REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DR. YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention de diplôme de Master en sciences biologiques

Option : Microbiologie appliquée

Thème

Activité antimicrobienne et antioxydante d'extrait de feuille d'Eucalyptus

Présenté par :

Mergueb Ikram | Ben Mebarek Maissa | Rais Fatma

Devant le jury composé de :

Mme Boukhalfoun Leila	MAA	Encadrant
Mr Kirouani Abderrezzak	MCA	Co-Encadrant
Mme Benlameur Zahia	MCB	Examinatrice
Mme Bendoumia Houda	MCB	Examinatrice

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions, du plus profond de notre cœur, Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé, la foi, la volonté, le courage et la patience d'achever ce travail.

Nous exprimons nos remerciements et nos sincères gratitudes à notre Encadrante «Mme BOUKHALFOUN Leila » pour son aide précieuse, sa compréhension et sa patience durant toute la période de la réalisation de notre travail.

Nous exprimons nos remerciements à notre Co-encadrant « Dr Kirouani Abderrezzak » pour avoir accepté de diriger notre travail par ses conseils, sa disponibilité et ses orientations.

Nos vifs remerciements vont également Mme Benlameur Z et Mme Bendoumia H d'avoir accepté d'évaluer notre travail.

Nous tenons aussi à adresser nos vifs remerciements à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation

Nos plus vifs remerciements vont à tous les membres de l'équipe des laboratoires du Département pour leur accueil, leur sympathie ainsi que leurs idées constructives

Nous remercions toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou loin.

Un grand merci à tous.

Dédicaces

Avec l'aide et la grâce de Dieu est achevé ce modeste travail que je dédie

A :

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutient permanent venu de toi.

Mes chers frères : Bouaza, Abdeldjalil et Said pour leur soutien moral et leurs sacrifices le long de ma formation.

Mes sœurs Fouzia, Amina et Saadia qui ont été toujours avec moi par leurs amours et leurs encouragements.

Toute ma famille et mes amis sans oublier: Chahra, Souad, Amira, fatma et mes binômes Maissa et Fatma.

À tous ceux et toutes celles
Qui m'ont accompagné et soutenu
Durant la réalisation de ce travail.

Ikram

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à

**Je commence par rendre grâce à dieu et sa bonté, pour la patience, la compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade.*

Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions je dédie ce travail :

**Ma très chère mère tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

**A mon cher père, rien ne peut exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

**A ma chere sœur Abir, et mes chers frères Tayeb, Mohamed et Abd el Malek.*

**A toutes ma famille surtout mes deux grandes parents.*

**A mes meilleurs amis et sœurs en dieu Hadjer, Nabila, Rima, Amel et houria, sans oublier mes binômes, mes fidèles amies Ikram et Fatma.*

**A tous mes collègues et chaque personne connait moi.*

****Maissa****

Dédicaces

Avec l'aide de DIEU, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je
Dédie A :
Mes chers parents comme un témoignage de mon grand amour :
Saleh &Messaouda

Mon frère : Abderrahmane

Mes amis sans oublier : nihade, hadjer, zineb, Imen

Pour leur présence de tous les instants,

Pour le soutien qu'ils m'ont apporté,
Avec toute mon affection et ma reconnaissance.

Fatma

Résumé

Le genre Eucalyptus est une plante médicinale appartenant à la famille des Myrtaceae. L'Eucalyptus est d'origine Australienne, mais il est très répandu en Algérie et bien connu pour ses propriétés médicinales. Dans notre étude, nous avons choisi deux espèces de cette plante soit *Eucalyptus Blakelyi* Maiden et *Eucalyptus Cladocalyx* Mueller, pour cela des extraits méthanolique et acétonique ont été préparés par macération dans le méthanol et l'acétone, le rendement obtenu est de 11,55 et 3,42 %, respectivement pour l'*Eucalyptus Blakelyi*, et de 25,17 % et 12,69 % pour l'*Eucalyptus Cladocalyx*.

Les métabolites secondaires ont été détectés dans les extraits méthanolique et acétonique des deux espèces par screening phytochimique des composés chimiques tels que: saponines, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes et coumarines, cette étude a révélé la présence des substances mentionnées dans les deux extraits de l'*E. Blakelyi* et *E. Cladocalyx*.

L'activité antibactérienne des extraits méthanolique et acétonique a été testée sur six souches bactériennes pathogènes qui sont *Escherichia coli* isolée, *E. coli* ATCC, *Klebseilla pneumoniae*, *k.oxytoca*, *Enterobacter aerogenes* et *Citrobacter* freundii par diffusion sur disque, les bactéries C. *freundii* et *E.aerogenes* étaient les plus sensibles aux extraits méthanolique et acétonique d'*Eucalyptus Cladocalyx* tandis que ceux de l'*Eucalyptus Blakelyi* ont été très efficaces contre *K. pneumoniae* et *E. coli*ATCC25922.

L'activité antioxydant testée par la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH a révélé un bon effet des extraits étudiés de l'*E.Blakelyi* et *E.Cladocalyx* avec des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 31,5% et 46,66 % respectivement à une concentration de 500µg/ml.

Mots clés : *Eucalyptus Blakelyi*, *Eucalyptus Cladocalyx*, Extrait méthanolique, Extrait acétonique, Screening phytochimique, Activité antibactérienne, Activité antioxydante.

ملخص

Eucalyptus (الكاليتوس) هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة صنف *Myrtaceae* . صنف الوكاليبتوس هو من أصل استرالي لكنه جد منتشر في الجزائر و معروف جدا بمزاياه العلاجية .في دراستنا اخترنا نوعين من هذا النبات(Eucalyptus Blakelyi et Eucalyptus Cladocalyx),أين تمّ تحضير مستخلصين مختلفين بواسطة النقع و ذلك باستعمال المحلولين : الميثان والأسيتون حيث أن مردودية هذه المستخلصات هي11.55 %و 3.42 % على التوالي بالنسبة ل*Eucalyptus Blakelyi* و 25.17 %, 12.69 بالنسبة ل *Eucalyptus Cladocalyx* تم الكشف عن مواد الايض الثانوية المجودة في هذه المستخلصات عن طريق الفحص الفيتو كيميائي (الصابونين، الفلفونويدات، العفص،والقلويات والكومارينات) حيث اثبت هذه الدراسة وجود المواد المذكورة بكميات كبيرة في المستخلص الميثانولي من المستخلص الأسيتوني في كلى النوعين.

تم تجريب نشاط هذه المستخلصات المضاد للميكروبات على 6 سلالات ميكروبية ممرضة(*E.coli isolée*،- *E .coli ATCC*، *k.pneumoniae, k.oxytoca, E.aerogenes, C .freundii*) بطريقة انتشار الأقراص على وسط صلب (ميلر هينتون), حيث C. feundii, E. coli ATCC الأكثر حساسية للمستخلصات الميثانولية والأسيتونية ل*Eucalyptus Cladocalyx* أمّا بالنسبة ل *Eucalyptus Blakelyi* فكان تأثيرها الأكبر على

E. coli isolée K. pneumoniae

أيضا قمنا بدراسة النشاط المضاد الأكسدة باستعمال طريقة اقتناص الجذور الحرة DPPH للمستخلص الاسيتوني لكلتا النوعين *E. Blakely*i و*E. Cladocalyx* هذا الأخير كان له التأثير الأكبر بقيمة 46,66 % أمّا

31,85 %للنوع الآخر.

الكلمات المفتاحية:

Eucalyptus Cladocalyx, Eucalyptus Blakelyi, Eucalyptus, , المستخلص الميثانولي, المستخلص الاسيتوني, الفحص الفيتو كيميائي, النشاط المضاد للميكروبات ,النشاط المضاد للأكسدة DPPH .

Abstract

Eucalyptus is a medicinal plant belonging to the genus Myrtaceae .Eucalyptus is of Australian origin, but it is very widespread in Algeria and is well known for its medicinal properties. In our study, we chose two types of this plant *Eucalyptus blakelyi* et *Eucalyptus cladocalyx*, where two different extracts were prepared by Soaking using two solutions: methanol and acetone as the yield of these extracts is 11.55% and 3.42%respectivelyfor *Eucalyptus blakelyi* and 25.17% and 12.69% for *Eucalyptus cladocalyx*.

The secondary metabolites present in these extracts were detected by phytochemical examination such as saponins, flavonoids, tannins, alkaloids and coumarins, where this study proved the presence of the mentioned substances in large quantities in the methanolic extract and the acetone extract in both species.

The antimicrobial activity of these extracts was tested on six pathogenic microbial strains: *Escherichia coli* isolated, *Escherichia coli* ATCC, *klebseilla pneumoniae, k.oxytoca, Enterococcus aerogenes, Citrobacter freundii* by disc diffusion on solid medium (Miller Hinton), Whereas, *C. feundii* and *E. aerogenes* were the most sensitive to the methanolic and acetone extracts of *Eucalyptus cladocalyx*, and they had the greatest effect on *K. pneumoniae*and *E.coli* ATCC25922 for *Eucalyptus blakelyi*

We also studied the antioxidant activity by using the DPPH free radical scavenging method for the acetone extract of both *E. Blakelyi* and *E. Cladocalyx* species, the latter having the greatest effect at a value of 46,66 %. 31,85 % for the other type.

Key words:

Eucalyptus blakelyi, *Eucalyptus cladocalyx*, methanol extract, Acetone extract, phytochemical assay, Antimicrobial activity, Antioxidant activity. DPPH.

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

ملخص

Summary

Liste des Tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale 01

Chapitre I : Revue bibliographique

Présentation générale du genre d'Eucalyptus.

I.1.1.Historique ….....02

I.1.2.Description botanique …….....03

I.1.3.Description morphologique 04

I.1.4.Synonyme et Nomenclature ……...…06

I.1.5.Origine et répartition géographique ……...06

I.1.6.Classification ……..….06

I.1.7.Composition chimique d'Eucalyptus ……..…07

I.1.8.Propreté thérapeutique ……..…….07

I.1.9.Cultures …….....08

I.1.10.Les métabolites secondaires des plantes ……..08

I.1.10.1.Les composées polyphénols ……...09

I.1.10.2.les terpenoïdes et les stéroïdes ……13

I.1.10.3.Les alcaloïdes.....13

I.2.Etude des espèces choisies ……14

I.2.1.*Eucalyptus Blakelyi*……...14

I.2.1.1.Origine du nom 14

I.2.1.2.Description botanique ……...15

I.2.1.3.Répartition géographique ….....16

I.2.1.4.L'usage de l'espèce ……...16

I.2.2.*Eucalyptus Cladocalyx* ……..17

I.2.2.1.Origine du nom …….....17

I.2.2.2.Description botanique 17

I.2.2.3.Répartition géographique 18

I.2.2.4.L'usage de l'espèce 19

I.3. l'activité antimicrobienne et antioxydante…….19

I.3.1.activité antimicrobienne ……..19

I.3.1.1.les agents antimicrobiens …….19

I.3.1.2.Mécanismes d'action ….....19

I.3.1.3. les Antibiotiques …….....20

I.3.1.4.Antibiorésistance ……..21

I.3.1.5. les souches bactériennes sélectionnées ……...21

I.3.2.activité antioxydante …….....22

I.3.2.1.Généralité ……....22

I.3.2.2.Le stress oxydatif ……...……22

I.3.2.2.1.Dérivés réactifs de l'oxygène et radicaux libres ……...23

I.3.2.2.2.Les réactions d'oxydation ……23

A- Le superoxyde (O2-) …….24

B- Le Perhydroxyle (HO2-) ……...24

C- L'Hydroxyle(OH) ……..... 24

D- Le peroxyle (RO2) ……..….24

I.3.2.2.3.Notre défense contre le stress oxydatif : les antioxydants ….....25

I.3.2.2.3.1.les antioxydants exogènes ……...….25

Vitamine C ……..…25

vitamine E ……...…25

Les polyphénols 25

beta- carotène …….....26

I.3.2.2.3.2.Les antioxydants endogènes …….....26

le superoxyde dismutase SOD …….....26

catalase …….....26

Glutathion peroxydase GPx …….....26

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1.Matériel …….....28

II.1.1.Matériel biologique 28

II.1.1.1.Matériel végétal …….....28

II.1.1.1.1.Récolte …….....28

II.1.1.1.2. Broyage …….....28

II.1.1.2.Matériel microbiologique ……..…29

II.1.2.Matériel non biologique ……...30

II.2.Préparation des extraits ……..30

II.2.1.Mode opératoire ……30

II.2.1.1.Evaporation 32

II.3.Calcul du rendement …….....32

II.4.Screening phytochimiques……....33

II.4.1.Screening phytochimiques des extraits …….....33

II.4.1.1.Identification des alcaloïdes……..33

II.4.1.2.Identification des flavonoïdes……...33

II.4.1.3.Identification des tannins …….....33

II.4.1.4.Identification des saponines ……...34

II.4.1.5.Identification des coumarines…….....34

II.4.1.6.Identification des stérols et polyterpènes …….....34

II.4.1.7.Identification des protéines …….....35

II.4.2.screening de la poudre …….....35

II.4.2.1.Identification des tanins ……..…35

II.4.2.2.Identification des saponines ……...35

II.4.2.3.Identification des anthocyanes …….....36

II.4.2.4.Identification des leuco-anthocyanes …….....36

II.4.2.5.Identification des flavonoïdes …….....36

II.4.2.6.Identification des alcaloïdes …….....36

II.5.L'activité antibactérienne 37

II.5.1.l'activité antibactérienne selon la méthode de diffusion par disque ……..…37

II.5.2.les souches bactériennes ……37

II.5.3.Préparation des milieux de culture ……...…39

II.5.4.Préparation des dilutions des extraits ……...40

II.5.5.Aromatogramme ……...40

II.5.5.1.Préparation des disques ……..40

II.5.5.2.Expression des résultats …….....42

II.6.Activités antioxydants …….....42

II.6.1.Estimation du pouvoir anti-radicalaire par la méthode au DPPH ……42

a) Principe ……...…42

b) Mode opératoire ……43

II.6.Analyses statistiques …….....44

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1.Résultats ……45

III.1.1.Extraction des composés actifs …….....45

III.1.2. Résultats des tests phytochimiques ……...46

III.1.3.Activité antibactérienne …….....50

III.1.4.Activité antioxydante ……...56

III.2.discussion …….58

Conclusion

Référence

Annexe1

Annexe 2

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau 01	Classification de l'Eucalyptus.	**07**
Tableau 02	Classification botanique de l'*Eucalyptus blakelyi* .	**15**
Tableau 03	Classification botanique de l'*Eucalyptus Cladocalyx*.	**18**
Tableau 04	Les souches bactériennes utilisées.	**32**
Tableau 05	La sensibilité et la résistance des souches bactériennes selon les diamètres d'inhibition.	**45**
Tableau 06	Rendement d'extraction en (%) des différents extraits.	**50**
Tableau 07	Résultats du screening phytochimique des extraits.	**51**
Tableau 08	Résultats du screening phytochimique de la poudre.	**52**
Tableau 09	Activité antibactérienne des extraits méthanoliques de l'*E. Blakelyi*.	**55**
Tableau 10	Activité antibactérienne des extraits acétoniques de l'*E. Blakelyi*.	**55**
Tableau 11	Activité antibactérienne des extraits méthanoliques de l'*E.Cladocalyx.*	**55**
Tableau 12	Activité antibactérienne des extraits acétoniques de l'*E.Cladocalyx.*	**56**
Tableau 13	Activité antioxydante des extraits acétonique d'*E Blakelyi*, *E. cladocalyx.*et l'acide ascorbique.	**61**

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 01	Feuilles, fleurs, fruits et graines d'Eucalyptus.	**04**
Figure 02	Eucalyptus.	**06**
Figure 03	Structure chimique d'HE 1,8-cinéole et globulol.	**08**
Figure 04	Acide benzoïque. (Pawlowska et al. 2006).	**10**
Figure 05	Acide cinnamique.	**11**
Figure 06	Structure de base des flavonoïdes.	**12**
Figure 07	L'arbre adulte et les feuilles de l'*Eucalyptus Blakelyi*.	**16**
Figure 08	l'arbre adulte et les feuilles de l'*Eucalyptus Cladocalyx*.	**19**
Figure 09	Schéma général des différentes étapes du travail.	**29**
Figure 10	Broyage des feuilles des plantes séchées (Eucalyptus).	**31**
Figure 11	Diagramme montrant la préparation des extraits acétoniques et méthanoliques de l'*Eucalyptus Blakelyi* et l'*Eucalyptus Cladocalyx*.	**33**
Figure 12	Evaporateur rotatif.	**34**
Figure 13	Revivification des souches bactériennes.	**40**
Figure 14	Ensemencement des suspensions microbiennes dans les milieux gélosés.	**40**
Figure 15	préparation des suspensions bactériennes dans de l'eau physiologique.	**41**
Figure 16	Solidification des boites.	**42**
Figure 17	Ensemencement des suspensions bactériennes dans des boites gélosée.	**42**
Figure 18	Schéma montrant la préparation des dilutions des extraits.	**43**
Figure 19	Préparation des disques pour l'aromatogramme.	**44**
Figure 20	Dépôt des disques dans les boites de pétries.	**45**
Figure 21	Présentation chimique d'une réaction du DPPH par un antioxydant.	**46**

Figure 22	Les étapes de l'estimation des concentrations inhibitrices (IC50) du pouvoir antiradicalaire Par la méthode au DPPH.	**47**
Figure 23	Aspect des extraits méthanoliques et acétoniques de *l'Eucalyptus Blakelyi et* l'Eucalyptus *Cladocalyx* respectivement.	**49**
Figure 24	Résultats du screening d'extrait méthanolique de *l'Eucalyptus Blakelyi et* l'Eucalyptus *Cladocalyx*.	**53**
Figure 25	Résultats du screening d'extrait acétonique d'*Eucalyptus Blakelyi et* l'Eucalyptus *Cladocalyx*.	**53**
Figure 26	Résultats des tests phytochimiques de la poudre *Eucalyptus Blakelyi* et d'*Eucalyptus Cladocalyx.*	**54**
Figure 27	Histogramme représente l'Effet de l'interaction souche-concentration des extraits méthanoliques de l'*E. Blakelyi.*	**58**
Figure 28	Histogramme représente l'Effet de l'interaction souche-concentration des extraits méthanoliques de l'*E. Cladocalyx.*	**58**
Figure 29	Histogramme représentant l'effet de l'interaction souche-concentration des extraits acétoniques de l'*E. Blakelyi***.**	**60**
Figure 30	Histogramme représentant l'effet de l'interaction souche-concentration des extraits acétoniques de l'*E. Cladocalyx.*	**60**
Figure 31	Activité antioxydante de *l'Eucalyptus Blakelyi*, l'Eucalyptus *Cladocalyx* et l'acide ascorbique.	**62**

Liste des abréviations

G : gramme

H : Heure

Cm : centimètre

M : mètre

Min : minute

ml : millilitre

µm : micromètre

Nm : nanomètre

% : pourcentage

V/V : Volume par volume

INRF : Institut National de la Recherche Forestière

I : l'iode

KI : l'iode de potassium

H_2SO_4 : Acide sulfurique

HCl : Acide chlorhydrique

MH : Muller-Hinton

MeOH : méthanol

NaOH : hydroxyde de sodium

NH_4OH : ammoniaque

$FeCl_3$: Chlorure ferrique

C_4H : Cinnamate 4-hydroxylase

CH_2O : formol

$CuSO_4$: sulfate de cuivre

ATCC : American type culture collection

ATB : Antibiotique

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

D : Diamètre

DO : Densité Optique.

DPPH : 2,2-diphényl-2-picrylhydrazyl

Sp:espèce

SM: solution mère

CNM: Corynobacterium, Nocardia, Mycobacterium

O2- : Radicale superoxyde

HO_2- : perhydroxyle

RO*2:*peroxyde

H_2O_2: eau oxygénée

H+: proton

O_2:l'oxygène

PH : potentiel hydrogène

SOD : superoxyde dismutase

CAT : catalase

GPx : glutathion peroxydase

ROS : espèce réactive de l'oxygène

LDL : lipoprotéine Law densité

ERO : espèce réactive de l'oxygène

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit

GSH : glutathion réduit

GSSG : glutathion oxydé

C° **:** Degré Celsius

XIXe : 19 eme siècle

C : Carbonne

INTRODUCTION

Il est connu que l'homme depuis l'antiquité utilise les plantes comme une source de nourriture, mais avec l'apparition des maladies infectieuses qui sont causées par des microbes, l'homme a trouvé des nouvelles méthodes naturelles du traitement à base des plantes, où ces dernières gagnent un nouvel nom, les plantes médicinale.

Les plantes médicinales sont toute plantes qui a été séchée ou traitée selon des méthodes, et employée dans la préparation des médicaments **(Thurzova, 1978).**

Aujourd'hui, les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité. Elles sont des usines chimiques naturelles, produisent des substances actives biochimiques : tanins, flavonoïdes, coumarines... **(Schauenberg et Paris, 1997).**

L'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde, malgré le progrès de la pharmacologie **(Tabuti, et Dhillion, 2003).**

Parmi ces plantes médicinales, l'Eucalyptus qui est une plante existe avec vaste espace en Algérie même en tout le monde. Il présente de nombreuses vertus. Expectorant pour traiter les bronchites, la toux, les pneumonies, antiseptique permet de soulager les personnes fiévreuses et traiter l'état grippal, astringent et antispasmodique avec une action stomachique sur les inflammations des muqueuses de l'appareil digestif et de l'intestin ; très bon remède contre la dyspepsie atonique **(Dr Jesus Cardenas, 2017).**

Eucalyptus Blakelyi et *Eucalyptus Cladocalyx* sont des espèces différentes. Notre étude est basée sur la recherche sur les substances bioactives, l'étude de l'efficacité bactéricide de ces deux espèces par méthode des disques de diffusion sur six différentes souches bactériennes pathogènes, qui s'effectue sur extraits à base des feuilles de ces et l'étude de leur activité antioxydante en utilisant la technique de piégeage du radical (DPPH), ces déférents testes s'effectuent sur quatre extraits à base des feuilles de ces deux plantes, deux extraits pour chaque espèce un extrait méthanolique et un extrait acétonique.

Chapitre 1
Revue Bibliographique

Présentation générale du genre d'Eucalyptus

I.1.1.Historique :

Le genre Eucalyptus est originaire de Tasmanie en Australie. Il fait partie de la famille Des Myrtacées, son nom a pour origine les mots grecs : eu «bien» et kaluptos «couvert».Il fut décrit et baptisé en 1788 par le botaniste français l'HERITIER, après qu'il eut examiné des échantillons d'*Eucalyptus obliqua*, parmi les plantes Australiennes récoltées Par NELSON, dix-neuf espèces d'Eucalyptus avaient été nommées en 1800 et 28 en 1820 **(Bigendako, 2004).**

En 1840, 71 espèces d'Eucalyptus avaient reçu des noms et 149 en 1890. Depuis lors, des savants botanistes se sont succédés dans la description des espèces d'Eucalyptus et W. F. BLAKELY, assistant de MAIDEN, décrivait 500 espèces dont 138 variétés en1938 **(Bigendako, 2004).**

Le nombre d'espèces d'Eucalyptus introduites dans différents pays est supérieur à150, moins d'une trentaine sont exploitées de façon significative en plantation et quatre espèces *(E.camaldulensis, E. globulus, E. tereticornis* et *E.grandis*) occupaient, à la fin Des années quatre-vingts, plus de la moitié des surfaces plantées **(Eldridge et *al,* 1993).** Son introduction en Algérie fut par les français en 1860. L'espèce pionnière semble être l'*E.camaldulensis*, mais d'autres espèces furent introduites dans des placettes d'essais notamment à Reghaia, Bouchaoui et El-Alia dans la région d'Alger. Cette zone d'introduction a été tellement favorable qu'on a assisté à des croisements naturels qui ont donné des hybrides dont l'*Eucalyptus algériensis*. Dans les années 40 et 50, les Eucalyptus furent introduits dans 18 arboretums couvrant les étages bioclimatiques humides et semi-arides. Dans ce cadre pas moins de 130 espèces ont été plantées sur le Territoire national. Pendant les années 60 à 70, les reboisements à base d'Eucalyptus ont Concerné notamment l'Est (El-Kala, Annaba, Skikda), le centre (Tizi-Ouzou, Baïnem) et l'Ouest (Mostaganem) et ceci afin de répondre aux besoins nationaux en produits Ligneux et papetiers **(INF, 1996)**.

I.1.2.Description botanique :

L'Eucalyptus est un très bel arbre de 30 à 35 m, jusqu'à 100 m **(Traore et *al.* 2013).** Leur tronc comprend une écorce à la base foncée, rugueuse, en hauteur, lisse, grisâtre et porte des rameaux dressés **(Serventyv. 1968).**

1.1.2.1. Feuilles :

Les Eucalyptus portent des feuilles persistantes, glabres mais différentes en fonction de l'âge des rameaux :

-Les jeunes rameaux possèdent des feuilles larges, courtes, bleu-blanc, avec un vrai limbe nervuré (vignette).

-Les rameaux plus âgés possèdent des feuilles aromatiques, épaisses, vert foncé, courtement pétiolées. **(Serventyv. 1968)**.

1.1.2.2. Fleurs :

Les fleurs sont très variées. Elles ont de couleur blanc crème, solitaires, relativement larges. La base des sépales adhère à l'ovaire infère, le calice et la corolle sont soudés, sa

Paroi renferme des poches d'essence aromatique. **(Serventyv. 1968)**.

1.1.2.3. Fruits :

Les fruits à maturité ont la forme d'un cône, ils sont secs, et de couleur brune. Ils ont également des valves qui se soulèvent pour laisser échapper les graines lors de leur chute sur le sol **(Serventyv, 1968).**

1.1.2.4. Les racines :

La plupart des Eucalyptus possède également des organes de sauvegarde souterrains appelés lignotubes. Ces lignotubes se présentent sous forme de renflements à la base du collet racinaire ; ce sont des massifs cellulaires indifférenciés contenant des réserves glucidiques comme l'amidon **(Serventyv, 1968).**



Figure.01 : Feuilles, fleurs, fruits et graines d'Eucalyptus **(Serventyv. 1968).**

I.1.3.Description morphologique :

L'Eucalyptus est un bel arbre de croissance rapide qui peut atteindre à l'âge adulte 30à 35 m de hauteur dans les régions Méditerranéennes **(Aït. Youssef, 2006)** et jusqu'à 100 m dans Le milieu naturel (Australie et Tasmanie) **(Ghedira et *al.* 2008).**

Le tronc est lisse et cendré, recouvert d'une écorce qui s'exfolie en long lambeaux **(Ghedira et *al.* 2008).** Il possède également des anfractuosités contenant une gomme dite «Kito » dont la couleur varie du rouge sang au rouge sombre **(Aït Youssef, 2006)**.

Les feuilles sont persistantes et polymorphes selon l'âge du rameau. Les Rameaux jeunes possèdent des feuilles larges courtes, opposées, sessiles et disposées horizontalement sur les rameaux **(Baba Aïssa, 1999 ; Ghedira et *al.* 2008).** Elles mesurent 10à 15cm de long et 4 à 8 cm de large avec un limbe entier qui renferme des nodules sécréteurs visibles par transparence **(Aït Youssef, 2006).** Les feuilles adultes sont aromatiques falciformes de 12 à 30 cm de long et 2 à 5 cm de large, étroites, pointues, épaisses, vert-foncé courtement pétiolées, alternes et pendantes **(Ghedira et *al.* 2008 ; Wichtl et Anton, 2003**). Ces feuilles commencent à apparaître lorsque le jeune plant atteint 1,80 à 2,50 m de hauteur, mais elles peuvent encore persister à des hauteurs plus importantes **(Ghedira et *al.* 2008).** Leur limbe est entier à faces semblables, il présente également des lenticelles (poches sécrétrices des huiles essentielles) de couleur brune plus en moins foncée **(Aït Youssef, 2006 ; Wichtl et Anton, 2003).** La fleur est un gros bouton floral qui prend naissance à l'aisselle de la feuille, solitaire, de couleur bleu-blanc **(Ghedira et *al.* 2008),** elle ressemble schématiquement une sorte de boîte s'ouvrant par un couvercle, ayant la forme d'une urne quadrangulaire dont les arêtes saillantes correspondent aux quatre sépales. Cette

urne à quatre pans, de nature ligneuse, mesure 1 à 1,5 cm de long et a un sommet coiffé d'un couvercle déhiscent formé parles 4 pétales soudés **(Aït Youssef, 2006).** Ce couvercle se soulève à la floraison laissant apparaître de nombreuses étamines à long filets blanchâtres disposés en bouquets, et se détache à la maturité de la fleur (**Baba Aïssa, 1999 ; Wichtl et Anton, 2003)**. Le fruit est une capsule ligneuse dure et anguleuse, en forme de pyramide Quadrangulaire renversée **(Aït Youssef, 2006),** prenant une teinte marronne à maturité et S'ouvrant légèrement par trois, quatre à cinq fentes (qui dessinent une étoile à son sommet) pour libérer de nombreuses graines sombres **(Ghedira et *al.* 2008).**Le système racinaire comprend deux parties :

• Un pivot central important s'enfonçant jusqu'à 2,20 m et mesurant, à 80 cm deprofondeur, 35 cm de diamètre. A partir de ce niveau, il se divise en 6 grosses racinesayant de 6 à 12 cm de diamètre chacune, descendant parallèlement **(Giordano, 1968)**, signale, en sols sableux, et dans le cas d'Eucalyptus des pivots atteignant 4 m de profondeur.

• Une grande concentration de racines à la base du tronc d'où partent 8 racines latérales. Dans les 40 premiers centimètres du sol, se trouve un réseau latéral dense avec un maximum de racines en surface. Certaines atteignent plus de 3 m de longueur ; il y a de véritables enchevêtrements avec celles des arbres voisins, mais aucune greffe n'a été constatée. **(Bisset et Shaw, 1954 ; Jacob, 1955)**.



Figure.02 : *Eucalyptus sp* **(Balmey et Wilson, 2000 ; Deysson, 1979).**

I.1.4.Synonyme et Nomenclature :

- **Synonymes :** Gommier bleu, Eucalyptus globuleux, Arbre de fièvre, Eucalyptus officinal.**(Serventy, 1968**).
- **Nomenclature :**

Arabe :كالتيوس

Français : Eucalyptus

Anglais : Eucalyptus, oïl of respiration

Allemagne : Eukalyptus

Espagne : Eucalipto

Italie : Eucalypto

Algerie : kalytous

I.1.5.Origine et répartition géographique :

Le genre Eucalyptus est endémique en Australie. Il est cultivé de nos jours dans quelques Régions subtropicales d'Afrique, d'Asie (Chine, Inde, Indonésie) et d'Amérique du Sud ainsi qu'en Europe méridionale et aux États-Unis. Les espèces appartenant à ce genre sont utilisées pour assécher certaines zones marécageuses **(Amakura et *al*. 2002).**

I.1.6.Classification :

-La classification scientifique réalisée par l'AGP (AngiospermsPhylogeny Group) sur Le Genre Eucalyptus a permis de déterminer la systématique suivante **(Guignard, 2001).**

Tableau.01 : classification de l'Eucalyptus**.**

Règne	Plantes
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous –classe	Rosidés
Ordre	Myrtales

Division	Magnoliophyta
Famille	Myrtacées
Genre	Eucalyptus

I.1.7.Composition chimique d'Eucalyptus :

Les Eucalyptus sont des plantes aromatiques et médicinales qui contiennent plusieurs composés biologiquement actifs tels que, les huiles essentiels (Oxydes terpéniques : 1,8cinéole ; monoterpènes : alpha-pinène, limonène, gamma-terpinène, paracymène ; sesquiterpènes : aromadendrène ; sesquiterpénols : globulol), les flavonoïdes, les acides phénols et les tanins **(Amakura et *al.* 2002).**

L'eucalyptol ou le 1,8 cineole (Annexe I) c'est le composé majoritaire avec une concentration de 70 à 85% **(Song et *al.* 2009).**

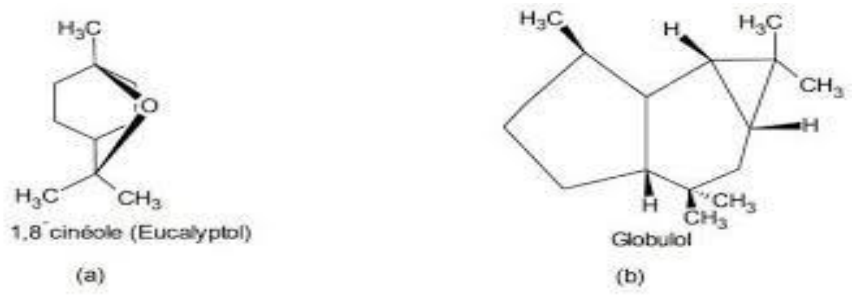


Figure.03 : Structure chimique de 1,8-cinéole (a) et globulol(b).

I.1.8.Propreté thérapeutique :

On a induit depuis quelque dans la thérapeutique les feuilles d'Eucalyptus, qui ont les propriétés suivants :

-Une propriété balsamique, ayant la fonction d'un baume doucissant pour les muqueuses respiratoire **(Brunie, 2006).**

-Une propriété antiseptique des voies respiratoires et à ce titre, il soigne les rhume, les grippes et maux de gorge **(Belaouad, 1998)**.

- Une propriété astringente et fébrifuge **(Belaouad, 1998)**.

- Une propriété hypoglycémiante et vermifuge **(Perroti, 1994).**

-Une action détoxifiante vis-à-vis des toxines diphtérique et tétanique, et antimicrobienne sur les bactéries Gram+ **(Ait youcef, 1983)**.

-Une action anti catarrhale **(Belaouad, 1998).**

I.1.9.culture :

Eucalyptus est bien acclimaté dans les régions tempérées chaudes, il ne supporte pas les températures au-dessous de +4°C, sa multiplication se pratique par semis des graines à l'automne dans des godets sous serre On repique les plants au printemps et on récolte les feuilles durant tout l'été en choisissant les plus allongées et étroites, portées par les rameaux âgés **(Brunie, 2006).** La grande majorité des espèces ne tolèrent que de très légères gelées. Leur résistance à la sécheresse varie également, les Eucalyptus survivent rarement à la transplantation et les plantes en contenant ne durent pas très longtemps. Ils apprécient le plein soleil à tous les stades de leur croissance **(Brunie, 2006).**

I.1.10.Les métabolites secondaires des plantes :

Le terme Métabolite secondaire, qui a probablement été introduit par Albrecht Kosselen 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes.
Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophies **(Boudjouref, 2011).** Ils sont caractérisés par de faible concentration Dans les tissus végétaux (généralement quelque pourcent du carbone total, si on exclue la Lignine de cette catégorie) **(Newman et Gragg, 2012).**Aussi n'exercent pas de fonction directe Au niveau des activités fondamentales de la plante **(Guignard, 1996).**
Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique **(Buchanan, 2001).** Ces composés différents en fonction des espèces et bien que leurs rôles soient encore Mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante Avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels dela coévolution des plantes avec les organismes vivants. Ces différentes relations ont donné Lieu à une extrême diversification des composés secondaires **(Krief, 2003).** Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes **(Lutge et *al*. 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007).**

- Biosynthèse :

La production des métabolites secondaires est étroitement liée au métabolisme primaire, résultant généralement de trois voies de biosynthèse : la voie de shikimate, la voie de mévalonate et du pyruvate **(Verpoorte et Alfermann, 2000).** La plupart des précurseurs sont issus de la glycolyse (pyruvate, phosphoénolpyruvate, acétyl-CoA), de la voie des pentoses Phosphate (glycéraldéhyde-3-P, Erythrose-4-P) et du métabolisme des lipides (glycéraldéhyde-3-P et acétyl-CoA). Ces précurseurs sont à l'origine de la diversité structurale observée au niveau des métabolites secondaires **(Mayer, 2004).**

Du point de vue synthétique, ces métabolites secondaires peuvent aussi être subdivisés

en deux catégories : ils peuvent être de type phyto anticipines ou de constitution, C'est-à-dire Synthétisés par la plante de manière permanente même en absence d'un facteur de stress par Opposition aux métabolites induits ou phytoalexines qui sont synthétisés uniquement en cas destress et sont donc formés de nouveau **(Litvak et Monson, 1998).**

I.1.10.1.Les composées polyphénols :

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside…etc. **(Bruneton, 1999).**

I.1.10.1.1.Classe des polyphénols :

Les principales classes de composants phénoliques sont : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines **(King, 1999;Tapiero, 2002).** Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racine, tiges, feuilles, fleurs et fruits **(Boizot, 2006).**

I.1.10.1.1.1.Les acides phénoliques :

Les acides phénoliques, ou acides phénols ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols, Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature **(Haslam, 1994).** Ils se Divisent

en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque (les acides hydroxycinnamique) etles dérivés de l'acide cinnamique (les acides hydroxybenzoïques) **(Pandey et Rizvi, 2009).** Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature **(Haslam, 1994).**

-Acide phénols dérivés d'acide benzoïque :

Sont des hydroxybenzoiques et ont une structure générale de base de type (C6-C1).

Ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (Harrar, 2012). Les plus répandus sont : l'acide salicylique et l'acide gallique **(Bruneton, 1999).**

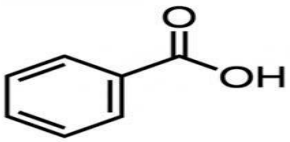


Figure.04 : Acide benzoïque. **(Gorham, 1977).**

-Acide phénols dérivés d'acide cinnamique :

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumariqueet l'acide synaptique. **(Haslam, 1994).**

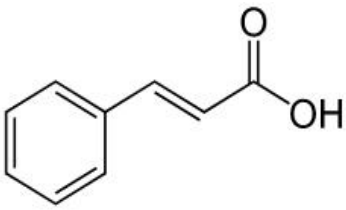


Figure.05 : Acide cinnamique **(Gorham, 1977).**

I.1.10.1.1.2.Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde (de flavus, ‹‹jaune›› en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols **(Bouakaz, 2006).** Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. **(Havasteen, 2002).**

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale dans toutes les plantes

vasculaires **(Erlund, 2004),** où ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits, elles jouent un rôle important dans la protection des plantes **(Bruneton, 1993).** Ils sont généralement des antibactériens **(Wichtl, 2009).** Ils peuvent être exploités de plusieurs manières dans l'industrie cosmétique et alimentaire (jus de citron) et de l'industrie pharmaceutique (les fleurs de trèfle rouge traitent les rhumes et la grippe en réduisant les sécrétions nasales), comme certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales **(Iserinet *al*. 2001).**

-Localisation et distribution :

Les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal, ils sont distribués dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs des plantes **(Medic et *al*. 2005).** Les formes hétérosidiques des flavonoïdes s'accumulent dans les vacuoles et selon les espèces, elles se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle. Dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques **(Bruneton, 1999).**

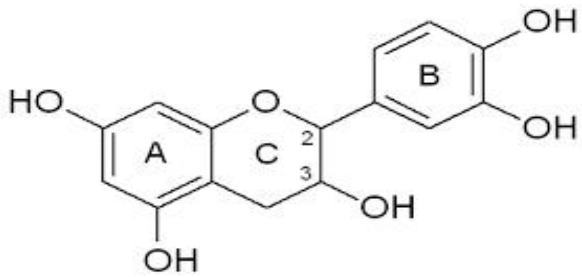


Figure.06 : Structure de base des flavonoïdes **(Lovegrove et *al*. 2017).**

I.1.10.1.1.3.les tanins :

Ils représentent un groupe hétérogène assez difficile à définir de façon rigoureuse car il n'y a pas de structure chimique de base. Ils sont des molécules de haut poids moléculaire, fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives. Les tanins sont divisés en deux groupes principaux d'après leurs structures et leurs propriétés, les tanins hydrolysasbles et les tanins condensés **(Chaouche, 2014).**

✓Tanins hydrolysables :

Les tanins hydrolysés, essentiellement localisés dans les dicotylédones des Angiospermes, sont des oligo- ou des polyesters d'un sucre qui est très généralement le

glucose et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol qui est soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tanins éllagiques **(Harborne, 1998).** Comme leur nom l'indique, Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique.

✓Tanins condensés :

Les tanins condensés ou proanthocyanidine, forment le groupe le plus important. Ils ne possèdent pas de sucre dans leurs molécules et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes **(Paris et *al*. 1981).**

-Localisation et distribution :

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les conifères, les Fabacée et les rosacées**(Ghestemet *al*. 2001).**

Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les Graines.

I.1.10.1.1.4.Les coumarines :

Les coumarines sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal, sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, considérées comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-7-Cinnamiques **(Benayache, 2005).** Elles existent sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) Ils sont plus ou moins solubles dans l'eau **(Bruneton, 1999)**.Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi selon l'espèce. Dans la cellule végétale elles sont principalementprésentes sous forme glycosylée, cette glycosylation est une forme de stockagepermettant d'éviter les effets toxiques de ces molécules. Elles sont considérées commedes phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantitépour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries **(Hoffman, 2003)**.

I.1.10.2.Les terpenoïdes et les stéroïdes :

Le terme terpène inventé par **Kekulé**, vient de leur origine historique de l'arbre deTerebinth « *PistaciaTerebinthus* » **(Ayad, 2008).**

Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale **(Malecky, 2005)**, synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux **(Benaissa, 2011).**

I.1.10.3.Les alcaloïdes :

Le terme «alcaloïde» a été introduit par W. Meisner au début du XIXème. La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910. Un alcaloïde est une Substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe **(Badiaga ,2011).**

Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, Jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Ainsi, la nicotine, produite dans les racines, migre vers les feuilles où elle est diméthylée. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans Les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles **(Krief, 2003).** Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques **(Mauro, 2006).**

Le plus souvent, la synthèse de ces alcaloïdes s'effectue au niveau de site précis (racine en croissance, cellules spécialisées de laticifères, chloroplastes) ; ils sont ensuite transportés dans leur site de stockage. **(Rakotonanahary, 2012).**

I.1.10.3.1.Structure des alcaloïdes :

La plupart des alcaloïdes sont dérivés d'acide aminés tels que le tryptophane, l'ornithine, la lysine, l'asparate, l'anthranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acidesAminés sont décarboxylés en amines et couplées à d'autres squelettes carbonés **(Cyril, 2001).**

On divise les alcaloïdes en trois genres :

- Les alcaloïdes vrais :

Les alcaloïdes vrais représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes, sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les Plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde. **(Badiaga, 2011).**

- Les pseudo-alcaloïdes :

Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés. **(Badiaga, 2011).**Dans la majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate. **(Rakotonanahary, 2012).**

- Les proto-alcaloïdes :

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, ils ont un caractère basique et sont élaborés in vivo à partir d'acide aminé. ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont soluble dans l'eau**. (Badiaga, 2011).**Encratique, il est admis que ne sont pas des alcaloïdes : les amines simples, les bétalaïnes, lespeptides, les acides aminés, les amino-sucres, les porphyrines, les alkylamines et les arylakylamines. **(Rakotonanahary, 2012)**.

-Bien que beaucoup d'alcaloïdes soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), certains sont employés dans la médecine pour leur propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), dans le cadre de protocole de sédation (anesthésie, atropine) Souvent accompagnés des hypnotiques, ou comme agents antipaludéens (quinine, Chloroquinine) ou agents anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine) **(Beddou, 2015)**.

I.2.Etude des espèces sélectionnées :

I.2.1.*Eucalyptus blakelyi :*

I.2.1.1.origine du nom :

- Nom commun :

-En français : La gomme rouge de Blakely, la gomme rouge de forêt, la gomme rouge bourgeonnante blanche, la gomme rouge à bourgeons blancs.

-En anglais : Blakely'sRedGum

- Noms scientifiques : *Eucalyptus blakelyi*.

Tableau.02: Classification de l'*Eucalyptus Blakelyi.*

Règne :	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida-Dicotylédones
Sous –classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	Eucalyptus
Espèce	*Eucalyptus Blakelyi*

I.2.1.2.Description botanique :

Eucalyptus blakelyi est un arbre de 25 m de haut qui forme un lignotube. Son écorce est lisse ou rugueuse à la base du tronc, de couleur gris pâle, crème et blanche avec des taches jaunes, roses, brunes ou orangées (**Maiden, 1917).**

Les feuilles juvéniles sont pétiolées, opposées pour quelques paires puis alternes, généralement ovales, de 4-10 cm de long et de 3,3-7 cm de large, généralement bleu vert (**Maiden, 1917).**

Les feuilles adultes sont en alternance, pétiolées avec un limbe lancéolé ou falciforme, de 6-20 cm de long et de 0,7-4,5 cm de large, à base effilée vers le pétiole, concolore, glacé ou terne, vert à bleu-vert (**Maiden, 1917).**

Son inflorescence est axillaire non ramifiée avec des pédoncules de 0,5-1,9 cm de long.

Les bourgeons matures sont étroitement ovoïdes à fusiformes (0,8-1,4 cm de long, 0,3-0,6 cm de large), vert à crémeux ou glauque, les étamines sont dressées à anthères cuboïdes ou oblongues, la déhiscence se fait par fentes longitudinales (non confluentes), le stigmate est contondant avec un style long, le placenta contient6 rangées verticales d'ovules. Les fleurs sont de couleur blanche (**Maiden, 1917).**

Les fruits pédicellés (pédicelles de 0,1-0,6 cm de long) sont hémisphériques ou tronqué globuleux, de 0,2-0,5 cm de long et 0,4-0,8 cm de large renfermant des disques surélevés, convexes ou obliques (**Maiden, 1917).**

Les graines sont de couleur noire, brune ou grise, de 0,5-1,5 mm de long, pyramidales ou cuboïdes, à surface dorsale dénoyautée (**Maiden, 1917).**



Figure.07 : L'arbre adulte et les feuilles de l'*Eucalyptus Blakelyi* **(Maiden, 1917).**

I.2.1.3.Répartition géographique :

Eucalyptus blakelyi est une espèce d'arbre commune dans les zones boisées herbeuses des versants ouest des plateaux de Nouvelle-Galles du Sud de Victoria **(Boland et *al,* 2006 ; Slee et*al,* 2006).** Dans le Queensland, il se trouve dans la région de Stanthorpe. Cette espèce peut atteindre jusqu'à 25 m de hauteur et préfère les terrains alluvionnaires, les terrains de moyenne montagne ou les dépressions avec des débits d'eau saisonniers **(Boland et *al,* 2006).**

I.2.1.4.L'usage de l'espèce :

-Utilisation potentielle dans la ferme : excellent brise-vent, bon pour les poteaux de clôture, brise-vent ou ombrage pour le bétail.

-Produits de spécialité : les fleurs produisent du nectar pour la production de miel, le pollen a une valeur pour l'apiculture.

-Valeur pour la faune : les fleurs sont particulièrement attrayantes pour les oiseaux.

-Produits en bois : bois artisanal (pour le tournage, etc.), revêtements de sol, bois de chauffage de haute qualité, poteaux (y compris les clôtures), bois de spécialité pour meubles de qualité. **(Pryor, 1955).**

I.2.2.*Eucalyptus Cladocalyx :*

I.2.2.1.Origine du nom (Brooker, 1990)

- Nom commun :

-En français : Gomme à sucre

-En anglais : Sugargum

- Nom scientifique : *Eucalyptus cladocalyx*

Tableau.03: Classification de l'*Eucalyptus Cladocalyx.*

Règne :	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida-Dicotylédones
Sous –classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	Eucalyptus
Espèce	*Eucalyptus Cladocalyx.*

I.2.2.2.Description botanique :

E.Cladocalyx est un arbre de taille moyenne de 20 m, mais il peut atteindre jusqu'a 10 à 35 m. Les tiges peuvent être claires aux deux tiers de la hauteur des arbres sur les sites les plus favorables, tandis que sur les sites les plus pauvres, les tiges ne sont claires que

Pour un tiers à la moitié de la hauteur totale et sont souvent tordues **(Brooker, 1990).** L'écorce est lisse, formant de larges taches irrégulières produisant une surface marbrée de couleur jaune à orange, grise et bleu-gris **(Brooker, 1990).**Il a un système racinaire étendu et compétitif.

Les feuilles juvéniles sont opposées pour quelques paires puis alternées, elliptiques puis orbiculaires de 5-6 x 7-9 cm, décolorées ou vert foncées **(Brooker, 1990 ; Nicolle, 1997).**

Les feuilles adultes sont largement lancéolées, fortement décolorées, avec une surface Supérieure vert foncée et brillante et une surface inférieure terne et plus pâle, 11-15 x 2-2,4 cm **(Brooker, 1990 ; Nicolle, 1997).**

Les inflorescences sont axillaires, non ramifiées, sur les rameaux dépourvus de feuilles à l'intérieur de la couronne **(Brooker, 1990).** Les fleurs sont blanches, à 7 fleurs ou plus dans chaque inflorescence. Les bourgeons sont pédicellés, cylindriques ou contractés au-dessus du milieu, souvent nervurés, vert pâle ou crème, de 8-10 x 3-6 mm; l'opercule est court, hémisphérique, umboné, souvent légèrement plus large que l'hypanthium **(Brooker, 1990).**

Les fruits sont sur des tiges, en forme de tonneau ou urcéolées, nervurées, de 9-15 x 6-10 mm avec 3-4 valves qui sont profondément enfermée **(Brooker, 1990).** La graine est gris-brun clair, ovoïde compressée, souvent pointue à une extrémité légèrement bridée et presque lisse **(Brooker, 1990).**



Figure.08 : l'arbre adulte et les feuilles de l'*Eucalyptus Cladocalyx* **(Muell, 1853).**

I.2.2.3.La répartition géographique :

E.Cladocalyx est endémique de l'Australie-Méridionale où il se rencontre naturellement dans quatre régions isolées **(Boland et *al*, 1984):**régions d'occurrence naturelle, le sud de la chaîne des Flinders, péninsule d'Eyre et Kangaroo Island enAustralie du Sud.On le rencontre comme essence dominante dansla foret sclérophylle sèche dans les parties les plus humides de son aire et comme élément de la savane boisée dans la partie la plus sèche. **(Pryor, 1955).**

I.2.2.4.L'usage de l'espèce :

Utilisation potentielle à la ferme : brise-vent excellent, bon pour les poteaux de clôture, Bons attributs ornementaux, brise-vent ou ombre pour le bétail.

Produits de spécialité : les fleurs produisent du nectar pour la production de miel où le Pollen a de la valeur pour l'apiculture.

I.3.Activité antimicrobienne et antioxydante :

I.3.1.Activité antimicrobienne :

I.3.1.1.Les agents antimicrobiens :

Sont des agents qu'ont la capacité de tuer des populations microbiennes soit par une action à large spectre ou rarement une action ciblée .Ces agents peuvent être naturels ou synthétique. L'obtention d'une action bactéricide globale sur les bactéries, s'effectue par l'assurance de l'activité bactéricide de l'agent antimicrobien, aussi l'espèce à gram positif que gram négatif sans oublié les groupe CNM (Corynobacterium, Nocardia, Mycobacterium), ces trois dernies on peut les distinguer par la composition et la structure de leur paroi cellulaire **(Pibiri, 2006)**.

I.3.1.2.Mécanismes d'action :

On peut classer les mécanismes d'action des produits antimicrobiennes en deux catégories selon leur effet .Le premier est létal, qui entraine la mort de l'individu. Il est nommé par le suffixe CIDE : bactéricide, virucide, fongicide, insecticide. Le deuxième c'est l'inhibition de croissance en présence du produit actif. Il est nommé par le suffixe Statique : bactériostatique, fongistatique.

Parmi les produits Biocides, on a

I) les composés chimiquement très réactifs qui se caractérisent par une action brutale, rapide et temporaire et souvent non spécifique par exemple : les oxydants et l'eau oxygéné, les acides et les bases fortes, les aldéhydes et les phénols,

II) les composés chimiquement stables à action plus spécifique par exemple : les ammoniums quaternaires, le Chlorhexidine

Il y a cinq étapes dans l'action des agents antimicrobiens qui sont décrites par M.R.J. Salton en 1968 **(Fleurette et Freney, 1995)** :

1. Adsorption sur la cellule survie de la pénétration dans la paroi.
2. Réactions complexes avec la membrane cytoplasmique conduisant à sa désorganisation.
3. Echappement et inhibition des composants de faible poids moléculaire du cytoplasme.
4. Dégradation des protéines et des acides nucléiques.
5. Lyse de la paroi par des enzymes autolytiques.

I.3.1.3.Antibiotique :

Les antibiotiques sont des médicaments utilisés pour traiter les infections bactériennes. Ces substance**s** sont inefficaces contre les infections virales et la plupart des autres infections. Ils peuvent tuer les microorganismes ou bien inhiber leur reproduction, permettant ainsi aux défenses naturelles de l'organisme de les éliminer. La classification des antibiotiques se fait selon leur structure chimique, le plus souvent, les différentes classes d'antibiotiques affectent l'organisme de façon différente et peuvent être efficace contre plusieurs bactéries **(Brian J. Werth , 2020).**

Les principales familles d'antibiotiquessont :

- Béta- lactamines
- Glycopeptides

- Aminosides
- Macrolides
- Quinolones

I.3.1.4.Antibiorésistance :

Les bactéries gagnent une résistance contre les antibiotiques juste après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses. Cette résistance est un facteur majeur compliquant le traitement des infections bactériennes et la dissémination des souches résistances **(D. Yala et *al* , 2001)**

Il y a deux catégories de résistances :

-Résistance naturelle :

Est une résistance existe naturellement chez tous les genres ou les espèces bactériennes, donc est une partie du patrimoine génétique normal du germe **(D. Yala et *al*, 2001).**

- Résistance acquise :

Les bactéries peuvent acquière des nouveaux gènes, ces dernières capable de rendre le germe insensible à un seule antibiotique ou groupe d'antibiotique. Les nouveaux gènes peuvent être obtenus rarement par une mutation dans le chromosome ou par transfert d'ADN de plasmides conjugatifs ou de transposons qui le mécanisme le plus fréquent **(D.Yala et *al*, 2001).**

I.3.1.5. les souches bactériennes sélectionnées :

I.3.1.5.1.*Klebseilla oxytoca :*

Est un bacille Gram négatif, anaérobie, de famille des Entérobactéries, partie de la flore colique. Sont des bactéries saprophytes de la flore fécale normale, son rôle pathologique est, difficile à apprécier par sa seule présence en coproculture**(T.Vallot, paris, 1999)**

I.3.1.5.2.*Entérobacter aerogenes* :

Sont des bacilles à Gram négatif, anaérobies facultatifs, famille d'Entérobacteriaceae. Elles ont de 0,6 à 1µm de diamètre et 1,2 à 3 µm de longueur, elles se déplacent grâce à

un flagelle peritriche, elles sont dotées de pilus de classe1 (1, 3, 4), la température 30°est la température optimale de croissance **(C. Hart et *al*. 2006).**

I.3.1.5.3.*Escherichia coli* :

Fait partie de la flore digestive de l'homme et des animaux, mode respiratoire aéro-anaérobie facultatif, est un bacille mobile, Gram négatif, oxydase négatif, catalase positif. Les *E. coli* sont naturellement sensibles aux antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatif. On peut les trouver dans les urines, les selles, le sang et les pus **(Dr. Danielle Clave, 2015).**

I.3.1.5.4.*Citrobacter freundii* :

Est un bacille à Gram négatif de famille des Entérobacteriaceae, flagellé, présente naturellement dans la flore intestinale, on la trouve aussi bien dans l'eau et les aliments. Elle est une bactérie opportuniste qui peut provoquer des infections du système nerveux centrale (SNC) chez les nourrissons (**Dr. philippe Goeb, 2020).**

I.3.1.5.5.*Klebseilla pneumoniae* :

Sont des bactéries à Gram négatif, causent jusqu' à 5 % des infections urinaires communautaire et 9% des nosocomiales, des infections respiratoires, des infections intestinales. Ce sont des germes ubiquitaires existent dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire des animaux et l'homme en tant que bactéries commensales (**François Denis; Marie-Cécile Poly, 2007).**

I.3.2.Activité antioxydante :

I.3.2.1.Généralité

Les plantes médicinales ont plusieurs activités biologiques, parmi ces activités, on peut citer l'activité antioxydante, qu'est devient très utilisable ces dernières années lors leur efficacité dans la prévention contre les maladies chroniques telles que les pathologies du cœur, le cancer, le diabète et la maladie d'Alzheimer combattant le stress oxydatif **(Meddour, 2001).**

I.3.2.2.Le stress oxydatif :

Est un déséquilibre entre la production des espèces radicalaire et les capacités de défense antioxydante de l'organisme (**G. Baudeux j-L, Duramd, 2011).**

La production d'espèce radicalaire de l'oxygène est utile mais peut être néfaste pour le corps lors d'une production excessive et en l'absence de mécanismes de défense, c'est le stress oxydatif, celui- ci permet et favorise l'apparition des maladies graves (cancer, maladie de dégénérative) ainsi la survenue d'un vieillissement prématuré (**R. Belaich;S Boujraf, 2016).** La mort cellulaire ou apoptose, c'est une des principales fonctions déclenchées par le stress oxydatif.

I.3.2.2.1.Dérivés réactifs de l'oxygène et radicaux libres :

Les dérivés réactifs de l'oxygène sont des composés chimiques oxygénés, parmi lesquels on a les radicaux libres. Leur propriété caractéristique commune est de disposer d'au moins un électron libre sur la couche externe d'un atome d'oxygène, ce qui leur confère une propriété très réactive et instable.

Ces radicaux libres sont de nature soit exogène ou endogène, ils sont produits par l'activité de l'organisme et par les processus biologiques vitaux, leurs rapports extérieur sont variés à cause des substances exposés devant le corps par exemple : l'alimentation, pollution, les rayons…

Parmi les aliments riche en radicaux libres on compte notamment l'excès d'alcool et/ ou de viande rouge, les viandes et poissons grillés ou fumés, et les graisses rances, frites ou brulées (**Delattre et *al*. 2007).**

I.3.2.2.2.Les réactions d'oxydation :

Au moyen de réaction d'oxydation, les radicaux libres s'attaquent nombreuses cellules de l'organisme. Ces réactions touchent particulièrement le matériel génétique, les protéines et les lipides constitutifs des nombreuses cellules. Ces lésions oxydatives sont impliquées dans plusieurs pathologies telles que les maladies neurodégénératives maladies articulaires, encore dans les phénomènes d'ischémie-reperfusion (cardiaque ou cérébrale) et les processus de vieillissement. Les radicaux libres impliqués dans le stress

oxydatif sont les radicaux superoxydes (O_2-), perhydroxyle (HO_2-), hydroxyle (OH), peroxyle (RO_2, où R représente un substrat organique) (**Delattre et *al*, 2007).**

A- Le superoxyde (O_2-) :

La réduction monovalente de l'oxygène donne la formation de superoxyde, soit l'apport d'un électron à la molécule O_2. Cette réaction s'effectue au niveau de mitochondrie lors de la respiration cellulaire. Le polynucléaire neutrophile, c'est un autre site de production, qui utilise les ERO pour son activité phagocytaire. Quelque enzyme comme la NADPH- oxydase et la xanthine-oxydase peuvent produire des radicaux superoxydes, lors d'un stress (sepsi, ischémie. . .) **(L. Rochette, 2008).**

Il est métabolisé par l'enzyme superoxyde dismutase (SOD), celle-ci permet la disparition du radical libre par son dismutation :

$$O_2n- + O_2n- + 2H+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

Le superoxyde est peut toxique par lui-même, ses principales cibles sont le cytochrome c, l'acide ascorbique et surtout l'enzyme superoxyde dismutase.

B- Le Perhydroxyle (HO_2-) :

La protonation du radical superoxyde en milieu PH inferieur à 4,8, donne la naissance de perhydroxyle, ce dernier est plus réactif que le superoxyde puisque le potentiel standard d'oxydoréduction est plus élevé ainsi que ses constantes de vitesse, notamment vis-à-vis des acides gras polyinsaturés (acide linoléique, arachidonique, linolénique) (**Delattre et al. 2005).**

C- L'Hydroxyle(OH) :

Il n'a pas de rôle physiologique connu, c'est le radical le plus toxique. Par la réaction de fenton, le peroxyde d'hydrogène peut réagir directement avec des ions métalliques dans la chaine respiratoire mitochondrial. Il s'agit d'une réaction d'oxydation avancée aboutissant à la formation du radical hydroxyle OH (**Delattre et al. 2005).**

D- Le peroxyle (RO_2) :

La formation des radicaux peroxyles ($CH_2CH(O_2)$ OH) est causée par la radiolyse ou l'irradiation de solvants comme l'éthanol(CH_3CH_2OH).Ces radicaux peuvent être captés

par l'ascorbate, qui devient alors le radicale ascorbyle, ce dernier est inerte par rapport aux matériaux biologiques (**J. Delattre et al. 2005).**

I.3.2.2.3.Notre défense contre le stress oxydatif : les antioxydants.

Les antioxydants donnent à l'organisme la capacité de défendre contre le stress oxydatif, par le ralentissement ou l'élimination des radicaux libres. Ces antioxydants sont d'origine soit endogènes produisent par l'organisme comme le superoxyde dismutase(SOD), la catalase(CAT), et la glutathion peroxydase(GPx), soit exogènes apportés par l'alimentation qui est abondants notamment dans les fruits et légumes sous forme de vitamine C et E, Bêta-carotène, et polyphénols (**J. DELATTRE et al. 2007).**

I.3.2.2.3.1.les antioxydants exogènes :

A- Vitamine C :

On a l'appelle vitamine c ou acide ascorbique, leur rôle c'est l'inhibition de l'oxydation de LDL produit par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène ROS (neutrophile activées, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase). Après l'oxydation, acide ascorbique devient déhydroascorbique. Elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyle), qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (**Chen et *al*. 2000).**

B- vitamine E :

Vitamine E ou alpha- tocophénole est trouvé principalement sur les membranes cellulaires. Il est liposoluble, impliqué dans la réduction de la peroxydation lipidique et inhibe leur propagation, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radicale RO2, alors cet activité permet de rendre la vitamine E le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection (**Khalil, 2002).**

C- Les polyphénols :

Sont des métabolites secondaires d'un poids moléculaire élevé. Ils sont caractérisés par la présence dans leur structure d'un ou plusieurs noyaux aromatiques auxquels sont Directement liés un ou plusieurs groupement hydroxyle célibataire ou engagés dans autre fonction (éther, ester) (**Harborne, 1994).**

D- beta- carotène :

Est un antioxydant existe beaucoup dans les fruits et les légumes, il protège contre le déclin des facultés cognitives qui associé au vieillissement. Il a une action qui ne manifeste qu'après long temps. Le beta -carotène a un effet semblable avec le donépézil, un médicament de synthèse employé pour améliorer les fonctions cognitives des patients d'Alzheimer (**F.Grodstein;J.H Kang, et *al,* 2007).**

I.3.2.2.3.2.Les antioxydants endogènes :

A- le superoxyde dismutase SOD :

Est un enzyme ubiquitaire, catalyse la dismutation des anions superoxyde en peroxyde d'hydrogène et oxygène moléculaire (**Serrano et Klann; Hwang et Kim, 2007).**

$$2O_2^- + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

B- catalase

Catalase ou bien CAT est une protéine héminique, localisée dans les peroxysomes, ces derniers c'est place stratégie à cause de l'existence des enzymes comme les flavines, l'urate et les D- amino- oxydase produisent des radicaux libres H2O2. Cette protéine catalyse la transformation du H2O2 en eau et oxygène (**M. Lehucher et al.2001).**

$$2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$$

C- Glutathion peroxydase GPx :

Est localisé dans le cytosol, le réticulum endoplasmique et dans la membrane interne des mitochondries, catalyse la réduction par le glutathion de la peroxydase d'hydrogène et divers hydroperoxydes lipidiques produits (**Reichheld et *al*.2005;Schrader et *al*. 2006)** selon les réactions suivantes :

$$ROOH + 2GSH \longrightarrow ROH + GSSG + H_2O$$

$$H_2O_2 + 2GSH \longrightarrow 2H_2O + GSSG$$

Chapitre II
Matériels et Méthodes

Notre travail consiste en une étude phytochimique, suivi d'une évaluation de l'activité antibactérienne et activité antioxydante des extraits méthanoliques et acétoniques des deux espèces végétales soit *Eucalyptus Cladocalyx et Eucalyptus Blakelyi* appartenant à la famille des Myrtacées et au genre d'*Eucalyptus*.

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de biologie de l'Université Dr. Yahia Farès de Médéa , durant la période allant du mois d'avril jusqu'à la fin du mois de Mai de l'année 2021. Nous avons adopté le schéma suivant:

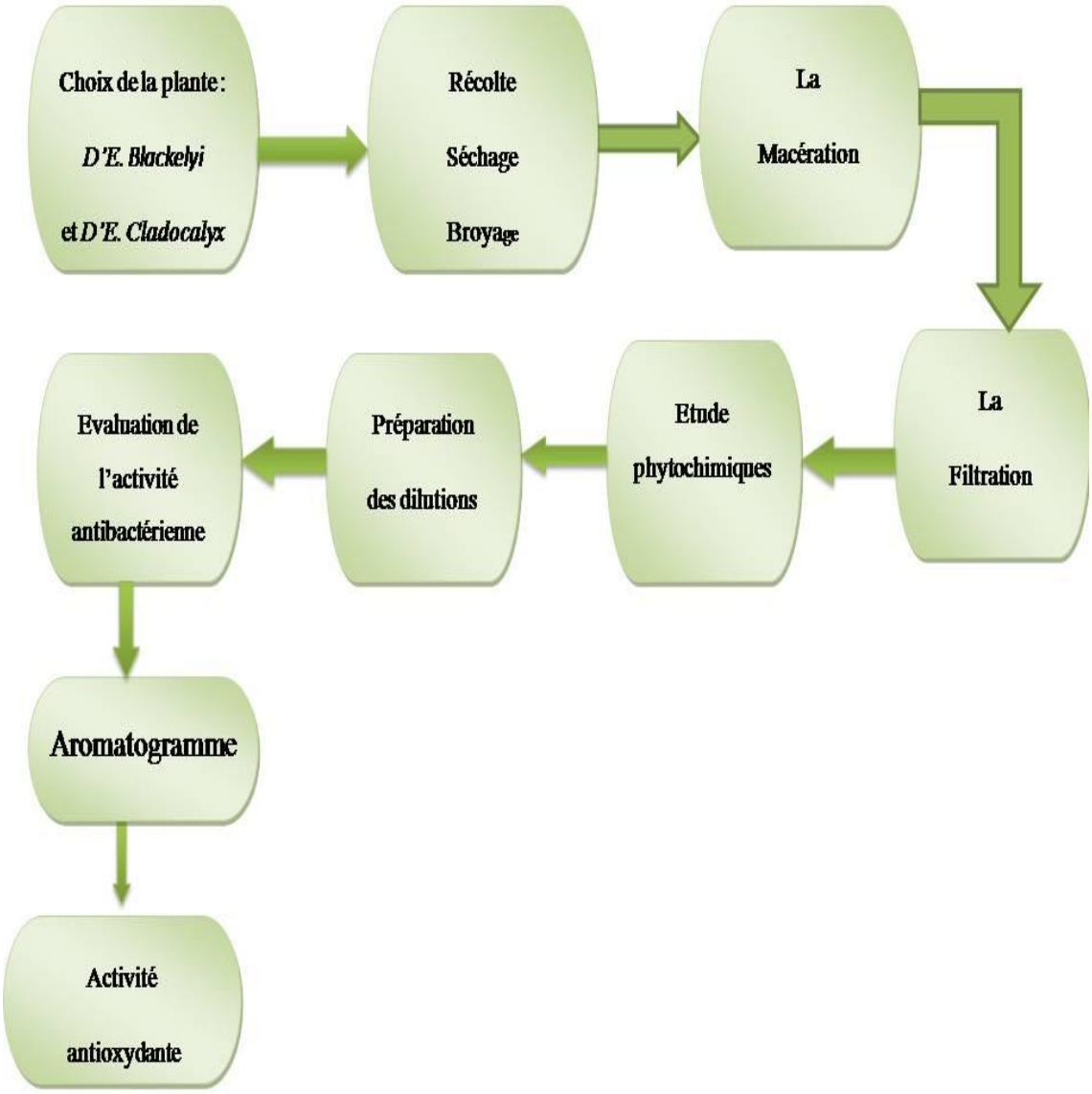


Figure.09: Schéma général des différentes étapes du travail

II.1.Matériel :

II.1.1.Matériel biologique :

Le matériel biologique utilisé est constitué d'un matériel végétal représenté par les deux plantes du Genre *Eucalyptus*, et d'un matériel microbiologique constitué de six souches bactériennes.

II.1.1.1.Matériel végétal :

les feuilles adultes de deux plantes du genre d'*Eucalyptus* (les parties aériennes de la plante) ont été nettoyées à l'eau de robinet afin d'éliminer les impuretés , égouttées puis séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant deux semaines , Une fois séchées , les feuilles ont été réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique, la poudre ainsi obtenue est conservée à +4°C dans des flacons en verre hermétiquement fermés à l'abri de l'air et de l'humidité.

II.1.1.1.1.Récolte :

Les deux plante de d'*Eucalyptus Cladocalyx et Eucalyptus Blakelyi*, ont été collectée au cours de la floraison à l'INRF (Institut National de la Recherche Forestière) durant le mois de Juillet et Juin respectivement dans la région de Bainem situé à 12 km à l'ouest de la Wilaya d'Alger en Algérie.

II.1.1.1.2.Broyage :

Les feuilles des plantes séchées sont broyées à l'aide d'un moulin à café jusqu'à l'obtention d'une poudre fine (**Figure.09**), le broyat va constituer la matière sèche qui sera utilisée pour les tests phytochimiques.



Figure.10 : Broyage des feuilles des plantes séchées (Eucalyptus) :

II.1.1.2.Matériel microbiologique

Le support microbien utilisé est composé de six souches bactériennes utilisées (**tableau** .1) qui sont des espèces Gram négatif, pathogènes et responsables d'infections graves chez l'homme et dont la plupart sont résistantes aux antibiotiques.

Elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance pendant 24 h à 37°C.

- ✓ deux souches bactériennes utilisées sont des souches de référence obtenues de l'American Type Culture Collection (ATCC).
- ✓ quartes souches cliniques isolées de patients

Tableau.04: Les souches bactériennes utilisées :

Souches bactériennes	**Provenance**
Escherichia coli ATCC 25922 *Escherichia coli isolée*	Université de Tiaret
Klebseilla oxytoca *Klebsella pneumoniae* *Citobacter freundii* *entérobacter aerogenes*	Laboratoire de l'EPSP du pôle urbain à Médéa

II.1.2.Matériel non biologique :

Afin de réaliser cette étude nous avons utilisé un ensemble de matériaux composé d'appareils, de produits chimiques, de réactifs et de verreries ont été utilisé, ceux -ci sont décrits en annexe.

II.2.préparation des extraits :

Dans cette étude, l'extraction des composés actifs des deux plantes d'*Eucalyptus* à partir de la matière végétale sèche est réalisée par la macération en utilisant des solvants organiques (méthanol, acétone).

II.2.1.mode opératoire :

Une quantité de 50 g de la poudre de chaque espèce soit *E.Cladocalyx et E.Blakelyi* est introduite dans un volume de 166,66 ml de méthanol pour obtenir l'extrait méthanoliques et le même volume d'acétone pour l'extrait acétonique, les mélanges obtenus ont été régulièrement agités pendant quatre jours à température ambiante. Puis, ils ont été filtrés en utilisant du papier filtre. Ainsi, le filtrat récupéré est concentré à sec sous pression réduite à 65°C dans un évaporateur rotatif. Les substances obtenues sous forme visqueuse sont stockées dans bocaux étanches à 4°C jusqu'à utilisation ultérieure (Gaston et *al*. 2014). (**Figure 10).**

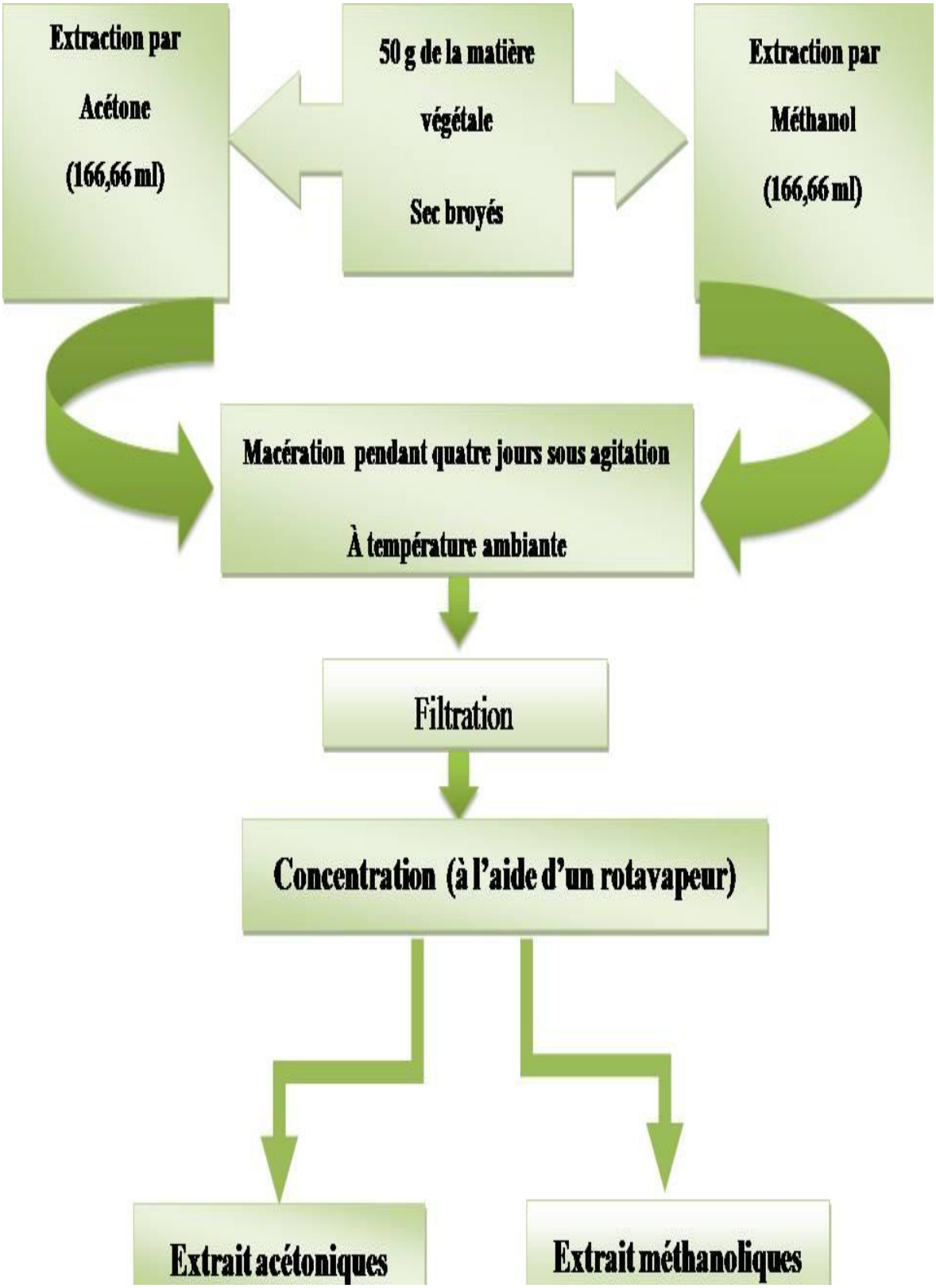


Figure.11 : Diagramme montrant la préparation des extraits acétoniques et méthanoliques l'*Eucalyptus Blakelyi* et *l'Eucalyptus Cladocalyx* :

II.2.1.1.Evaporation :

L'évaporation est utilisée pour séparer un mélange constitué d'un solvant organiques (méthanol, acétone) de l'extrait de la poudre végétale de d'*Eucalyptus Cladocalyx* et *Eucalyptus Blakelyi*, cette méthode permet la séparation des composés par évaporation de solvant organique, laissant ainsi le résidu solide dans le récipient de départ. Afin d'accélérer le phénomène, un rotavapeur (ou évaporateur rotatif) est utilisé, il permet d'augmenter la surface de contact liquide-air, voire aussi de diminuer la pression, afin d'augmenter la vitesse d'évaporation. (**Figure11)**.

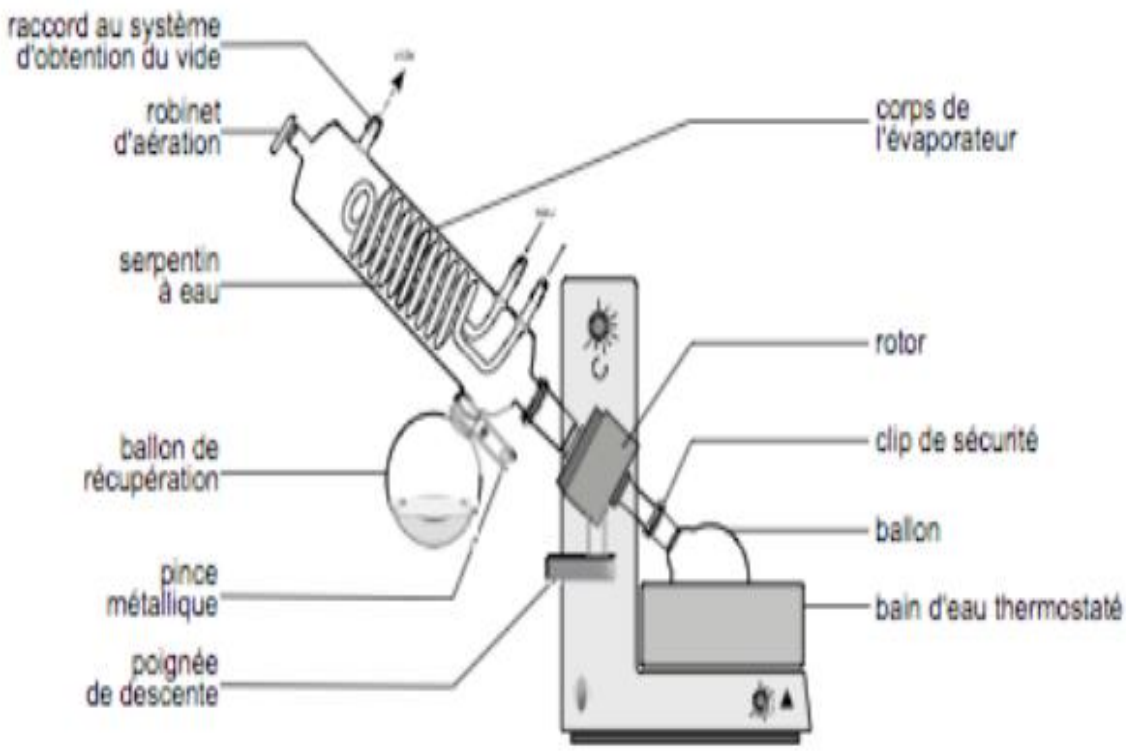


Figure.12 : L'évaporateur rotatif :

II.3.Calcul du rendement :

Le rendement en extrait organique est le rapport entre la masse de l'extrait et la masse de la matière végétale utilisée (Abe *et al*, 2010).

Il est calculé par la formule suivante (Abe *et al*, 2010): $\mathbf{R = P_e / P_p * 100}$

D'où :

R : rendement

P_e : poids de l'extrait utilisé en g

P_p : poids de la plante en g

II.4.Screening phytochimique :

Les différents tests phytochimiques ont été réalisés sur les extraits préparés par les deux solvants organiques (méthanol et acétone) et sur les mêmes poudres de deux espèces d'Eucalyptus, Ces derniers ont pour objectif de rechercher les substances bioactives responsables de la plupart des activités biologiques.

Notre travail a été réalisé en 2 étapes :

- Un screening phytochimique des extraits préparés d'*E. Blakelyi* et *E. Cladocalyx*.
-Un screening phytochimique de la poudre végétale de la plante d'*Eucalyptus*

II.4.1.Screening phytochimique des extraits :

II.4.1.1.Identification des alcaloïdes :

2 ml de réactif de wagner (2g de KI et 1,27 g de I sont dissous dans 75 ml d'eau distillée, puis ajusté à 100 ml avec l'eau distillé) sont ajoutés à 2 ml de l'infusé. La formation d'un précipité blanc-jeune indique une réaction positive. **(Trease et Evans, 1989 ; Harbone, 1998).**

II.4.1.2.Identification des flavonoïdes :

L'identification des flavonoïdes se fait dans les résidus par le test appelé " réaction de Shinoda"(Locket *al*. 2006). Cette identification est réalisée par l'addition de 2 ml de L'infusé avec quelques gouttes de l'acide chlorhydrique (HCl concentré (2N)) et 0,5g de magnésium métallique sous l'agitation pendant 3 min **(Malecet Pamilio, 2003).**

II.4.1.3.Identification des tannins :

Cette identification est réalisée dans les résidus par le réactif de Stiasny. Dans deux tubes à essai, sont introduits chaque aliquote de résidu repris au MeOH puis évaporé, et ajouter 15 ml du réactif de Stiasny (30% CH_2O dans HCl concentré 2/1). Après

refroidissement, la présence de tanins est indiquée par la formation de précipité sous forme de flocons. **(Yves-Alain et *al.* 2007).**

II.4.1.4.Identification des saponines :

Les résidus sont repris dans 5 ml d'eau distillée, puis introduits dans un tube à essai. Le tube à essai est agité vigoureusement pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min.une hauteur d'un mousse indique la présence de saponines. **(Yves-Alain et *al*. 2007).**

- Pas de mousse = test négatif.

- Mousse moins de 1cm = test faiblement positif.

-Mousse plus de 1cm = test fortement positif.

II.4.1.5.Identification des coumarines :

L'identification des coumarines dans les résidus se fait par la réaction sur le cycle laconique. Dans deux tubes à essai, sont introduits 2 ml de solution éthanolique obtenue à partir de chaque résidu. On ajoute 0,5 ml de NaOH à 10%, dans un des tubes à essai, puis les tubes à essai sont chauffés au bain-marie jusqu'à ébullition. Après refroidissement, sont rajoutés 4 ml d'eau distillée dans chaque tube à essai. Si le liquide du tube à essai dans lequel l'on a ajouté la solution alcaline est transparente ou plus transparente par rapport au liquide du tube à essai témoin (sans solution alcaline), alors la réaction est positive. En acidifiant la solution transparente avec quelques gouttes de HCl concentré, elle perd sa coloration jaune, se trouble ou il se forme un précipité. **(Yves-Alain et *al*. 2007).**

II.4.1.6.Identification des stérols et polyterpènes :

L'identification des stérols et les polyterpènes sont réalisées dans les résidus par la" réaction de Liebermann.

- un aliquote de résidu est dissout à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique dans une capsule, puis repris dans un tube à essai dans lequel sont coulés 0,5 ml de H_2SO_4concentré. La formation d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique une réaction positive**. (Yves-Alain et *al*. 2007).**

II.4.1.7.Identification des protéines :

L'identification des protéines dans les résidus se fait par la " réaction du biuret ". Dans deux tubes à essai, sont introduit chaque aliquote de résidu dans 2 ml de NaOH aqueux à 20% puis ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution aqueuse de $CuSO_4$ à 2%. La présence de protéine se traduit par l'apparition d'une coloration violette, quelquefois avec une teinte rougeâtre. **(Yves-Alain et *al.* 2007)**.

II.4.2.Screening de la poudre :

II.4.2.1.Identification des tanins :

À 5 ml de l'infusé, ajouter goutte à goutte 1 ml d'une solution de Chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 1%. La présence des tanins catéchiques est indiquée par l'apparition d'une coloration verdâtre et les présences des tanins galliques par l'apparition d'une coloration bleu noirâtre.

L'identification des tanins catéchiques se fait par l'ajoute de 30 ml de l'infusé à15 ml de réactif de Stiasny (Formol à 30% + HCl concentré3-1 v/v).après 3 min de chauffage au bain-marie. La formation d'un précipité orange indique l'existence des tanins catéchiques. **(Djahra, 2014).**

II.4.2.2.Identification des saponines :

Leur identification se fait par est déterminée quantitativement par le calcul de l'indice de mousse, degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées.

2 g de la poudre végétale sont utilisé pour préparer une décoction avec 100 ml d'eau. Le mélange est porté à ébullition dans un bain marie pendant 30 min. Après refroidissement puis filtration, on réajuste le volume à 100 ml. Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, répartir 1 ml de l'extrait dans le tube n° 1, 2 ml dans le tube n° 2, …, 10 ml dans le tube n° 10. Réajusté le volume final dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Agiter chaque tube dans le sens de la longueur du tube pendant 15 secondes, laisser reposer 15 min en position verticale puis mesurer la hauteur de la mousse produite dans chaque tube. Si elle est proche de 1 cm dans le Xe tube, alors l'indice de mousse est calculé selon la formule suivante :

I =Hauteur de mousse (en cm) dans le Xe tube x 5/0.0x

I : Indice de mousse

La présence des saponines dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100

(DJAHRA, 2014).

II.4.2.3.Identification des anthocyanes :

Cette identification est réalisée par le changement de la couleur de l'infusé à 10 % avec le changement de pH: l'identification se fait par l'ajout de quelques d'HCl, puis quelques gouttes d'Ammoniac (NH_4OH).Le changement de la couleur indique la présence des anthocyanes.**(Djahra, 2014).**

II.4.2.4.Identification des leuco-anthocyanes :

L'identification des leuco-anthocyanes se fait par l'ajoute de 5 ml de l'infusé est mélangé à 4 ml d'alcool chlorhydrique (Ethanol/HCl pur 3/1 v/v). Le mélange est porté à ébullition dans un bain marie à 50°C pendant quelques minutes, l'apparition d'une coloration rouge cerise est signe de la présence de leuco-anthocyanes **(Solfo, 1973).**

II.4.2.5.Identification des flavonoïdes :

Dans un bécher, macérer 10 g de poudre végétale dans 150 ml d'acide chlorhydrique (HCl 1 %) pendant 24h, Après la filtration. quelques gouttes de la solution basique de (NH_4OH) sont rajoutées à 10 ml du filtrat, après 3h, s'il y a l'apparition d'une coloration jaune claire dans la partie supérieure du tube, signifie une réaction positive. **(Djahra, 2014).**

II.4.2.6.Identification des alcaloïdes :

5 g de poudre végétale sont macérés dans 25 ml de H_2SO_4 (10%) pendant 24h. Après la filtration, on ajoute à 1 ml de macéré quelque gouttes de réactif de Wagner. La présence d'un précipité brun signifie une réaction positive. **(Kanoun, 2011)**

II.5.l'activité antibactérienne :

Ce test est réalisé au niveau du laboratoire de biologie de l'Université « Dr. Yahia Farès de Médéa». L'activité antibactérienne des deux différents extraits (extraits

méthanoliques et extraits acétoniques) a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé « méthode de l'antibiogramme » en utilisant des disques stérile.

II.5.1.l'activité antibactérienne selon la méthode de diffusion par disque :

L'activité antibactérienne a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton **(Al Akeel, 2014).** Elle permet de déterminer l'activité inhibitrice de la croissance bactérienne par la mesure du diamètre d'inhibition autour des disques dosés par les extraits à tester**. (Sharififar et *al.*2007).**

II.5.2.les souches bactériennes :

Les souches bactériennes préalablement conservées à 4C° dans des tubes stérile contenant 10 ml de gélose inclinée ont été réactivé dans le bouillon nutritif**(BN)**, après incubation à 37C° pendant 24h **(figure.13),** les cultures ont été repiquées par stries serrés dans des boites de pétrie contenant de la gélose nutritive et incubées à 37C° pendant 18 à 24h **(figure.14).**



Figure.13 : Revivification des souches bactériennes :

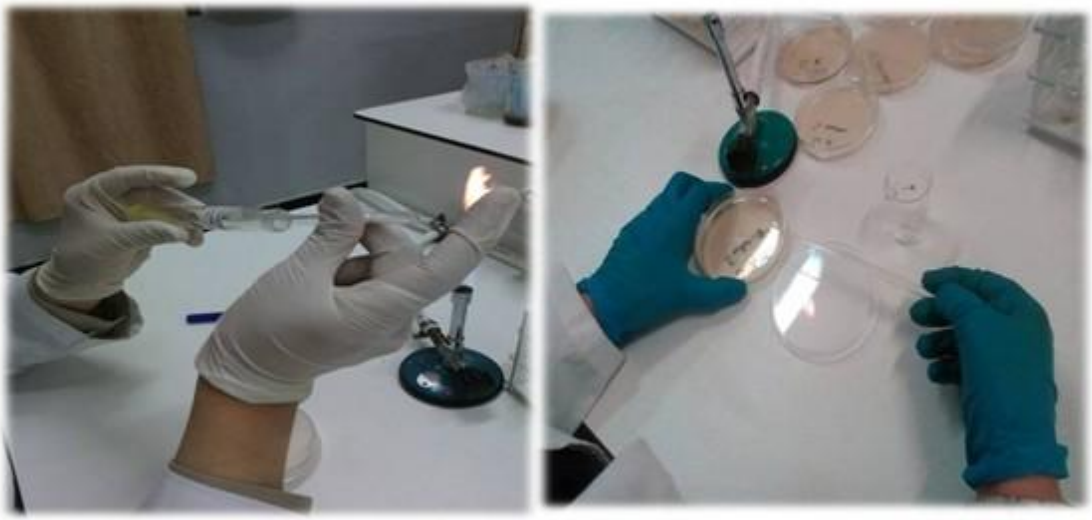


figure.14 : Ensemencement des suspensions microbiennes dans les milieux gélosés

A l'aide d'une anse de platine stérile et pour chaque isolat testés, on a prélevé une suspension microbiennes (bactériennes) d'une densité optique compris entre 0.08 et 0.10 mesurées à 625 nm ont été préparées par 3 à 5 colonies dans 9 ml de l'eau physiologique stérile**. (Boudjelal ,2013) (Figure.15).**



Figure.15 : Préparation des suspensions bactériennes dans de l'eau physiologique :

II.5.3.Préparation des milieux de culture :

La gélose Muller Hinton stérile prête à l'usage sont coulée dans des boites de Pétri stériles de 90 mm de diamètre en raison de 4mm d'épaisseur répartie uniformément dans les boites. Laisser solidifier les boites leur emploi**(Figure.16).**

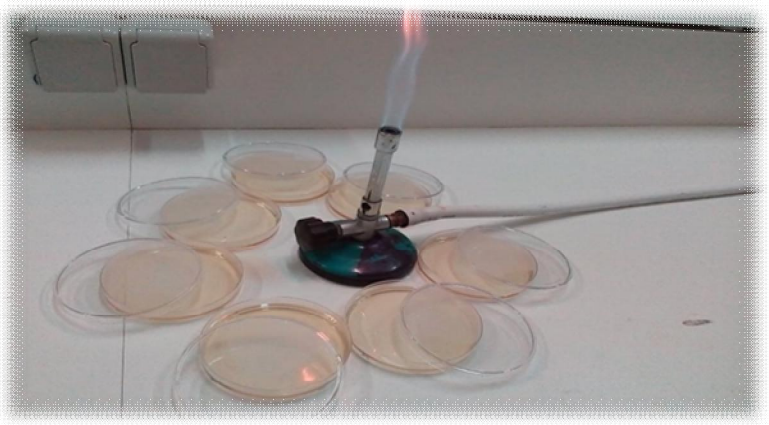


Figure.16 : Solidification des boites

Les suspensions bactériennes ajustées et qui ont une densité optique de 0.5 Mc Farland ont été ensemencées dans des boites de pétrie coulées préalablement par la gélose Müller Hinton par des stries sérié à l'aide d'un écouvillon. **(Figure.17).**

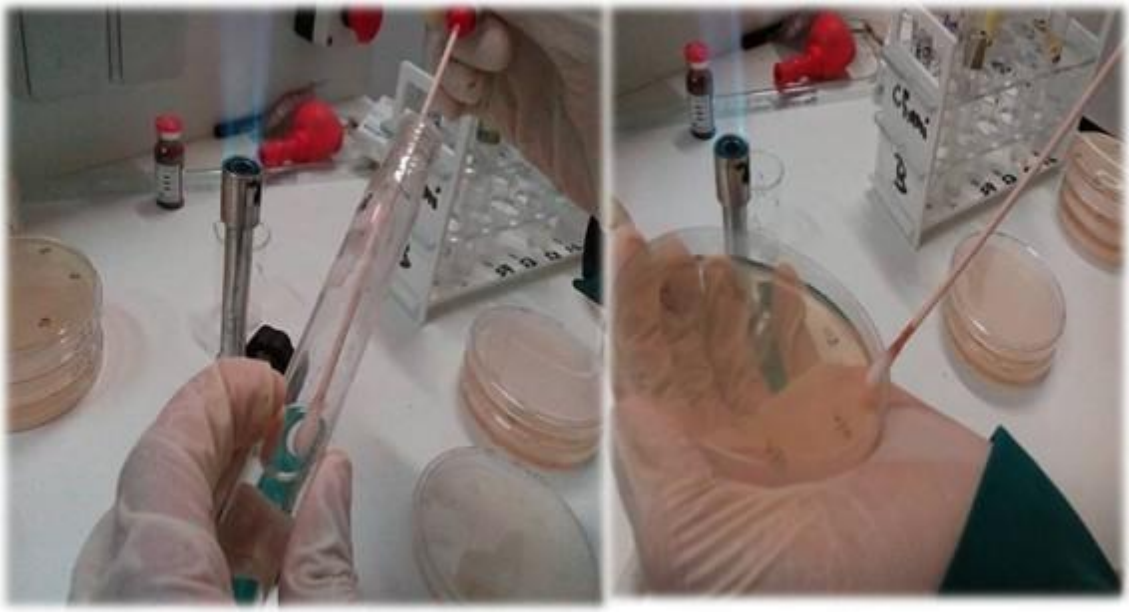


Figure.17 : Ensemencement des suspensions microbiennes dans des boites gélosées

II.5.4.Préparation des dilutions des extraits :

200 mg de chaque extrait a été mis dans des tubes stériles dans les quels sont coulés 2ml du DMSO, puis une agitation à l'aide du vortex a été faite pour obtenir un mélange homogène et pour faire fondre le résidu dans le DMSO.

Une série de dilution en demi a été réalisée dans 4 tubes contenant 1ml de DMSO à l'aide d'une micropipette à partir de la solution mère jusqu'à 1/8, un 5eme tube coulé par le DMSO uniquement est considéré comme témoin négatif .En effet, ces extraits ne sont pas solubles dans l'eau, ce qu'il était nécessaire de les d'abord solubiliser dans le DMSO.

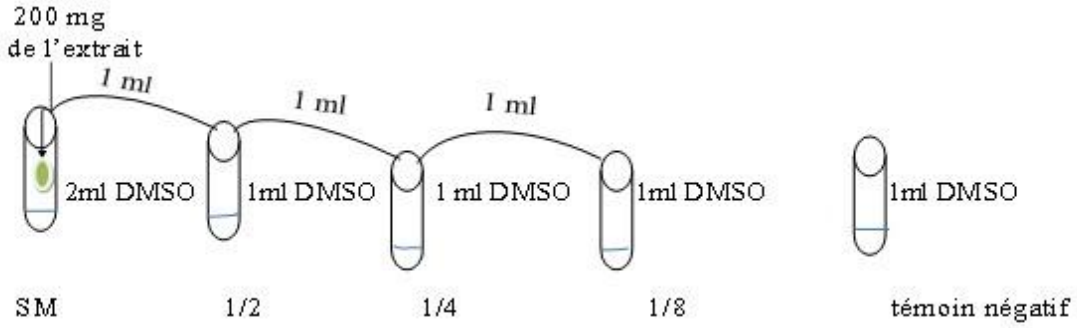


Figure.18 : Schéma montrant la préparation des dilutions des extraits :

II.5.5.Aromatogramme :

II.5.5.1.Préparation des disques :

Les disques sont préparés comme décrits sur la **figure.19.**

Disques stériles de 6 mm de diamètre déposés dans des boites de Pétri (À l'aide d'une pince stérile).

Chargement des disques (six disques pour chaque extrait) ont été imbibé dans les dilutions des extrais et dans le DMSO (témoin négatif) et le sixième disque imbibé dans d'antibiotique (Gentamycine : témoin positif).

La diffusion les boites sont incubées à 37C° pendant 24h.

Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'une règle.

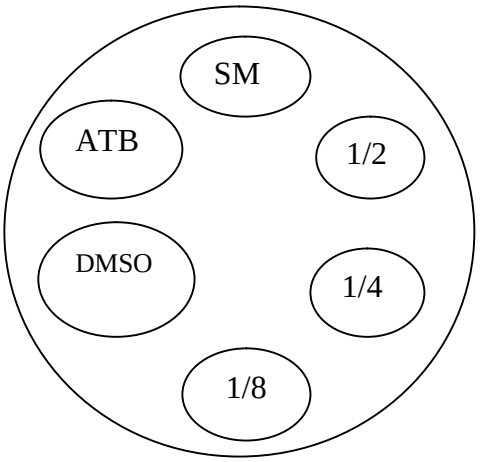


Figure.20 : Dépôt des disques dans les boites de pétries

II.5.5.2.Expression des résultats :

La lecture des diamètres de la zone d'inhibition se fait selon **Ponce, 2003.**

Tableau.05 : La sensibilité et la résistance des souches microbiennes selon les diamètres d'inhibition

Sensibilité/ résistance	**Diamètre d'inhibition**
Non sensible (-)	D<8mm
Sensible (+)	9mm ≤ D≤ 14mm
très sensibles (++)	15mm ≤ D≤ 19mm
Extrêmement sensible (+++)	D>20 mm

II.6.Activité antioxydante :

II.6.1.Estimation du pouvoir anti-radicalaire par la méthode au DPPH :

a) Principe :

Le test au DPPH (2,2-diphényl-2-picrylhydrazyl), permet de mesurer le pouvoir réducteur par le calcul de l'IC50 des substances antioxydants contenues dans un extrait.

Le DPPH **(2,2-diphényl-2-picrylhydrazyl)** est définie comme un radical libre stable par la vertu de la délocalisation de l'électron disponible, qui provoque la couleur violette profonde en solution, caractérisée par une absorption dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm. Quand une solution de DPPH est mélangée avec une substance donneuse d'atomes d'hydrogène ou d'électrons, antioxydante, il ya formation de la forme réduite **(figure.20).**Ceci provoque la perte de la couleur violette et l'apparition d'une couleur jaune pâle et l'absorbance est lue à 515 nm.

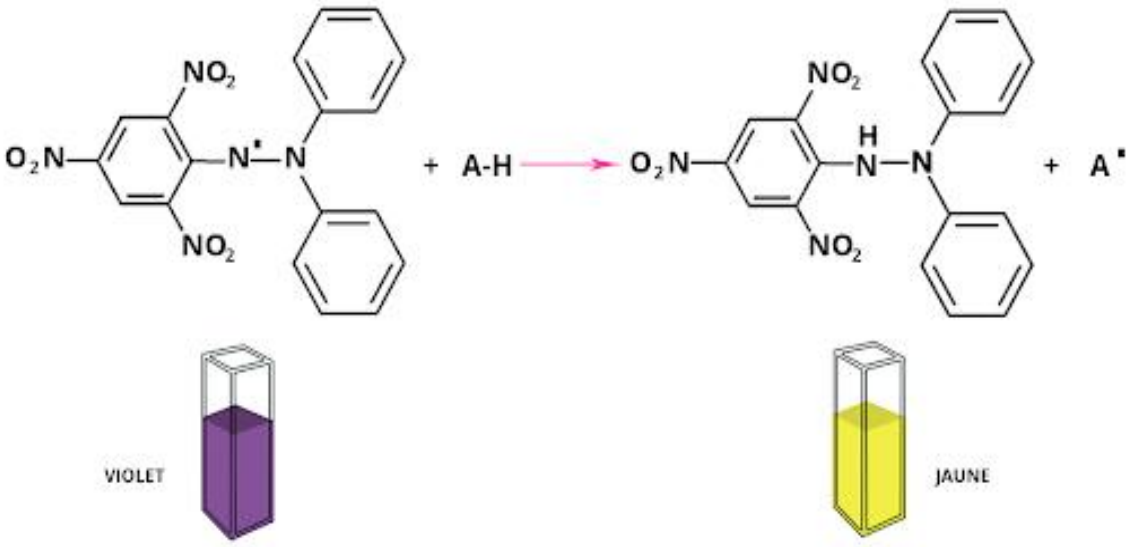


Figure.21 : La présentation chimique d'une réaction du DPPH par un antioxydant

b) Mode opératoire :

Le protocole expérimental utilisé est celui de avec quelques modifications. La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2.5 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol.

On prépare des solutions mères des différents extraits et l'acide ascorbique dans le méthanol à une concentration de 0.5 mg/ml.

Une série de dilutions en demi est réalisée (SM, 1/2, 1/4,1/8,1/16), pour chaque concentration 3 répétition ont été effectuées.

Un volume de 50 µL de chaque solution méthanoliques est mélangé avec 1950 µL de la solution de DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min, toutes les lectures de l'absorbance sont effectuées à 515 nm dans le spectrophotomètre.

- Le blanc est représenté par le méthanol.

- le contrôle négatif (sans extrait) est constitué de 50 µL de méthanol avec 1950 µL de la solution de DPPH.

- Le contrôle positif est représenté par l'acide ascorbique (standard).

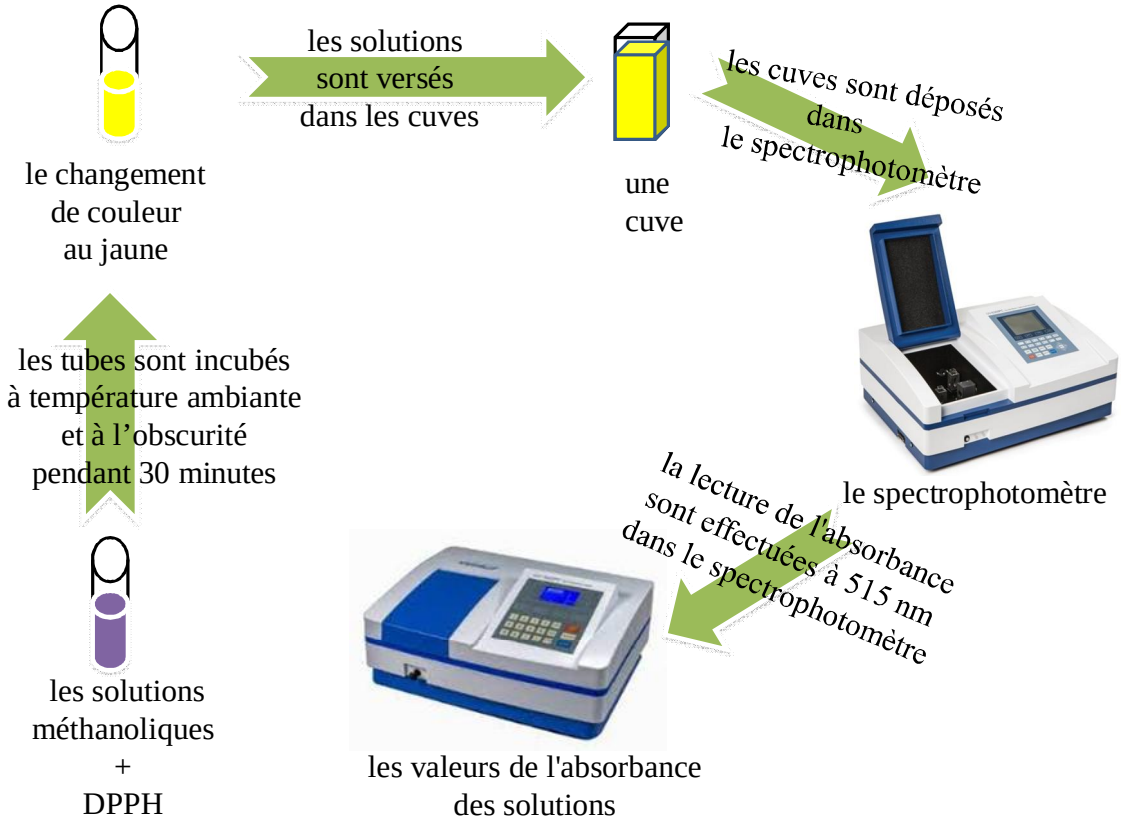


Figure.22 : Les étapes de l'estimation des concentrations inhibitrices (IC50) du pouvoir antiradicalaire Par la méthode du DPPH :

II.6.Analyses statistiques :

Les données des variables ont été soumises à une analyse de variance à deux facteurs en utilisant l'option 'Factorial ANOVA' incluse dans le logiciel STATISTICA Version 8.0 (2007).Pour les variables ; activité antibactérienne et activité antioxydante, l'effet analysé pour chaque espèce est l'interaction «Souche X concentration».

La comparaison des moyennes pour toutes les variables étudiées est faite en référence à la plus petite différence significative (PPDS) au seuil de 5% en utilisant le test de Fisher.

Les valeurs de Probabilité «P» supérieures à 0,01 et inférieures ou égales 0,05 sont considérées significatives. Les valeurs supérieures à 0,001 et inférieures ou égales à 0,01 sont considérées hautement significatives. Alors que les valeurs inférieures à 0,001 sont considérées très hautement significatives.

Chapitre III
Résultats et Discussions

Dans ce chapitre, nous avons exposé les résultats obtenus lors de cette étude, suivies d'une discussion pour chaque étape étudiée. Ces derniers sont subdivisés en 4 parties :

1- l'extraction des composés actifs.

2- les résultats des tests phytochimiques.

3- les résultats de l'activité antibactérienne.

4- les résultats de l'activité antioxydante.

III.1.Résultats :

III.1.1.Extraction des composés actifs :

Le processus d'extraction des composés actifs à partir de la partie aérienne (feuilles) de l'Eucalyptus des deux espèces a été effectué par macération en utilisant de deux solvants organiques (méthanol et acétone).

Notre extraction nous a permis d'obtenir deux extraits : l'extrait méthanolique et l'extrait acétonique.

L'aspect de ces différents extraits est représenté dans la figure 23.



Figure.23 : Aspect des extraits méthanoliques et acétoniques de l'Eucalyptus Blakelyi et Eucalyptus Cladocalyx respectivement.

Les différents rendements de l'extraction obtenue en pourcentage (%des deux extraits sont illustrés dans le tableau 6 suivant :

Tableau.06 : Rendement d'extraction en (%) des différents extraits.

Espèces	Extraits	Rendement %
Eucalyptus Cladocalyx	méthanolique	25.17
	acétonique	12.69
Eucalyptus Blakelyi	méthanolique	11.55
	acétonique	3.42

Les résultats indiquent que les extraits méthanoliques et acétoniques de l'*E. Cladocalyx* présentent les rendements respectives de 25,17 et 12,69%. Alors qu'ils exhibaient des rendements de 11,55 et 3,42% pour l'*E.Blakelyi*. En général, au sein de la même espèce, le rendement enregistré sur l'extrait méthanolique est beaucoup plus meilleur que celui de l'extrait cétonique.

III.1.2. Résultats des tests phytochimiques :

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau des feuilles de l'Eucalyptus, la détection de ces composés chimiques est basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation, un changement de couleur spécifique.

Les extraits et la Poudre de chaque espèce d'Eucalyptus étudiée sont soumis à une analyse phytochimique qui permet de déterminer qualitativement ces composés chimiques.

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur les différents extraits sont mentionnés dans le tableau7 :

Tableau.07 : Résultats du screening phytochimique des extraits.

Les extraits / Les composants	EC m	EC a	EB m	EB a
saponine	++	++	+	+
coumarine	++	++	++	++
tanin	++	++	++	++
protéine	–	–	–	–
flavonoïde	–	–	–	–
alcaloïde	++	+	++	–
Stérol et polyterpène	–	–	–	–

(++) : Test fortement positif ;(+) : Test faiblement positif ;(-) : Test négatif.

EC : *Eucalyptus Cladocalyx,* EB : *Eucalyptus Blakelyi*, m : méthanoliques, a : acétoniques.

D'après le tableau, on remarque que les coumarines, tanins et saponines sont présents dans les deux extraits (méthanoliques et acétoniques) des deux espèces étudiées. De même les protéines, flavonoïdes, les stérols et les polyterpènes révèlent un test totalement négatif dans ces extraits.

On note aussi la présence des alcaloïdes dans les extraits méthanoliques des deux espèces mais une absence dans l'extrait acétonique de l'*E. Cladocalyx.*

Dans les tests réalisés pour la recherche des saponines, nous avons enregistré la présence des saponines dans les parties aériennes des deux espèces des différents extraits étudiées de l'Eucalyptus, la hauteur de la mousse est supérieure à 1cm pour les extraits méthanolique et acétonique de l'*Eucalyptus Cladocalyx,* alors qu' 'elle est égale à 1cm pour ceux de l'*Eucalyptus Blakelyi*.

Tableau.08 : Résultats du screening phytochimique de la poudre.

L'espèce / Les composants	EB	EC
Saponine	+	++
Leuco anthocyane	_	_
anthocyane	++	+
flavonoïde	_	+
Tanin gallique	++	++
Tanin catéchique	++	+
alcaloïde	_	_

(+) : Test faiblement positif ;(++): Test fortement positif ; (-) : Test négatif.

EC : *Eucalyptus Cladocalyx,* EB : *Eucalyptus Blakelyi,* m : méthanoliques, a: acétoniques.

Selon les résultats mentionnés dans le tableau.8, on constate que les principaux composés sont présents en quantités différentes dans la poudre des deux plante d'Eucalyptus, qui sont les saponines, les anthocyanes, les tanins galliques, les tanins catéchiques et les flavonoïdes. Les autres composants à savoir les leuco-anthocyane, et alcaloïde sont totalement absents.

Les tests phytochimiques réalisés ont montré la présence des flavonoïdes dans l'espèce d'*Eucalyptus Cladocalyx* mais avec une quantité faiblement importante ainsi leurs absences totales dans l'autre espèce (*Eucalyptus Blakelyi*).

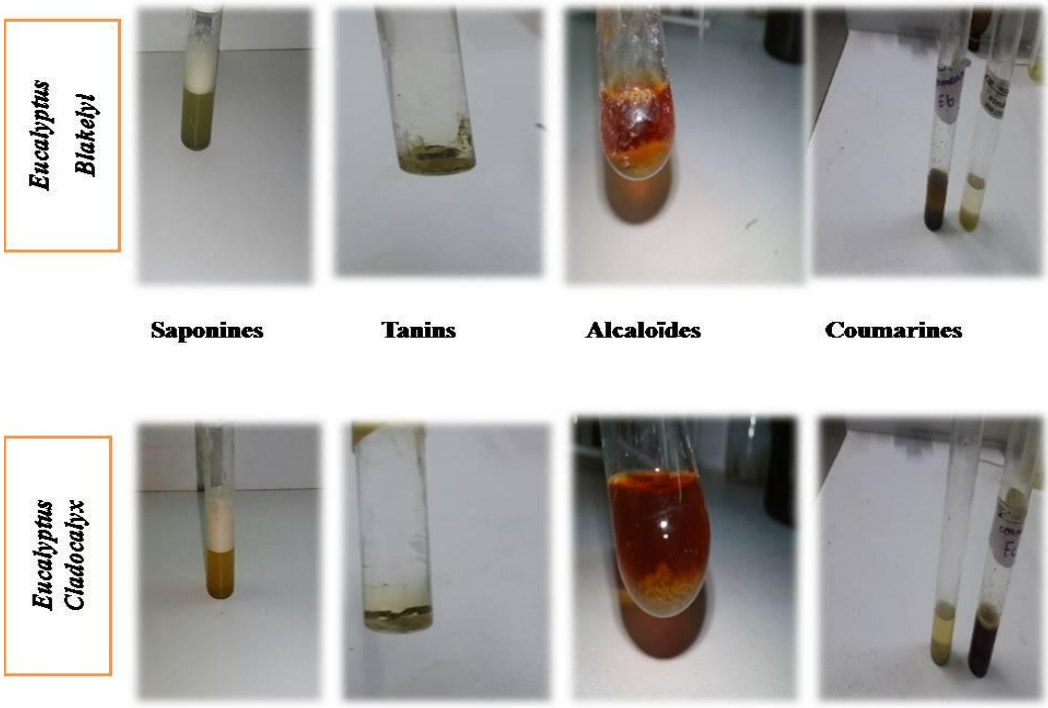


Figure.24: Résultats positifs du screening phytochimique d'extrait méthanolique d'*Eucalyptus Blakelyi* et *Eucalyptus Cladocalyx.*

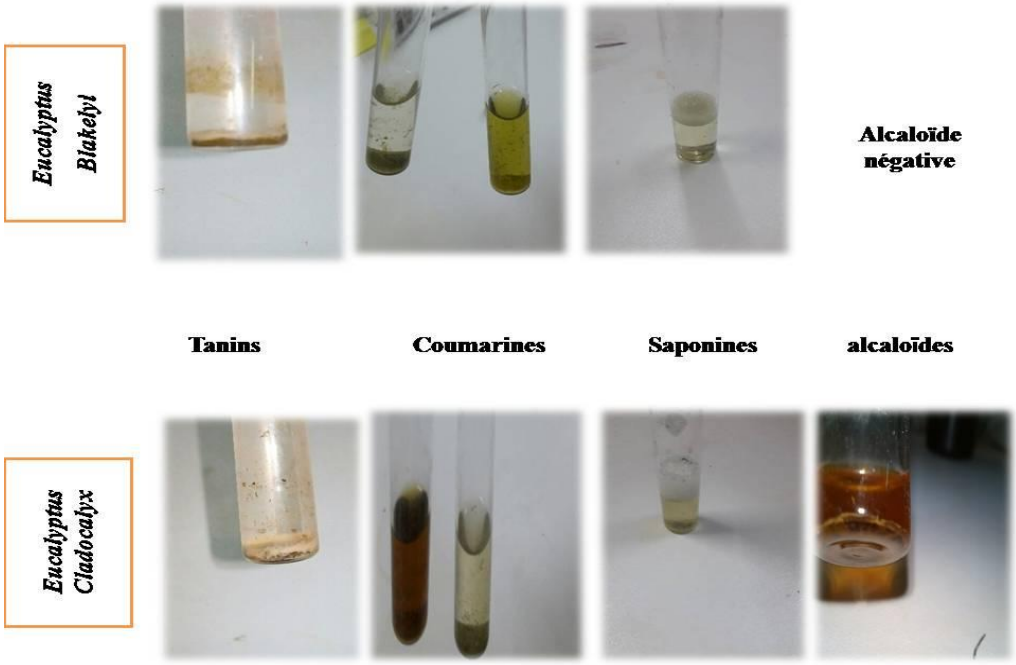


Figure. 25 : Résultats du screening d'extrait acétonique d'*Eucalyptus Blakelyi* et *Eucalyptus Cladocalyx.*

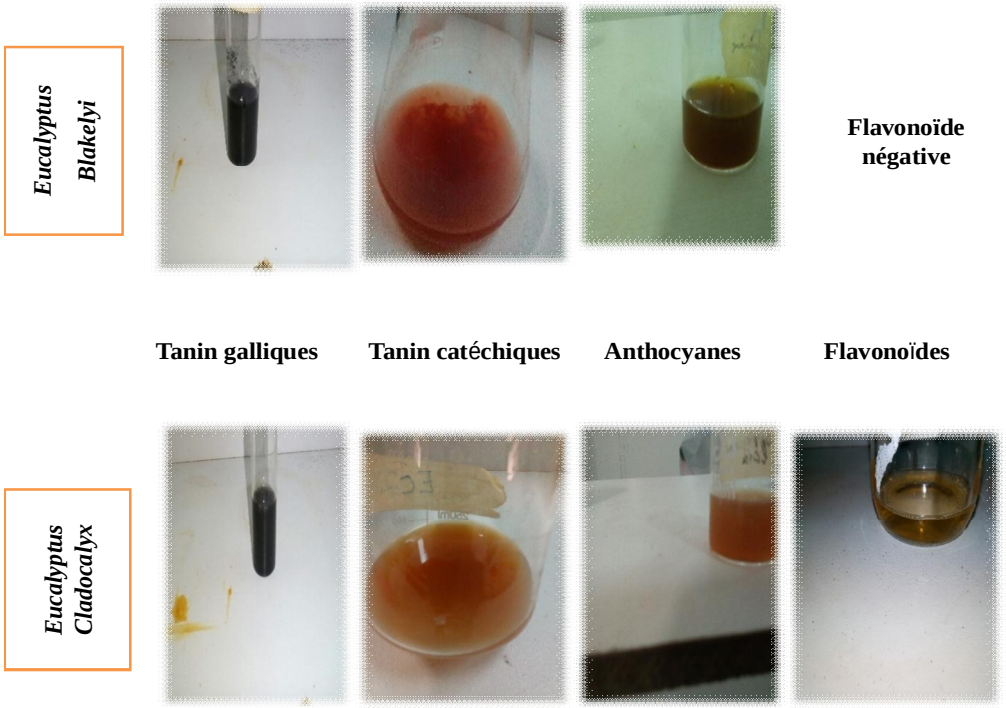


Figure.26 : Résultats des tests phytochimiques de la poudre d'*Eucalyptus Blakelyi* et *Eucalyptus Cladocalyx.*

III.1.3.L'activité antibactérienne :

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'activité antibactérienne des différents extraits des feuilles d'Eucalyptus.

Test antibactérien :

L'étude de l'activité antibactérienne des différents extraits (méthanoliques et acétoniques) des feuilles d'Eucalyptus *Blakelyi et Eucalyptus Cladocalyx* est testée vis-à-vis de six souches bactériennes : *Escherichia coli ATCC, Escherichia coli isolée, Klebseilla oxytoca, Klebsella pneumoniae, Citobacter freundii, Entérobacter aerogenes* par la méthode de diffusion des disques qui se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque imprégné d'extraits de feuilles d'*Eucalyptus*.

La lecture des résultats se fait à 37C° pendant 24 heures d'incubation, obtenus par la méthode de diffusion en milieu gélosé (Müller Hinton) après soustraction de diamètre du disque, et elle est basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle, exprimée en millimètre.

Tableau.09 : Activité antibactérienne des extraits méthanoliques de l'*E. Blakelyi*.

	E. aerogenes	*C. freundii*	*K .oxytoca*	*E .Coli ATCC*	*E .coli isolée*	*K. pneumoiae*
C1	11,33	16,00	9,00	11,33	21,33	20,00
C2	9,00	11,33	8,00	9,00	18,67	22,67
C3	10,00	12,67	7,67	12,00	20,33	22,33
C4	8,67	17,67	17,33	13,33	21,00	23,33
C5	40,67	46,67	45,33	36,67	33,67	45,00

Tableau.10 : Activité antibactérienne des extraits acétoniques de l'*E. Blakelyi*.

	E. aerogenes	*C .freundii*	*K. oxytoca*	*E .Coli ATCC*	*E. coli*	*K. pneumoniae*
C1	16,33	11,00	10,33	21,33	11,00	13,00
C2	17,67	17,00	14,00	13,33	9,00	12,67
C3	16,33	14,33	12,67	12,67	10,00	11,00
C4	13,67	11,67	12,00	13,67	9,33	14,33
C5	40,67	46,67	45,33	36,67	42,67	45,33

Tableau.11 : Activité antibactérienne des extraits méthanoliques de l'*E.Cladocalyx.*

	E. aerogenes	*C. freundii*	*K .oxytoca*	*E Coli. ATCC*	*E. coli*	*K. pneumoniae*
C1	21,33	26,33	22,00	23,33	20,33	22,33
C2	10,33	11,00	13,33	18,00	10,00	18,33
C3	10,00	8,67	15,33	12,00	11,67	17,33
C4	8,67	8,00	9,67	14,00	21,33	12,33
C5	43,00	46,67	45,33	36,67	35,00	45,33

Tableau.12 : Activité antibactérienne des extraits acétoniques de l'*E.Cladocalyx.*

	E. aerogenes	*C. freundii*	*K .oxytoca*	*E .Coli ATCC*	*E. coli*	*K. pneumoniae*
C1	24,00	19,00	23,33	22,33	22,33	10,67
C2	18,33	9,67	17,67	16,33	8,67	17,33
C3	10,00	14,00	13,00	15,33	21,33	14,67
C4	11,33	11,33	16,33	11,67	12,00	10,67
C5	43,00	46,67	45,33	36,67	40,00	38,00

L'analyse de la variance des valeurs prises par la variable zone d'inhibition indique des effets très hautement significatifs de l'extrait méthanolique de l'*Eucalyptus Blakelyi* et l'*Eucalyptus Cladocalyx* sur les différentes souches bactériennes. Par l'application de l'extrait méthanolique de l'*Eucalyptus Blakelyi*, la zone d'inhibition la plus importante (23,33mm) a été enregistrée chez *K. pneumoniae* avec la concentration de 25 mg/ml (Tableau 9). Chez l'*Eucalyptus Cladocalyx* un diamètre de 26,33 mm a été obtenu chez *C. freundii*en application de la concentration 200mg/ml (solution mère) (Tableau 11).

Les faibles valeurs des diamètres de la zone d'inhibition (7,67, 8, 8,67 et 9) ont été observées surtout chez *K.oxytoca*et *E. aerogenes*sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanolique de l'*Eucalyptus Blakelyi*, (Tableau 9). Alors que pour l'*Eucalyptus Cladocalyx*, ces faibles valeurs (8 ; 8,67) ont été remarqués uniquement chez *C. freundii* et *E. aerogenes.* Le témoin positif utilisé pour ces bactéries constitué de Gentamycine a été largement efficace contre toutes les souches bactériennes avec des diamètres qui varient entre 33,67et 46,67mm, des valeurs notées chez *E .coli isolée* et *C. freundii* respectivement de l'extrait méthanolique de l'*E. Blakelyi*, tandis que pour celui de l'*E.Cladocalyx*, ces valeurs s'échelonnent entre 35,00 et 46,67mm, enregistrées sur les mêmes bactéries. Ces résultats suggèrent clairement que l'extrait méthanolique de l'*Eucalyptus Cladocalyx* est plus efficace que celui de l'*Eucalyptus Blakelyi*.

L'analyse graphique des figures 27 et 28 montre que l'effet antibactérien varie en fonction de la concentration appliquée, une variabilité importante a été observée chez l'*Eucalyptus Blakelyi* et *Eucalyptus Cladocalyx* à partir de la concentration la plus élevée (la solution mère, 200 mg/ml) à la concentration la plus faible (25mg/ml) au sein des extraits appliqués sur les différentes bactéries utilisées.

L'effet de l'extrait méthanolique de l'*Eucalyptus Blakelyi* dans sa réaction avec toutes les souches bactériennes utilisées, s'étale de 7,67 à 23,33 mm, diamètres mesurés de la zone d'inhibition. La concentration50 mg/ml chez *K .oxytoca* a induit la valeur la plus faible, alors que la valeur la plus élevée a été observée en appliquant la concentration25 mg/ml sur *K. pneumoniae*.

L'effet global de l'extrait méthanolique de l'*Eucalyptus Cladocalyx*, s'étale de 9 à 26,33mm. La valeur la plus faible a été observée chez *C. freundii*à une concentration de

25mg/ml, par contre la valeur maximale a été remarquée chez la même bactérie. (Figure 28).

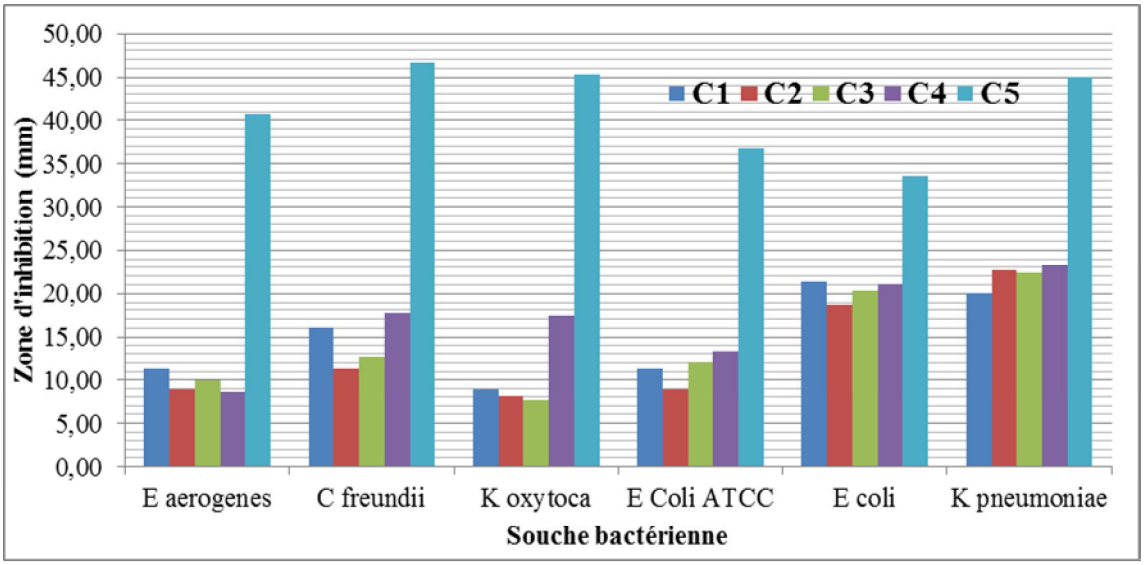


Figure.27 : Histogramme représentant l'Effet de l'interaction souche-concentration de l'extrait méthanolique de l'*E. Blakelyi.*

C1 : concentration de 200mg/ml, C2 : concentration de 100mg/ml, C3 : concentration de 50mg/ml, C4 : concentration de 25mg/ml, C5 : concentration de la Gentamycine.

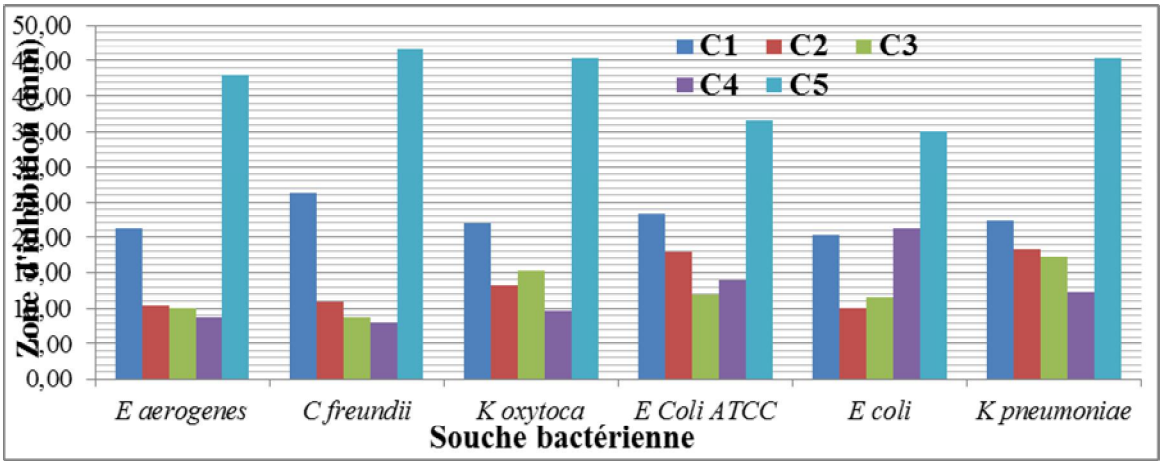


Figure.28 : Un histogramme représente l'Effet de l'interaction souche-concentration des extraits méthanoliques de l'*E. Cladocalyx.*

Des différences très hautement significatives ont été révélées par l'effet de l'extrait acétonique des deux espèces *Eucalyptus Blakelyi* et l'*Eucalyptus Cladocalyx* sur les différentes souches bactériennes. L'extrait acétonique de l'*Eucalyptus Blakelyi*, a

induit la zone d'inhibition la plus importante sous l'effet de la concentration de 200 mg/ml avec un diamètre d'inhibition de l'ordre de 21,33 mm, cette valeur a été observée chez *E. coli* ATCC (Tableau10). Chez l'*Eucalyptus Cladocalyx* une zone d'inhibition de 24,00 mm de diamètre a été enregistrée chez *E aerogenes* avec la concentration de 200mg/ml (Tableau 12). Les zones d'inhibition les plus faibles ont été observées chez *Escherichia coli* sous l'effet des concentrations 100 et 25 mg/ml de l'extrait Acétonique de l'*Eucalyptus Blakelyi*, induisant les valeurs respectives 9 et 9,33 mm (Tableau10). Alors que pour L'*Eucalyptus Cladocalyx*, son extrait acétonique a donné des valeurs de 8,67 et de 9, 67mm chez les bactéries *E. Coli* et *C. freundii* respectivement.

D'après la figure 29, une variabilité importante pour l'*Eucalyptus Blakelyi* et *E. Cladocalyx* est avérée à travers les 4 concentrations analysées, suite à l'effet de l'extrait acétonique appliqué sur les bactéries étudiées. Sur les 4 concentrations et en application de l'extrait acétonique sur toutes les souches bactériennes utilisées, l'effet du traitement s'étale 9 à 21,33 mm, diamètres mesurés de la zone d'inhibition pour l'*Eucalyptus Blakelyi*, La valeur inferieure a été observée à la concentration de100 mg/ml chez *Escherichia coli* tandis que la valeur supérieure a été notée à la concentration 200 mg/ml chez *Escherichia coli*ATCC25922. Pour la totalité des souches utilisées, la variabilité de l'effet chez l'*Eucalyptus Cladocalyx* était de 8,67 à 24mm. L'effet majeur a été constaté à la concentration C1 sur *E. aerogenes* alors que la valeur inférieure a été notée chez *E. Coli* pour une concentration de 100mg/ml (Figure 30).

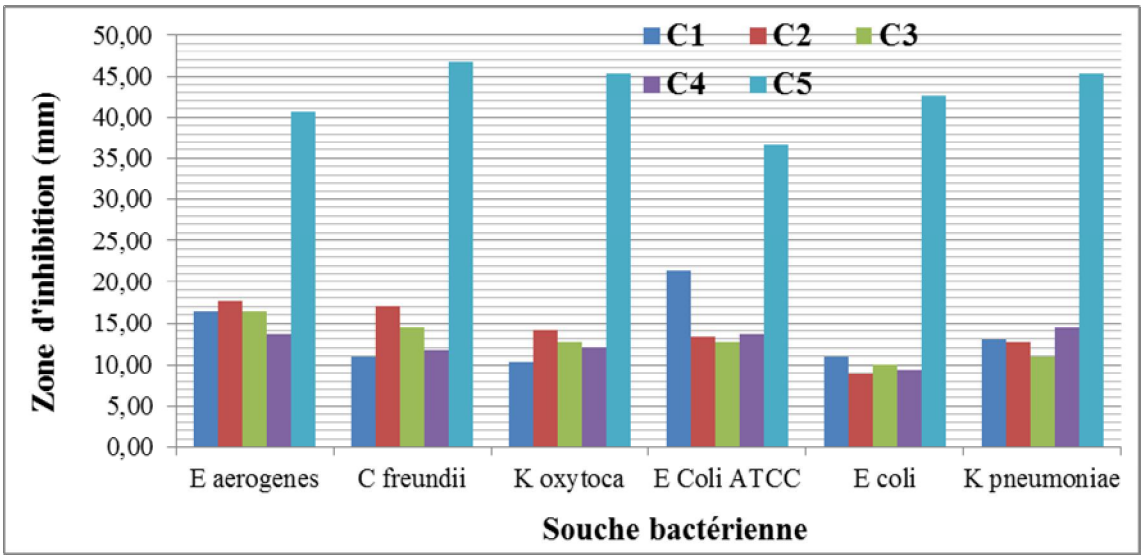


Figure.29: Histogramme représentant l'effet de l'interaction souche-concentration des extraits acétoniques de l'*E. Blakelyi*.

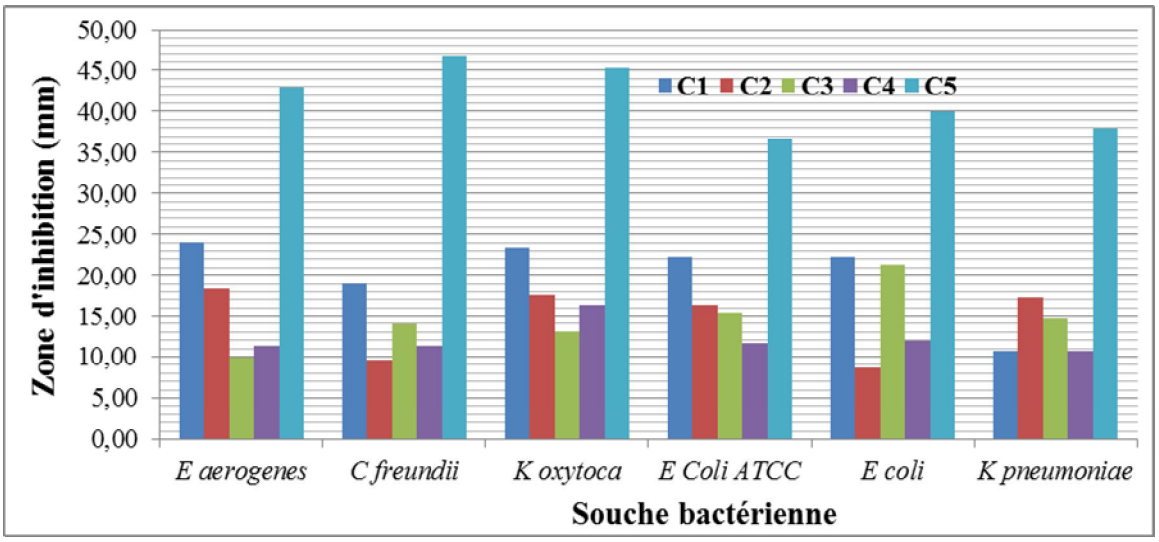


Figure.30 : Histogramme représentant l'effet de l'interaction souche-concentration des extraits acétoniques de l'*E. Cladocalyx.*

III.1.4.Activité antioxydante :

L'activité antioxydante des extraits acétonique de l'*E.Blakelyi* et *E.Cladocalyx* est évaluée en termes de capacité de piégeage des radicaux en suivant la réduction de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune, mesurable à 515nm à l'aide d'un spectrophotomètre **(Majhenic et *al.*, 2007).** A des fins comparatives un antioxydant standard a été utilisé : l'acide ascorbique.

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes du pourcentage d'activité antiradicalaire pour chaque extrait des plantes.

Tableau.13 : Activité antioxydante des extraits acétoniques d'*Eucalyptus Blakelyi*, *Eucalyptus Cladocalyx* et l'acide ascorbique.

Concentration µg/ml	Pourcentage d'inhibition de l'*E. Blakelyi*	Pourcentage d'inhibition de l'*E Cladocalyx*	Pourcentage d'inhibition d'Acide ascorbique
31,25µg/ml	25,13	24,66	27,77
62,5µg/ml	22,13	32,05	44,67
125 µg/ml	22,84	35,19	57,76
250 µg/ml	26,32	34,65	57,25
500 µg/ml	31,85	46,66	67,00

L'activité antioxydante de l'extrait acétonique est différente, elle était de : 46,66 mg/ml et 31.85 mg/ml pour l'*Eucalyptus Blakelyi* et l'*E.Cladocalyx* respectivement en comparaison à l'acide ascorbique utilisé comme standard avec une C1de 67 mg/ml.

L'examen de la figure 31 montre que le pourcentage d'inhibition est dépendant des concentrations, et ce pour *E. Cladocalyx* et *E. Blakelyi* ainsi que l'acide ascorbique. Plus précisément l'augmentation en concentration de nos échantillons provoque l'élévation de pourcentage d'inhibition et par conséquent l'augmentation de l'activité antioxydante. En ce qui concerne l'acide ascorbique, on peut constater que l'activité antiradicalaire est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de la solution jusqu'à la fin de l'expérience.

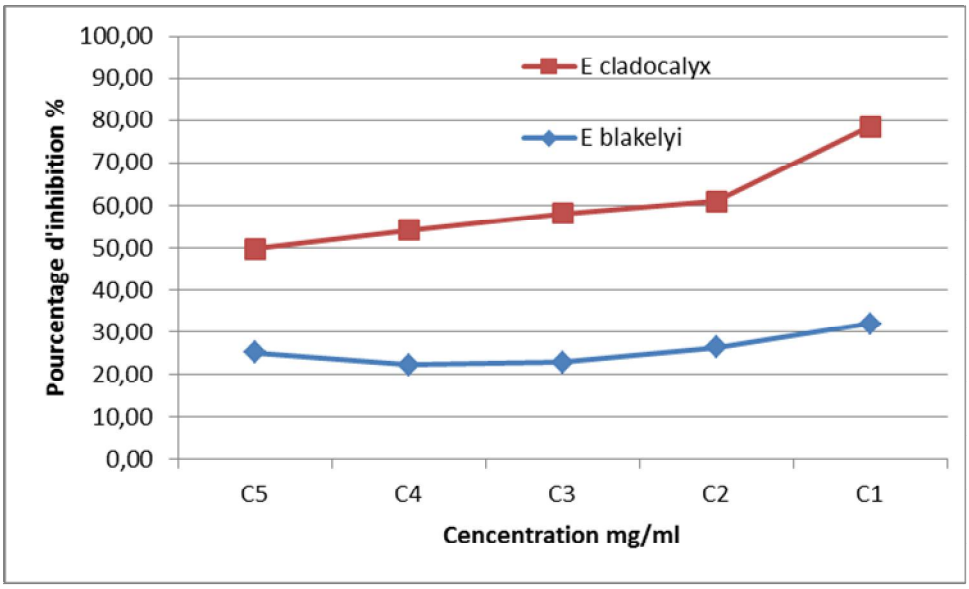


Figure.31 : Activité antioxydante des extraits acétoniques de l'*Eucalyptus Blakelyi*, *Eucalyptus Cladocalyx*.

C1: 500 µg/ml; **C2**: 250µg/ml; **C3**: 125µg/ml; **C4**: 62,5µg/ml; **C5**: 31,25µg/ml

-L'acide ascorbique ont montré un pourcentage de piégeage du radical DPPH plus important par rapport aux extraits acétonique de l'*Eucalyptus Blakelyi* et *Eucalyptus Cladocalyx* cela est indiqué par l'allure des graphes.

Les profils d'activité antioxydante obtenus montrent que l'acide ascorbique possède une forte activité antioxydante sur les radicaux libres DPPH.D'une manière générale, l'extrait acétonique de l'*E.Cladocalyx* présente une activité antioxydante nettement meilleure que celle de l'*E. Blakelyi* pour toutes les concentrations testées. A partir de cette analyse, on déduit que l'extrait acétonique de l'*E.Cladocalyx* est fortement efficace pour les concentrations appliquées.

D'après le classement par ordre croissant on remarque que l'extrait acétonique de l'*E. Blakelyi* et l'*E.Cladocalyx* varie dans le même sens. Par ailleurs l'acide ascorbique c'est le plus puissant.

D'après nos résultats, l'efficacité peut être résumée comme suit : Acide ascorbique ≥ *E. Cladocalyx*≥ *E. Blakelyi*. Celle de l'E.Cladocalyx était maximale à 46,66 mg/ml, avec C1.

III.2.discussion :

La différence de rendement observée entre les extraits méthanoliques et les extraits acétoniques pourrait s'expliquer par le fait que le méthanol est un solvant fortement polaire, capable d'extraire énormément de molécules .Dans une étude réalisée par **Dorsaf et *al*, 2012** sur *Eucalyptus gillii*, l'extrait méthanolique a donné un rendement de 6,4%, par contre l'extrait acétonique a révélé un rendement de5,2%.En comparant ces résultats, nous avons constaté que les rendements obtenus chez les deux extraits sont supérieurs à ceux des extraits de **Dorsaf et *al*,(2012**). Quel que soit l'extrait obtenu, l'*E.Cladocalyx* semble meilleur que l'*E. Blakelyi*. De ce fait, le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale et son contenu en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, tanins……etc **(Mohammedi, 2013).**D'autres facteurs comme les conditions environnementales, la période de récolte et l'âge du matériel végétal jouent également un rôle important dans cette variation (Smallfield, 2001).

D'après les résultats obtenus de screening phytochimique, on a pu révéler l'existence des différents métabolites secondaires chez les deux espèces étudiés, ces métabolites sont plus abondants dans l'extrait méthanolique que l'acétonique.

Des résultats différents ont été obtenus par **Dorsaf et *al*, 2012** sur *l'Eucalyptus gilii*, ils ont montré la présence des flavonoïdes dans les extraits méthanolique et acétonique, tandis que les résultats obtenus ont révélé l'absence totale des flavonoïdes dans les extraits des deux espèces *d'Eucalyptus* étudiés, par ailleurs, des travaux antérieurs similaires ont été réalisés sur les tests phytochimiques. Ceux réalisés par **Babayi et al. 2004** sur les extraits méthanolique et acétonique d'E.*Camaldulensis*, confirmantles résultats du présent travail.

Une étude réalisée par **Shubhreetet *al*. 2019** a montré la présence des saponines et des taninsdans lesextraits acétonique et méthanolique des feuilles d'*E sp*.

Subrmanian et *al.* 2017 ont montré l'absence totale des coumarines et la présence des alcaloïdes dans l'extrait acétonique de l'*Eucalyptus globulus*.

Les études de **Sasikala et Kalaimath, 2014** et **Shubhreet et *al.*2019**sur *Eucalyptus sp*, ont montré l'absence totale des protéines dans les extraits méthanolique et acétonique respectivement, ce qui est le cas de notre étude.

Ibrahim et *al*. 2016 ont démontré l'absence des stérols et les polyterpènes dans l'extrait méthanolique de l'*Eucalyptus camaldulensis*, ceci confirme les résultats trouvés durant notre étude.

Il ressort de l'analyse phytochimique que l'extrait méthanolique est le plus riche en métabolites secondaires par rapport à l'extrait Acétonique pour les deux espèces étudiées.

La présence de ces métabolites secondaires au niveau de deux espèces étudiées explique leur fort pouvoir thérapeutique. Par conséquent ces résultats justifient l'utilisation de ces deux espèces dans la médecine traditionnelle par la population locale.

A partir de l'aromatogramme, on déduit que les deux extraits *d'Eucalyptus Cladocalyx* donnent un excellent effet sur les 6 souches bactériennes étudiées par rapport à *l'Eucalyptus Blakelyi* avec des zones d'inhibitions qui peuvent atteindre les 26mm pour l'extrait méthanolique. Cette activité est en relation étroite avec la concentration en polyphénols trouvés lors de l'étude phytochimique dont l'*Eucalyptus Cladocalyx a* enregistré une richesse en tanins par rapport *l'Eucalyptus Blakelyi*, ce métabolite secondaire est connu par sa capacité de précipiter les protéines microbiennes **(Subrmanian et *al*. 2017).**

L'extrait méthanolique de l '*Eucalyptus Cladocalyx* est plus efficace que l'extrait acétonique, à cause de sa richesse en composés actifs tels que les alcaloïdes, ces derniers ont un effet sur l'ADN microbien et ils sont un moyen de lutte contre les maladies infectieuses **(Subrmanian et *al.* 2017)**.*C. freundii, E. coli* ATCC 25922 et *K. pneumoniae*sont les bactéries les plus sensibles.

Selon l'étude de **Dorsaf et*al*,2012**, les extraits méthanoliques et acétoniques de l'*E.gilli* présentent un bon effet sur la bactérie *K. pneumoniae*.

Une étude réalisée par **Babayi et *al*. 2003** sur les extraits méthanolique et acétonique de l' *E .camaldulensis*a montré la résistance de la bactérie *E.coli ATCC*25922.

L'extrait méthanolique de l'*E. Blakelyi* montre une efficacité supérieure que son extrait acétonique contre les souches bactériennes étudiées dont *E.coli* et *k. pneumoniae* sont les plus sensibles, ceci a été confirmé par l'étude de **Dorsaf et *al*,2012**.

Il est important, de préciser qu'un résultat obtenu lors de l'évaluation d'un extrait brut est la composante de deux paramètres : l'activité intrinsèque des produits actifs et la diversité quantitative et/ou qualitative des composés présents dans ces extraits. Par exemple une activité avérée d'un extrait peut aussi bien être le reflet d'une faible quantité de constituants très actifs que d'une grande quantité de constituants peu actifs ou à certains constituants qui démontrent un synergisme (**Dorsaf et *al*, 2012).**

L'activité antibactérienne ne dépend pas seulement de la composition chimique des extraits mais aussi de la souche bactérienne ciblée Gram+ ou Gram-, il ressort manifestement que les extraits étudiés d'*E.Cladocalyx* a un effet antibactérien aussi bien sur les bactéries Gram+ que négatifs (Gram-) sur différentes familles bactériennes et présente à cet effet un spectre action large.

Il existe des auteurs comme Dorman et Deans, (2000)qui ont signalé l'indépendance de l'activité antibactérienne au Gram. Cependant d'autres ont déclaré que Les bactéries Gram+ ont été plus sensibles aux extraits végétaux que les bactéries à Gram- (Karaman et *al.*, 2003). En effet les bactéries Gram- possèdent une résistance intrinsèque aux agents antimicrobiens qui en relation avec la nature de leur paroi bactérienne. Chez les bactéries à Gram+, le peptidoglycane est très épais et associé à des protéines pariétales et à des structures polyosidiques. Contrairement chez les bactéries à Gram-, le peptidoglycane est très fin et associé à une enveloppe externe complexe définissant un espace périplasmique. Cette espace est remplie d'enzymes qui dégradent les substances complexes pour qu'elles puissent traverser la membrane cytoplasmique et inactivent les produits chimiques toxiques (antibiotiques). La résistance des bactéries à Gram- aux glycopeptides et aux macrolides est due à l'incapacité de ces molécules à franchir la membrane externe (Boukhatem et *al.* 2014).

La bonne activité antioxydante de l'extrait acétonique d'*E.Cladocalyx* pour toutes les concentrations appliquées est probablement due à la richesse de celui-ci en composés

phénoliques comme les coumarines et les tanins. Cette activité est plus importante que celle de l'*E. Blakelyi*. La complexité de la composition des extraits en substances phénoliques et la synergie entre elles sont à l'origine d'une meilleure activité antioxydante (Miguel, 2010). En outre, ce potentiel élevé des substances polyphénoliques à piéger les radicaux libres peut être expliqué par la présence des groupes hydroxyles phénoliques (Sawa*et al.*, 1999). Néanmoins, il est évident que l'activité antioxydante des composés phénoliques dépend non seulement de la concentration mais également du nombre et de la position des fonctions hydroxylées donneurs d'hydrogène sur les cycles aromatiques des molécules phénoliques (Rice Evans *et al.*, 1996).

Il a été démontré que les molécules antioxydant telles que l'acide ascorbique, tocophérol, tanins et flavonoïdes réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène **(De Pooter et *al*. 1986).**

Dans une étude entreprise par **Bizimenyera et *al.* 2005** sur le piégeage du DPPH des extraits des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis,* ils ont noté que l'extrait acétonique a donné un pourcentage d'inhibition de 89.11%. En outre, il convient de noter que l'activité antioxydante dépend de plusieurs paramètres tels que le rapport entre la quantité de l'extrait et la quantité de solution de DPPH utilisée dans le mélange, la concentration de la solution du DPPH et le temps d'incubation **(Akrout et *al.* 2010).**

Conclusion

Conclusion

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine pour l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique a connu un regain d'intérêt durant ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité, en propriétés biologiques, est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives, synthétisées par la plante comme des agents thérapeutiques. Ces molécules naturelles phénoliques sont très recherchées en phytothérapie vue les effets secondaires des médicaments et les séquelles néfastes des antioxydants de synthèse.

Dans le but de la valorisation de la flore Algérienne, nous nous sommes intéressé à l'évaluation de l'activité antioxydante des deux extraits (méthanolique et acétonique) de la partie aérienne de deux espèces différentes, *Eucalyptus Blakelyi* et *Eucalyptus Cladocalyx*.

La détermination des rendements en extraits bruts a montré une rentabilité importante chez les deux espèces. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait méthanolique de *Eucalyptus Cladocalyx* et *Eucalyptus Blakelyi* ont manifesté un bon rendement avec 25.17 % et 11.55 % respectivement, alors que le rendement le plus faible a été enregistré pour l'extrait acétonique de l'*Eucalyptus Blakelyi* et qui était de 3.42% par contre celui de l'*Eucalyptus Cladocalyx* a donné un rendement de l'ordre de12.69%.

La quantification par le screening phytochimique nous a permis de déterminer l'existence ou l'absence de quelques polyphénols. Les résultats obtenus nous ont permis de révéler que l'extrait méthanolique est le plus riche en polyphénols pour les deux espèces étudiées.

Les deux extraits méthanolique et acétonique de l'*E Cladocalyx* ont présenté une forte activité inhibitrice sur toutes les souches bactériennes étudiées avec des diamètres d'inhibition de l'ordre de 26,33 et 24 mm respectivement, en outre ceux de l'*E. Blakelyi* ont montré des diamètres d'inhibition de 26,33 et 21,33mm respectivement. Les bactéries *C. freundii* et *E. aerogenes* étaient les plus sensibles aux extraits méthanolique

et acétonique d'*Eucalyptus Cladocalyx* tandis que ceux de l'Eucalyptus *Blakelyi* ont été très efficaces contre *K. pneumoniae* et *E. coli* ATCC25922.

Les potentialités antioxydants de l'extrait acétonique ont évalués par la méthode depiégeage du radical libre DPPH, où l'extrait acétonique d'*E.Cladocalyx* a manifesté un bon pouvoir réducteur que celui d'*E. Blakelyi* avec un pourcentage d'inhibition de 46,66 % et 31,85 % respectivement.

Il serait intéressant de procéder aux différentes méthodes d'extraction et de dosage afin d'avoir un rendement plus élevé. On pourrait également rechercher d'autres effets bénéfiques, de ces mêmes extraits, à savoir des activités antidiabétiques, anticancéreuses, cicatrisantes.

Ainsi de déterminer des nouvelles substances bioactives naturelles qui pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.

Références Bibliographiques

A

1-Abderrazak M. Et Joël R. 2007. La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. 177p.

2-Abrassart J L. (1999). Aromathérapie essentielle : huiles essentielles et parfums pour le corps et l'âme. Editions Guy Trédaniel. 271 p.

3-Adams R P. (2001). Identification of Essential Oil Components by GasChromatography, Quadrupole Mass Spectroscopy. 3rd edition Carol Stream:AlluredPublishing. Corporation, États-Unis. 456 p.

4-Adams R P. (2007). Identification of essential oïl components by gaschromatography/mass spectrometry. 4th Ed, Allured, Publishing Corp. Carol Stream, Illinois. 804p.

5-Adejare O Y, Oduyebo O O, Oladele R O, Nwaokorie F O and Ogunsola F T. (2013). In-vitro antifungaleffect of Garcinia Lola and Garlic (Alliums sativum) on vaginal isolates of Candida. African journal of clinical and experimentalmicrobiology. V. 14(3) :140-145.

6-Adeniyi B A and Ayepola O O. (2008). The phytochemical screening and antimicrobial activity of leaf extracts of Eucalyptus camaldulensis and Eucalyptus torelliana (Myrtaceae). Research Journal of Medicinal Plant. V.2(1) :34-38.

7-Adeniyi B A, Ayepola O O. (2008). The Phytochemical screening and Antimicrobial Activity of Leaf Extracts of Eucalyptus camaldulensis and Eucalyptus torelliana (Myrtaceae) Research Journal of Medicinal Plant. V. 2 (1): 34–38.

8-Adjanohoun E. (2000). La biodiversité face au développement des industries pharmaceutiques africaines. Compte rendu, Cotonou, Bénin. 88-103p.

9-Adlercreutz H and Mazur W. (1997). Phyto-oestrogens and western diseases. Annals of Medicine. V. 29 : 95-120.

10-Ait youcef, M-, « les plantes médicinales de Kabylie », Bis press, paris**, (1983)**. 74(7) : 636-643p.

11-Ait youssef M. (2006). Eucalyptus globulus L. In «Plante Médicinale de Kabylie», Ed. : Paris. pp: 126-130.

12-Akrout, A., Eljami, H., Amouri, S. Neffati M ., (2010). Screening of Antiradical and antibacterial activities of essential oils of Artemisiacampestris L .,Artemisia herba alba Asso and Thymus capitatus. Hoff .et link Wild in the Southern of Tunisia .Recent Research in Science and Technology 2 (1):29 – 39.

13-Amakura, Y., Umino, Y., Tsuji, S., (2002). Constituents and their antioxydative effects in eucalypyus leaf extract used as a natural food additive. Original research article food chemistry. ,77(1) : 47-56p.

14-Ayad, R. (2008).recherche et détermination structurale des métabolites secondaires deL'espècezygophyllum cornutum. p 35-39, 40, 47.

B

15-Baba Aïssa F. (1999). Encyclopédie des plantes utiles : flore d'Algérie et du Maghreb.Plus de 800 plantes de la flore d'Algérie et du Maghreb, ainsi que des substances végétalesD'Afrique, d'Orient et d'Occident.Ed. : Librairie Moderne – Rouiba. , pp:101.

16- Babayi. H, I. Kolo, J. I. Okogun and U. J. J. Ijah .The antimicrobial activities of methanolic extracts of Eucalyptus camaldulensis and Terminalia catappa against some pathogenic microorganisms. BIOKEMISTRI 16(2) :106-111 (December 2004) Printed in Nigeria, page 108-109.

17-Balmey M. Et Wilson G. (2000). Les guides du naturaliste .Toutes les fleurs de

Méditerranée : les fleurs, les graminées, les arbres et arbustes, Ed. : Lausanne Paris, ISBN. 2- 60-301179-0, pp: 151-152.

18-Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques deNaucleaLatifolia Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, Université de Bamako. 10 p.

19-Belaouad, A, « les plantes médicinales d'Algérie », OPU, Alger, **(1998)**. 63p.

20-Benayache F., 2005- Recherche et Détermination Structurale desMétabolites

Secondaires d'espèces du Genre Genista (Fabaceae) : G. saharae, G. ferox. Thése de DoctoratEn chimie organiques. 199 p.

21-BEAUDEUX J. L, DURANDG, 2011. Biochimie médicale- Marqueurs actuels et perspectives (2 e, ed). ; MEDECINE SCIENCE, PUBLICATION, LAVOISIER, Année 9/2011. pp 48.

22 -Benaissa, O. (2011). Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de laFamille des composées, genres Chrysanthemum et Rhantherium. Activité Biologique, ThèseDoctorat. 63p.

23-BELAICH, R. and BOUJRAF, S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. Médecine des maladies métaboliques, 10(1), pp. 38-42.

24-BeddouFawzia. Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes

Médicinales sahariennes rumex vesicarius L. et anvillearadiatacoss. Dur. Thèse de Doctorat en biologie cellulaire et biochimie. P 71-75.

25-Bisset W.J et Shaw N. H (1954) A comparison of D.C.P.A., T.C.P.A. and ArsenicFor killing Eucalypt regrowth in subtropical native pastures. J. Aust. Inst. Agric. Sci. Sci., 20, 177- 181.

26-Bigendako M J. 2004. Identification Et Zonage Des Eucalyptus Globulus Au Rwanda, Chemonics International Inc., Projet Adar, Aoûtt. pp: 1-2.http://pdf.usaid.gov.

27- Bizimenyera, S. E ,Chikoto, H., Eloff, J. N., Swan, G. E. (2005). Rationale for usingPeltophorumafricanum (Fabaceae) extracts in veterinarymedicine. Journal of the South AfricanVeterinary Association, 76(2), 54-58.

28-Boizot N., and Charpentier .J.P. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu enComposés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques deL'Inra. Pp 79-82. (Cited in DjemaiZoueglache S, 2008).

29-Boland Dj, BrookerMih, Chippendale Gm, Hall N, Hyland Bpm, Johnson Rd,Kleinig Da, Mcdonald Mw, Turner Jd. 2006 Forest Trees Of Australia. CsiroPublishing, Collingwood. 89: 165-169.

30-Boland DJ; BrookerMIH ; Chippendale GM ; Hall N; Hyland BPM; JohnstonRD ; p50, 120-123.

31-Bouakaz, I., (2006). Etude phytochimique de la plante GenistaMicrocephala.

32-Boudjouref M., 2011-Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraitsD'Artemisiacampestris L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. pp 48.

33Brooker MIH ;Kleinig DA. 1990. Field Guide to the Eucalypts: Volume 2, South-Western and southern Australia. Melbourne, Australia: Inkata Press.

34-Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème Ed. Lavoisier, Paris.

35-Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed. Ed.Médicales internationnales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.

36-BRUNETON J., 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition. Tec & Doc (Ed). Paris. **12** (4) : 564-570.

37-Brian J. Werth. Présentation des antibiotiques, pharm D. University of Washington school of pharmacy, dernière révision totale juil. 2020/ dernière modification du contenu juil. ,2020. 391-425.

38-Buchanan, R. (2001) cours de métabolisme secondaire.

C

39-Chaouche T. (2014). Contribution à l'étude des activités antioxydantes et Antimicrobienne des extraits de quelques plantes médicinales. Doctorat. Biochimie Biochimie. Université Abou-Bakr-Benlkaid, Tlemcen. P 121.

40-CyrilT. (2001).étude des métabolismes primaires et secondaires de racines Transformées de CatharanthusRoseusen, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal. 28p.

D

41-Deysson G. (1979). Systématique .Tome II : Organisation et classification des plantesVasculaires. Ed. : Enseignement supérieurs. 2-7181-3514-X, pp: 378-382.

42-De Pooter H.L. et Schamp N. (1986). Comparaison of the volatils composition of some Calaminthasaturejaspecies. In : Progress in essential oil research. Ed. E-J. Brunk, Walter De Gr uyter, Berlin.139-150p.

43-DELATTRE, J., BEAUDEUX, J. AND BONNEFONT-ROUSSELOT, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant. 1st ed. Paris : Editions Tec & doc.

44-DELATTRE J., BEAUDEUX J. L., BONNEFONT-ROUSSELOT D., Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques 2007. 80:65-70.

45- Dorsaf Ben Hassine, Manef Abderrabba, Yan Yvon, Ahmed Lebrihi, Florence Mathieu, François Couderc and Jalloul Bouajila. Chemical Composition and in Vitro Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of Eucalyptus gillii Essential Oil and Extracts, Molecules 2012, 17, 9540-9558 ; doi : 10.3390/molecules

17089540, page 95550.

46-Dr, Danielle CLAVE, Expert biologiste bactériologie. CHU Toulouse. Fiche technique, bactériologie 153 E. FIBAC. 07-09-17. 01 Emis le 13Novembre 2015, p 1 et2.

47- Dr Jesus Cardenas, allergologue. Eucalyptus. Les propriétés médicinales de l'eucalyptus, validation médicale : 04 mai 2017.

48-Dr, Philippe Goeb, médecin généraliste. Citrobacter, le journal des femmes par Ingrid Haber Feld mise à jour le 12/05/20.

49-D. YALA, A. S. MERAD, D. MOHAMEDI, M. N. OUAR. KORICH. Résistance bactérienne aux Antibiotiques médecine du Maghreb 2001 n° 91.

E

50-Eldridge K., Davidson J., Harwood C., Van Wyck G., 1993. Eucalypt

Domestication And Breeding. Clarendon Press, Oxford**Brunie, G-,** « Encyclopédie de botanique et d'horticulture, plus de 10000 plantes du mande entier », Ed, place des victoires, paris **(2006).** 288 P.

51-Erlund. (2004). Nut. Res. p24, 851-74.

52-Eucalyptus Blakelyi Maiden, Crit. Revis. Eucalyptus. 4: 43 (1917).

53-Eucalyptus cladocalyxF. Muell. Linnaea 25: 388 (1853).

F

54-Fleurette, J., Freney, J. (1995). Antiseptie et désinfection.

55-François Denis, Marie-Cécile Ploy 2007. Bactériologie médicale technique usuelles. ECBU, page 139.

56- F,Grodestein. Kang JH, et al. A Randomized Trial of Beta Carotene Supplementation and Cogrnitive Function in Men : The physicians' Health StudyII. Arch InternMed. 2007 NOV 12 ; 167(20) : 2184-90.

G

57-GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS M., and ORECCHIONI A.M., 2001. LePréparateur en pharmacie dossier 2èmeEd TEC&DOC. Paris. pp275. (Cited inDjemaiZoueglache S, 2008).

58-Ghedira K. ; Goetz P. et Le Jeune R. (2008). Eucalyptus globulus Labill.Phytothérapie , pp:197-200..

59-Giordano E (1968) Osservazioni sull'apparato radicale dell'Eucalypus globulus Labill. Publ. del Centro di Spermentazione Agricola e Forestale. X, 2 : 135-148.

60-Gorham J., 1977- Lunularic acid and related compound in liverworts, algManallah, A. (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive OleaEuropaea L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- sétif, 87p.

61-Guignard JL., 1996- Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. France. 274 p.

62-Guignard J L., 2001. Abrégé Botanique Systématique Moléculaire. EdsRévisée.Masson **-Institut National De Recherche Forestiere., 1996**. «La Forêt Algérienne» EditerPar–Bainem-Alger Février.

H

63- Haslam E. (1994). Natural polyphenols (vegatable tannins) : Gallic Acid metabolism.Nat. Prod. (11): 41-66.

64-HarborneJB, **1998**. Phytochemical methods. Aguide to modern techniques of plantsanalysis.Third Edition...Paris M, Hurabielle M, 1981. Abrégé de matièremédicale-Parmacognosie. Tome 1. EditionMasson, Paris. 1-9p.

65-Havasteen, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids.Pharmacol. Therapeut. 16: 79-90p.

66-Hart, C. A (2006). Klebseilla, Citrobacter, Entérobacter and serratia Spp.. In S**. H.Gillespie, & P. M Hawkey**(Eds), principales and practice of Clinical bacteriology (2 nd ed, pp. 377- 386). England, UK :**John Wiley and Sons Ltd**.

67-Hoffman, L. 2003. Etude du métabolisme des phénylpropanoides, Thèse de Doctorat. Strasbourg. 245p.

I

68-IBRAHIM, I.S., ALI, M., ZAGE, A.U.phytochemistry of methanolic and aqueous extracts of eucalyptus camaldunensis leaves, seeds and stem back. International Journal of Advanced Academic Research (Sciences, Technology & Engineering). Vol. 2 (12), (December 2016), 75-80.

69-ISERIN P., masson m., restellini j. p., ybert e., de laage de meux a., moulard f., zha e., de la roque r., de la roque o.,vican p., deelesalle -feat t., biaujeaud m., ringuet j., bloth. 297 p.

J

70-Jacob M.R (1955) Growth habits of the eucalyptus. Ed. By Forest and TimberBureau. Dept of the Interior. Canberra. Australia.

71- J., BOTREL A., 2001. Larousse des plantes médicinales : identification,Préparation, soins. 2éme édition de VUEF, Hong Kong : 335.

K

72-King A., and Young G. 1999. Characteristics and occurrence of phenolicphytochemicals.Jof the American dietetic association.**99** :213-218. (Cited inDjemaiZoueglache S, 2008.

73-Kleinig DA ; Turner JD. 1984. Forest trees of Australia. 4th ed. MelbourneAustralia: Thomas Nelson and CSIRO. 49p.

74-Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse Doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.17p

L

75 L.D.Pryor.1955. Eucalypts for planting.

76-LEHUCHER-MICHEL M. P, LESGARDS J. F., DELUBAC O., STOCKER P., DURAND P., PROST M. (2001). Stress oxydant et pathologies humaines : Bilan et perspectives préventives. La Presse médicale, vol. 30, no21, pp. 1076-1081.

77-Litvak M.E., Monson R.K., 1998- Patterns of induced and contitutivemonoterpèneProduction in conifer needles in relation to insect herbivory. Oecologia. 33 :2-16p.

78-Lovegrove, J. A., Stainer, A., & Hobbs, D. A. (2017).Role of flavonoids and nitratesIncardiovascularhealth. Proceedings of the Nutrition Society, 13

79-Lutge U., Kluge M., Bauer G. 2002. Botanique 3ème Ed : Technique etDocumentation. Lavoisier .Paris. 211p.

M

80-Mayer A.M., 2004- Resistance to herbivores and fungal pathogens : Variations on aCommonthème ? A rêviezcomparions the effects of secondary metabolites, induced and Constitutive, on herbivores and fungal pathogens. Isrel Journal Of Plant Sciences. 102 :771-776p.

81-Malecky, M. 2005. Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour Obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et deL'Environnement, Agro Paris Tech p 9, 13-19, 20, 27..

82-Mauro, N. M. (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-aEt la (±)-camptothécine, thèse doctorat, l'université Joseph Fourier Grenoble, p13, 16-28.

83-Majhenic L., kerget M.S., Knez Z. (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food Chemistry, 104, 1258–1268.

84-M. Archambaud, Mars 2009. Laboratoire bactériologie, hygiène. CHU Rangueil Toulouse. 16: 79-90p.

85-Medic–Saric M.,Jasprica I., SmolcicBubaloA., and Momar A. 2003.

Optimization of chromatographic conditions in Thin Layer Chromatography ofFlavonoids and Phenolic Acids.CroaticaChemicaActa.77 (1-2) :361-366. (Cited inMohammedi Z, 2005).

86-Meddour A.,Yahia M., Benkiki1 N., Ayachi A. 2011. Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du capparis spinosa L. Lebanese Science Journal 14(1) :49-60.

87-Mohammedi Zohra, Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud-ouest de l'algérie, thèse de doctorat en biologie, université aboubakrbelkaid à tlemcan en algérie, 2013. P 22-89.

N

88-Newman D.J., CRAGG G.M., 2012– Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. J. Nat. Prod. Vol. (75): 311-335.Of Food Microbiology, 56(1): 3-12

89-Nicolle D, 1997. Eucalypts of South Australia. South Australia : Dean Nicolle.

P

90-Paris M., HURABIELLE., 1981- Abrégé de matière médicale.Pharmacognosie. Tome.Ed. Masson, Paris. France. 339 p.

91-Pandey KB et Rizvi SI., 2009- Plant polyphenols as dietary antioxidants inhuman Health and disease. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. p91- 106.

92-Perroti, C -, Corbetta, N-, « Atlas des plantes médicinales », Paris, Ed Berti, **(1994)**. 274p.

93-Pibiri, M. C. (2006). Assainissement Microbiologie de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, Thèse pour l'obtention du grade de docteur ès sciences. Lausanne, Ecole polytechnique fédérale de Lausanne (EPFL).

R

94-Rakotonanahary, M. (2012).thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en Pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier. p16, 19, 27, 28.

S

95-Sasikala S. and Kalaimathi J. Phytochemical analysis and antibacterial activity of Eucalyptus sp leaf extract against clinical pathogens, international journal of institutional pharmacy and life sciences. (ISSN) : 2249-6807,4(6) : November-December 2014, 47-58.

96-Serventy, V. Wildlife Of Australia. Thomas Nelon Ltd, Canada. **1968.**

97-Shubhreet Kaur, Dr. Saurabh Gupta and Priyae Brath Gautam. Phytochemical analysis of Eucalyptus leaves extract, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2019 ; 8(1) : 2442-2446, page 2444.

98-Schauenberg, P et Paris, F., 1997. Guide des plantes médicinales : Ed. Delachaux et Niestlé, Paris (396 P).

99-Slee Av, Connors J, BrookerMih, Duffy Sm, West Jg .2006. Euclid Eucalypts

Of Australia. Third Edition Cd Rom Centre For Plant Biodiversity Research. CsiroPublishing, Melbourne.

100-Song, A., Wang, Y., Liu, Y., (2009). Study on the chemical constituents of the essential oil of the leaves of Eucalyptus globules Labill from China. Asian Journal of Traditionnel Médicine.

101-SUBRAMANIAN ABIRAMI, KANNAN NISHANTHINI, MANI POONKOTH. Antimicrobial activity and phytochemical screening of the extracts of Eucalyptus Globulus. International Journal of Current Pharmaceutical Research Vol 9, Issue 5, 2017, page 87, 88.

T

102-Thurzova, L., 1978. Les plantes __ santé qui poussent autour de nous. Ed : Elsevier Séquoia Bruxelles (4,268p).

103-T. Vallot, paris. Le mot du mois, Klebseilla oxytoca. Act. Méd. Lnt. Gastroentérologie(13), n°2, Février **1999**, p 46.

104-Tabuti J.R.S ; Lye K.A et Dhillion S.S., 2003. Traditional herbal drugs of bulamogi, Uganda : plants use and administration, J ethnopharmacol: (19-44p).

V

105-Verpoorte R., Alfermann A.W., 2000- Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism. Ed. Kluwer Academic, Dordrecht. Netherlands. 286 p.

W

106-Wichtl M. Et Anton R. (2003). Plantes thérapeutiques. Tradition, pratique officinale, Science et thérapeutique. Ed. : 2 ème TEC& DOC, ISBN. 2-7430-0631-5, pp: 200-201.

107-WICHTL M., ANTON R., 2009. Plantes thérapeutiques tradition, pratique Officinale, science et thérapeutique. Edition LAVOISIR, Paris: 38, 41.

Y

108-Yves-Alain .B et all. 2007. Etude ethnobotaniqueet screening phytochimique de Caesalpiniabenthamiana (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpiniaceae).Vol. 4 N°2: 217 – 225.

Annexes

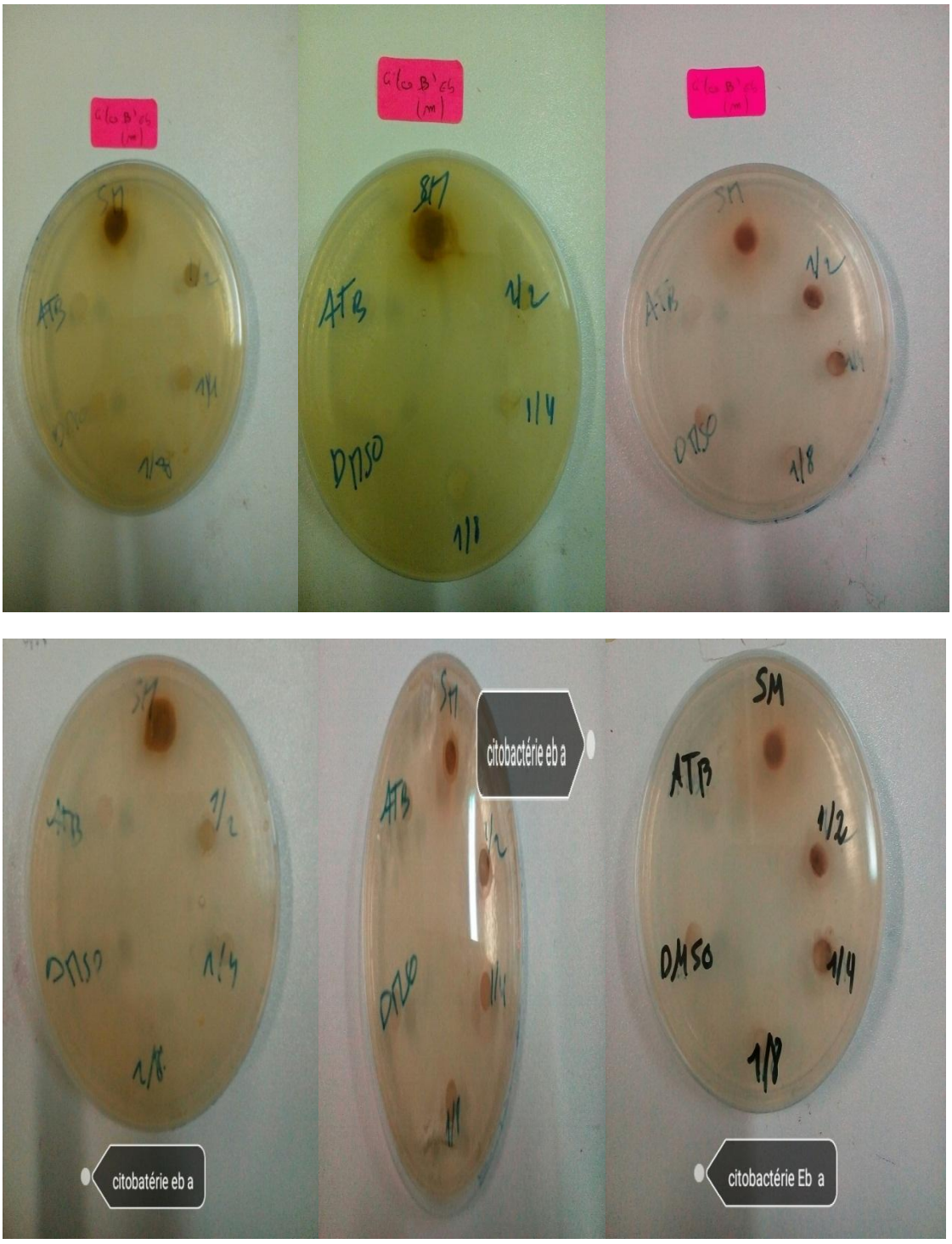


Figure.01: l' effet des extraits acétonique et méthanolique d'Eucalyptus Blakelyi sur Citrobacter freundii.

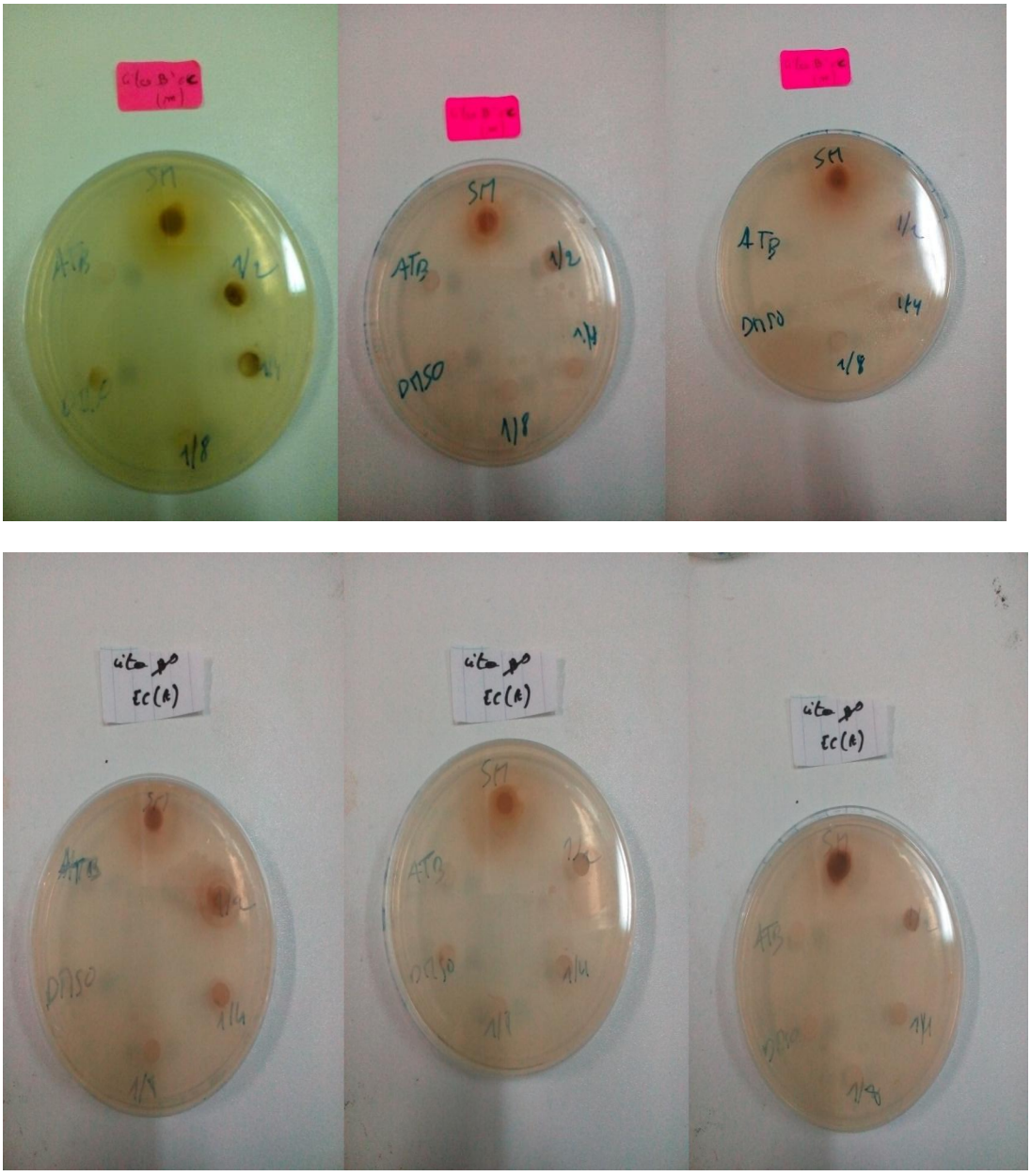


Figure.02 : l' effet des extraits acétonique et méthanolique d'Eucalyptus Cladocalyx sur citrobacter freundii.

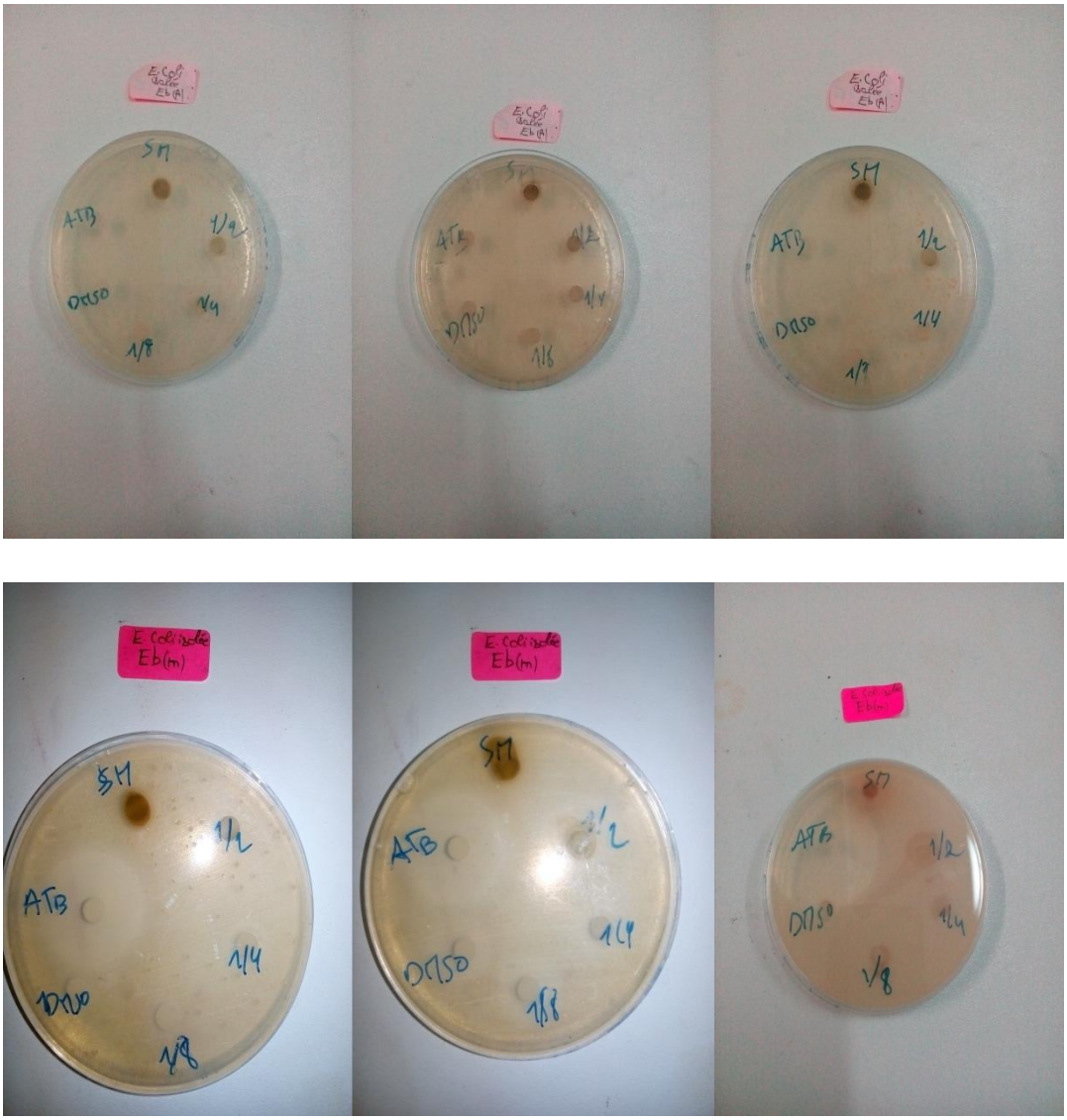
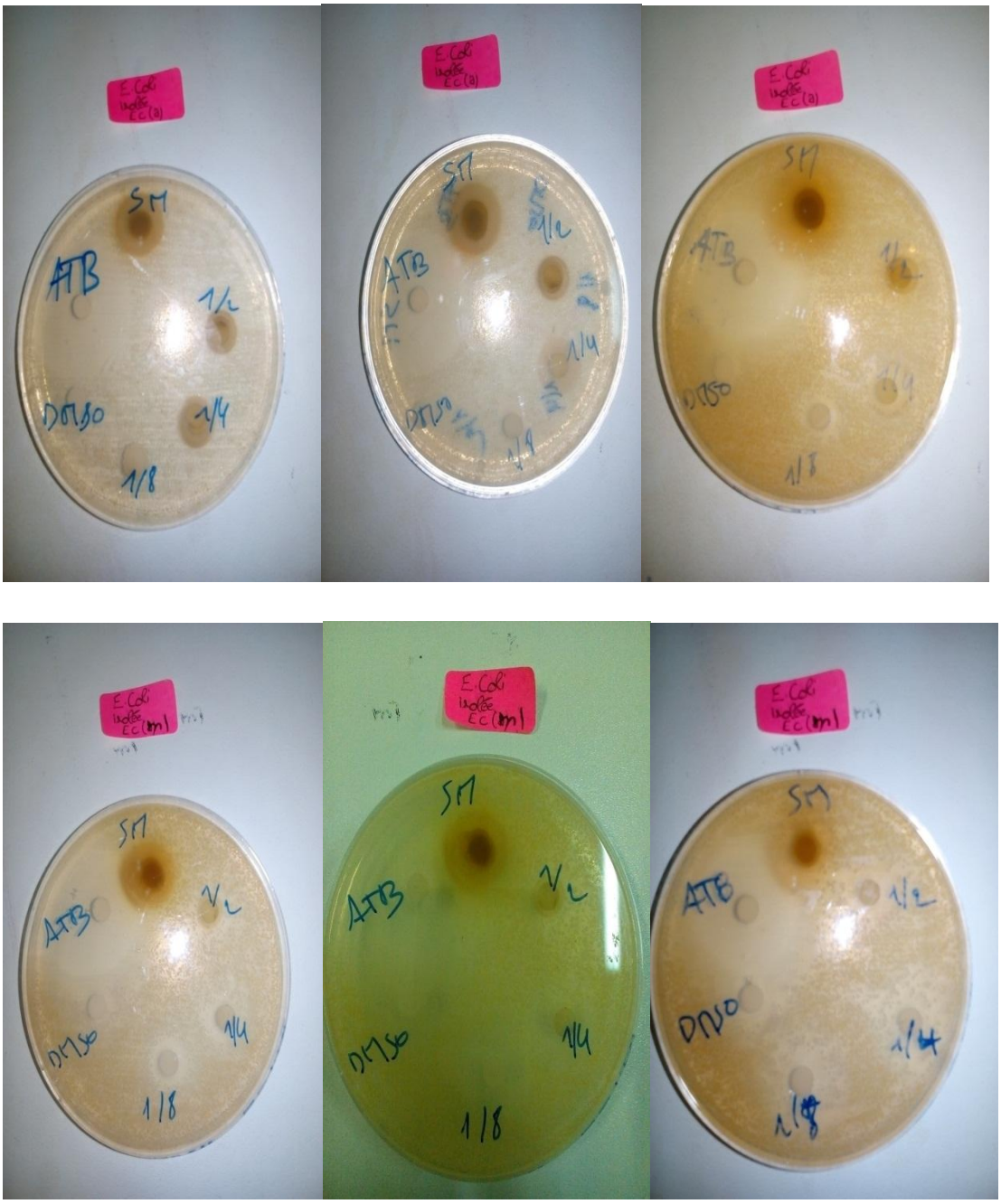


Figure.03 : l' effet des extraits acétonique et méthanolique d'Eucalyptus Blakelyi sur E. coli isolée.



. **Figure.04 :** l'effet des extraits acétonique et méthanolique d'Eucalyptus Cladocalyx sur E. coli isolée

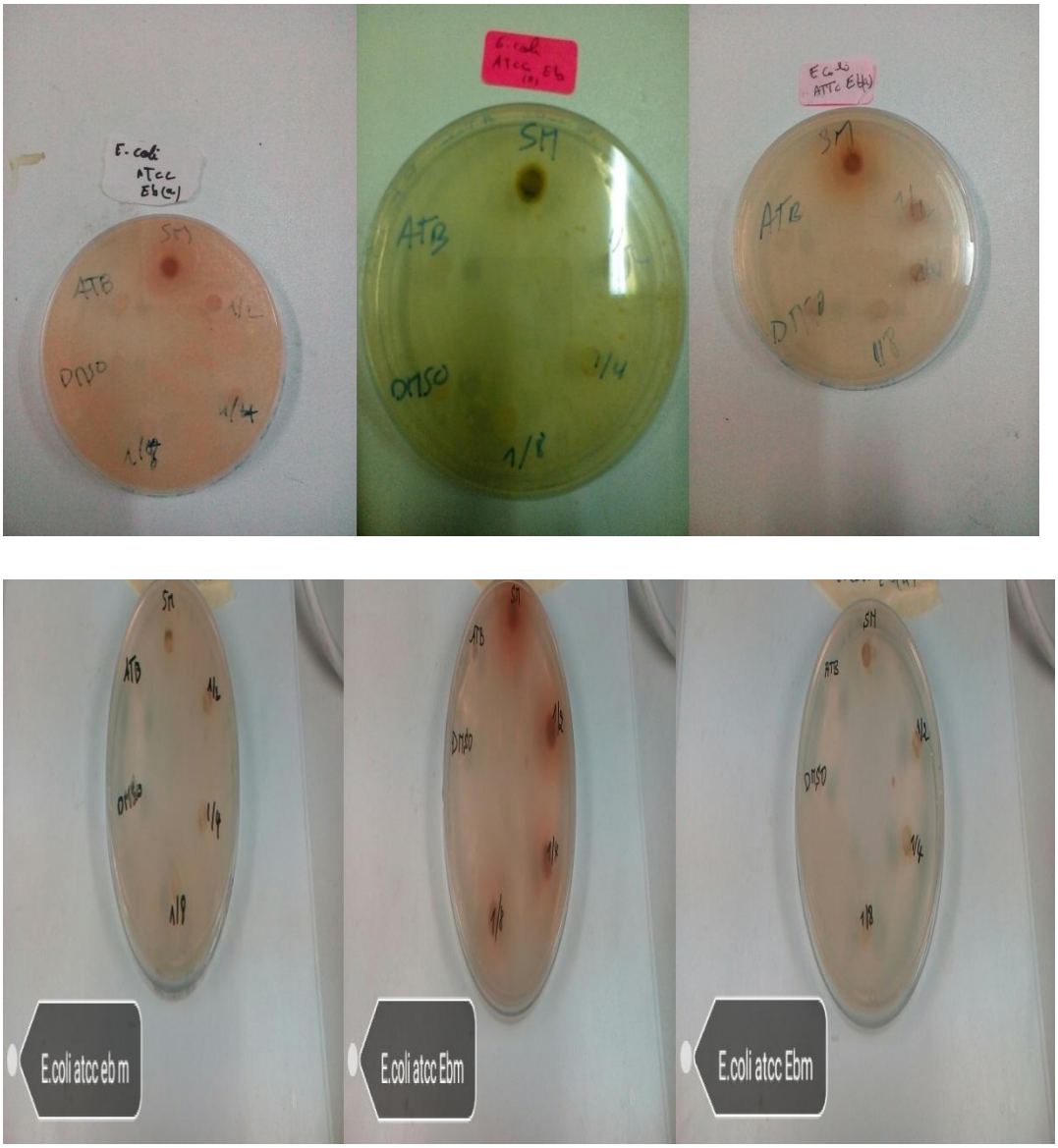


Figure.05 : l'effet des extraits acétonique et méthanolique d'Eucalyptus Blakelyi sur E. coli ATCC.

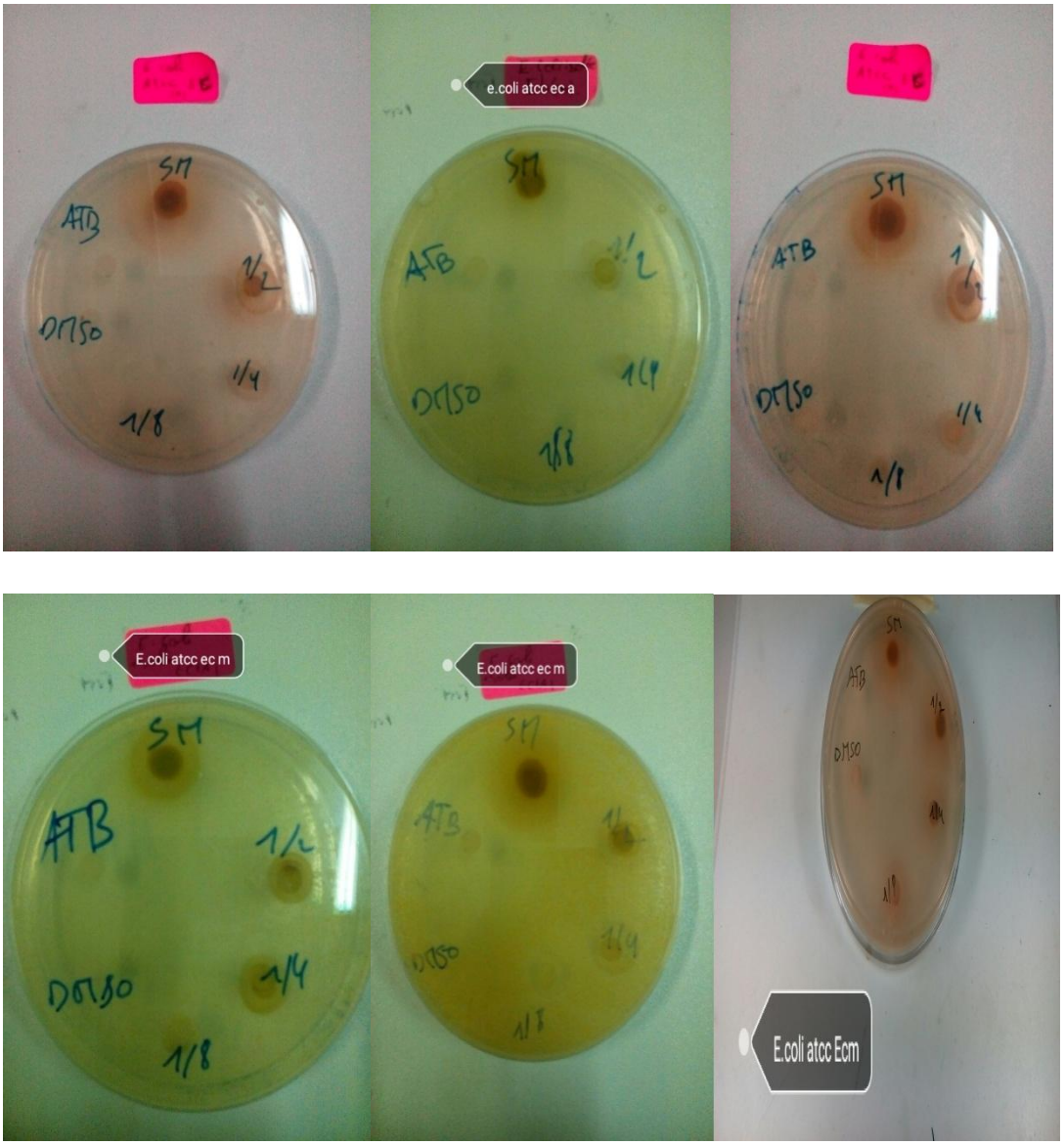


Figure.06 : l'effet des extraits acétonique et méthanoliqué d'Eucalyptus Cladocalyx sur E.coli ATCC.

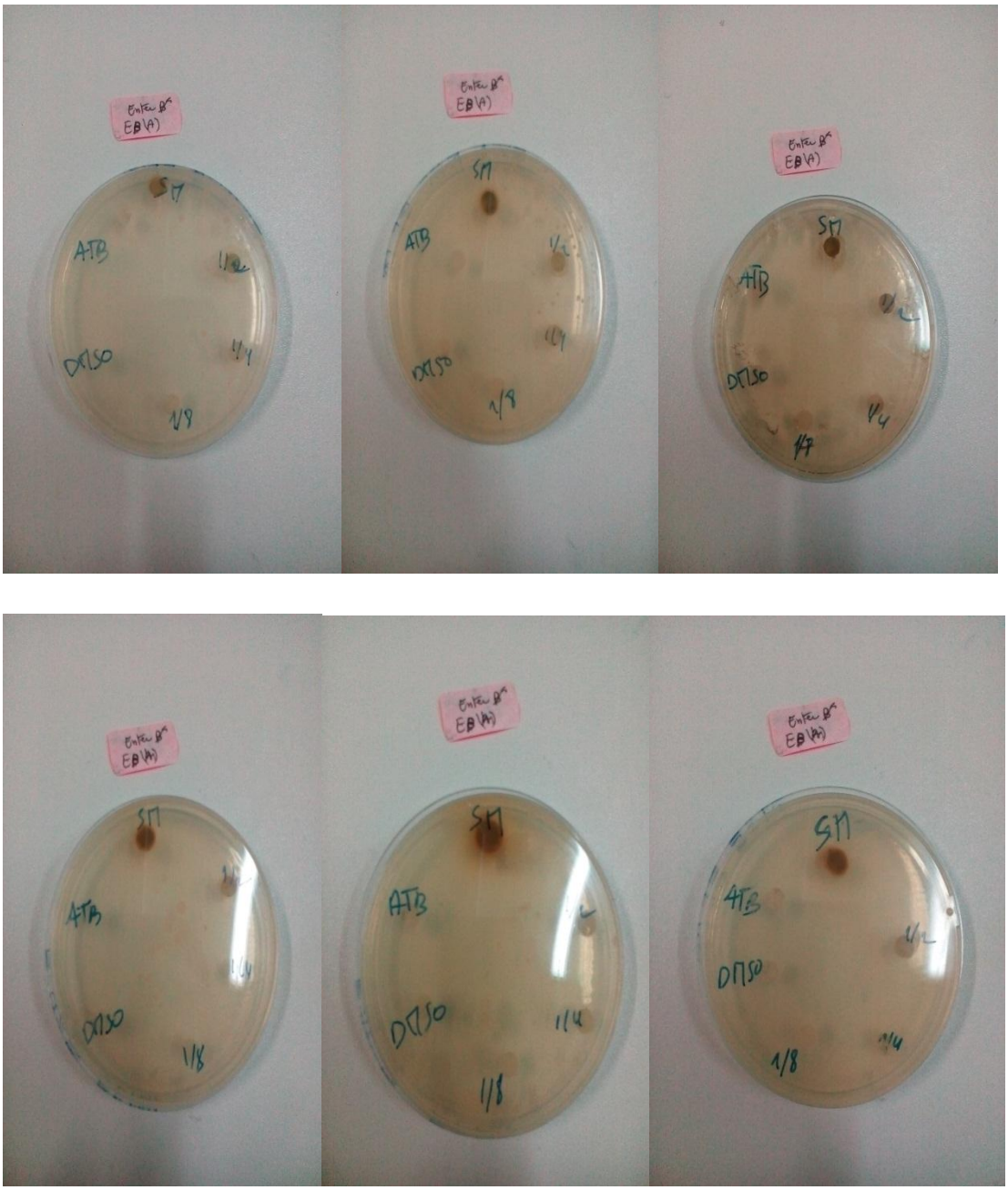
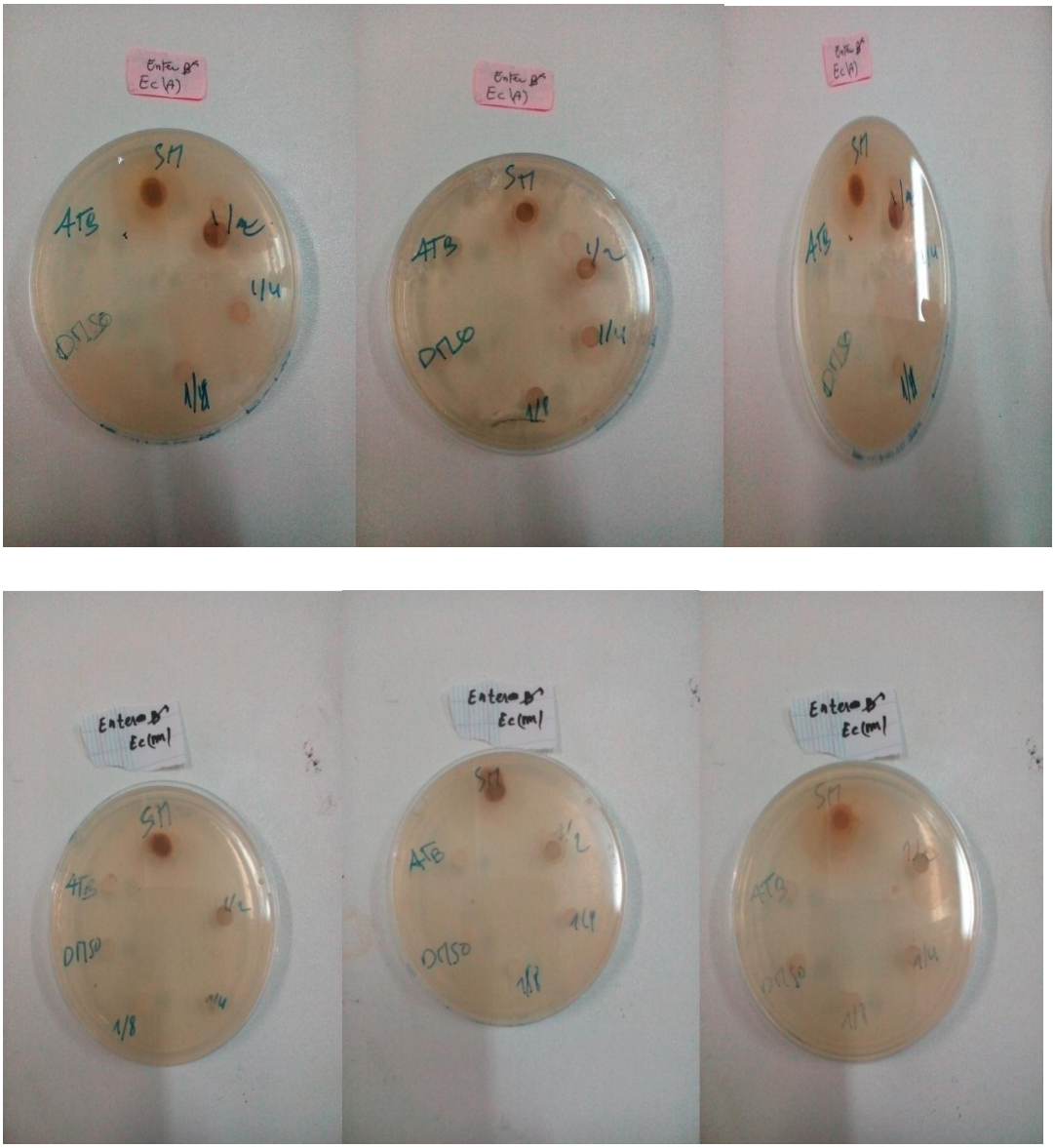


Figure.07 : l'effet des extraits acétonique et méthanolique d'Eucalyptus Blakelyi sur Ebtérobacter aerogenes.



Firure.08 : l'effet des extraits acétonique et méthanolique d'Eucalyptus Cladocalyx sur Ebtérobacter aerogenes.

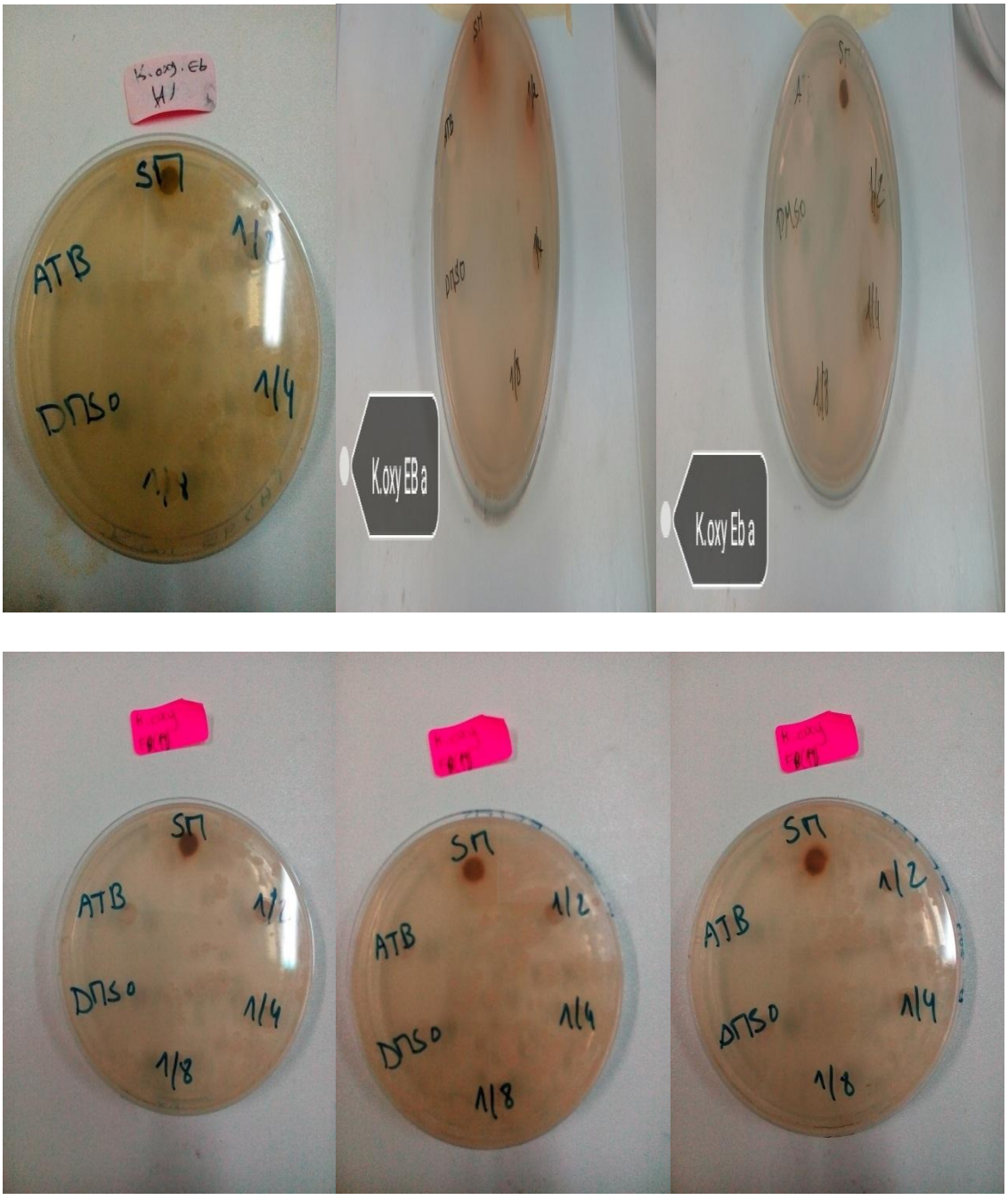


Figure.09 : l'effet des extraits acétonique et méthanolique d'Eucalyptus Blakelyi sur Klebseilla oxytoca.

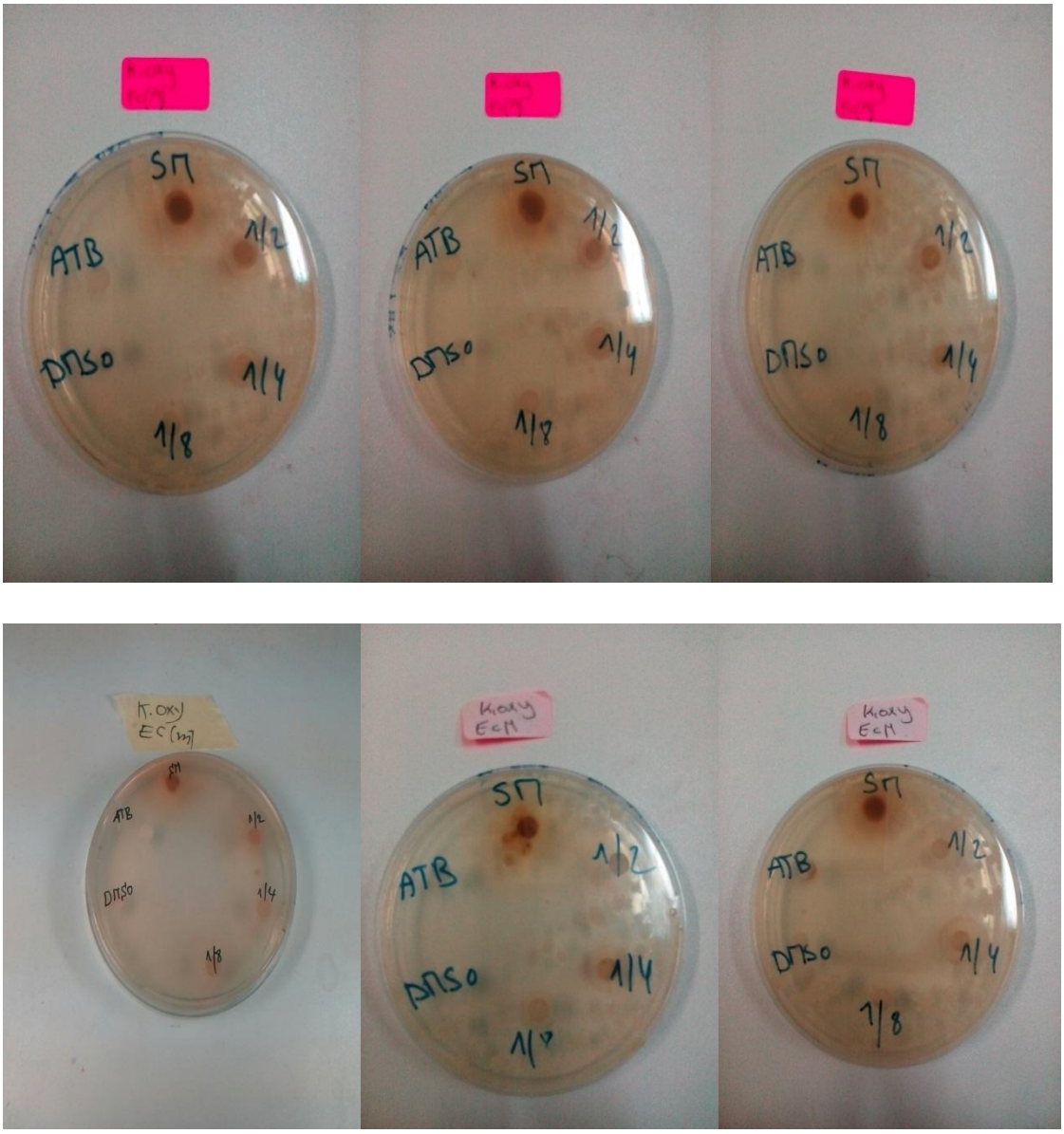


Figure.10 :l'effet des extraits acétonique et méthanolique d' Eucalyptus Cladocalyx sur Klebseilla oxytoca.

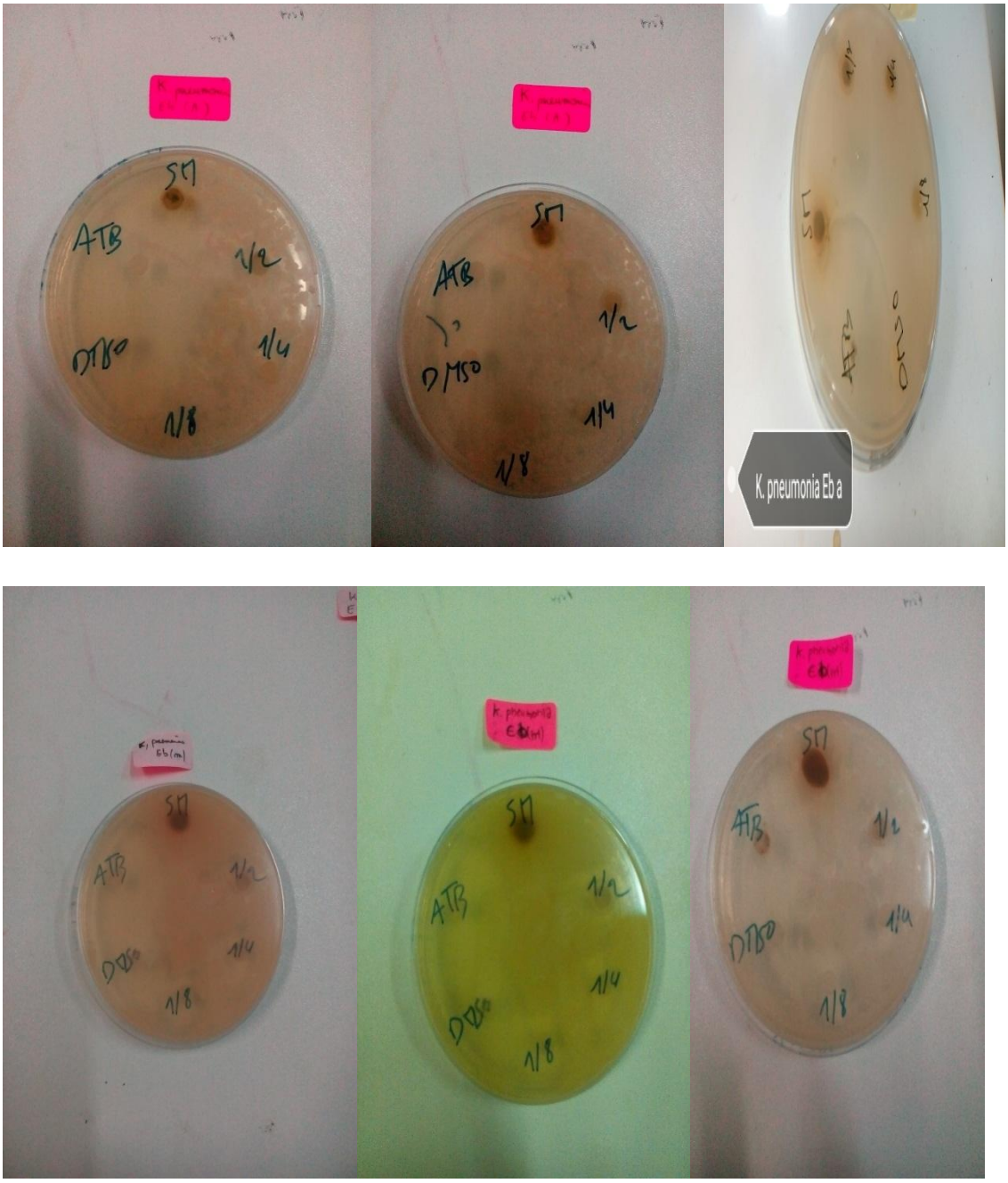


Figure.11 : l'effet des extraits acétonique et méthanolique d'Eucalyptus Blakelyi sur Klebseilla pneumoniae.

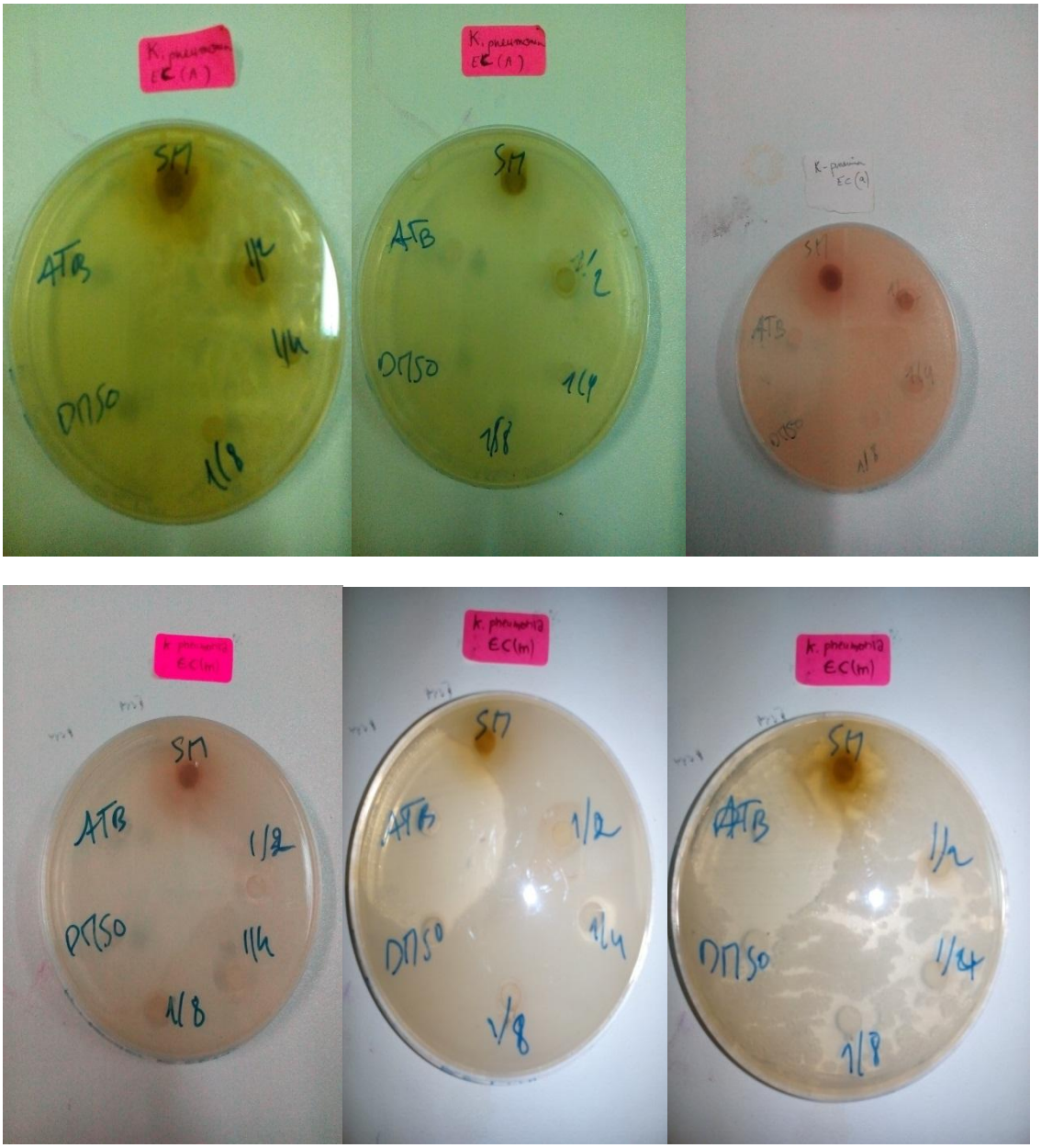


Figure.12: l'effet des extraits acétonique et méthanolique d'Eucalyptus Cladocalyx sur Klebseilla pneumoniae.

Matériel de laboratoire :

Tableau.1: Produits chimiques et milieux de culture utilisés.

	Produits chimiques	**Utilisation**
Solvants	Méthanol	préparation de l'extrait méthanolique
	Acétone	préparation de l'extrait acétonique
Réactifs	NaOH CuSO4 HCl Magnésium métallique CH2O Iode de potassium (KI) Iode (I) Anhydride acétique H2SO4 Acide chlorhydrique Ammoniac (NH4OH) alcool chlorhydrique Ethanol Chlorure ferrique(FeCl3) Formol	screening phytochimique (screening du résidu + screening de la poudre)

	DMSO	Activité antimicrobienne
	2,2-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) Acide ascorbique	Activité antioxydante
Sels	Chlorure de Sodium (NaCl)	Préparation de l'eau physiologique
Milieux de culture	Milieu Mueller-Hinton (MH)	Repiquage des souches bactériennes et aromatogramme

Appareillage :

-Bécher	- Micropipette
- Entonnoir	- Tube à essai
- Erlenmayer	- Spectrophotomètre
- Creuset	- Autoclave
- Spatules	- Boites de pétrie
- Papier filtre	- Ecouvillons
- Eprouvette	- Portoirs
- Balance électronique	- Anse de platine
- Barreau magnétique	- Bec benzène
- Agitateur	- Plaque chauffante
- Rotavapeur	- Bain marie
- Etuve	- Pince en métal
- Pipette pasteur	