourgogne, (2013) :164pp+annexes.
107. **Perez, Rodriguez-Carvajal & Doco** .A complex plant cell wall polysaccharide: rhamno galacturonan II. A structure in quest of a function. Biochimie.Vol. 85, (2003): pp 109-121 .
108. **Perrone, Hewage, Thomson, Bailey, Sadler & Fry**. Patterns of methyl and O-acetyl etherification in spinachpectins: new complexity. Photochemistry.Vol .60, (2002):pp 67-77.
109. **Petera** .Option : Nutrition et sciences des aliments valorisation de plantes succulentes au service du développement rurale : cas du genre *cereus triangularis* .Thèse doctorale, (2010).
110. **Petra**. Extraction et caractérisations (structurale et physico-chimique) de polysaccharides hydrosolubles issus de cladoces de *Cereus triangularis*. Thèse de doctorat, Université d'auvergne, France, (2016) :205pp+annexes.
111. **Ponce, Fritz, Valle & Roura**. Antibacterial activity of essential oils on the native micro flora of organic Swiss chard. Society of Food Science and Technology (Elsevier).Vol.36, (2003): pp 679-684.
112. **Qian** .Cellulose-assisted extraction of polysaccharides from *Cucurbita moschata* and their antibacterial activity. Carbohydrate Polymers. Vol.101, (2014):pp 432-434.
113. **Quezed et Santa**. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (Tome 1 et 2). Edition du C.R.N.S. France, (1962) : pp1170.
114. **Quin, Wang & Christopher** .Fractionation and physiochemical characterization of *psyllium gum* .ELSEVIER, (2007):pp22-23.
115. **Reis**. Etude préliminaire des polysaccharides des parois cellulaires dans l'hypocotyle en croissance du *Phaseolus aureus*. C.R. Acad. SCI. , Paris, sér. Vol. 281, (1975) :pp123 - 126p.
116. **Renard, Weightman & Thibault**, The xylose-richpectinsfrompeahulls. Int J BiolMacromol .Vol. 21, (1997):pp 155-162 .
117. **Ridley, O'Neill & Mohnen** .Pectins: structure, biosynthesis, and oligo galacturonide-related signaling. Phytochemistry .Vol.57, (2001): pp 929-967.

118. **Roland** .Visualisation des polysaccharides au niveau ultra structural. In : **Monties, Catesson, Roland & Barnoud**, eds, Les Polymères Végétaux: Polymères Pariétaux et Alimentaires non Azotés. Gauthier-Villars, Paris, (1980) : pp 30-45.
119. **Ropolo & Geldner**. Membrane and walls: who is master, who is servant? *Curr Opin Plant Biol* .Vol.15, (2012):pp608-617.
120. **Rouessac**. ANALYSE CHIMIQUE : Méthodes et techniques instrumentales modernes. 6<sup>e</sup> édition, Dunod, Paris, (2004) :pp481.
121. **Ruff**. Biopolymères dynamiques : Oligo- et polysaccharides. Thèse de doctorat, Strasbourg 1, (2008) : 308pp+annexes.
122. **Ruiz**. Extraction, Détermination Structurale et Valorisation Chimique de Phycocolloïdes d'Algues Rouges. Thèse de Doctorat de l'Université de Limoges, (2005) : 230 pp+annexes.
123. **Samuels, Giddings & Staehelin**. Cytokinesis in tobacco BY-2 and root tip cells: a new model of cell plate formation in higher plants. *J Cell Biol*.vol. 130, (1995): pp 1345-1357.
124. **Schols, Bakx, Schipper & Voragen** .A xylogalacturonan subunit present in the modified hairy regions of apple pectin. *Carbohydres*.Vol. 279, (1995):pp 265-279 .
125. **Selami, Auriac, Catrice, Capela, Kaid-Harch & Timmers**. Morphology and anatomy of root nodules of *Retama monosperma* (L.)Boiss. *Journal of Plant Soil*. Vol. 379(1-2), (2014): pp109-119.
126. **Selami**. Etude des Associations Symbiotiques de *Rétama monosperma* : Approches Morphologique, Anatomique et Ultra structurale, Caractérisation Moléculaire des Isolats. Thèse, diplôme de doctorat en science, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, Oran,(2015) :89 pp+annexes.
127. **Shalaby, Monayeri, Etman & El Habibi**. Germination of some desert medicinal plant under different condition .*Desert .Inst .Bull, A.R.E*. Vol.22 (2) , (1971): pp433-444.
128. **Showalter**. Structure and function of plant cell wall proteins. *Plant Cell*. Vol .5, (1993): pp 9-23.
129. **Showalter**. Arabino galactan-proteins: structure, expression and function. *Cell Mol. Life Sci*.Vol. 58, (2001): pp 1399-1417.
130. **Sjöström & Westermarck** .Chemical composition of wood and pulps: Basic constituents and their distribution. In: **Sjöström, Alén**, eds. *Analytical Methods in*

- Wood Chemistry, Pulping, and Papermaking. Springer Series in Wood Science. Springer-Verlag, Heidelberg, (1999): pp 1-19.
131. **Somerville , Bauer , Brininstool , Facette , Hamann , Milne , Osborne , Paredez , Persson , Raab , Vorwerk & Youngs** .Toward a systems approach to understanding plant cell walls. Science .Vol.306,(2004):pp 2206-2211.
  132. **Sommer-Knudsen, Bacic & Clarke**. Hydrox proline-rich plant glycoproteins. Phytochem.Vol. 47, (1998):pp 483-497.
  133. **Sprent**. Nodulation in Legumes. Royal Botanic Gardens, Kew, UK, (2001).
  134. **Stone, Melton & Lewis**. Structure-function relations of heparin-mimetic sulfated xylan oligosaccharides: inhibition of Human Immuno deficiency Virus-1 infectivity in vitro. Glycoconjugate Journal. Vol. 15, (1998):pp 697-712.
  135. **Sun, Ni, Zeng, Zou, Yang, Peng, Zhou, Zeng, Zhu, Wang, Yin, Pan, &Jing**. Bidirectional immune modulating activity of fermented polysaccharides from Yupingfeng. Journal of Research in Veterinary Science.Vol.110, (2016):pp 22-28.
  136. **Thakur, Singh & Handa**. Chemistry and Uses of Pectin, Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Vol. 37 (1), (1997):pp 47-50.
  137. **Theo & Cheistian** .Article Analyse des polysaccharides. (2009): 3326pp.
  138. **Thiele, Wanner, Kindzierski, Jurgens, Mayer, Pacht & Assaad** .The timely deposition of call oseis essential for cytokines is in Arabidopsis. Plant J.Vol. 58, (2009):pp 13-26 .
  139. **Tinamri et Lagmi** .Optimisation des conditions d'extraction des polysaccharides issus d'*Astragalus gombo bunge (Fabaceae)* récolté au Sahara septentrional Est algérien. Diplôme d'Ingénieur d'Etat, université kasdi Merbah, Ouargla, (2014) : 43pp+ annexes.
  140. **Tong, Liang, & Wang**. Structural characterization and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the fruit of *Physalis alkekengi L.* Carbohydrate Polymers.Vol.71, (2008):pp 316-323.
  141. **Unesco**. Recherche sur la zone aride- XIII-Les plantes médicinales des régions arides, Pb Organisation des Nations Unies pour l'éducation, la science et la culture, place de Fontenoy, Paris -7<sup>e</sup>, (1960).
  142. **Valladares, Villar-Salvador, Domínguez, Fernández-Pascual & Pugnaire** . Enhancing the early performance of the leguminous shrub *Retama sphaerocarpa ( L.) Boiss*: fertilisation versus Rhizobium inoculation. Plant Sci.Vol. 240, (2002): pp 253–262.

143. **Vercaitere.** Formules et illustration du cours de pharmacognosie, ed UMN, (2012) : pp40-41.
144. **Vincken, Beldman & Voragen.** Substrate specificity of endo glucanases: what determines xylo glucanase activity? *Carbohydr. Res.* Vol. 298, (1997):pp 299-310.
145. **Vincken, Schols, Oomen, McCann, Ulvskov, Voragen & Visser .**If homo galacturonan were aside chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. *Plant Physiol.* Vol. 132,(2003):pp 1781-1789 .
146. **Warrand.** Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs de mucilage de lin (*Linum usitatissimum*). Thèse de Doctorat. Université de Picardie Jules Verne, (2004) : 238 pp.
147. **Wang, Sun, Liu Y, Zheng, Liu X & Li.** Earthworm polysaccharide and its antibacterial function on plant-pathogenic microbes in vitro. Elsevier Masson SAS, (2007), 2007.08.035.
148. **Wasser.** Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunostimulating polysaccharides .*Appl. Microbiol biotechnol.* Vol.60, (2002): pp 258-274.
149. **Wojtaszek.** Genes and plant cell walls: a difficult relationship. *Biol Rev Camb Philos Soc .* Vol.75, (200): pp437-475.
150. **Wu, Fu, You, Mehmood Abbasi, Meng,, Liu, & Muhammad Aadil.** Antioxidant, antitumor and immunomodulatory activities of water-soluble polysaccharides in *Abrus cantoniensis*. *International Journal of Biological Macromolecules.* Vol.89, (2016): pp 707-716.
151. **Yoshida , Kang , Hattori , Mimura , Kaneko , Nakashima , Premanathan , Aragaki , Yamamoto & Uryu .** Anti-HIV activity of sulfonated arabino furanose and xylofuranose. *Carbohydrate Polymers.* Vol. 44, (2001):pp 141-150.
152. **Yves.** bio polymères dynamiques : Oligo et polysaccharides .Thèse de doctort, (2008) :297+annexes.
153. **Youbai.** Contribution à l'étude des polysaccharides hydrosolubles de quelques plantes de la famille des *Apiaceae* récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Algérien).Thèse de magistère, université Kasdi Merbah ,Ouargla ,(2015) :77pp+annexes.
154. **Zhang, Xu & Zhang.** Pectin in cancer therapy: A review. *Trends in Food Science & Technology.* Article in press, (2015): pp1-14.

- 155.**     **Zohary.** plant life of Palestine, Israel, and Jordan, Michael Zohary. Ronald, New York, 1962. Science 11 may 1962. DOI: 10.1126/science.136.3515.523.Vol. 163. No.3515, (1962):523pp.
- 156.**     **Zou, Zhang, Ya, Niu, & Ga.** Structure characterization and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the fruit of *Lycium barbarum L.* Carbohydrate Polymers.Vol. 80, (2010): pp 1161-1167.

# Annexes

---

## Annexes A : quelques étapes d'extraction



Séchage à l'étuve à température de 50°C  
Pendant une semaine



Broyage des fragments secs à l'aide d'un  
moulin sec



Réduire les fragments secs en poudre à l'aide  
D'un moulin à café



agitation sous hotte pendant 14 h



Résidu pariétal est mis dans le méthanol



Agitation pendant 2 h



Filtration sur toile à bluter



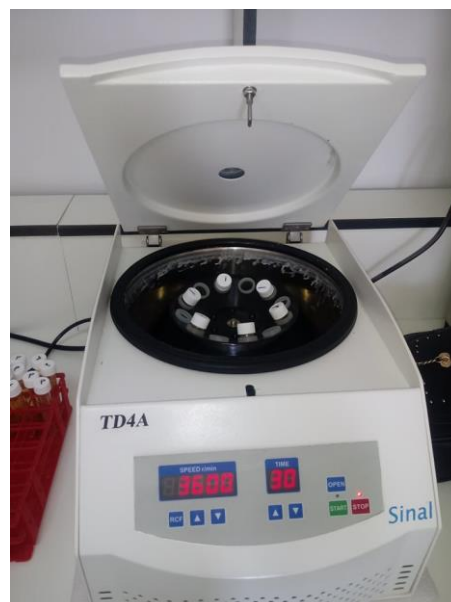
Mesure de pH de chaque filtrat



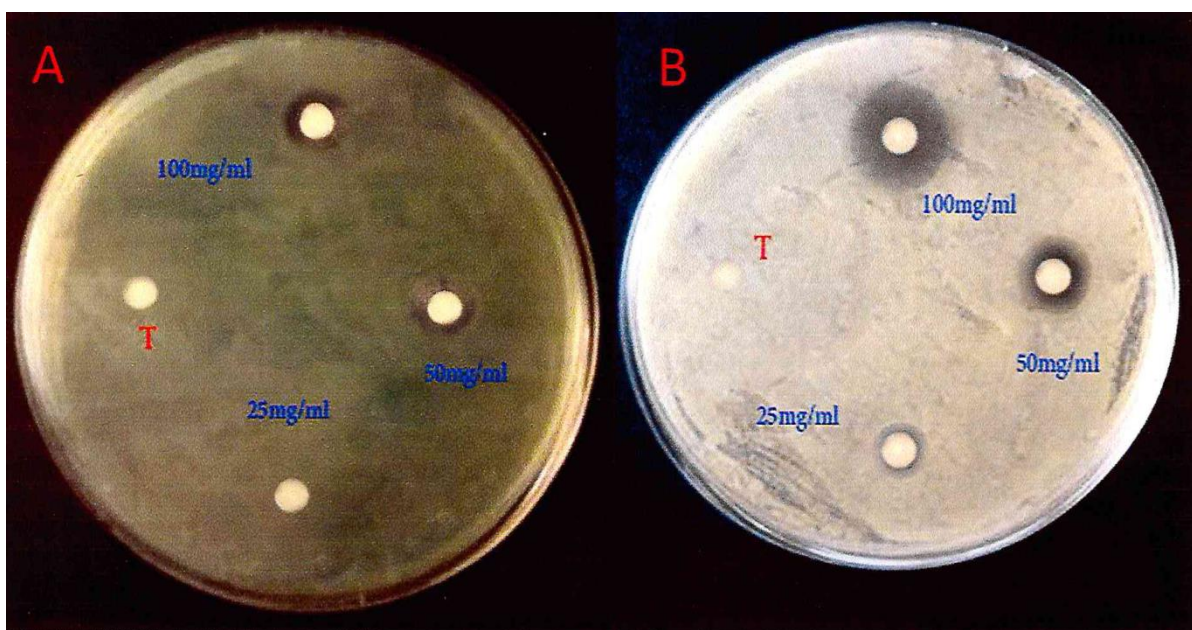
Neutralisation des filtras par l'acide acétique pur



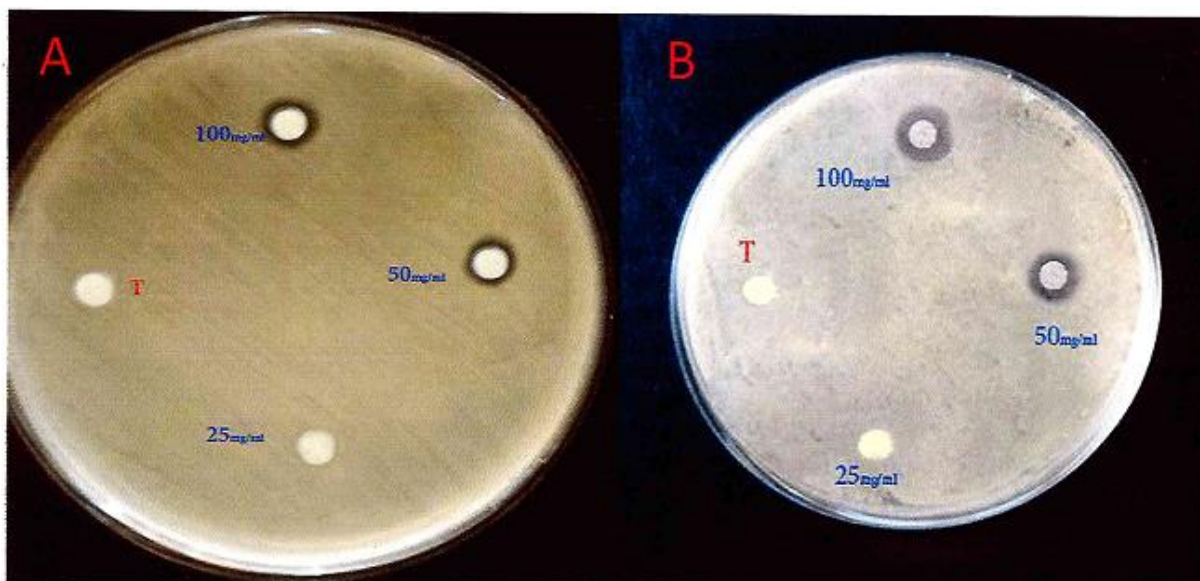
Collection et précipitation de l'échantillon  
dans les tubes de centrifugation



placer les tubes dans la centrifugeuse

**Annexes B : Résultats de l'activité antibactérienne**

**Figure 01 :** Photo d'inhibition de la croissance de *P.aeruginosa* et limites d'activité des hémicelluloses (A : délignifié B : brute).



**Figure 02 :** Photo d'inhibition de la croissance de *B.cereus* et limites d'activité des hémicelluloses (A : délignifié B : brute).

**Tableau 01 :** Diamètre des zones d'inhibition en mm des souches testées (le diamètre de disque est inclus)

Concentration de l'extrait mg/ml	25		50		100		Témoin
	Brute	Déliquifié	Brute	Déliquifié	Brute	Déliquifié	
<i>E.coli</i>	12	12	17	14	19	16	06 mm
<i>P.aeruginosa</i>	09	06	12	12	17	12	06 mm
<i>S.aureus</i>	08	08	14	11	19	15	06 mm
<i>E.faecalis</i>	10	08	13	10	14	10	06 mm
<i>B.cereus</i>	09	06	11	09	14	10	06 mm

**Tableau 02 :** résultats de la détermination des CMI des hémicelluloses des racines de *R.raetam* (mg/ml) et sur les souches testées.

	<b>Hémicellulose brute</b> <b>CMI en mg/ml</b>	<b>Hémicellulose délignifié</b> <b>CMI en mg/ml</b>
<i>E.coli</i>	11.66	11.66
<i>P.aeruginosa</i>	15	16.66
<i>S.aureus</i>	8.33	11.66
<i>E.faecalis</i>	16.66	16.66
<i>B.cereus</i>	20	25

## **Annexes C : technique utilisés pour la confirmation des souches bactériennes**

### **Examen à l'état frais :**

- ❖ Prendre une lame propre nettoyée avec de l'alcool.
- ❖ Dans le cas d'une culture en bouillon : à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur, déposer sur la lame une goutte ou un inoculum.
- ❖ Dans le cas d'une culture en milieu gélosé : déposer tout d'abord sur la lame une goutte d'eau distillée stérile ou d'eau physiologique stérile, puis apporter et dissocier dans l'eau un inoculum bactérien.
- ❖ Recouvrir d'une lamelle.
- ❖ Observer au microscope optique.

### **Coloration de GRAM :**

- ❖ Préparer tout d'abord un frottis d'une culture bactérienne (sur une lame propre et stérile, étaler en couche mince un prélèvement de la culture à examiner ; sécher rapidement en passant la préparation au-dessus de la flamme d'un bec bunsen).
- ❖ Verser quelques gouttes d'alcool et enflammer. Les bactéries sont tuées et fixées sans altération de leur structure.
- ❖ Recouvrir le frottis de violet de Gentiane, laisser agir 1 min, rincé à l'eau distillée.
- ❖ Décolorer à l'alcool, entre 15 et 30 secondes, rincer à l'eau distillée.
- ❖ Recolorer avec la fuchsine pendant 1 min, rincé à l'eau distillée.
- ❖ Sécher au-dessus de la flamme d'un bec bunsen.
- ❖ Observer au microscope.
- ❖ Les bactéries GRAM positif apparaissent en violet foncé, alors que les bactéries à GRAM négatif sont colorées en rose.