

République Algérienne Démocratique et Populaire
Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem
Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie
Département de Biologie



UNIVERSITÉ
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM

UNIVERSITÉ
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Génétique fondamentale et appliquée

Par

MAMMERY Khadidja Aïcha

&

BRAHAMI Yassamine

Thème :

Extraction d'ADN et effet antimicrobien de l'extrait de fourmis (Genre, *Camponotus*)

Soutenu le 2022/2023 devant le jury composé de :

Président	NEBBACHE S.	MCA	Université de Mostaganem
Encadreur	CHIBANI A.	Pr	Université de Mostaganem
Examineur	DAHMANI C A	MCA	Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2022/2023

*Extraction d'ADN et effet
antimicrobien de l'extraits de
fourmis (Genre, Camponotus)*

Remerciements

Avant tout, nous exprimons notre gratitude à Allah, le Créateur bienveillant, pour nous avoir accordé l'ambition, la bonne santé et le courage nécessaires pour mener à bien cette mémoire.

Notre sincère gratitude va également à notre encadreur le professeur CHIBANI pour son aide, ses suggestions, ainsi que pour sa patience dans la correction de ce mémoire.

Notre sincère gratitude va également aux membres de jury Mr. NEBBACHE Salim et madame DAHMANI Chahinez Amira.

De plus, nous tenons à exprimer nos remerciements à la technicienne de laboratoire de biochimie, et à la technicienne de laboratoire de microbiologie, pour sa patience et ses conseils.

Enfin, nous adressons nos remerciements à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué de manière significative à la réussite de cette thèse. A chacun d'entre vous, nous offrons notre profonde gratitude.

Dédicace

À mes très chers parents et chers frères,

À travers tous les chapitres de ma vie, votre amour indéfectible et votre soutien indéfectible ont été mes compagnons constants. Ce mémoire est un hommage à la profonde influence que vous avez eue sur le récit de ma vie. Avec un dévouement sincère, je vous offre ces pages, en reconnaissance du rôle remarquable que vous avez joué dans la formation de la personne que je suis aujourd'hui.

Avec une gratitude sans bornes,

MAMMERI Khadidja Aicha.

Dédicace

À ma mère, mon oncle, ma tante et mes cousins bien-aimés

En remerciement d'une vie d'amour, de sacrifices et de soutien durable. Votre présence nourricière a fait de moi la personne que je suis aujourd'hui. Ce mémoire vous est dédié, en témoignage de ma profonde gratitude et de l'impact profond que vous avez eu sur ma vie. Votre force, votre gentillesse et votre sagesse continuent de m'inspirer chaque jour.

BRAHAMI Yasamine .

Résumé

Ce travail couvre deux aspects intrigants des fourmis : l'extraction de leur ADN et l'exploration des propriétés antimicrobiennes naturelles de leurs extraits. Nous avons d'abord collecté les fourmis de la forêt de Khadra Mostaganem. Pour réaliser l'extraction de l'ADN, nous avons réalisé les étapes suivantes : Une rupture mécanique des cellules des fourmis, une rupture chimique et une précipitation de l'ADN. L'échantillon d'ADN a été chargé sur un gel d'agarose puis soumis à une électrophorèse. Enfin, le gel d'agarose a été observé sous une lumière UV.

De plus, nous avons réalisé deux extraits de fourmis, un extrait aqueux et un extrait méthanolique, puis nous avons testé leur potentiel antimicrobien sur des souches d'E coli et de pseudomonas.

Le processus d'extraction de l'ADN a réussi, mais l'ADN extrait n'est pas pur. Les résultats de l'antibiogramme démontrent un faible effet antimicrobien des extraits de fourmis sur E. coli et aucun effet sur les pseudomonades.

Perspectives : les méthodes d'extraction d'ADN que nous avons utilisées sont simples et peuvent donner des résultats.

Malgré la promesse initiale, les extraits de fourmis ne représentent peut-être pas une solution optimale dans la lutte contre les agents pathogènes bactériens, ce qui justifie une exploration plus approfondie de voies alternatives pour la recherche sur les antimicrobiens.

Mots clés : Fourmis, extraction d'ADN, électrophorèse, propriétés antimicrobiennes, extrait aqueux, extrait méthanolique.

Abstract

This work covers two intriguing aspects of ants: extraction of their DNA, and the exploration of the natural antimicrobial properties of their extracts. We first collected the ants from the forest of Khadra Mostaganem. To carry out the extraction of the DNA, we did the following steps: A mechanical rupture of the ants' cells, chemical rupture, and DNA precipitation. The DNA sample was loaded onto an agarose gel and subsequently subjected to electrophoresis. Finally, the agarose gel was viewed under a UV light.

Additionally, we made two extracts from ants, an aqueous extract, and a methanolic extract, then we tested their antimicrobial potential on *E. coli*, and *pseudomonas* strains.

The DNA extraction process was successful, but the DNA extracted is not pure. The antibiogram results demonstrate a weak antimicrobial effect of ant extracts on *E. coli* and no effect on *pseudomonads*.

Perspectives: the DNA extraction methods we used, is simple and can yield results.

Despite initial promise, ant extracts may not represent an optimal solution in combating bacterial pathogens, warranting further exploration of alternative avenues for antimicrobial research.

Keywords: Ants, DNA extraction, electrophoresis, antimicrobial properties, aqueous extract, methanolic extract.

الملخص

يغطي هذا العمل جانبين مثيرين للاهتمام حول النمل: استخراج الحمض النووي الخاص بهم، واستكشاف الخصائص الطبيعية المضادة للميكروبات في مستخلصاتهم. قمنا أولاً بجمع النمل من غابة خضراء بمستغانم. ولإجراء عملية استخلاص الحمض النووي قمنا بالخطوات التالية: تمزق ميكانيكي لخلايا النمل، وتمزق كيميائي، وترسيب الحمض النووي. تم تحميل عينة الحمض النووي على هلام الاغاروز ثم تم إخضاعها الهجرة الكهربائية. وأخيراً، تم عرض هلام الاغاروز تحت ضوء الأشعة فوق البنفسجية.

بالإضافة إلى ذلك، قمنا بتصنيع مستخلصين من النمل، مستخلص مائي، ومستخلص ميثانولي، ثم قمنا باختبار إمكاناتهما المضادة للميكروبات على سلالات الإشريكية القولونية والزائفة.

وكانت عملية استخراج الحمض النووي ناجحة، ولكن الحمض النووي المستخرج ليس نقياً. أظهرت نتائج المضادات الحيوية تأثيراً ضعيفاً مضاداً للميكروبات لمستخلصات النمل على الإشريكية القولونية ولا يوجد تأثير على الزائفة.

وجهات نظر: طرق استخراج الحمض النووي التي استخدمناها بسيطة ويمكن أن تسفر عن نتائج.

على الرغم من الوعد الأولي، قد لا تمثل مستخلصات النمل الحل الأمثل في مكافحة الأمراض البكتيرية، مما يستدعي المزيد من البحث عن طرق بديلة لأبحاث مضادات الميكروبات.

الكلمات المفتاحية: النمل، استخلاص الحمض النووي، الهجرة الكهربائية، الخصائص المضادة

للميكروبات، المستخلص المائي، المستخلص الميثانولي.

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique

CTAB : bromure de cétyle-tri-méthyl-ammonium

EDTA: Ethylene-diamine-tetra-acetic acid

EtBr : éthidium Bromide

MH: Muller Hinton

PAGE : polyacrylamide gel electrophoresis

PCR : Polymerase Chain Reaction

pH : Potentiel d'hydrogène

SDS : Sodium dodecyl sulfate

TAE : Tris-acetate-EDTA

UV : Ultra-violet

°C : Degré Celsius

µl : micro-litres

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
01	Les diamètres des zones mesurés en boîtes de Petri <i>E. coli</i> en mm	43
02	Les diamètres des zones mesurés en boîtes de Petri Pseudomonas en mm	43
03	Tableau des profils de résistance/sensibilité	43

Liste des figures

Figures	Titre	Page
01	L'ADN (acide désoxyribonucléique) (Zephyris, 2011)	6
02	Structure du corps de la fourmi	16
03	Fourmi charpentière japonaise (adapté de Tsuji <i>et al</i> , 2007)	18
04	Une fourmi champignonnistes (Cyphomyrmex faunulus) en Guyane. (Piotr Naskrecki, Minden Pictures)	20
05	Entrée d'un nid de fourmis	29
06	Une vue rapprochée d'une fourmi. Genre: Camponotus	30
07	L'écrasement des fourmis avec le pilon	34
08	Les échantillons d'ADN plus les tampons	35
09	l'agitation des extraits	36
10	La méduse d'ADN	39
11	La migration des échantillons dans le gel d'agarose	39
12	Le gel visualisé sous lumière uv	40
13	Les boites E. coli, et la boite E. coli B après 24h	41
14	Les boites Pseudomonas, et la boite Pseudomonas B après 24h	41
15	Les boites E. coli, et la boite E. coli B après 48h	42
16	Les boites Pseudomonas, et la boite Pseudomonas B après 48h	42

Sommaire

Résumé	I
Abstract	II
المخلص	III
Liste des abréviations	IV
Liste des tableaux	VI
Liste des figures	VI
Introduction	1

Partie bibliographique

Chapitre I : Extraction d'ADN Et Électrophorèse

1. L'ADN	6
1.1. Rôle de l'ADN	6
1.2. L'extraction de l'ADN	7
1.3. Le but d'extraction de l'ADN	7
1.4. Technique d'extraction d'ADN	7
1.5. Extraction d'ADN à partir de cellules végétales	7
1.5.1. Méthode CTAB	8
1.5.2. Méthode de la protéinase K	8
1.6. Extraction d'ADN à partir de cellules animales	9
1.6.1. Extraction Phénol-Chloroforme	9
1.6.2. Méthode " Salting out":	9
1.6.3. La méthode SDS-protéinase K	10
1.7. Extraction d'ADN d'insectes	10
1.7.1. Technique Chelex	10
1.7.2. Méthode de la salting-out	10
1.8. Extraction d'ADN à partir d'un spécimen d'insecte frais	11
1.8.1. Méthode CTAB	11
1.9. Extraction d'ADN à partir d'échantillons d'insectes conservés	11
1.9.1. Technique de commutation de charge (Charge-switch)	11
1.9.2. Technique prépGEM	11
2. L'électrophorèse	12

2.1. Définition d'électrophorèse	12
2.2. Principe de l'électrophorèse	12
2.3. Les différents types d'électrophorèses	12
2.3.1. Électrophorèse en veine liquide	12
2.3.2. Electrophorèse de zone	12
2.3.2.1. Les différents types d'électrophorèses de zone	13
2.3.2.1.1. Électrophorèse sur papier	13
2.3.2.1.2. Électrophorèse sur acétate de cellulose	13
2.3.2.1.3. Électrophorèses sur gel	13

Chapitre II : Les Fourmis

3. Les fourmis	16
3.1. Structure et mode de vie	16
3.1.1. La reine	17
3.1.2. Fourmis mâles	17
3.1.3. Les ouvrières	17
3.2. L'utilisation des fourmis dans l'histoire de la médecine	18
3.3. Propriété antimicrobienne	19
3.3.1. Fourmi coupe-feuille (Les fourmis champignonnistes)	19
3.3.2 fourmi noire des jardins	20

Chapitre III : Les Extraits Biologiques

4. Les extraits biologiques dans la médecine traditionnelle	23
4.1. Extraction	23
4.2. Différentes méthodes d'extraction	24
4.2.1. Extraction par solvant	24
4.2.2. Méthode de distillation	24
4.2.3. L'extraction par pression ou pressurage	24
4.2.4. Méthode de sublimation	25
4.3. Les facteurs qui peuvent affecter l'extraction	25
4.3.1. La granulométrie des matières premières	25
4.3.2. Le rapport solvant-solide	25
4.3.3. La durée de l'extraction	25

4.3.4. Optimisation de la sélection de solvant _____	25
4.3.5. La température _____	26
4.4. Activité antimicrobienne de certains extraits _____	26
4.4.1. Extraits de plantes _____	26
4.4.2. Extraits d'insectes _____	26

La partie pratique

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

1. Matériel _____	29
1.1 Cadre et objectifs _____	29
1.2. Matériel biologique _____	29
1.2.1. Les fourmis _____	29
1.2.2. Classification _____	30
1.2.3. Caractéristiques importantes pour aider à identifier les fourmis _____	31
1.2.4. Les souches bactériennes utilisées _____	31
1.3. Le matériel utilisé pour l'extraction d'ADN _____	31
1.4. Matériel de l'électrophorèse _____	31
1.5. Le matériel de préparation d'extrait _____	33
2. Méthodes _____	33
2.1. Extraction d'ADN _____	33
2.2. L'électrophorèse sur gel d'agarose _____	35
2.3. Préparation des extraits _____	35
2.4. L'antibiogramme par diffusion des disques _____	36
2.4.1. Principe de l'antibiogramme _____	36
2.4.2. Le milieu utilisé _____	37
2.4.3. Les disques d'antibiotiques _____	37
2.4.4. L'ensemencement de l'antibiogramme _____	37
2.4.5. Incubation et Lecture de l'antibiogramme _____	37

Chapitre V : Résultats et Discussion

3. Observation, résultats et discussion _____	38
3.1. Extraction d'ADN et électrophorèse _____	38
3.2. Antibiogramme _____	41

3.2.1. visualisation après 24h	41
3.2.2. visualisation après 48h	42
3.2.3. L'antibiogramme	43
Conclusion	47
Références bibliographiques	48

Introduction :

Les fourmis, en tant qu'insectes eusociaux habitant des niches écologiques variées, ne sont pas seulement connues pour leur nature industrieuse, mais aussi pour leurs adaptations remarquables et leurs propriétés biochimiques uniques. Un aspect intrigant des fourmis qui a retenu l'attention ces dernières années est leur potentiel à posséder des propriétés antimicrobiennes, qui peuvent avoir des implications importantes dans divers domaines, y compris la médecine et la biotechnologie.

Les fourmis, comme de nombreux autres insectes, vivent dans des colonies densément peuplées où le risque de transmission de maladies est élevé. Pour contrer cette menace, les fourmis ont développé un ensemble complexe de mécanismes de défense, y compris la production de substances antimicrobiennes. Ces effets antimicrobiens sont principalement attribués aux composés chimiques complexes présents dans les extraits de fourmis.

L'extraction de l'ADN des fourmis est un processus fondamental en biologie moléculaire qui permet aux chercheurs d'étudier la composition génétique de ces insectes fascinants. Les fourmis, comme tous les organismes vivants, contiennent de l'ADN, le matériel génétique qui porte les instructions nécessaires à leur développement, leur fonctionnement et leur comportement. L'extraction de l'ADN des fourmis implique une série d'étapes conçues pour isoler et purifier ce matériel génétique des autres composants du corps de la fourmi.

Le processus commence généralement par la collecte d'échantillons de fourmis, puis par la décomposition de leur corps pour libérer les cellules contenant de l'ADN. Ceci peut être réalisé en broyant ou en écrasant les fourmis dans une solution tampon spécialisée qui aide à préserver l'ADN. Les enzymes pourraient être utilisées pour décomposer les structures cellulaires et libérer l'ADN à l'intérieur.

Le mélange résultant est ensuite soumis à diverses méthodes pour séparer l'ADN des autres composants cellulaires tels que les protéines, les lipides et les glucides. Cela peut impliquer l'utilisation de produits chimiques pour précipiter les protéines et d'autres substances indésirables, laissant l'ADN en solution. La

Introduction

centrifugation ou la filtration peuvent également être utilisées pour séparer différents composants en fonction de leurs tailles et densités.

Une fois l'ADN isolé, il peut être purifié davantage pour éliminer tous les contaminants restants. Cet ADN purifié peut ensuite être quantifié et analysé à l'aide de techniques telles que la réaction en chaîne par polymérase (PCR), l'électrophorèse sur gel et le séquençage. Ces méthodes donnent un aperçu de la diversité génétique, des relations et des caractéristiques des différentes espèces de fourmis, contribuant à notre compréhension de leur comportement, de leur évolution et de leur écologie.

En résumé, l'extraction de l'ADN des fourmis est une procédure cruciale qui déverrouille l'information génétique au sein de ces minuscules créatures. Il permet aux chercheurs de se plonger dans les mystères de la biologie des fourmis et contribue à notre compréhension plus large de la génétique et de la biodiversité.

Les propriétés antimicrobiennes des extraits de fourmis ont piqué l'intérêt des chercheurs et des scientifiques pour plusieurs raisons. Premièrement, ils offrent une source naturelle de composés capables de combattre les micro-organismes nuisibles, tels que les bactéries et les champignons. Cela les rend potentiellement précieux dans le développement de nouveaux antibiotiques et agents antifongiques, en particulier à une époque où la résistance aux antibiotiques est une préoccupation croissante.

Deuxièmement, les extraits de fourmis ont été utilisés traditionnellement dans diverses cultures comme remèdes populaires pour traiter les plaies et les infections. On pense que les effets antimicrobiens de ces extraits sont responsables de leur efficacité dans la promotion de la guérison et la prévention des infections. La compréhension des mécanismes sous-jacents de ces effets peut conduire au développement de nouveaux traitements pour les maladies infectieuses.

De plus, l'étude des extraits de fourmis et de leurs propriétés antimicrobiennes a des implications plus larges pour la recherche écologique et évolutive. Il donne un aperçu de la façon dont les fourmis se sont adaptées à leur environnement et comment elles maintiennent la santé de leurs colonies.

Introduction

Dans cette étude, notre objectif est d'évaluer si les extraits de fourmis possèdent des propriétés antimicrobiennes et leur efficacité contre les micro-organismes nuisibles. Cette recherche sera une première exploration des propriétés antimicrobiennes possibles des extraits de fourmis, offrant des informations précieuses sur leur efficacité dans la lutte contre les micro-organismes.

Partie
bibliographique

Chapitre I :
Extraction d'ADN
Et Électrophorèse

1. L'ADN :

L'ADN (acide désoxyribonucléique) (**Fig. 1**) est une molécule centrale en biologie moléculaire car c'est le L'ADN dans tous les organismes (à l'exception de certains virus qui utilisent l'ARN). (**Quinka, 2003**)

Chez les eucaryotes, la majeure partie de l'ADN génomique est située dans le noyau (ADN nucléaire) sous forme de multiples chromosomes linéaires de différentes tailles. Chez les cellules eucaryotes, il y a aussi de l'ADN dans les mitochondries et dans les chloroplastes (dans le cas des plantes). Cet ADN est généralement une molécule circulaire et est présent en plusieurs copies au sein de ces organites. (**Dairawan, Shetty, 2020**)

La codification des protéines qui contrôlent les fonctions cellulaires et déterminent les caractéristiques physiques et comportementales des organismes vivants est du ressort de l'ADN. (**Griffith et al, 2001**)

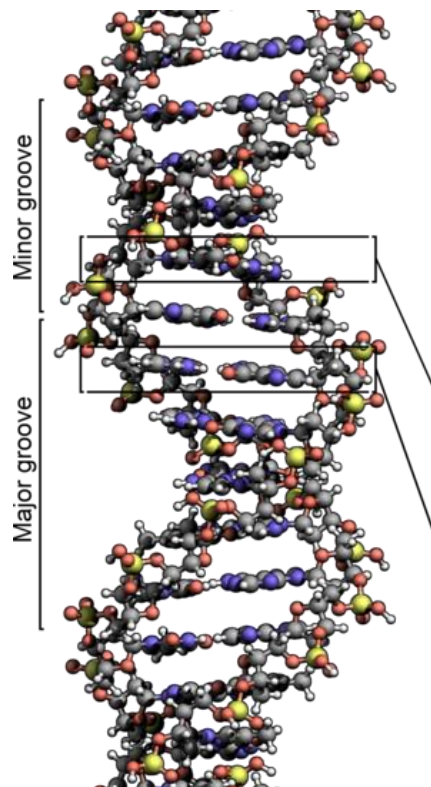


Figure1. L'ADN (acide désoxyribonucléique) (Zephyris, 2011)

1.1. Rôle de l'ADN :

Le rôle de l'ADN est de stocker l'information génétique qui détermine les caractéristiques de chaque être vivant. L'ADN est le support de l'information génétique

qui est transmise de génération en génération. L'ADN est également responsable de la transmission des caractéristiques héréditaires d'un individu à ses descendants. Les séquences spécifiques d'ADN, appelées gènes, sont transmises de génération en génération et déterminent les traits physiques et les prédispositions génétiques d'un individu. **(Baker, Kornberg, 2005)**

1.2. L'extraction de l'ADN :

Une étape essentielle de la recherche en biologie moléculaire et en génétique. Cette méthode est utilisée dans diverses applications telles que la PCR, le séquençage, le séquençage de l'ADN et la génomique fonctionnelle. Génotypage par cartographie microsatellite et études de diversité génétique. **(Konat et al, 1990)**

1.3. Le but d'extraction de l'ADN :

Lors de l'extraction, l'objectif est d'isoler l'ADN de toutes les autres molécules organiques et d'obtenir une quantité et une pureté suffisantes pour effectuer des manipulations de biologie moléculaire post-collaborative, y compris l'identification, le diagnostic des maladies génétiques, médecine légale, en archéologie, biologie de la conservation, la recherche et le clonage. **(Raoudha et al, 2012)**

1.4. Technique d'extraction d'ADN :

La sélection de la technique d'extraction de l'ADN dépend de l'échantillon à l'étude, du temps nécessaire à l'extraction, de l'économie de la technique en raison des réactifs et de l'équipement utilisés dans l'extraction, et surtout de la qualité de l'ADN extrait. **(Asghar et al, 2015)**

1.5. Extraction d'ADN à partir de cellules végétales :

Le génome et la morphologie des végétaux sont plus complexes que d'autres génomes eucaryotes. De plus elles possèdent plusieurs organites comme les chloroplastes et les mitochondries qui contiennent de l'ADN. Les chloroplastes végétaux ont leur propre ADN spécifique, qui est distinct de celui présent dans le noyau. **(Sasaki et al, 1993)**

L'extraction d'ADN d'origine végétale utilise des méthodes visant à isoler efficacement l'ADN des tissus d'origine végétale. Le principe d'extraction de l'ADN comprend souvent les étapes suivantes :

1- Rupture des parois et membranes cytoplasmiques et nucléaires. Cela peut être réalisé en utilisant diverses méthodes, telles que l'utilisation de détergents, d'enzymes et de broyage mécanique.

2- la séparation et la purification de l'ADN à partir d'autres composants de la solution cellulaire tels que les lipides, les protéines et d'autres acides nucléiques grâce à des techniques de centrifugation et de filtration.

3- Concentration et purification de l'ADN, la qualité de l'ADN est vérifiée en utilisant des techniques telles que l'électrophorèse sur gel d'agarose, qui permet de visualiser la taille et la pureté de l'ADN extrait. **(Ali et al, 2017)**

Il existe plusieurs techniques pour extraire l'ADN des plantes, chacune avec ses avantages et ses inconvénients en termes de coût, de temps et d'efficacité. Les méthodes utilisées comprennent : Méthode CTAB, Méthode de l'alcool, Méthode de la protéinase K, l'extraction au phénol-chloroforme, les colonnes de centrifugation à base de silice ou les méthodes de billes magnétiques. **(Dairawan, Shetty, 2020)**

1.5.1. Méthode CTAB :

Le détergent non ionique Bromure de cetyl-tri-méthyl-ammonium (C₁₉H₄₂BrN) aussi connu sous le nom CTAB, est utilisé pour libérer les acides nucléiques cellulaires totaux et leur complexe et est utilisé pour désassembler les cellules végétales et éliminer les protéines. Cette procédure générale a été utilisée sur une grande variété de types de tissus et de genres de plantes. Il est souvent utilisé pour extraire l'ADN de plantes riches en polyphénols. **(Richards et al, 2001)**

1.5.2. Méthode de la protéinase K :

Cette méthode utilise une enzyme appelée protéinase K pour éliminer les protéines. Il est souvent utilisé pour extraire l'ADN de plantes riches en sucres et en graisses. La membrane cellulaire et la membrane nucléaire sont composées de protéines complexes telles que des phospholipides, des glycoprotéines et de la sphingomyéline. Ce sont les différentes molécules qui composent les protéines ainsi que certaines graisses, glucides et autres molécules. La protéine K digère la partie protéique de ces molécules. De plus, il digère la protéine de liaison à l'ADN. **(Chauhan, 2018)**

1.6. Extraction d'ADN à partir de cellules animales :

L'ADN peut être extrait de divers types de tissus animaux, notamment le sang, les tissus musculaires, les cellules de la peau, les cheveux et les plumes, et il existe une méthode très simple et peu coûteuse pour l'extraction d'ADN à haut débit à partir de tissus animaux. La procédure comprend trois étapes (digestion, chauffage et centrifugation), et les étapes générales de l'extraction d'ADN animal comprennent la collecte d'échantillons, la lyse cellulaire, l'élimination des protéines et des lipides et la précipitation de l'ADN.

De nombreuses méthodes d'extraction d'ADN ont été établies au fil des ans, chacune avec ses propres avantages et limites. Tels que : méthode de précipitation à l'alcool, colonne de purification d'ADN, salting out, phénol chloroforme, électrophorèse, capillaire, base de silice, base de résine (chelex100), base magnétique, base de décomposition enzymatique, base chauffante, base micro fluide.). Ces protocoles peuvent varier en fonction des types de tissus animaux utilisés, des objectifs de l'étude et des méthodes d'extraction d'ADN spécifiques utilisées. **(Konat et al, 1990)**

1.6.1. Extraction Phénol-Chloroforme :

L'extraction au phénol-chloroforme est une ancienne méthode d'extraction de l'ADN des cellules animales. Cette méthode est basée sur la différence de solubilité entre l'ADN, les protéines et les lipides dans des solvants organiques tels que le phénol et le chloroforme. Le phénol est utilisé pour éliminer les protéines et le chloroforme pour éliminer les lipides, laissant l'ADN dans la phase aqueuse. L'ADN a ensuite été précipité à l'aide d'alcool froid et récupéré par centrifugation. **(Elkins, 2013)**

1.6.2. Méthode " Salting out"':

Salting out est une méthode non toxique pour extraire l'ADN des cellules animales. Cette méthode repose sur la précipitation des protéines et l'élimination des ions qui peuvent interférer avec l'extraction de l'ADN. Pour cela, une solution saline contenant du sel est ajoutée à la solution contenant les cellules lysées, provoquant la précipitation des protéines. Les protéines précipitées peuvent ensuite être éliminées par centrifugation, laissant l'ADN en solution. En ajoutant de l'alcool froid à la solution, l'ADN précipite et peut être récupéré par centrifugation. L'ADN précipité peut ensuite être dissous dans une solution tampon pour une utilisation ultérieure. Cette méthode

a servi dans des applications telles que la PCR, la génétique des populations et la recherche sur les maladies génétiques. **(Rivero et al, 2006)**

1.6.3. La méthode SDS-protéinase K :

La méthode SDS-protéinase K est une méthode courante qui ne contient aucun produit chimique dangereux comme le phénol ou le chloroforme et est peu coûteux. Cette méthode repose sur la digestion des protéines et l'élimination des lipides qui peuvent interférer avec l'extraction de l'ADN. **(Qamar et al, 2017)**

1.7. Extraction d'ADN d'insectes :

1.7.1. Technique Chelex :

La méthode d'extraction d'ADN à base de Chelex® 100 est simple et rapide. Elle implique l'ajout d'une résine échangeuse d'ions appelée Chelex®100 à l'échantillon biologique, pour éliminer les ions métalliques qui peuvent interférer avec l'extraction de l'ADN, suivi d'une incubation à une température élevée pour dénaturer les protéines et les membranes cellulaires. L'ADN est ensuite libéré dans la solution, tandis que les protéines et les débris cellulaires sont liés à la résine Chelex® 100. L'ADN peut ensuite être récupéré dans la solution en éliminant la résine Chelex® 100 par centrifugation. **(Phillips et al, 2012)**

1.7.2. Méthode de la salting-out :

La méthode de la salting-out est une technique d'extraction d'ADN qui utilise une combinaison de sels pour éliminer les contaminants et isoler l'ADN. Une méthode rapide, sûre et peu coûteuse a été développée pour simplifier la procédure de déprotéinisation. Cette méthode consiste à relarguer les protéines cellulaires par déshydratation et précipitation avec une solution saturée de NaCl. **(Miller et al, 1988)**

1.8. Extraction d'ADN à partir d'un spécimen d'insecte frais :

1.8.1. Méthode CTAB :

Pour l'extraction de l'ADN des insectes contenant une concentration élevée de composés phénoliques, la méthode CTAB est utilisée. Cette méthode utilise une solution de CTAB pour extraire l'ADN des cellules de l'insecte. Le CTAB dégrade les membranes cellulaires et les protéines, ce qui permet de libérer l'ADN. Cette méthode est souvent utilisée pour extraire de l'ADN de haute qualité à partir d'échantillons d'insectes riches en polysaccharides. **(Marzachi et al, 1998).**

1.9. Extraction d'ADN à partir d'échantillons d'insectes conservés :

L'extraction d'ADN à partir d'échantillons conservés est extraite par deux techniques différentes, prepGEM et Charge-switch : **(Ball et Armstrong, 2008)**

1.9.1. Technique de commutation de charge (Charge-switch) :

La technique Charge-Switch est simple et plus efficace pour la purification de l'ADN génomique à partir d'une grande variété d'échantillons médico-légaux, même en petite quantité qui fonctionne par l'échange d'ions avec une charge positif à faible pH et neutre à PH 8,5 pour la liaison et l'élution de l'ADN **(Barbaro, Cormaci, 2008).**

Ce processus d'étapes simples comprend la lyse cellulaire et l'ajout de billes magnétiques Charge Switch en solution, puis un pH plus bas et les billes deviennent positivement chargées et l'ADN en raison de leur charge négative se fixe en présence de réactifs optimisés, les contaminants éliminés et l'élution de l'ADN en augmentant le pH à 8,5 et Les billes magnétiques Charge-Switch deviennent neutres. **(Asghar et al, 2015)**

1.9.2. Technique prépGEM :

PrépGEM peut fournir une méthode hautement simplifiée d'extraction d'ADN pour les échantillons frais, conservés à l'éthanol et jeunes séchés, en particulier lorsqu'ils sont adaptés aux systèmes robotiques à haut débit. **(Ball et Armstrong, 2008).** Grâce à cette technique, l'ADN de haute qualité est extrait de nombreux types de matériaux en 20 minutes et n'utilise qu'un seul tube et deux étapes simples de changement de température. L'ADN extrait est exempt de ces composés inhibiteurs qui empêchent la PCR. **(Gevers et al, 2021)**

2. L'électrophorèse :

2.1. Définition d'électrophorèse :

L'électrophorèse est une technique physicochimique de séparation couramment utilisée en biologie moléculaire et en biochimie pour séparer les molécules en fonction de leur taille, de leur charge et de leur forme (ADN, ARN, protéines et des polysaccharides). En utilisant un champ électrique. **(Hanada, 2020)**

2.2. Principe de l'électrophorèse :

Le principe est basé sur la séparation des acides nucléiques chargés négativement à pH 7 ~8 (à cause de l'ionisation de leurs groupements phosphate) vers l'anode (+) et les cations (chargés positivement) migrent vers la cathode (-) sous l'effet d'un champ électrique. En ce qui concerne les molécules non chargées, il n'existe pas de migration. Cette séparation s'effectue à travers la matrice du gel en fonction de la taille des molécules. Deux principaux polymères sont utilisés : l'agarose et le polyacrylamide. **(Saim, 2019)**

2.3. Les différents types d'électrophorèses :

2.3.1. Électrophorèse en veine liquide :

C'est la première méthode électrophorétique décrite. La solution échantillon est placée dans un tube en U et recouverte d'une solution tampon de densité plus faible que celle de l'échantillon pour éviter les courants de convection. Les électrodes sont montées dans le tube où l'on applique le champ électrique. La migration dans ce cas s'effectue au sein d'un liquide constitué par une solution tampon de pH et de concentration convenable dont les ions conduisent le courant d'un pôle à un autre. De multiples inconvénients accompagnent cette méthode (Appareillage couteux, mise en œuvre longue et délicate, séparation incomplète des particules) **(Batamuzi et al, 1996)**

2.3.2. Electrophorèse de zone :

Electrophorèse de zone permet d'obtenir une séparation complète des zones de migration. **(Tiselius et Flodin, 1953)**. L'électrophorèse sur support ou de zones est une des principales applications utilisant un support poreux stabilisant la phase liquide. Le mélange à séparer est déposé sur un support convenable, poreux et imprégné de

tampon (papier, dérivés de cellulose, polyoside « agarose », polyacrylamide...). Le support doit être homogène, poreux et inerte. **(Magniez, 2008)**

2.3.2.1. Les différents types d'électrophorèses de zone :

2.3.2.1.1. Électrophorèse sur papier :

Électrophorèse sur papier est une séparation de particules modifiées par un champ électrique, qui se produit par une bande de papier filtrées **(Harath et al, 2020)**. L'échantillon est déposé en un point au milieu d'une bande de papier filtre ou d'acétate de cellulose imbibée de solution tampon. Les extrémités de la bande plongent dans deux réservoirs de tampon séparés dans lesquels sont placées les électrodes. Quand on fait passer un courant continu (souvent $\sim 20 \text{ V. cm}^{-1}$), les ions de l'échantillon migrent vers les électrodes de signe opposé, à des vitesses différentes pour former finalement des bandes bien séparées. Lorsque l'électrophorégramme est achevé, la bande est séchée et les constituants de l'échantillon sont localisés par les mêmes méthodes que celles utilisées dans la chromatographie sur papier. **(Donald et Judith ,2016)**

2.3.2.1.2. Électrophorèse sur acétate de cellulose :

L'électrophorèse est réalisée dans des conditions similaires à celles utilisées pour l'électrophorèse sur papier. Utilisée pour la séparation de molécules de milieux complexes (plasma). La séparation des protéines est possible par une réaction colorimétrique, qui n'est pas coûteuse et permet d'analyser rapidement les protéines sériques. **(Smith, 2013)**

2.3.2.1.3. Électrophorèses sur gel :

- Électrophorèse sur gel d'agarose.
- Focalisation isoélectrique.
- Électrophorèse bidimensionnelle.
- Électrophores en conditions dénaturantes (détergents SDS ou urée). **(Medjaoui, 2020)**
 - L'électrophorèse sur gel d'amidon :

L'électrophorèse sur gel d'amidon est une technique pour analyser et séparer des isoenzymes. Les enzymes sont détectées en incubant le gel dans une solution

contenant un substrat spécifique de l'enzyme. Les profils sont désignés sous le nom de zymogrammes. **(Baron, 1972)**.

- L'électrophorèse sur gel d'agarose :

L'électrophorèse sur gel d'agarose est le moyen le plus efficace de séparer des fragments d'ADN de différentes tailles allant de 100 bp à 25 kb. L'agarose est isolée des genres d'algues *Gelidium* et *Gracilaria*, et se compose de sous-unités répétées d'agarobiose (L- et D-galactose). **(Lee et al, 2012)**

- L'Électrophorèse sur gel de polyacrylamide :

Les chaînes réticulées de polyacrylamide peuvent être utilisées sous forme de gels électriquement neutres pour séparer les fragments d'ADN double brin en fonction de la taille et de la conformation. Les gels de polyacrylamide ont les avantages suivants : leur capacité de résolution est si grande, Ils peuvent contenir des quantités d'ADN plus importantes que les gels d'agarose, et l'ADN récupéré à partir de gels de polyacrylamide est extrêmement pur et utilisé aux fins les plus exigeantes. **(Green et Sambrook, 2020)**

Chapitre II :
Les Fourmis

3. Les fourmis :

Les fourmis sont des insectes eusociaux fascinants appartenant à l'ordre des hyménoptères. Avec leur adaptabilité remarquable et leurs vastes populations, ils sont vraiment omniprésents, trouvés dans divers écosystèmes à travers le monde, à l'exception des environnements les plus extrêmes comme l'Arctique et l'Antarctique. **(Keller et Gordon, 2009)**. Les fourmis ont une importance immense dans la culture et la science. Ils sont vénérés pour leur travail d'équipe et leur résilience, symbolisant l'unité et la force dans de nombreuses cultures du monde entier. En science, les fourmis offrent des informations précieuses sur la prise de décision collective et la communication. Récemment, ils font l'objet de recherches scientifiques pour explorer leurs applications médicales potentielles. **(Keller et Gordon, 2009)**

Il existe plus de 20 000 espèces et ont colonisé la plupart des biomes terrestres du monde **(Ward, 2006)**, ils représentent environ ~20% de la biomasse humaine mondiale estimée **(Patrick et al, 2022)**. Ils viennent dans une variété de tailles, de couleurs et de formes. La taille de la plupart des fourmis varie de 1 à 5 mm, mais certaines espèces peuvent atteindre 4 cm de long (*Dinoponera gigantea*). **(Paiva et Brandão, 1995)**

3.1. Structure et mode de vie :

Le corps d'une fourmi est divisé en trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen **(fig. 2)**. La tête contient les yeux, les pièces buccales et le cerveau de la fourmi, tandis que le thorax est responsable du mouvement de la fourmi et est l'endroit où les pattes et les ailes sont attachées. L'abdomen contient les organes vitaux et les organes reproducteurs de la fourmi. **(Keller et Gordon, 2009)**



Figure.2 Structure Morphologique du corps de la fourmi (Harvard Forest)

Les fourmis vivent dans de grandes colonies dont la taille peut varier de quelques dizaines de fourmis à des millions d'individus (**Beckers et al, 1989**). Chaque membre a un rôle spécifique à jouer dans la communauté. Chaque fourmi agit en toute autonomie, car il s'agit d'une société sans hiérarchie, la reine, malgré le titre qu'on lui donne, n'ayant rien à voir avec l'attribution des emplois. Ainsi, la coopération au sein de la colonie s'auto-organise. (**Keller et Gordon, 2009**)

3.1.1. La reine :

Généralement la plus grande fourmi de la colonie (**fig. 3**), avec une forme de corps et une coloration distinctive, de 25 à 65 millimètres selon les espèces. Dans certaines espèces de fourmis, telles que les reines *Formica* et *Lasius* allant de 18 à 29 ans. (**Wilson et Hölldobler, 1990**)

3.1.2. Fourmis mâles :

Également connus sous le nom de drones, sont généralement plus gros que les fourmis ouvrières, avec des corps plus longs et plus élancés (**fig. 3**). Ils ont également des ailes, qu'ils utilisent pour voler hors de la colonie et chercher un compagnon pendant le vol nuptial (Comportement d'accouplement où les insectes reproducteurs quittent leur colonie, volent pour trouver des partenaires et des sites de nidification et établissent de nouvelles colonies). (**Franks et al, 1991**)

3.1.3. Les ouvrières :

Des fourmis femelles, plus petites que les reines ou les mâles, et entièrement dépourvues d'ailes (**fig. 3**). Leur structure corporelle compacte leur permet de se déplacer dans de petits espaces et des fissures. (**Ward, 2006**). Ce sont des fourmis non reproductrices (stériles). Au lieu de cela, leur objectif principal est d'assurer la survie de la colonie en effectuant diverses tâches, y compris chercher de la nourriture, prendre soin de la reine et de sa progéniture et défendre la colonie contre les prédateurs et autres menaces. (**Ward, 2006**)

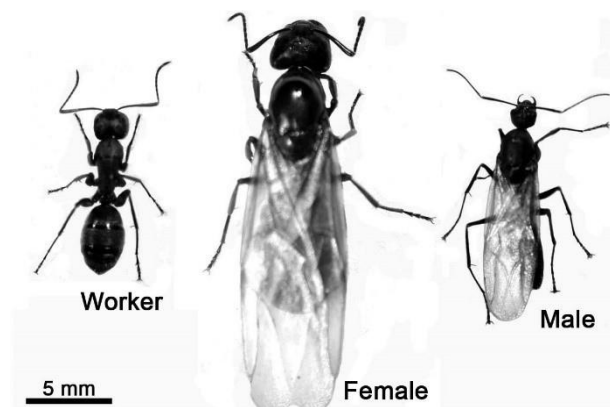


Figure 3. Fourmi charpentière japonaise (adapté de Tsuji *et al*, 2007)
De gauche à droite : fourmi ouvrière, fourmi femelle (la reine fourmi, après l'accouplement) et fourmi mâle.

3.2. L'utilisation des fourmis dans l'histoire de la médecine :

Les insectes, y compris les fourmis, sont utilisés depuis longtemps dans la médecine traditionnelle, ils sont utilisés vivants, cuits, moulus, en infusions, en emplâtres, ou en pommades, fournissent du miel, des nids, des œufs, des cocons, des piqûres, de la cire et des parties de leur corps pour traiter une grande variété de maladies diagnostiquées localement. Par exemple, à Feira de Santana, les gens ajoutent des fourmis au sucre et l'utilisent quotidiennement pour sucrer leurs cafés ou leurs jus pour avoir une bonne vue, ou grillés et moulus pour faire un thé, qui se boit pour traiter l'asthme et les maux de gorge. Dans le comté de Matinha dos Pretos, les gens mangent son abdomen pour soigner les maux de gorge et la tuberculose. Et dans In Tanquinho, les fourmis sont trempées dans de l'alcool pour masser les tendinites. **(Costa-Neto, 2002)**

D'autre part, certaines recherches scientifiques ont prouvé que la fourmi arboricole sud-américaine, *Pseudomyrmex* sp, possède un venin qui possède de nombreux effets pharmacologiques tels que la réduction de l'inflammation, le soulagement de la douleur, l'inhibition de la croissance tumorale, le traitement de l'hépatite et la protection du foie. **(Altman et Schultz, 1984)**. L'extrait éthanolique de fourmis médicinales chinoises *Polyrhachis lamellidens* efficacité thérapeutique dans le traitement de divers troubles inflammatoires. **(Kou et al, 2005)**

Les fourmis produisent des acides acétiques, des phénols, des peptides et des

acides gras, qui sont généralement sécrétés par les glandes exocrines abdominales et métapleurales pour défendre la communauté contre les maladies. **(Agarwal et al, 2022)**

L'extrait de glande abdominale d'*O. smaragdina* a signalé une activité antibactérienne et antifongique contre une variété de microbes tels que *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* et *Aspergillus niger*. **(Vidhu et Evans, 2015)**

Les glandes mandibulaires des fourmis *Colobopsis cylindrica* (Fabricius) ont montré une forte activité antimicrobienne envers les microbes tels que *E. coli* et *Candida sp.*, en raison de composés phénoliques et acides. **(Hoenigsberger et al, 2019, 2020)**. Les pattes de la fourmi *Pseudomyrmex ferrugineus* étaient connues pour inhiber les souches de *Pseudomonas* et d'*E. coli* possédant une activité antibiotique contre les microbes pathogènes. **(González-Teuber et al, 2014)**

3.3. Propriété antimicrobienne :

Les fourmis ont fait l'objet de nombreuses recherches, mais seules quelques espèces ont été étudiées pour leurs micro-organismes sur leur tégument, à l'intérieur de celles-ci ou dans leurs nids, même si elles vivent dans des environnements propices à la croissance bactérienne et parasitaire en raison de leurs structures de nidification et comportements de recherche de nourriture. Parmi ces espèces, Parmi ces espèces, on a les fourmis coupe-feuille et les fourmis noire des jardins.

3.3.1. Fourmi coupe-feuille (Les fourmis champignonnistes) :

La fourmi coupe-feuille (*Atta*) se distingue comme la plus étudiée. Les chercheurs se sont concentrés sur les micro-organismes associés à ces fourmis car ils fournissent des informations essentielles sur les relations complexes qui existent entre les fourmis et les micro-organismes qui vivent à l'intérieur et autour d'elles.

Les fourmis coupe-feuille (tribu : Attini) ont développé un comportement remarquable de culture de champignons comme principale source de nourriture **(Fig. 4)**. Cependant, d'autres champignons, du genre *Escovopsis weberi* (*E. weberi*), peuvent envahir le champignon cultivé, ce qui peut mettre en danger les cultures fongiques des fourmis. **(Pathak et al, 2019)**



Figure.4 Une fourmi champignonnistes (*Cyphomyrmex faunulus*) en Guyane. (Piotr Naskrecki, Minden Pictures)

Pour contrer les champignons parasites, les fourmis ont développé de multiples stratégies. Un aspect clé de leur défense réside dans l'hébergement de bactéries productrices d'antimicrobiens sur leurs cuticules. Les fourmis et les bactéries vivent dans une relation mutualiste, où les fourmis fournissent un abri et une source de nourriture, tandis que les bactéries rendent la pareille en produisant des antibiotiques. **(Pathak *et al*, 2019)**

3.3.2 fourmi noire des jardins :

Dans une étude portant sur les communautés microbiennes au sein des fourmis noire des jardins (*Lasius niger*), les chercheurs ont isolé quatre types de bacilles et deux types d'actinomycètes. Les actinomycètes ont été identifiés comme étant de type *Streptomyces* antibiotiques et *Streptomyces* sp. Fait intéressant, alors qu'aucun des bacilles n'a présenté d'activité antibiotique, les deux souches de *Streptomyces* ont produit des antibiotiques. **(Efimenko *et al*, 2020)**

Des expériences *in vitro* ont révélé que les antibiotiques produits par les souches de *Streptomyces* démontraient une puissante inhibition contre les bactéries gram-positives, y compris les isolats obtenus à partir des communautés de fourmis étudiées. L'actinomycine D et son homologue le plus proche, l'actinomycine A, ont été

identifiés comme des composés antibiotiques au sein de la souche de type *Streptomyces* antibiotiques. **(Efimenko et al, 2020)**

De plus, les actinomycines se sont avérées induire des changements dans la communauté microbienne du substrat du nid de fourmis, ciblant les bactéries gram-positives, les champignons et même les bactéries gram-négatives. Cela met en évidence leur rôle dans la formation et la régulation de l'équilibre délicat des micro-organismes dans l'environnement du nid de fourmis. **(Efimenko et al, 2020)**

Les résultats ont mis en lumière les relations complexes entre les fourmis de jardin noires et leurs habitants microbiens, soulignant le potentiel d'exploration de l'interaction complexe entre les fourmis et leurs micro-organismes associés. **(Efimenko et al, 2020)**

Chapitre III :

Les Extraits

Biologiques

4. Les extraits biologiques dans la médecine traditionnelle :

La médecine traditionnelle fait référence aux connaissances, aux pratiques et aux préparations médicinales qui ont été développées au fil des générations au sein de cultures ou de communautés spécifiques. Elle englobe un large éventail d'approches de guérison, souvent enracinées dans les croyances culturelles et les systèmes de savoirs traditionnels. **(Fokunang et al, 2011)**

La menace croissante des maladies infectieuses nécessite la découverte de nouveaux composés antimicrobiens dotés de structures et de mécanismes d'action uniques. Les antibiotiques actuels perdent de leur efficacité en raison de la résistance bactérienne. Trouver des composés innovants est crucial pour traiter efficacement les infections et lutter contre le problème croissant de la résistance aux antibiotiques. **(Rojas et al, 2003)**

Les produits naturels offrent une vaste gamme de structures chimiques et d'activités biologiques uniques. Ils présentent également un degré élevé de diversité chimique, ce qui permet l'exploration de nouvelles structures et voies. Leur intégration dans les processus de découverte de médicaments reste essentielle pour trouver de nouveaux traitements et répondre aux besoins médicaux non satisfaits. **(Zhang et al, 2018)**

Il a été découvert que les composés bioactifs possèdent un large éventail de propriétés bénéfiques pour la santé des humains et des animaux, telles que des effets antibactériens, antimicrobiens, anti-inflammatoires, anti-âge et anticancéreux. **(Christaki et al, 2012)**

4.1. Extraction :

L'extraction est le processus de séparation des substances ou des composés souhaités d'un mélange ou d'une matière première. Les extraits sont produits par l'extraction d'un composant spécifique d'une matière première, en utilisant généralement des solvants comme un alcool, une huile ou de l'eau. Ces extraits peuvent être commercialisés sous diverses formes, notamment des teintures, des absolues ou des poudres. **(Zhang et al, 2018)**

La majorité des essences naturelles sont dérivées de l'extraction d'huiles essentielles de diverses sources telles que les fleurs, les racines...etc. Les méthodes d'extraction comprennent l'extraction par solvant, la méthode de distillation, le pressage et la sublimation selon le principe d'extraction, l'extraction par solvant étant la méthode la plus couramment utilisée, elle est basée sur la dissolution de solutés solides dans des solvants. **(Zhang et al, 2018)**

4.2. Différentes méthodes d'extraction :

4.2.1. Extraction par solvant :

C'est un processus de séparation où un composé passe d'un solvant à un autre en raison de différences de solubilité. Il surpasse les méthodes de précipitation chimique et d'échange d'ions, offrant une meilleure séparation et un transfert de masse plus rapide. Par rapport à la distillation, l'extraction par solvant est avantageuse en termes de consommation d'énergie, de capacité de production, de vitesse, de fonctionnement continu et d'automatisation. **(Chen et Wang, 2017)**

4.2.2. Méthode de distillation :

La distillation est une méthode polyvalente de séparation et de purification de substances basée sur les points d'ébullition, offrant une pureté et une efficacité élevées. Il est largement utilisé dans des industries telles que le raffinage du pétrole et l'extraction d'huiles essentielles. Différents types, y compris la distillation fractionnée, sous vide et à la vapeur, sont utilisés en fonction des besoins spécifiques, permettant une séparation et une purification sans solvant des composés. **(Sefidkon et al, 2007)**

4.2.3. L'extraction par pression ou pressurage :

Pour la préparation de l'extrait, une force mécanique est appliquée aux cellules ou aux matières végétales pour libérer les substances souhaitées. La pression peut être appliquée manuellement, à l'aide d'une presse hydraulique ou à l'aide de dispositifs mécaniques. Cette méthode est couramment utilisée pour extraire les jus, les huiles et autres liquides des fruits, des graines et des légumes. Le pressage est une méthode simple et efficace pour obtenir des extraits sans avoir besoin de solvants ou de produits chimiques. **(Chen et Wang, 2017 ; Ogunniyi, 2006)**

4.2.4. Méthode de sublimation :

L'extraction par sublimation est une méthode sans solvant dans laquelle un solide passe directement à l'état de vapeur, fournissant des extraits purs sans avoir besoin de solvants. Il est utilisé pour les composés volatils et les substances à haute pression de vapeur. Cette technique minimise la perte de substance, élimine les résidus de solvant et surpasse la recristallisation. Diverses méthodes et équipements, tels que des sublimateurs ou des configurations improvisées, peuvent être utilisés pour une extraction efficace. **(Isac-García et al, 2016)**

4.3. Les facteurs qui peuvent affecter l'extraction :

Au cours du processus, de nombreux facteurs peuvent influencer le résultat de l'extraction, y compris, mais sans s'y limiter :

4.3.1. La granulométrie des matières premières :

Une taille de particules plus petite améliore l'efficacité de l'extraction en favorisant la pénétration du solvant et la diffusion du soluté, mais des particules trop fines peuvent entraîner des problèmes d'absorption et de filtration du soluté **(Zhang et al, 2018)**

4.3.2. Le rapport solvant-solide :

Le rendement d'extraction augmente à mesure que le rapport solvant/matière solide augmente. Cependant, un rapport solvant/solide trop élevé entraîne une quantité excessive de solvant d'extraction et nécessite un temps de concentration prolongé. **(Zhang et al, 2018)**

4.3.3. La durée de l'extraction :

L'augmentation de la durée d'extraction dans une certaine plage améliore l'efficacité, mais une fois l'équilibre du soluté atteint, le temps supplémentaire n'a aucun impact. **(Zhang et al, 2018)**

4.3.4. Optimisation de la sélection de solvant :

La sélection du solvant doit tenir compte de la solubilité, du coût et de la sécurité, tout en visant une polarité similaire au soluté. L'éthanol et le méthanol sont couramment utilisés comme solvants universels dans les extractions phytochimiques. **(Zhang et al, 2018)**

4.3.5. La température :

Des températures plus élevées améliorent la solubilité et les taux de diffusion, mais une chaleur excessive peut entraîner une perte de solvant, extraire les impuretés et dégrader les composants sensibles à la chaleur.

4.4. Activité antimicrobienne de certains extraits :

4.4.1. Extraits de plantes :

Les plantes ont longtemps constitué une source précieuse de produits naturels pour la santé humaine, avec une augmentation significative de l'exploration de composés végétaux à des fins thérapeutiques ces dernières années. L'Organisation mondiale de la santé reconnaît les plantes médicinales comme la ressource optimale pour une gamme variée de médicaments. **(Nascimento et al, 2000)**

Une étude de **(Mostafa et al, 2018)** indique que les extraits de plantes ont le potentiel de servir de substituts naturels aux conservateurs chimiques dans la conservation des aliments, en gérant efficacement la croissance des bactéries d'origine alimentaire et en réduisant le risque d'intoxication alimentaire. Les effets antimicrobiens observés sont attribués à l'interaction entre des composés spécifiques dans les extraits et les membranes cellulaires et les enzymes des micro-organismes.

4.4.2. Extraits d'insectes :

Les insectes ont une importance significative dans la médecine traditionnelle chinoise, où ils sont utilisés pour leurs propriétés médicinales. Ces minuscules créatures sont incorporées dans divers remèdes et formulations pour traiter un large éventail de problèmes de santé, mettant en valeur leur rôle précieux dans les pratiques de guérison traditionnelles. **(Guangqiang et al, 2019)**

Une étude de **(Guangqiang et al, 2019)** a étudié des extraits de 11 insectes contre des souches multirésistantes, démontrant de puissants effets inhibiteurs d'extraits d'insectes spécifiques, indiquant leur potentiel en tant qu'antibiotiques naturels. L'exploration des ressources en insectes présente en outre des perspectives prometteuses pour la découverte de substances antibactériennes et de nouveaux antibiotiques.

La partie pratique

Chapitre IV :
Matériel et Méthodes

1. Matériel :

1.1 Cadre et objectifs :

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Biochimie et laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, (Algérie).

On a choisi cet endroit car c'était le seul endroit où nous trouvions des fourmis car nous avons commencé nos travaux de laboratoire pendant l'hiver

▫ Les objectives de ce travail étaient :

1. D'extraire l'ADN des fourmis et le visualiser par électrophorèse.
2. Et d'évaluer les propriétés antimicrobiennes des extraits de fourmis par des tests en laboratoire, visant à évaluer leur potentiel en tant qu'agents antimicrobiens naturels.

1.2. Matériel biologique :

1.2.1. Les fourmis :

Les échantillons utilisés dans notre travail étaient des fourmis du Genre *Camponotus* récoltées (**Fig. 05 et 06**) dans des tubes et conservées congelées dans de l'éthanol à 70%, provenant de la forêt de Khadra Mostaganem.



Figure. 05 Entrée d'un nid de fourmis *Camponotus sp.*

On a principalement concentré sur la collecte et l'étude des fourmis ouvrières en raison de leur disponibilité abondante en plus grand nombre, ce qui les rendait plus faciles à rassembler.

1.2.2. Classification :

- **Règne** : Animalia.
- **Embranchement** : Arthropoda.
- **Classe** : Insecta.
- **Ordre** : Hymenoptera.
- **Famille** : Formicidae.
- **Genre** : *Camponotus*.

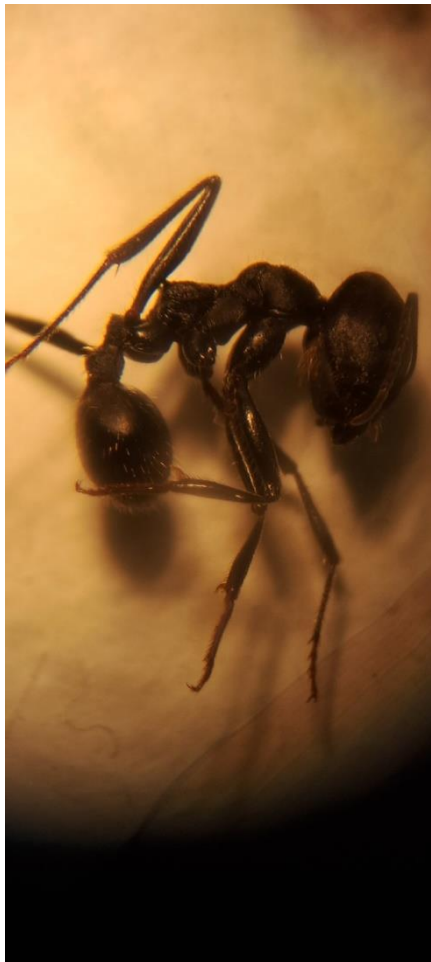


Figure. 06 Une vue rapprochée d'une fourmi. Genre : *Camponotus*

1.2.3. Caractéristiques importantes pour aider à identifier les fourmis :

- Polymorphe.
- Noir ou bicolore (rouge et noir.).
- Taille étroite.
- Thorax arrondi.
- Fine couche de poils.

1.2.4. Les souches bactériennes utilisées :

Des souches bactériennes de *Escherichia coli* et *Pseudomonas* fournis par le laboratoire de Microbiologie département de biologie Faculté des sciences de la Nature et de la vie (les deux souches ont été isolés et caractérisés auparavant)

1.3. Le matériel utilisé pour l'extraction d'ADN :

- Tubes
- Eppendorf
- Un mortier et un pilon
- Pipettes + portepipette
- Pipettes Pasteur

Produits et solutions utilisés:

- SDS (Sodium dodecyl sulfate) 4g
- NaCl 1g
- L'eau distiller 10 ml
- Éthanol (100%)

1.4. Matériel de l'électrophorèse :

- Erlenmeyer 100ml
- Micropipette 100 ul
- Eppendorf Tube 1.5 ml
- La Cuve à Electrophorèse
- Transilluminateur (table à UV) pour visualiser le résultat de l'électrophorèse

La Cuve à Electrophorèse et transilluminateur de laboratoire de Biochimie 02 de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, (Algérie).

Produits et solutions utilisés :

- **Tampon de migration TAE:**
 - 4.84 g tris
 - 1.14 g d'acide acétique glacial
 - 2 ml EDTA (pH 0.8)
 - L' eau distillée jusqu'à 1 L
- **Tampon de chargement d'échantillon:**

Pour augmenter la densité de la solution échantillon, afin qu'elle coule dans les puits, et pour fournir des marqueurs visibles pour indiquer la progression de l'analyse.

- 1 ml eau distillée
- 1 ml Glycerol
- bleu de bromophénol
- EtBr (0.5 mg/ml)
- Gel agarose (1.0 %)
 - 1.25 g Agar powder
 - 125 ml TAE

Préparation du gel d'agarose: Mesurez 1,25 g de poudre d'agarose et ajoutez-la dans un flacon de 500 ml. Ajouter 125 ml de tampon TAE dans le flacon. (le volume total du gel varie bien en fonction de la taille de le plateau de coulée) Faire fondre l'agarose au micro-ondes ou au bain-marie jusqu'à ce que la solution devienne claire. Laissez la solution refroidir à environ 50-55°C, en remuant le flacon de temps en temps pour refroidir uniformément. Scellez les extrémités du plateau de coulée avec deux couches de ruban adhésif Placez les peignes dans le plateau de coulée de gel. Versez la solution d'agarose fondue dans le plateau de coulée et laissez refroidir jusqu'à ce qu'elle soit solide (elle devrait apparaissent d'un blanc laiteux). Retirez délicatement les peignes et retirez le ruban adhésif. Placer le gel dans la chambre d'électrophorèse. Ajoutez suffisamment de tampon TAE pour qu'il y ait environ 2 à 3 mm de tampon sur le gel.

1.5. Le matériel de préparation d'extrait :

- Un mortier et un pilon
- Agitateur orbital

Produits et solutions utilisés :

- L'eau distillée pour l'extrait aqueux
- Méthanol pour l'extrait méthanolique

2. Méthodes :

2.1. Extraction d'ADN :

On a optimisé une méthode d'extraction basée sur ce qu'on a appris en laboratoire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, (Algérie)., car on ne pouvait pas utiliser une méthode d'extraction appropriée en raison du manque de produits.

Pour isoler l'ADN des fourmis, commencez par broyer 10g des fourmis à l'aide d'un mortier et d'un pilon (**Fig. 7**). Cette action mécanique aide à décomposer les cellules et à libérer leur contenu. Ajoutez 1g de NaCl au mélange de fourmis broyées, car cela facilite la lyse cellulaire en créant un environnement adapté.

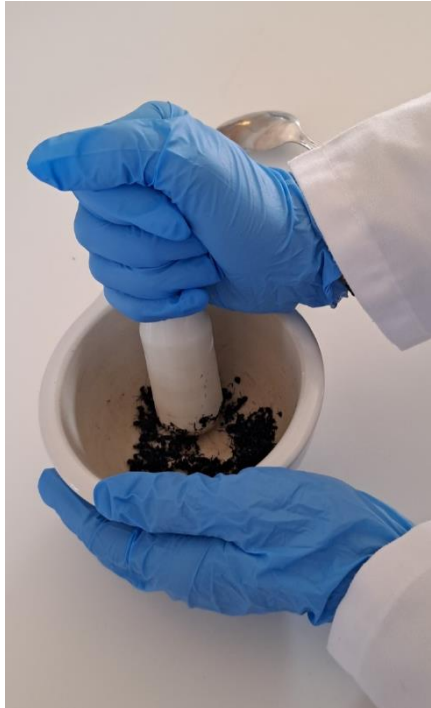


Figure. 07 l'Écrasement des fourmis avec le pilon

Ensuite, préparez une solution en dissolvant 4g de SDS dans 10 ml d'eau distillée. Combinez cette solution avec le mélange de fourmis et de sel. Le SDS contribue également à la rupture des membranes cellulaires et à la libération des composants cellulaires, y compris l'ADN. Pour séparer la solution des débris et des impuretés, faites-la passer à travers un filtre en papier. Cette étape de filtration garantit une solution plus propre, exempte de particules indésirables.

Maintenant, pour la précipitation de l'ADN. Ajoutez de l'éthanol glacé à la solution filtrée, permettant à l'ADN de sortir progressivement de la solution. Après un certain temps, les molécules d'ADN commenceront à flotter en surface en forme de méduse. Collectez délicatement l'ADN en le récupérant et transférez-le dans un tube Eppendorf. Il est important de manipuler l'ADN avec précaution pour éviter de l'endommager ou de le contaminer.

Pour éliminer l'excès d'alcool, laissez sécher l'ADN collecté dans le tube Eppendorf à l'aire libre (température ambiante). Une fois que l'alcool s'est évaporé, l'ADN sera prêt pour des analyses ou des expérimentations ultérieures. À ce stade, on peut procéder à l'électrophorèse de l'ADN, une technique utilisée pour séparer les fragments d'ADN en fonction de leur taille et de leur charge, permettant un examen plus approfondi de l'échantillon d'ADN.

En suivant ces étapes, vous pourrez extraire avec succès l'ADN des fourmis en utilisant des méthodes de broyage, de traitements chimiques, de filtration et de précipitation.

2.2. L'électrophorèse sur gel d'agarose :

L'échantillons d'ADN extraits était séparé par électrophorèse sur gel d'agarose dans un tampon de migration TAE.

On a ajouté 10 μ L du tampon de chargement aux tubes d'échantillons d'ADN et une goutte de la solution d'EtBr (0.5 mg/ml) pour marquer le fond de migration de l'ADN sous la lumière UV, puis nous avons déposé dans chaque puits 10 μ l d'ADN **(Fig. 08)**

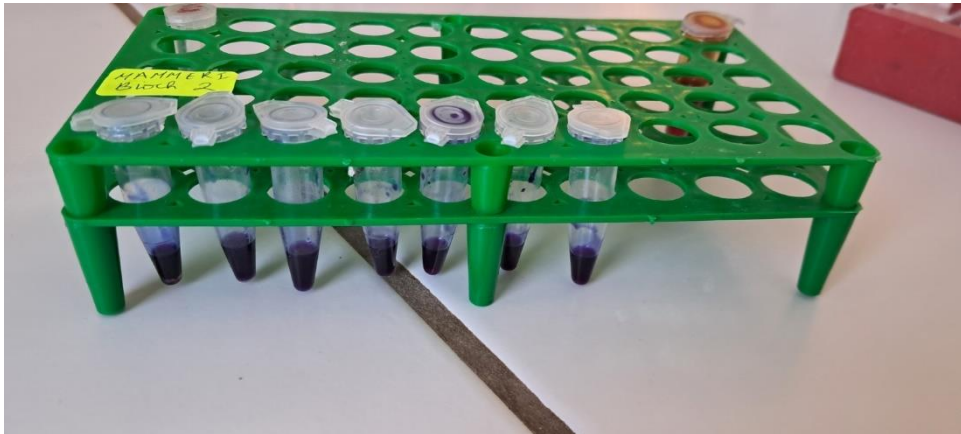


Figure. 08 les échantillons d'ADN plus le tampon de charge

2.3. Préparation des extraits :

Pour préparer les extraits nécessaires à partir de fourmis, on va broyer les fourmis à l'aide d'un mortier et d'un pilon. 10 g pour chaque extrait.

Préparations de l'extrait aqueux

Dans un récipient, on a mélangé les fourmis broyées avec 50 millilitres d'eau distillée, et on le laisse infuser.

Préparations de l'extrait méthanolique:

On a mélangé les fourmis broyées avec 50 millilitres de méthanol, et on le laisse infuser.

Agitation : on a placé les deux récipients contenant l'extrait aqueux et l'extrait

méthanolique sur un agitateur orbital, pendant 24 heures à température ambiante.
(Fig. 09)

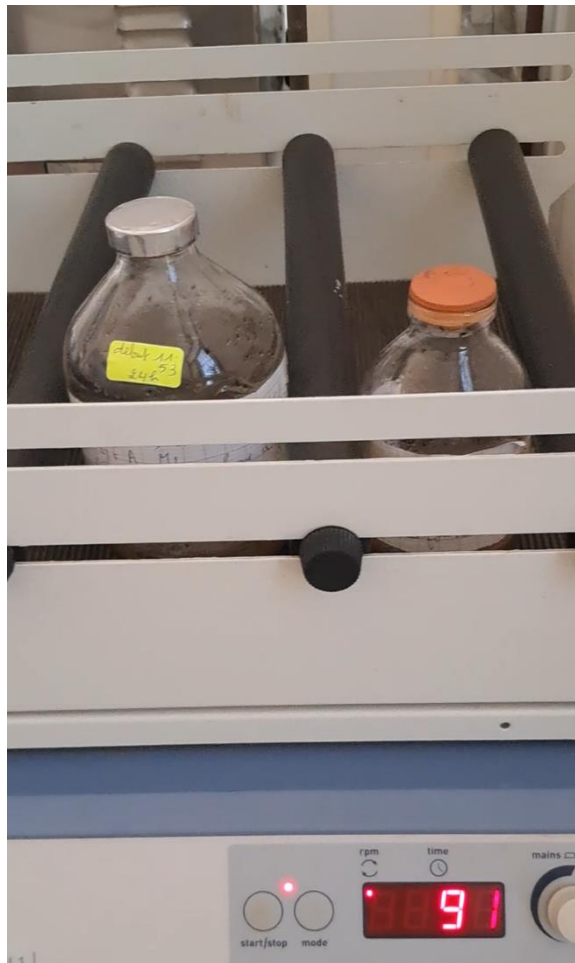


Figure. 09 l'agitation des extraits

Filtration : Après 24 heures d'agitation, on a filtré les extraits liquides pour les séparer de toute particule solide ou impureté présente à l'aide d'un papier filtre.

Stockage : les extraits filtrés peuvent être stocké dans des récipients propres et hermétiques. Il est recommandé de conserver les extraits au réfrigérateur pour maintenir leur stabilité et prévenir leur dégradation.

2.4. L'antibiogramme par diffusion des disques :

2.4.1. Principe de l'antibiogramme :

Une quantité de bactéries est appliquée à la surface d'une plaque de gélose Mueller-Hinton (MH). Des disques de papier filtre imbibés d'agent antimicrobien sont positionnés sur la gélose. Après une nuit d'incubation, le diamètre de la zone où la croissance bactérienne est inhibée autour de chaque disque est évalué et enregistré.

En se référant aux tableaux de la norme CLSI (la même que la standardisation algérienne) / EUCAST, on obtient un rapport qualitatif de sensible (S), intermédiaire (I) ou résistant (R).

2.4.2. Le milieu utilisé :

Pour la plupart des espèces bactériennes, le milieu couramment utilisé est Mueller-Hinton (MH). Pour assurer sa bonne utilisation, le milieu doit être coulé dans des boîtes de Petri d'une épaisseur de 4 mm, et il est indispensable de laisser la gélose refroidir et se solidifier complètement avant de pouvoir l'utiliser efficacement.

2.4.3. Les disques d'antibiotiques :

Des disques de papier Whatman de 5 mm ont été trempés dans les extraits pendant 15 minutes, séchés, puis positionnés dans des boîtes de Petri avec les échantillons bactériens.

2.4.4. L'ensemencement de l'antibiogramme :

200 microgrammes de bouillon bactérien ont été soigneusement pipetés sur la gélose à l'aide d'une micropipette, assurant une répartition uniforme sur toute la surface de la plaque. Par la suite, les disques trempés dans les extraits et la solution antibiotique ont été positionnés sur la gélose.

2.4.5. Incubation et Lecture de l'antibiogramme :

Les boîtes de pétri ont ensuite été incubées dans une étuve de laboratoire réglée à 37°C. Après 24 et 48 heures d'incubation, les boîtes de Pétri ont été inspectées visuellement pour observer toutes les zones apparaissant sur la gélose. Si elles sont présentes, les zones ont été mesurées pour une analyse plus approfondie.

Chapitre V :
Résultats et
Discussion

3. Observation, résultats et discussion :

3.1. Extraction d'ADN et électrophorèse :

Après le processus d'extraction de l'ADN, l'ajout d'éthanol froid initie la précipitation de l'ADN. Cette étape cruciale amène le matériel génétique à s'agréger et à former des amas visibles au sein de la solution (**Fig. 10**). Ces amas, ou précipités, ressemblent à une méduse et sont constitués de molécules d'ADN isolées. Ils apparaissent comme de fines structures filiformes suspendues dans l'alcool. La récupération minutieuse de ces précipités à l'aide d'une tige de verre ou d'une pipette permet de collecter de l'ADN purifié. L'échantillon d'ADN résultant est exempt de débris cellulaires et de contaminants, garantissant ainsi sa qualité et son intégrité pour les analyses ultérieures. Il constitue une base précieuse pour un large éventail d'études génétiques, notamment la PCR, le séquençage et diverses applications de biologie moléculaire.

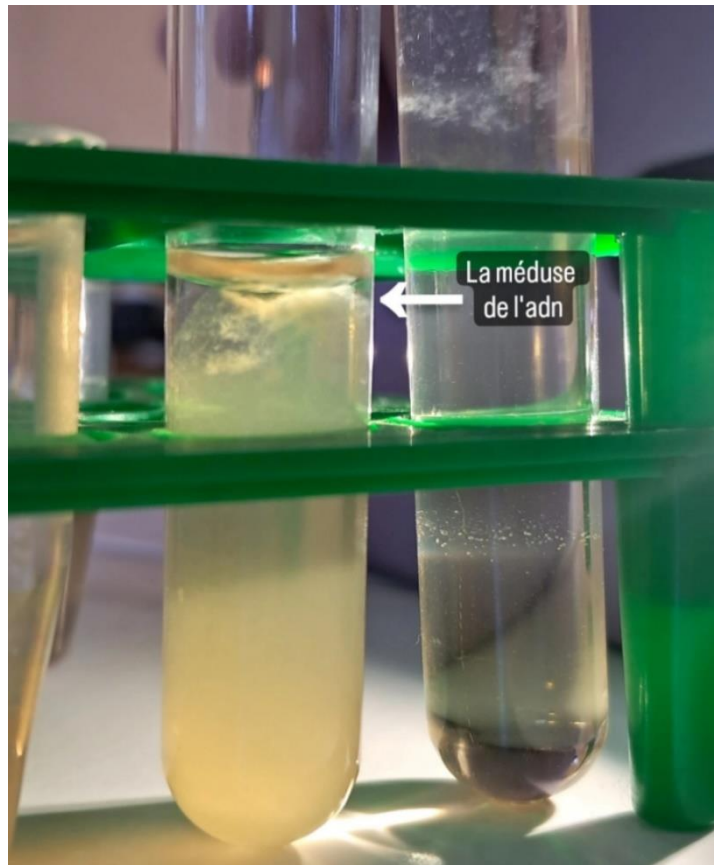


Figure. 10 La méduse d'ADN

Après 3 heures de migration à 80 Volts (**Fig 11**), on retire le gel de la chambre d'électrophorèse et on le place sur une plaque UV qui nous permettra de visualiser les positions des fragments d'ADN sur le gel grâce à l'ETBR que nous avons ajouté aux échantillons précédemment.

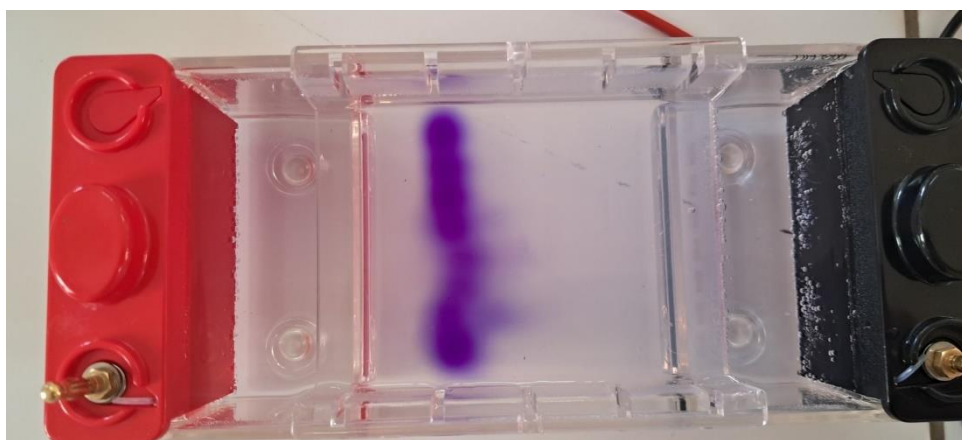


Figure.11 La migration des échantillons dans le gel d'agarose

Dans l'électrophorèse de l'ADN, une fois le processus de séparation terminé,

nous observons des bandes distinctes lorsque le gel est visualisé sous lumière UV (**Fig. 12**). Ces bandes représentent les différents fragments d'ADN qui ont migré à travers le gel en fonction de leur taille et de leur charge au cours de l'électrophorèse. Chaque bande du gel correspond à un fragment d'ADN spécifique.

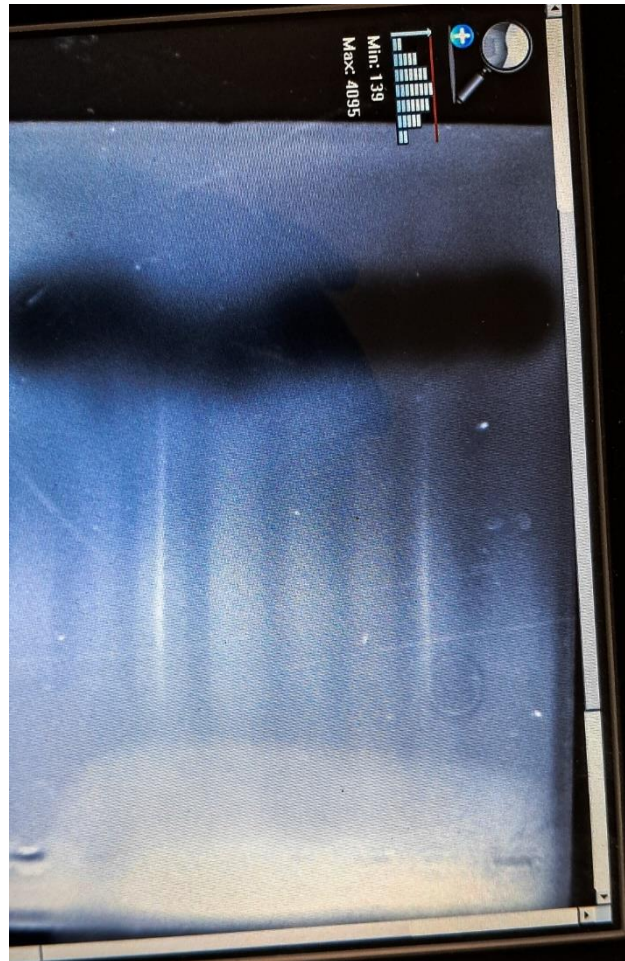


Figure. 12 le gel visualisé sous lumière UV

La disposition des bandes sur le gel d'électrophorèse est une source précieuse d'informations concernant l'échantillon d'ADN, y compris des détails tels que la longueur des fragments d'ADN, les variations génétiques et l'existence de gènes ou de mutations spécifiques. En étudiant ces bandes, les chercheurs et les scientifiques peuvent tirer des conclusions sur les traits génétiques de l'échantillon et acquérir des connaissances sur divers processus biologiques. L'analyse des bandes offre un aperçu des caractéristiques génétiques, permettant une meilleure compréhension des aspects moléculaires impliqués.

3.2. Antibiogramme :

1: extrait aqueux

3: antibiotique

2: extrait métabolique

4: méthanol

3.2.1. visualisation après 24h:

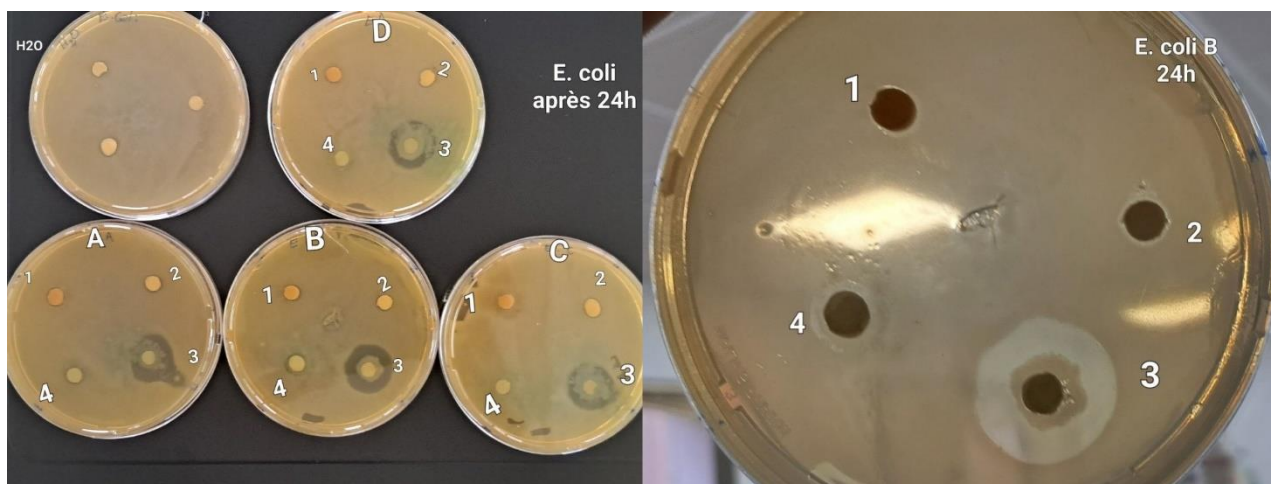


Figure. 13 les boîtes *E. coli*, et la boîte *E. coli B* après 24h



Figure. 14 les boîtes *Pseudomonas*, et la boîte *Pseudomonas B* après 24h

E. coli Après 24h : la zone apparaît uniquement autour des disques d'antibiotique, aucune activité antimicrobienne des autres extraits ni de la boîte de Pétri avec disques d'eau (Fig 13)

Pseudomonas après 24h : aucune zone n'est apparue (Fig 14)

3.2.2. visualisation après 48h:

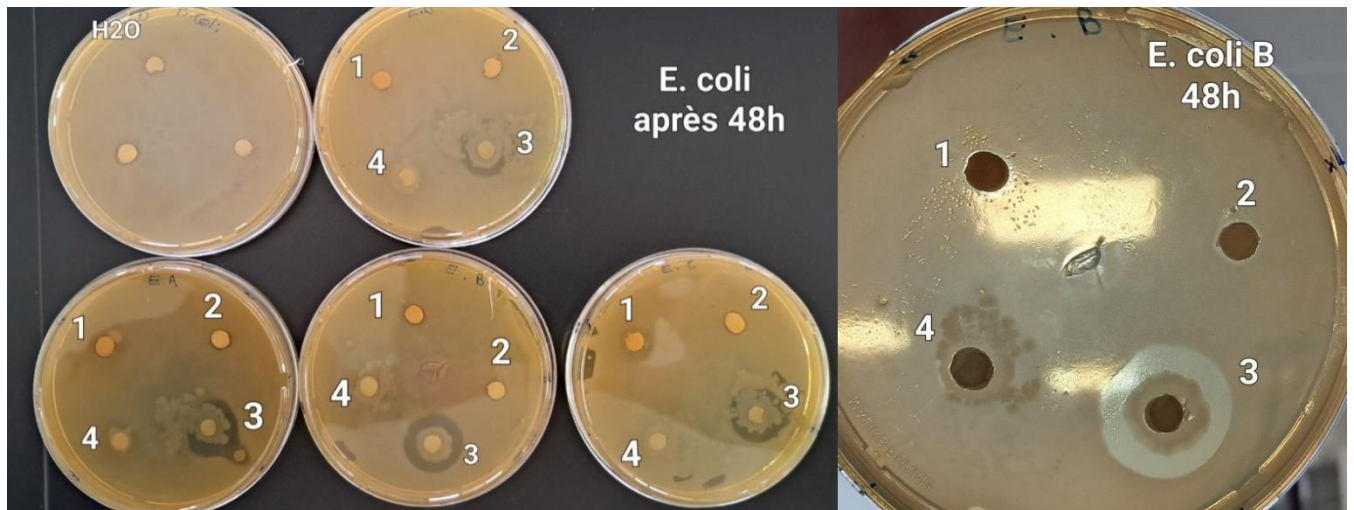


Figure. 15 les boîtes E. coli, et la boîte E. coli B après 48h



Figure. 16 les boîtes Pseudomonas, et la boîte Pseudomonas B après 48h

E coli Après 48h : zones très petites autour des disques d'extraits aqueux et méthanoliques, la zone antibiotique s'est agrandie. Boîte de Pétri H2O, pas de changement (Fig 15)

Pseudomonas après 48h : pas de changement (Fig 16)

Les diamètres des zones d'inhibition observer (en mm) (5 mm = diamètre de disque= aucune croissance de zone) après 48 h :

Tableau. 01 : Les diamètres des zones mesurés en boîtes de Petri E. coli

Chapitres V : Résultats et discussions

en mm

	<i>E. coli</i> A	<i>E. coli</i> B	<i>E. coli</i> C	<i>E. coli</i> D
1.Extrait aqueux	6 mm	7 mm	5 mm	6 mm
2.Extrait méthanolique	7 mm	7 mm	8 mm	9 mm
3.Antibiotique : Céfazoline	28 mm	21 mm	21 mm	21 mm
4. Méthanol	8 mm	8 mm	6 mm	6 mm
	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm

Tableau. 02 : Les diamètres des zones mesurés en boîtes de Petri *Pseudomonas* en mm

	<i>Pseudomonas</i> A	<i>Pseudomonas</i> B	<i>Pseudomonas</i> C	<i>Pseudomonas</i> D
1.Extrait aqueux	5 mm	5 mm	5 mm	5 mm
2.Extrait méthanolique	5 mm	5 mm	5 mm	5 mm
3.Antibiotique : Céfazoline	5 mm	5 mm	5 mm	5 mm
4.Méthanol	5 mm	5 mm	5 mm	5 mm
H ₂ O	5 mm	5 mm	5 mm	5 mm

Tableau. 03 : Tableau des profils de résistance/sensibilité

	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i>
1.Extrait aqueux	R	R
2.Extrait méthanolique	R	R
3.Méthanol	R	R
4.Céfazoline	S	R
H ₂ O	R	R

3.2.3. L'antibiogramme :

Les résultats de l'antibiogramme ont révélé que les extraits méthanoliques et

aqueux dérivés de fourmis ne présentaient pas le même niveau d'efficacité que l'antibiotique utilisé comme référence. Les fourmis sont connues pour produire divers composés bioactifs avec des propriétés antimicrobiennes potentielles, ce qui en fait un sujet d'intérêt en médecine naturelle et en bioprospection. Cependant, dans cette étude, par rapport à l'antibiotique, les extraits de fourmis ont démontré des effets inhibiteurs limités sur la croissance des bactéries testées. Bien que les résultats suggèrent que les fourmis peuvent effectivement posséder un certain potentiel antimicrobien, il semble que leurs extraits ne soient pas aussi puissants ou spécifiques pour cibler les bactéries étudiées que l'antibiotique synthétique. Par conséquent, ces découvertes soulignent la nécessité de poursuivre les recherches et de perfectionner les extraits de fourmis afin d'améliorer leur activité antibactérienne et d'explorer pleinement leur potentiel en tant qu'agents antimicrobiens alternatifs et durables. En approfondissant les composés bioactifs présents dans les extraits de fourmis et en optimisant les méthodes d'extraction, les scientifiques peuvent débloquer des agents thérapeutiques précieux qui pourraient résoudre les problèmes de résistance aux antibiotiques et contribuer à de nouvelles stratégies de traitement des maladies infectieuses.

Les résultats de l'antibiogramme pour *Pseudomonas* n'indiquent aucune zone d'inhibition observée dans les extraits aqueux et méthanoliques, ainsi que la céfazoline. Cela indique que *Pseudomonas* est résistant à tous les tests effectués. Ces résultats suggèrent un défi important dans l'identification d'antibiotiques efficaces pour le traitement des infections à *Pseudomonas*. Une analyse plus approfondie et des options de traitement alternatives peuvent être nécessaires pour combattre cette souche résistante.

Conclusion

Conclusion :

Malgré les limites de notre protocole d'extraction d'ADN en raison d'un manque de matériaux essentiels pour une méthode d'extraction appropriée, on a réussi à isoler l'ADN des fourmis. Il convient de noter que l'ADN que l'on a obtenu n'est peut-être pas entièrement pur, mais il reste perceptible sous la lumière UV. Cette réalisation souligne notre capacité à nous adapter et à tirer le meilleur parti des ressources disponibles, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles recherches génétiques dans des conditions loin d'être idéales.

Les résultats de l'antibiogramme révèlent que les extraits de fourmis présentent un effet antimicrobien particulièrement faible contre *E. coli* et aucun effet sur les pseudomonades. Bien que cette découverte puisse ne pas soutenir l'application immédiate d'extraits de fourmis en tant qu'agents antimicrobiens puissants, elle ouvre des possibilités pour d'autres recherches sur des composés actifs potentiels ou des composants bioactifs qui pourraient être extraits et étudiés isolément. Comprendre les facteurs sous-jacents contribuant à l'activité antimicrobienne limitée peut guider les recherches futures dans l'exploitation du potentiel thérapeutique des substances dérivées des fourmis, ce qui pourrait conduire au développement de nouveaux agents antimicrobiens.

Références bibliographiques

Agarwal S. et al., 2022-Pharmacological potential of ants and their symbionts – a review, *Entomologia Experimentalis et Applicata* Volume170, Issue12. Pages 1032-1048 <https://doi.org/10.1111/eea.13236>

Ali N. et al, 2017- Current nucleic acid extraction methods and their implications to point-of-care diagnostics, *BioMed research international*. <https://doi.org/10.1155/2017/9306564>

Altman, R. D. et al, 1984-The effects of a partially purified fraction of an ant venom in rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*, 27(3), 277–284. <https://doi.org/10.1002/art.1780270305>

Asghar U. et al, 2015- DNA extraction from insects by using different techniques: a review. *Advances in Entomology*, 3(04), 132. <https://dx.doi.org/10.4236/ae.2015.34016>

Baker T. A.; Kornberg A., 2005-Structure and function, In: *DNA Replication*. Royaume-Uni: University Science Books, 01-51. <https://books.google.dz/books?id=KDsubusFOYsC&printsec=frontcover&hl=fr#v=onepage&q&f=false>

Ball S. L. et Armstrong K. F., 2008- Rapid, one-step DNA extraction for insect pest identification by using DNA barcodes. *Journal of economic entomology*, 101(2), 523–532. <https://doi.org/10.1093/jee/101.2.523>

Barbaro A. et Cormaci P. 2008- Validation du typage ADN à partir de restes squelettiques à l'aide du kit de purification d'ADN médico-légal Invitrogen Charge Switch ®. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 1(1), 398-400. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2007.10.203>

Baron J. C., 1972- Note sur un nouvel appareil d'électrophorese horizontale pour gel d'amidon, *Cah. ORSTOM, ser. Octrogr.* X, 251,262. <rs.umc.edu.dz/umc/electrophor%C3%A8se%20construccion.pdf>

Batamuzi E. K.; Kristensen F. et Jensen A. L., 1996- Serum protein electrophoresis: potential test for use in geriatric companion animal health programmes, *Journal of Veterinary Medicine series A*, 43(1-10), 501-508. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1996.tb00481.x>

Beckers R. et al, 1989-colony size, communication and ant foraging strategy, *Psyche: A Journal of Entomology*, Vol. 96, <https://doi.org/10.1155/1989/94279>

Chauhan D. T., 2018- Proteinase K DNA extraction method, *Genetic Education*. <https://geneticeducation.co.in/proteinase-k-dna-extraction-method/>

Chen H. et Wang L., 2017-Posttreatment Strategies for Biomass Conversion. *Technologies for Biochemical Conversion of Biomass*, 197–217. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802417-1.00008-9>

Christaki E. et al, 2012-Aromatic Plants as a Source of Bioactive Compounds.

Références bibliographiques

Agriculture, 2, 228–243. <https://doi.org/10.3390/agriculture2030228>

Costa-Neto, E.M., 2022-The Use of Insects in Folk Medicine in the State of Bahia, Northeastern Brazil, with Notes on Insects Reported Elsewhere in Brazilian Folk Medicine. *Human Ecology* 30, 245–263. <https://doi.org/10.1023/A:1015696830997>

Dairawan M.; Shetty P. J., 2020- The evolution of DNA extraction methods, *Am.J. Biomed. Sci. Res*, 8, 39-45. <https://doi.org/10.34297/AJBSR.2020.08.001234>

Donald V.; Judith G. V., 2016- *Biochimie*, 3e édition, Paris: Deboeck supérieur, 1784 p. ISBN :9782804171018, 2804171019

Efimenko T. A. et al, 2020-Antimicrobial Activity of Microorganisms Isolated from Ant Nests of *Lasius niger*. *Life* (Basel, Switzerland), 10(6), 91. <https://doi.org/10.3390/life10060091>

Elkins K., 2013-DNA Extraction, *Forensic DNA Biology*, 39-52. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394585-3.00004-3>

Fokunang C. N.; Ndikum V.; Tabi O. Y, et al, 2011-Traditional medicine: past, present and future research and development prospects and integration in the National Health System of Cameroon. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines: AJTCAM*, 8(3), 284–295. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v8i3.65276>

Franks, N. R. et al, 1991-Nuptial flights and calling behaviour in the ant *Leptothomx acervomm* (Fabr.). *Insectes Sociaux*, 38(3), 327–330. <https://doi.org/10.1007/BF01314918>

Gevers C. R.; Dittrich-Schröder G.; Slippers B. et Hurley B. P., 2021-Interactions between hymenopteran species associated with gall-forming wasps: the *Leptocybe invasa* community as a case study. *Agricultural and Forest Entomology*, 23(2), 146-153. <https://doi.org/10.1111/afe.12413>

González-Teuber M., Kaltenpoth M., Boland W., 2014-Mutualistic ants as an indirect defence against leaf pathogens. *New Phytologist* 202: 640-650. <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/nph.12664>

Green M. R.; Sambrook J., 2020- Polyacrylamide gel electrophoresis, *Cold Spring Harbor Protocols*, 2020(12). <https://doi.org/10.1101/pdb.prot100412>

Griffith A. et al, 2001- *Analyse Génétique Moderne*. De Boeck, Paris, France, pp329.

Guangqiang M. et al, 2019- Antimicrobial Activity of 11 Insects Extracts Against Multi Drug Resistant (MDR) Strains of Bacteria and Fungus, *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 252 022132. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/252/2/022132>

Hanada K., 2020- Introduction and Perspectives of DNA electrophoresis, *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 2119, 1–13. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0323-9_1

Références bibliographiques

Harath C.; Kharchiche K. et Belkharchouche C., 2020-Extraction d'ADN à partir de sang humain par trois méthodes différentes, Mémoire de Master, Université de 08 mai 1945 de Guelma, 80p. <https://dspace.univ-guelma.dz/jspui/handle/123456789/10744>

Harvard Forest, Structure Morphologique du corps de la fourmi. <https://harvardforest.fas.harvard.edu/ants/body-structure#:~:text=Like%20all%20insects%2C%20an%20ant's,the%20thorax%2C%20and%20the%20abdomen>. (accessed May 2023)

Hoeningberger M., Kopchinskiy AG, Bueschl C. et al, 2019-Volatiles from the mandibular gland reservoir content of *Colobopsis explodens* Laciny and Zettel, 2018, worker ants (Hymenoptera: Formicidae). *Molecules* 24: 3468. www.mdpi.com/1420-3049/24/19/3468

Hoeningberger M., Pretzer C., Rahimi M.J. et al, 2020-Strong antimicrobial and low insecticidal activity of mandibular gland reservoir content in Bornean 'exploding ants' *Colobopsis explodens* Laciny & Zettel, 2018 (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 30: 201-212. www.biotaxa.org/mn/article/view/64872

Isac-García J. et al, 2016-Microscale. *Experimental Organic Chemistry*, 353–370. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803893-2.50010-3>

Keller L. et Gordon E., 2009-The lives of ants, Oxford University Press, The United States, 288p. ISBN-10: 0199541876

Konat G.; Gantt G.; Laszkiewicz I. et Hogan E. L., 1990- Rapid isolation of genomic DNA from animal tissues, *Experimental cell research*, 190(2), 294–296. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(90\)90200-T](https://doi.org/10.1016/0014-4827(90)90200-T)

Kou J. et al, 2005-Analgesic and anti-inflammatory activities of total extract and individual fractions of Chinese medicinal ants *Polyrhachis lamellidens*. *Biol Pharm Bull* 28(1): 176-180. <https://doi.org/10.1248/bpb.28.176>

Kou, J. et al, 2005-Analgesic and anti-inflammatory activities of total extract and individual fractions of Chinese medicinal ants *Polyrhachis lamellidens*. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 28(1), 176–180. <https://doi.org/10.1248/bpb.28.176>

Lee P. Y. et al, 2012- Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments, *Journal of visualized experiments: JoVE*, (62), 3923. <https://doi.org/10.3791/3923>

MAGNIEZ F., 2008- L'électrophorèse, Disponible sur: <http://biotechnologie.overblog.com/article-21737522.html>. Publié dans: *biotechnologies* le mercredi 2 juillet 2008 (consulté le 15-05-2023).

Marzachi C. et al, 1998-Direct PCR detection of phytoplasmas, *In: Experimentally infected insects. Annals of Applied Biology*, 133(1), 45-54. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1998.tb05801.x>

Marzachi, C., Veratti, F., et Bosco, D., 1998- Direct PCR detection of

Références bibliographiques

phytoplasmas in: experimentally infected insects. *Annals of Applied Biology*, 133(1), 45-54. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1998.tb05801.x>

Medjaoui I., 2020-cours de Techniques d'analyses Biochimiques et Moléculaire, Université Hassiba Benbouali de Chlef, p9-10. <https://www.univ-chlef.dz/fsnv/wp-content/uploads/Medjaoui-Chapitre-3-L%C3%A9lectrophor%C3%A8se-module-techniques-biochimiques-et-mol%C3%A9culaire-M2Biochimie.pdf>

Miller S. A.; Dykes D. D. et Polesky H. F, 1988- A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells, *Nucleic acids research*, 16(3), 1215. <https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1215>

Mostafa A. et al, 2018-Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(2), 361–366. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.02.004>

Nascimento G. G. et al, 2000-Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian journal of microbiology*, 31, 247-256. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822000000400003>

Ogunniyi D., 2006-Castor oil: A vital industrial raw material. *Bioresource Technology*, 97(9), 1086–1091. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.03.028>

Paiva R.V.S., Brandão C.R.F., 1995-Nests, worker population, and reproductive status of workers, in the giant queenless ponerine ant *Dinoponera Roger* (Hymenoptera Formicidae), *Ethology Ecology & Evolution*, 7:4, 297-312, <https://doi.org/10.1080/08927014.1995.9522938>

Pathak A.; Kett S. et Marvasi M., 2019-Resisting Antimicrobial Resistance: Lessons from Fungus Farming Ants, in *Trends Ecol Evol*.Nov;34(11):974-976. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.08.007>

Patrick S. et al, 2022-The abundance, biomass, and distribution of ants on Earth, *in: PNAS* <https://doi.org/10.1073/pnas.2201550119>

Phillips K.; McCallum N. et Welch L., 2012- A comparison of methods for forensic DNA extraction: Chelex-100® and the QIAGEN DNA Investigator Kit (manual and automated), *Forensic Science International: Genetics*, 6(2), 282–285. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.04.018>

Piotr Naskrecki, Une fourmi champignonnistes en Guyane, *Minden Pictures* <https://www.mindenpictures.com/stock-photo-fungus-gardening-ant-cyphomyrmex-faunulus-in-fungal-garden-guyana-naturephotography-image00476945.html>
(accessed May 2023)

Qamar W.; Khan, M. R.; et Arafah A., 2017-Optimization of conditions to extract high quality DNA for PCR analysis from whole blood using SDS-proteinase K method, *Saudi journal of biological sciences*, 24(7), 1465–1469. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.09.016>

Quinkal I., 2003 - Quelques termes-Clef de biologie moléculaire et leur définition, INRIA Rhône-Alpes. <https://docplayer.fr/7714558-Quelques-termes-clef-de-biologie-moleculaire-et-leur-definition.html>

Références bibliographiques

Raoudha A. et al, 2012-Extraction de l'ADN et optimisation de la PCR (Polymorphism Chain Reaction) pour l'application des marqueurs RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA) chez *Stipa lagascae*, *Acta Botanica Gallica*, 159(1): 73–78. <https://doi.org/10.1080/12538078.2012.671646>

Richards, E. et al, 2001- Preparation of genomic DNA from plant tissue. *Current protocols in molecular biology*, Chapter 2, Unit 2.3. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb0203s27>

Rivero E. R. C. et al, 2006- Simple salting-out method for DNA extraction from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues, *Pathology - Research and Practice*, 202(7), 523–529. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2006.02.007>

Rojas R. et al, 2003-Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 88(2-3), 199–204. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(03\)00212-5](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(03)00212-5)

Saim M. S., 2019- L'électrophorèse en médecine vétérinaire, Thèse de Doctorat, Université de Ibn Khaldoun de Tiaret, 32p. <http://dspace.univ-tiaret.dz/handle/123456789/6548>

Sasaki Y. et al, 1993-Chloroplast envelope protein encoded by chloroplast genome, *FEBS Lett* 316: 93–98. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(93\)81743-j](https://doi.org/10.1016/0014-5793(93)81743-j)

Sefidkon F et al 2007-The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. *Food Chemistry*, 100(3), 1054–1058. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.016>

Smith I., 2013- *Chromatographic and Electrophoretic Techniques: Zone Electrophoresis* (2), 4th edition, Elsevier Science, 496p. ISBN: 9781483279916

Tiselius A.; Flodin P., 1953- Zone electrophoresis. *advances in Protein Chemistry*, 8, 461-486. [https://doi.org/10.1016/S0065-3233\(08\)60097-2](https://doi.org/10.1016/S0065-3233(08)60097-2)

Tsuji E, Aonuma H, Yokohari F, Nishikawa M., 2007 Serotonin-immunoreactive neurons in the antennal sensory system of the brain in the carpenter ant, *Camponotus japonicus*. *Zool Sci* 24:836-849. https://invbrain.neuroinf.jp/modules/newdb7/detail.php?id=123&ml_lang=en (accessed May 2023)

Vidhu V. V. et Evans, D. A., 2015-Ethnoentomological values of *Oecophylla smaragdina* (Fabricius). *Current Science*, 109(3), 572–579. www.jstor.org/stable/24906112

Ward P. S., 2006-Ants, *Current biology: CB*, 16(5), R152–R155. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.02.054>

Wilson E. O. et Hölldobler B., 1990-The Ants, Harvard University Press, United States of America, 732p. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.1992.5010169.x>

Zephyris, 2011-The structure of DNA showing with detail the structure of the four bases, adenine, cytosine, guanine and thymine, and the location of the major and minor groove.

Références bibliographiques

https://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:DNA_Structure%2BKey%2BLabelled.pn_NoBB.png (accessed June 2023)

Zhang Q. W.; Lin L. G. et Ye, W. C., 2018-Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. Chinese medicine, 13, 20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>