

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologique

Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Présenté par :

-MANSOURI MIMOUNA

-MOKHTARI AMAL

Intitulé

Etude de l'activité biologique des rameaux de *Cedrus atlantica* Manetti.

Soutenu le 25 Juillet 2021

Jury:

Président	M. TADJ AEK.	MAA
Examineur	Mme. SOUALMI N.	MAA
Encadrant	M. BOUSSAID M.	MCA
Co-encadrant	Mme. AIT ABDERRAHIM L.	MCA

Année universitaire 2020-2021

REMERCIEMENTS

Louage à Dieu qui nous a guidé vers ce dans quoi nous sommes et nous lui demandons d'atteindre les plus hauts rangs dans les religions et dans ce monde et de redresser.

Nous adressons nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail qui, nous l'espérons, contribuera même pour une petite part au service de la recherche scientifique.

A M. Boussaid Mohamad et Mme Leila Abderrahim, nos anciens professeurs.

A M. Boussaid l'encadré, nous vous remercions pour vos efforts vos conseils et vos encouragements continus.

A. Mme Leila la Co-encadrant : « Lorsque nous perdons espoir en présence de bonnes personnes dans la vie des visages semblèrent prouver que je suis le contraire » nous vous remercions pour votre relation de classe avec nous.

Nous remercions également Monsieur TADJ AEK, enseignant à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie d'Université Ibn Khaldoun –Tiaret d'avoir accepté de présider ce jury.
Nous remercions également Madame SOUALMI N, enseignante à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à Université Ibn Khaldoun d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail et participer au jury.

A M. Taibi K, notre professeur et chef de spécialité de Biologie moléculaire et cellulaire.
A M. Yezli W professeur dans nos universités.

A tous ceux que nous avons réunis pour travailler au laboratoire, Docteurs (Khadija, Asma, Fadila, Bilal) ou confère.

Nous remercions Mme Samar ingénierie de laboratoire Biochimie et Mme Ismail De laboratoire Microbiologie et M .Maarouf de écologie.

Nous souhaitons à chacun plus de réussite dans sa vie professionnelle et sociale.

Enfin, nous remercions tous les responsables de la bonne conduite de l'Université Ibn Khaldoun des Sciences de la nature et la vie -Tiaret- .

DEDICACES

Louange et merci à Dieu, qui m'a donné le courage pour terminer ce travail.

Tous nos remerciements et notre appréciation aux symboles du don et du sacrifice, mes chers parents.

Aux personnes les plus chères maman, qui a partagé avec moi tous mes pas, mes joies et mes peines, et m'a soutenu tout au long de mon chegeminement académique.

Ou 'Allah protège ma mère et lui accorde santé, bien-être et longue vie.

Amon cher père, qui m'a fournir le lien, Dieu, guéris mon père de toutes les fatigues du monde, protège –le et prolonge sa vie, seigneur.

A tous mes frères youcef, Abdelkader, Brahim, que Dieu les protège.

Et un merci tout spécial à mon petit frère Brahim qui a joué le grand rôle, que Dieu le guide et lui fasse réussir.

Amon cher mari, tous mes remerciements et ma gratitude, que Dieu les protège

A grand-mère et mes tantes, que Dieu les protège.

Merci à mon amie Amal pour ce travaille, seigneur fais que ca réussisse.

MIMOUNA

DEDICACES

Prés du cœur, prés su souvenir

Je consacre mon succès

A Chers parents (le plus beau qui cadeau qui m'a été fait dans la vie).

A mes chers frères, tous ceux qui ont contribuent à leur manière à mon soutien : Fatiha, Omar (qui était le motivateur qui me motive chaque fois que je me décourage), Nora, Zahia, Mourssli.

Au mari de ma sœur, Moustafa, et à ses merveilleux fils ; Siham, Sif El-Din, Younes, Esraa.

A ma collègue dans l'accomplissement de cet humble travail, Mimouna.

A mes compagnons avec qui j'ai été réuni en résidence universitaire : Wasila, Somia, Ahlam, Zahira.

Atous les professeurs et collègues avec qui mon parcours scolaire et universitaire m'a rapproches.

A la famille Mokhtari .

Amal

ملخص

هذه الدراسة هي جزء من تقييم النشاط المضاد للميكروبات والمضاد للأكسدة لأحد أنواع الغابات المستوطنة في شمال افريقيا من خلال اختبار المستخلصات الايثانولية المستخرجة من فروع ثلاثة اشجار للأرز الاطلسي الواقعة في حطائر وطنية بالجزائر.

لم يلاحظ اي اختلاف كبير بين النسب المئوية لإنتاجية المستخلصات من التجارب الثلاثة.

تم اختبار النشاط المضاد للميكروبات بطريقة الانتشار على الاجار على العديد من الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض (الزائفة الاستروجينية , الايشريكية القولونية , العنقودية الذهبية وخميرة المبيضات البيضاء) .

اظهرت المستخلصات الايثانولية تثبيطا ليكتيريا موجبة الغرام (المكورات العنقودية الذهبية) بينما لا تتأثر البكتيريا سالبة الغرام(الايشريكية القولونية و الزائفة الاستروجينية) فيما يتعلق بخميرة المبيضات البيضاء فان تثبيطها يتطلب تركيزا عاليا.

بالإضافة الى ذلك كشف تحديد النشاط المضاد للجذور الحرة بواسطة اختبار DPPH عن خصائص مثيرة للاهتمام تمتلكها المستخلصات الايثانولية لأغصان الارز في محاصرة الجذور الحرة . لا يوجد نشاط بيولوجي واضح لفروع هذا النبات .

الكلمات المفتاحية : الارز الاطلسي , الجزائر,النشاط البكتيري ,النشاط التاكسدي .

Résumé

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation d'une espèce forestière endémique de l'Afrique du nord à travers l'évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydant de ses rameaux. Les extraits éthanoliques testés proviennent des rameaux du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) collectés sur trois cédraies situées dans les parcs nationaux d'Algérie.

Nous n'avons pas remarqué de grandes différences entre les pourcentages de rendements en extrait des trois provenances.

L'activité antimicrobienne des extraits a été testée par la méthode de diffusion sur gélose sur plusieurs microorganismes fréquemment rencontrés dans les infections à savoir ; *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*. Les résultats ont montré une inhibition variable vis-à-vis des souches testées. Les extraits éthanoliques ont montré une inhibition de la bactérie à Gram positif *S. aureus*, alors que les bactéries à Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*) ne sont pas affectées. Concernant la levure *C. albicans*, son inhibition a nécessité une concentration élevée.

En outre, la détermination de l'activité antiradicalaire par la méthode de DPPH a dévoilé les propriétés intéressantes que possèdent les extraits éthanoliques des rameaux de cèdre à piéger les radicaux libres. L'effet provenance n'influe pas clairement sur les résultats des deux activités biologiques étudiées.

Mots clés : *Cedrus atlantica* Manetti.; pouvoir antioxydant; activité antimicrobienne ; extrait éthanolique ; Algérie.

Abstract

This study is part of the promotion of a forest species endemic to North Africa through the evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of its twigs. The ethanolic extracts were prepared from branches of the Atlas cedar (*Cedrus atlantica* Manetti) collected from three cedar groves located in national parks of Algeria.

No significant difference was noticed between the three extracts yield percentages.

The antimicrobial activity of the extracts was tested by the agar well diffusion method on several microorganisms frequently encountered in infections, namely; *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. The results showed variable inhibition depending on the tested microbial strains. Ethanolic extracts showed inhibition of the Gram-positive bacteria *S. aureus* while Gram-negative bacteria (*E. coli* and *P. aeruginosa*) were not affected. Regarding the yeast *C. albicans*, its inhibition required a high concentration.

Likewise, the determination of the anti-free radical activity by the DPPH method revealed the interesting properties that the ethanolic extracts of cedar twigs have in scavenging free radicals. The provenance effect does not clearly influence the results of the two biological activities studied.

Keywords: *Cedrus atlantica* Manetti.; antioxidant power; antimicrobial activity; ethanolic extract; Algeria.

Liste des figures

Figure 1. Architecture de <i>Cedrus atlantica</i>	04
Figure 2. Certaines parties de Cèdre de l'Atlas.....	06
Figure 3. Répartition naturelle du cèdre de l'Atlas en Afrique du nord	08
Figure 4. Matériel végétal (rameaux long).....	14
Figure 5. Préparation de la poudre.....	17
Figure 6. Poudre des rameaux.....	18
Figure 7. Protocole de préparation de l'extrait éthanolique par macération.....	19
Figure 8. Extrait brut des rameaux.....	20
Figure 9. Préparation de DPPH.....	25
Figure 10. Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	26
Figure 11. Les souches microbiennes testées.....	28
Figure 12. Zones d'inhibitions des extraits éthanoliques sur <i>S. aureus</i> et <i>C.albicans</i>	30
Figure 13. Absence d'inhibition de l'extrait éthanolique sur <i>E. coli</i> et <i>P. aeruginosa</i>	31
Figure 14. Résultat du test CAT (mg Eqaa/g d'extrait).....	34

Liste des tableaux

Tableau 1. Les coordonnées géographiques des sites de prélèvements.....	15
Tableau 2. Quelques descriptions morphologiques des souches testées.....	16
Tableau 3. Rendements des différents extraits éthanoliques selon les sites de prélèvements.....	27
Tableau 4. Zones d'inhibition produites par les extraits éthanoliques des rameaux (EER) de <i>Cedrus atlantica</i>	29
Tableau 5. IC ₅₀ du standard et des extraits éthanoliques des rameaux (EER).....	32
Tableau 6. Pourcentage d'inhibition de DPPH des extraits éthanoliques.....	33

Liste des abréviations

Abs:	Absorbance.
Bac :	Bactérie.
BHA:	Butylated hydroxyanisole.
BL :	Région de Blida.
BT :	Région de Boutalab.
C. alicans :	Candida albicans.
CAT :	capacité antioxydant totale.
DMSO:	Dimethyl sulfoxyde.
DPPH :	2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl.
E. coli :	Escherichia Coli.
EA, EB et EC :	Extrait de Bou-Talab, Thneit El Had et Blida.
EER:	Extrait Ethanolique des Rameaux.
EOA :	Espèces Oxygénées Activées.
Eqaa :	Equivalent d'acide ascorbique.
Fig :	Figure.
G+ et G- :	Gram positif ou négatif.
IC50:	Concentration inhibitrice de 50 % d'une activité.
M-H :	Mueller Hinton.

P. aeruginosa : Pseudomona aeruginosa.

S .aureus : Staphylococcus aureus.

SM : Solution mère.

T.E.H : Région de Thneit El Had.

Table des Matières

Remerciements	
Dédicaces	
ملخص	
Résumé	
Abstract	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	01

PREMIÈRE PARTIE: Synthèse bibliographies

1. Le cèdre de l'Atlas.....	02
1.1. Aperçu sur le genre Cedrus.....	02
1.2. Généralités sur le cèdre de l'Atlas.....	02
1.3. Position systématique.....	03
1.4. Caractéristiques botaniques	03
1.5. Aires de répartition	07
1.5.1. Aire naturelle.....	07
1.5.1.1. En Maroc.....	07
1.5.1.2. En Algérie.....	07
1.5.2. Aire d'introduction	08
1.6. Intérêt	09
1.6.1. Intérêt écologique	09
1.6.2. Intérêt médicinal.....	09
1.6.3. Intérêt industrielle	10

2. Métabolites secondaires.....	10
2.1. Les composés phénoliques.....	10
2.2. Les alcaloïdes.....	11
2.3. Les terpénoïdes.....	11
3. Activité biologique	11
3.1. Activité Antimicrobienne.....	11
3.2. Activité Antioxydant	12
3.2.1. Stress oxydative.....	12
3.2.2. Les antioxydants	12
3.2.3. Les radicaux libres.....	13

DEUXIEME PARTIE : Matériel et méthodes

2. Partie expérimentale.....	14
2.1.Objectif	14
2.2.Matériel et Méthodes.....	14
2.2.1. Matériel biologique.....	14
2.2.1.1.Matériel végétal.....	14
2.2.1.2. Souches microbiennes testées.....	16
2.2.2. Méthodes.....	17
2.2.2.1.Préparation de l'extrait éthanolique.....	17
2.2.2.1.1. Broyage.....	17
2.2.2.1.2. Macération.....	18
2.2.2.1.3. Filtration.....	19
2.2.2.2. Détermination du rendement.....	20
2.2.2.3. Test de l'activité antimicrobienne	20
2.2.2.3.1. Les techniques utilisées pour l'identification des souches étudiées.....	20
2.2.2.3.1.1.Repiquage sur les milieux sélectifs.....	20
2.2.2.3.1.2.Examens microscopiques.....	21

2.2.2.3.1.3. Test biochimique (test catalase).....	21
2.2.2.3.2. Protocole de l'activité antimicrobienne	22
2.2.2.3.2.1. Préparation des dilutions.....	22
2.2.2.3.2.2. Repiquage des espèces bactériennes.....	22
2.2.2.3.2.3. Préparation des suspensions microbiennes	22
2.2.2.3.2.4. Préparation du milieu de la culture Muller –Hinton (M-H).....	22
2.2.2.3.2.5. Ensemencement.....	23
2.2.2.3.2.6. Dispersion des solutions des extraits.....	23
2.2.2.3.2.7. Incubation.....	23
2.2.2.4. L'activité antioxydante.....	24
2.2.2.4.1. Préparation de la solution mère (SM), la dilution de SM et DPPH.....	24
2.2.2.4.2. Test du radical DPPH.....	25

TROISIEME PARTIE : Résultats et discussion

3. Résultats et discussion.....	27
3.1. Rendement des extraits éthanoliques.....	27
3.2. Activité antimicrobienne et antioxydante.....	28
3.2.1. Activité antimicrobienne.....	28
3.2.1.1. Résultats des examens microscopiques.....	28
3.2.1.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	29
3.2.2. Activité antioxydante.....	32
3.2.2.1. Détermination de la quantité d'IC50 inhibiteur des radicaux libres DPPH.....	32
3.2.2.2. Test de capacité antioxydante totale (CAT).....	33
Conclusion.....	36
Références Bibliographiques.....	37

Introduction

Introduction

Depuis l'antiquité, les hommes cherchent dans la nature des plantes, pour soulager leurs maux et leurs douleurs. Le hasard, la religion, la superstition, la disponibilité de plantes et l'expérience certainement, ont contribué dans la décision et le choix d'utiliser une plante par rapport à une autre, d'où l'apparition de la pratique de traitement par les plantes médicinales. De nombreux chercheurs ont essayé d'expliquer l'action de ces plantes sur l'organisme. C'est alors que les chimistes ont réussi à isoler les principes actifs de certaines plantes.

Les plantes médicinales sont considérées comme une source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice 1997**). L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la planète ont recours à la médecine traditionnelle à base de plantes en tant que soins de santé primaire (**Bakchiche et al. 2013**).

Le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes aromatiques et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse (**Boudjouref 2011**). Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante de molécules bioactives.

Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal algérien, se trouve le cèdre de l'atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) qui est une essence endémique des montagnes de l'Afrique du nord (**M'hirit 1999**), occupant une aire de répartition géographique très fragmentée. Cependant, très peu de recherches ont été menées sur les activités biologiques des rameaux de cette espèce forestières.

C'est dans ce contexte, que s'inscrit cette étude qui a pour objectif d'évaluer l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits éthanoliques de rameaux de *Cedrus atlantica* prélevés sur trois cédraies appartenant à trois parcs nationaux d'Algérie.

PREMIÈRE PARTIE:

Synthèse bibliographie

1. Le cèdre de l'Atlas

1.1. Aperçu sur le genre *Cedrus*

Le cèdre est un grand arbre de l'ordre des conifères essentiellement montagnard, occupe des surfaces d'importance inégale et forme spontanément trois blocs géographiques distincts : Afrique du Nord, Asie mineure et Himalaya, présentant quelque analogie avec les sapins et avec les mélèzes (**Naudin 1887 ; M'hirit 1999**).

Il comprend quatre espèces:

- Cèdre du Liban (*Cedrus libani* A. Rich),
- Cèdre de Chypre (*Cedrus brevifolia* Henry),
- Cèdre de l'Himalaya (*Cedrus deodara* G. Don),
- Cèdre de l'Atlas (ou *Cedrus atlantica* Manetti) (**Derridj 1990**).

Le genre *Cedrus* porte des cônes constitués d'écaillles disposées en spirale ; les cônes mâles et femelles sont séparés, mais portés par le même spécimen (plante monoïque).

1.2. Généralités sur le cèdre de l'Atlas

Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) est une essence forestière endémique d'Afrique du nord, il constitue les principales formations forestières montagnardes. Il est considéré comme étant l'essence noble par excellence (**Boudy 1950 ; Krouchi 2010 ; Madjour 2015**). En Algérie, le cèdre apparaît en populations très dispersées occupant partout les sommets des montagnes, ces peuplements présentent d'importants atouts en rapport avec leur grande diversité biologique et leur impact sur l'équilibre socio-économique des zones de montagne et de plaine (**Satrani et al. 2006**).

1.3. Position systématique

La position taxonomique de cèdre est identifiée comme suite (**Quezel et Santa 1962**) :

- ✓ Règne : Plantae
- ✓ Embranchement : Spermaphyte
- ✓ Sous-embranchement : Gymnosperme
- ✓ Classe : Vectrice
- ✓ Ordre : Coniférales
- ✓ Sous -ordre : Abiétales
- ✓ Famille : Pinaceae
- ✓ Sous-famille : AbiétésTribu des Lariceae
- ✓ Genre : Cedrus
- ✓ Espèce : *Cedrus atlantica* Manetti
- ✓ Nom vernaculaire : arabe : Arz al-atlas - Berbère : Meddad, Beguoun (**Benabid 1994**).

1.4. Caractéristiques botaniques

C'est un arbre de forme pyramidale au port majestueux, aux rameaux étalés, qui peut atteindre 40 mètres de haut. La silhouette élancée se termine en flèche légèrement courbée quand il est jeune, puis quand il vieillit, la partie supérieure forme un plan presque horizontal ; « on dit alors que le cèdre fait la table » (**Toth 1990**) (Fig. 2).

1.4.1. Système racinaire

Est très développé, pivotant, fixant l'Arbre au sol. Les racines des plants d'une année sont comprises entre 14 et 20 cm (**Toth 1978**) (Fig. 2).

1.4.2. Port

Le port est de forme pyramidale et tend à s'étaler en parasol avec l'âge. Le fût est bien rectiligne et peut atteindre 3 à 5 m de long (Fidah 2016).

1.4.3. Ecorce

Grise plus claire, lisse et luisante qui se craquelle (Claude 2012) (Fig. 2).

1.4.4. Rameaux

Il y a deux types de rameaux, long (mésoblaste) et court (auxiblaste) portant les rosettes d'aiguilles (Arbze 1987) (Fig. 1).

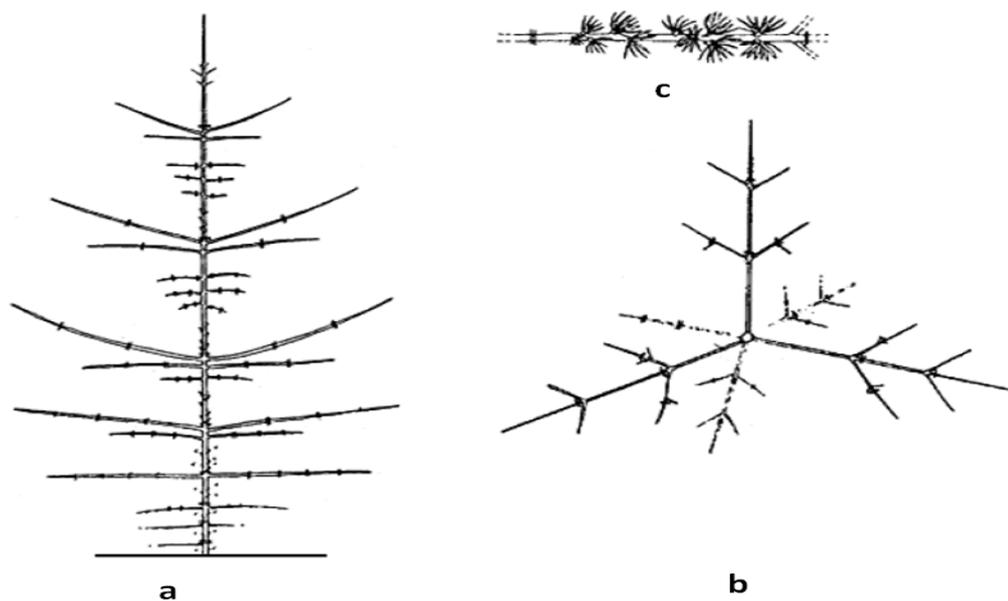


Figure 1. Architecture de *Cedrus atlantica*. **a**: Schéma architectural ; **b** : Pseudo- verticilles de branches positionnées au sommet d'une pousse annuelle du tronc ; **c**: rameaux courts.

1.4.5. Feuilles (Aiguilles)

D'une longueur de 1,5 à 2,5 cm, raides, pointues, irrégulièrement tétragone ou subcylindrique, vertes ou glauques, à section presque carrée, isolées sur rameaux long, en touffes sur rameaux courts ; persistent 3 à 4 ans (**Riou-Nivert 2001**) (Fig. 2).

1.4.6. Fleurs

Le cèdre de l'Atlas est une espèce monoïque, le chaton femelle est plus petit de forme ovoïde et de couleur vert bleuâtre (**M'herit 2006**), le chaton mâle de forme ovoïde et de couleur jaune orangé (Fig. 2).

1.4.7. Cône

Est cylindrique à sommet aplati, de 5 à 8 cm de long, vert avant maturité puis brun (**Debazac 1964**). Les vieux cèdres sont des porteurs du plus grand nombre de cônes aux graines fertiles. (**Toth 1973**) (Fig. 2).

1.4.8. Graine

8 à 12 mm de taille, assez grosse, pointue et longue avec une aile développée sub-triangulaire marron roux à marron clair, peut dépasser 0,1 g (**Boukerker 2016**) (Fig. 2).

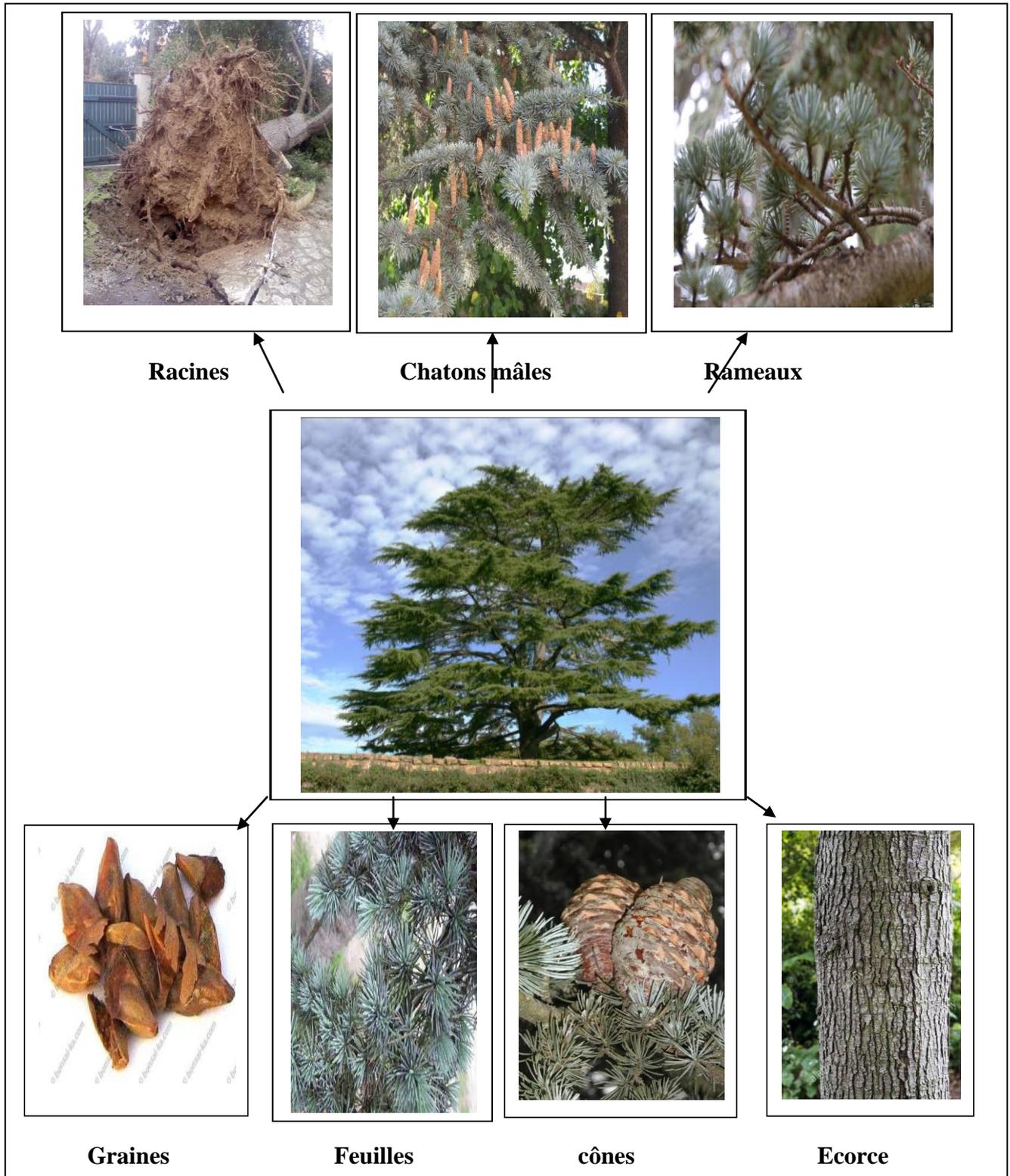


Figure 2. Certaines parties de Cèdre de l'Atlas.

1.5. Aires de répartition

1.5.1. Aire naturelle

Le cèdre de l'Atlas est une espèce originaire des montagnes du nord-africain. Il s'organise, en Afrique du nord, en sept blocs (Fig 3) dont quatre dans les montagnes marocaines (Rif, Moyen Atlas et Grand Atlas Oriental) trois dans les montagnes algériennes (Atlas tellien, haut atlas orientale et Aurès, Atlas saharien) (**M'herit 1999**).

1.5.1.1. En Maroc

Au Maroc, le cèdre (*Cedrus atlantica* Manetti) occupe près de 132.000 ha (**Messat 1994**). Il comprend le Rif marocain au-dessus de 1400 m, le moyen Atlas à partir de 1600 m, le haut Atlas Oriental à partir de 1700 m (**Lefèvre 2016**).

Le Rif marocain au-dessus (11% des surfaces) : C'est la plus petite et la moins élevée des chaînes de montagnes marocaines (**Demarteau 2007**).

Le moyen Atlas (76%) : constituent l'ensemble le plus important du cèdre de l'Atlas ; composé de deux groupes, le groupe du Causse moyen atlasique tabulaire au nord et le groupe du moyen-Atlas plissé au sud (**M'herit 1999**) (Fig. 3).

Le haut Atlas Oriental (13%) : (**Fidah 2016**), caractérisé par un climat semi-aride (**M'herit 2006**).

1.5.1.2. En Algérie

Le cèdre se présente en peuplements très dispersés occupant une surface d'environ 30.000 ha répartie sur deux ensembles naturels, d'écologie sensiblement différente (**Nedjahi 1988**). Le premier ensemble est le septentrional dans l'Atlas Tellien humide (**Gaussen 1967 ; Krouchi 2010**). Il comprend les massifs des Babors, avec 1.300 ha environ, le massif du Djurdjura avec 2.000 ha regroupant la cédraie de Tala-Guilef, celle des Ait- ouabane et enfin la cédraie de Tikjda.

Aussi les cédraies de l'Ouarsenis et celle de l'Atlas blidéen, elles occupent respectivement environ 1.500 ha et 1.000 ha (**Derridj 1990 ; Benabid 1994**). Le deuxième, est l'ensemble méridional adapté à une forte sécheresse d'été (**Gaussen 1967 ; Krouchi 2010**) (Fig. 3).

Il comprend les cédraies des Aurès couvrant 17450 ha, dont les principaux massifs sont : Belezma (8.100 ha); le Chilia, le Sgag, l'Aidel... etc. et aussi les cédraies du mont du Hodna (8.000 ha) prolongent à l'ouest (**Derridj 1990 ; Boukerker 1992**) (Fig. 3).

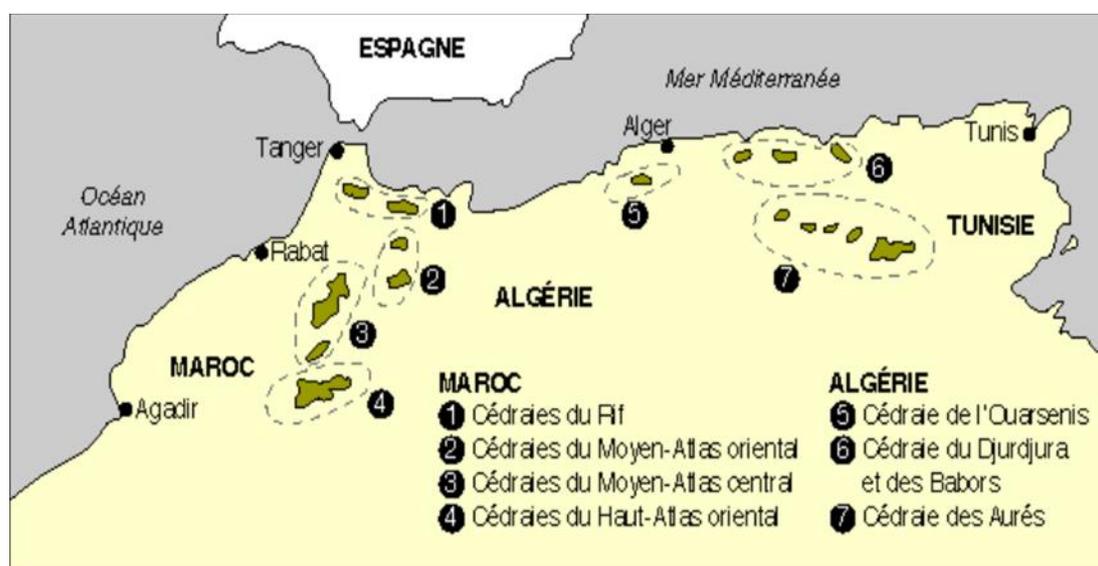


Figure 3. Répartition naturelle du cèdre de l'Atlas en Afrique du nord (**M'hirit 1994**).

1.5.2. Aire d'introduction

Le cèdre est introduit depuis longtemps dans quelques pays circumméditerranéens, comme espèce de décoration ou de reboisement. Les gestionnaires forestiers français ont été les premiers à planter cette essence dans le mont Ventoux en 1862 (**Demarteau et al .2007**).

Son introduction en Italie remonte au 19^{ème} siècle, les cèdres peuplent sur près de 1.000 ha/an plusieurs régions du sud et du centre de l'Italie (**Mechel et al .2001**).

La première introduction en Bulgarie a eu lieu en 1876, et on le trouve dans diverses régions de l'état de Bulgarie (**Dalkov et al. 1994**).

L'introduction du cèdre de l'Atlas est signalée aussi dans quelques états américains Pennsylvanie, New York, côte pacifique (**M'hirit 1999**).

1.6. Intérêts

Le cèdre de l'atlas n'est pas moins important que le reste des autres arbres de la nature, en plus de la valeur esthétique qui caractérise l'arbre en termes de magnitude et de verdure, il existe des valeurs médicinales et écologiques à partir desquelles nous examinons certaines:

1.6.1. Intérêt écologique

- ✓ Le cèdre est une espèce qui possède un système racinaire qui assure la protection et la reconstitution des sols (**Khellaf et al. 2018**) ;
- ✓ C'est un abri ou riche de la biodiversité de la flore et de la faune (**M'hirit 1999**) ;
- ✓ Utilisée à la place de la pyrèthrine contre les insectes domestiques (**EL haib 2011**) ;
- ✓ Espèce rustique et tolérante aux stress climatiques (**Kebaili 2009**) ;

1.6.2. Intérêt médicinaal

- ✓ En médecine, on peut utiliser le bois et les feuilles pour faire des fumigations, des poudres à brûler, destinées à éloigner les moustiques (**Gustave 1929**) ;
- ✓ Ses huiles essentielles sont très efficaces contre le rhume (**Lefiér 2012**) ;
- ✓ Le mélange résine-huile essentielle est utilisé pour le traitement des yeux (**Bouazza 2019**) ;
- ✓ Elle est recommandée pour les problèmes du cuir chevelu (**Benouaklil 2017**) ;
- ✓ Elle stimule les défenses immunitaires (**Lefiér 2012**) ;
- ✓ Elle est utilisée contre les problèmes de la peau et les problèmes circulatoires (**Boudarene 2004**).

1.6.3. Intérêt industriel

Le cèdre produit du bois de haute qualité qui est utilisé dans plusieurs industries telles que la fabrication des crayons et des poteaux de lignes téléphoniques ou électriques (**El azzouzi et al. 1998**).

2. Métabolites secondaires

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 et les alcaloïdes (**Lutge et al. 2002**) qui sont généralement de faible poids moléculaires (**Charls et al. 2005**), localisés dans certain parties végétaux (**Sted et al. 1998**) et biosynthésés à partir de métabolites primaires (acides aminés et hydranes) par diverses voies (**Bruneton 1999**). Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité.

2.1. Les composés phénoliques

Groupe de molécules de structures variées, les polyphénols sont 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 (**Bruneton 1999**). Ils sont considéré comme substance phytochimiques avec des effets prébiotiques, antioxydants, chélation et inflammation (**Protova et al. 2003**). 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 et Young 1999 ; Tapiero et al. 2002**).

2.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote (**Schauenberg et al. 2005**), produites à partir de différents acide aminé, servent essentiellement à protéger les plantes contre les herbivores. Elles sont très toxiques ce sont des composés hétérocyclique présent chez 20% des plantes à fleurs (**Nabors 2008**).

2.3. Les terpénoïdes

Les terpènes, également appelés isoprénoïdes, constituent la plus grande classe de métabolites secondaires connus, contenant environ 50 000 substances identifiées.

Les terpénoïdes sont parmi les composés naturels les plus variés structurellement et fonctionnellement, ils jouent plusieurs rôles critiques dans l'écologie chimique d'une large gamme d'organismes. Ils sont des substances formées par la fusion de cinq unités de carbone qui ont un squelette ramifié (unité isoprène). Ils comprennent des hormones (gibbérellines et acide abscissique), des pigments caroténoïdes, des stérols. Ils sont principalement synthétisés par voies de l'acide mevalonique (**William 2003**).

3. Activité biologique

3.1. Activité Antimicrobienne

Le mauvais usage des antibiotiques conduit à l'apparition de germes pathogènes résistants, sur lesquels les antibiotiques ne sont pas efficaces. Il est donc important de trouver une alternative à leur utilisation (**Azzaz 2019**). Il a été rapporté que les extraits de plantes et beaucoup d'autres préparations phytochimiques riches en flavonoïdes possèdent une activité antimicrobienne (**Tim et al .2005**).

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème de santé publique dans le monde entier notamment en termes de maladies d'origine alimentaire et les infections nosocomiale.

La valorisation des plantes médicinales en vue d'exploiter leurs extraits ou leurs principes actifs représente donc un potentiel économique énorme.

Les recherches actuelles réalisées sur les effets thérapeutiques des extraits de plantes ont ressorti plusieurs effets de grande importance pour la médecine, la pharmacie et l'industrie moderne.

3.2. Activité Antioxydant

L'activité antioxydant d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Stress oxydant, antioxydants, espèces oxygénées activées (EOA), et radicaux libres sont devenus des termes familiers tant dans le monde médical que dans le grand public (**Defraigne et al. 2008**).

3.2.1. Stress oxydatif

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées EOA (jouent un rôle physiologique naturels de défense) (**Haleng et al. 2007**).

Phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles .La conséquence de ce déséquilibre va entraîner une agression appelée « stress oxydatif ».

3.2.2. Les antioxydants

Les scientifiques employaient les plantes comme source d'antioxydants pour se protéger contre les effets du stress oxydant. Les antioxydants sont des molécules qui aident le corps à lutter contre les radicaux libres en les neutralisant, afin qu'ils deviennent inoffensifs (**Fekih 2015**).

Les antioxydants sont des composés qui inhibent ou retardent le processus d'oxydation en bloquant l'initiation ou la propagation des chaînes de réactions oxydatives (**Behera et al. 2006**).

Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules.

Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes ou proviennent de l'alimentation ou la médication et sont donc exogènes (**Ferdjioui 2014**).

3.2.3. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, atome ou molécule contenant un ou plusieurs électrons non appariés sur leur orbitale externe (**Guillouty 2016**).

Les radicaux libres qui proviennent de l'O₂ sont appelés espèces réactives oxygénés (ERO) incluant essentiellement l'anion superoxyde (O₂⁻) et le radicale hydroxyle (OH[·]).

Les radicaux libres qui sont générés de la réaction de l'oxygène avec l'azote sont appelés espèces réactives azotés (ERN) notamment le monoxyde d'azote (NO[·]) et le dioxyde de nitrogène (NO₂[·]) (**Wang et al .2011**).

Ces espèces réactives oxygénées et azotées regroupent non seulement des radicaux libres mais également des dérivés non radicalaires qui sont très réactives et peuvent être des précurseurs des radicaux libres.

DEUXIEME PARTIE :

Matériel et méthodes

2. Partie expérimentale

2.1. Objectif

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité antimicrobienne et de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques issus des rameaux (EER) d'une espèce endémique d'Algérie et du Maroc, le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti).

2.2. Matériel et Méthodes

2.2.1. Matériel biologique

2.2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé se compose des rameaux sains (longs et courts) (Fig. 4) prélevés sur les différentes parties de l'arbre du cèdre de l'Atlas. Il a été collecté le mois de novembre 2020 sur trois cédraies d'Algérie (Boutaleb, Blida et Theniet El Had) (Tableau 1).



Figure 04 . Matériel végétal (rameaux longs).

2.2.1.1.1. Sites de prélèvements

- Boutaleb (BT)

Le massif forestier de Boutaleb est situé entre les hautes plaines sétifiennes et le bassin du Hodna. Ce massif s'allonge de l'ouest en est sur 35 km, avec une largeur moyenne de 12 km environ (**Sahraoui et al. 2008**).

- Blida (BL)

Le parc national de Chréa est une aire protégée qui s'étale sur une superficie de 26587 Ha. Situé à 50 km au sud-ouest d'Alger, son territoire est reparti successivement sur les hauteurs des monts de Hammam Meloune à l'est, les crêtes de Chréa au centre et Djebel Tamesguida à l'ouest. Il chevauche respectivement sur la wilaya de Blida et la wilaya de Médéa (**Dahel 2015**).

- Theniet El Had (T.E.H)

Le parc National de Théniet El Had est situé sur le versant sud de l'Atlas tellien dans le prolongement du massif de l'Ouarsenis. Il se trouve à une cinquantaine de kilomètres du chef-lieu de la wilaya de Tissemsilt et à 147 Km de la capitale Alger, sa superficie est 3423,7 ha (**Khedim 2018**).

Tableau 1. Les coordonnées géographiques des sites de prélèvements.

Coordonnées sites de prélèvements	Latitude	Longitude	Altitude (m)
Boutaleb	35.44.14 N	05.21.08 E	1462
Chréa (Blida)	36.25.50 N	02.53.13 E	1564
Theniet el Had	35.51.08 N	01.59.28 E	1450

2.2.1.2. Souches microbiennes testées

Quatre souches microbiennes fréquemment rencontrées dans les infections communes sont testées lors de cette étude, il s'agit de deux souches bactériennes de Gram+, une souche de Gram- et une levure (Tableau 2).

Tableau 2. Quelque description morphologique des souches testées.

Bac G+	<i>Staphylococcus aureus</i> : apparaît sous forme sphérique (coque en grappes de raisin), de 0,5 à 1,5 µm de diamètre, (de couleur violette), se trouve sur la muqueuse nasale, l'espèce la plus pathogène du genre Staphylococcus.
Bac G-	<i>Pseudomona aeruginosa</i> : bacille en forme de bâtonnet, de 0.5 à 0.8 µm de diamètre sur 1 à 3µm de long (Federighi 2005) (Bacilles roses), bactérie ubiquiste : eau, lavabos...etc. responsable fréquemment d'infection nosocouniales.
	<i>Escherichia coli</i> : des bacilles fins 0.5 µm de diamètre sur 2 à 3 µm de long (Federighi 2005), (de couleur rose), On la trouve naturellement dans le tube digestif, responsable de diarrhées.
Champignon (levure)	<i>Candida Albicans</i> : forme blastospore, ronde ou ovale, mesurant de 2 à 4 µm (Mounia 2014) (vert clair à moyen), se trouve normalement dans l'organisme humain en quantité relativement limitée, représente la cause de pathologies graves.

2.2.2. Méthodes

2.2.2.1. Préparation de l'extrait éthanolique

2.2.2.1.1. Broyage

Cette étape a été effectuée selon le protocole illustré ci-dessous. Après séchage de la partie aérienne et la séparation des aiguilles, les rameaux de la plante étudiée ont été broyés dans un broyeur électrique en une poudre très fine et homogène (Fig.6), pour augmenter la surface d'échange entre le solide et le solvant et faciliter l'extraction. Par la suite, les poudres obtenues ont été conservées à l'obscurité dans des bocaux hermétiquement fermés jusqu'à leur utilisation afin de préserver au maximum l'intégrité de leurs compositions chimiques.

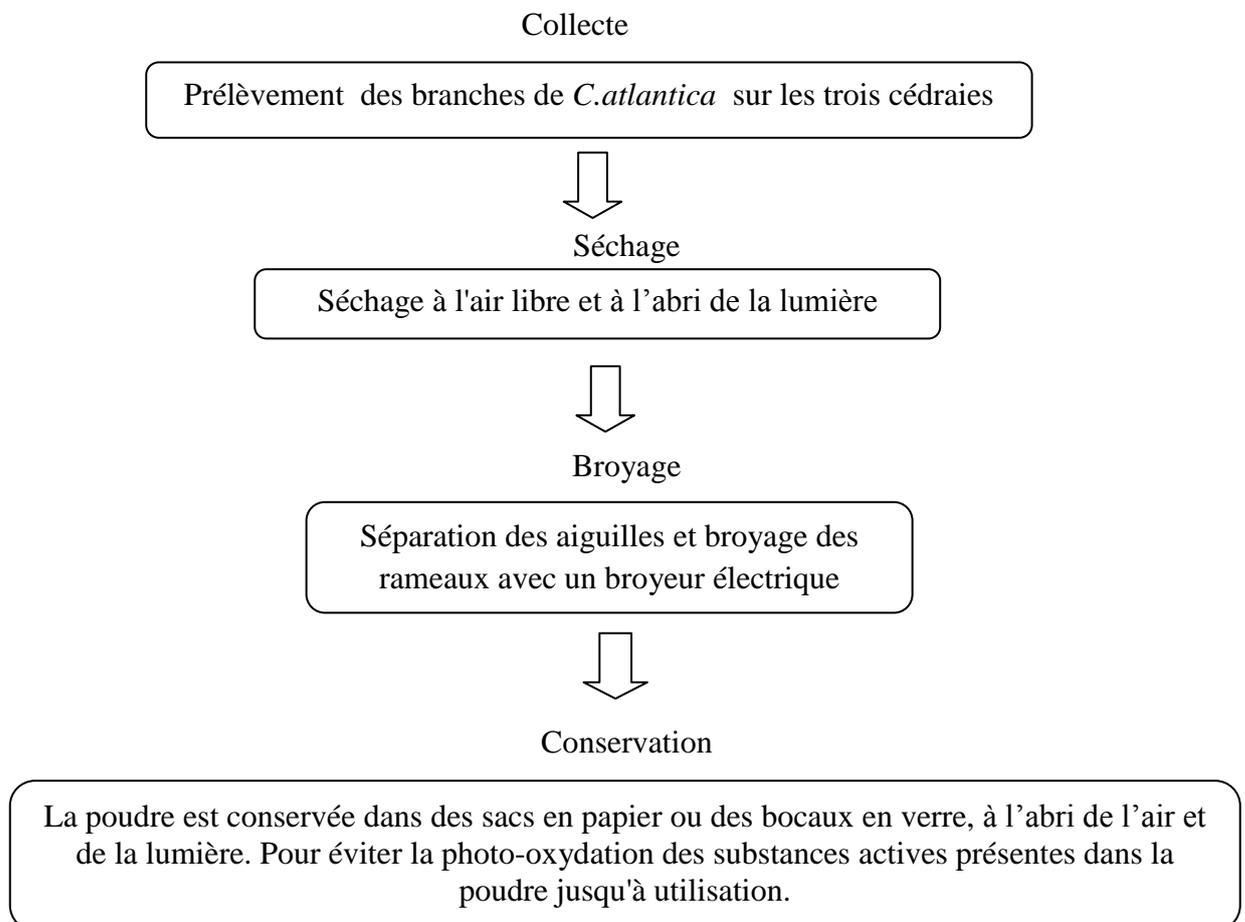


Figure 5. Préparation de la poudre.



Figure 6. Poudre des rameaux.

2.2.2.1.2. Macération

L'extraction est la première étape de toute étude sur les plantes médicinales, elle joue un rôle important sur les résultats final. La macération (méthode d'extraction solide-liquide) est une opération de contact entre la poudre du matériel végétal et le solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante (**Feknous et al. 2014**). 50 g de poudre ont été introduits dans un ballon à bouillir de 1000 ml ombré protégé avec du papier aluminium afin d'éviter toute dégradation des molécules par la lumière, sont macérés pendant 24 heures dans 500 ml d'éthanol dilué à une concentration de 70%, sous agitation permanente, et à température ambiante (Fig.7).

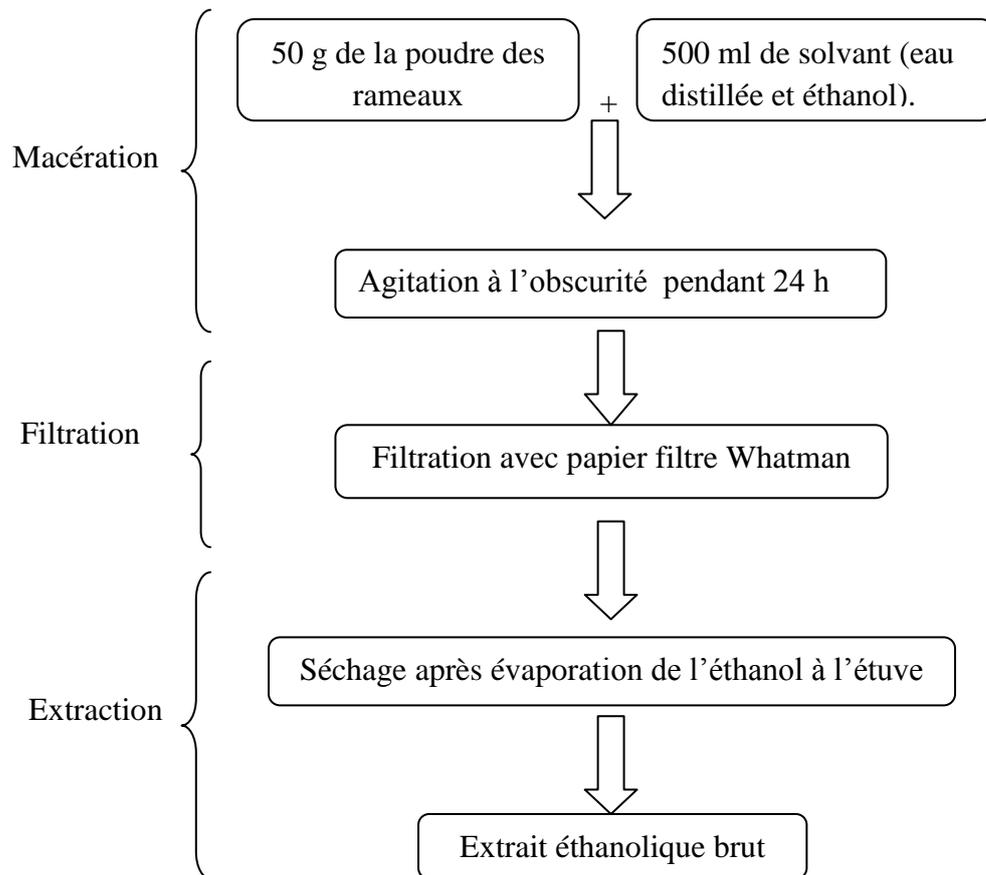


Figure 7 . Protocole de préparation de l'extrait éthanologique par macération.

2.2.2.1.3. Filtration

Après 24 heures de macération, l'homogénat obtenu est filtré sur un papier filtre Whatman. L'extrait obtenu a été versé dans un plat de cristallisation en verre puis séché à une température voisinant 35°C. L'extrait sec obtenu (Fig. 8) a été pesé et conservé à l'abri de la lumière pour une éventuelle utilisation.

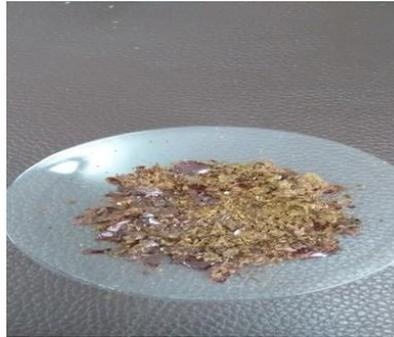


Figure 8. Extrait brut des rameaux.

2.2.2.2. Détermination du rendement

Les extraits bruts obtenus sont pesés en vue d'évaluer leur rendement (paramètre qui tient de l'efficacité de l'opération d'extraction). Le rendement d'extraction désigne la masse de l'extrait après évaporation du solvant. Il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale du matériel végétal broyé à traiter. Il est calculé selon la formule suivante :

$$R\% = M2 / M1 \times 100$$

R% : rendement d'extraction en pourcentage

M2 : la masse de l'extrait après évaporation du solvant, en gramme

M1 : la masse de poudre végétale traitée, en gramme

2.2.2.3. Test de l'activité antimicrobienne

2.2.2.3.1. Les techniques utilisées pour l'identification des souches étudiées

2.2.2.3.1.1. Repiquage sur les milieux sélectifs

Les milieux de cultures pour isoler les souches étudiés

- Gélose de Chapman: pour la souche de *S.aureus*.
- Gélose nutritive (**GN**) : pour la souche d'*E. coli*.

- Gélose de King A : pour la souche de *P.aeruginosa*.
- Potato Dextrose Agar (PDA) : pour les champignons (*C.Albicans*)
- Gélose Mueller-Hinton (MH) : pour tester l'effet des extraits sur les souches étudiées.

2.2.2.3.1.2. Examens microscopiques

- Coloration simple : (Préparation du frottis) se fait par un seul colorant sur une lame propre (Sécher, Fixer, colorer, décolorer).
 - Coloration de Gram : (**Denis et al. 2012**).
- ✓ Prendre une lame propre et déposer une goutte d'eau distillée;
 - ✓ prélever des colonies à examiner;
 - ✓ sécher la lame sur la flamme de bec bunsen puis Fixation;
 - ✓ recouvrir la lame par le violet gentiane pendant une minute;
 - ✓ rincer à l'eau distillée;
 - ✓ verser de Lugol 1min puis rinçage;
 - ✓ décoloration par l'alcool et rinçage;
 - ✓ recouvrir la lame par la fuchsine 1min;
 - ✓ rincer puis sécher la lame entre deux papiers filtre.

2.2.2.3.1.3. Test biochimique (test catalase)

L'enzyme de catalase (H_2O_2 : eau oxygénée) présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives (**Delarras 2010**) joue un rôle majeur dans l'élimination du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



2.2.2.3.2. Protocole de l'activité antimicrobienne

2.2.2.3.2.1. Préparation des dilutions

Afin d'évaluer l'action antimicrobienne des extraits éthanoliques obtenus des rameaux du *Cedrus Atlantica* Manetti, des tests antimicrobiens ont été effectués avec une gamme de concentrations de chaque extrait préparées dans du diméthyle sulfoxyde (DMSO) à 80 %.

Le DMSO est utilisé pour convertir l'extrait obtenu, qui est sous sa forme solide, en une solution homogène qui peut être utilisée dans l'étude.

Nous avons établi pour cette étude une gamme de dilution en partant d'une concentration de 0.04 g /ml, 0.05g/ml, 0.08g/ml et 0.1g/ml de DMSO.

2.2.2.3.2.2. Repiquage des espèces bactériennes

Les différentes espèces bactériennes sont repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

2.2.2.3.2.3. Préparation des suspensions microbiennes

Des colonies bien séparées des espèces bactériennes concernées sont prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile à partir de cultures jeunes de 24 h et sont homogénéisées dans l'eau distillée stérile puis portées à l'incubation pendant (18-24) heures à 37°C, et ajustées au standard de turbidité 0.5 Mac Farland pour obtenir une concentration microbienne de 10^8 cellules/ ml.

2.2.2.3.2.4. Préparation le milieu de la culture Muller –Hinton (M-H)

Le milieu de culture de M-H (milieu spécifique pour les bactéries) utilisé dans cette étude est préparé comme suit : Dissoudre 38g de la gélose M-H dans 1L d'eau distillée.

Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, avec un $\text{PH}=7.4\pm 0.2$, puis autoclave pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu après refroidissement dans les boites de Pétri stériles (qui correspond à 20 ml), alors que d'autres seront coulées par la gélose Sabouraud (milieu spécifique pour les champignons). Les boîtes doivent être séchées 30 min à une température ambiante avant leur emploi.

2.2.2.3.2.5. Ensemencement

Les boites de Pétri préalablement coulées, serontensemencées dans un milieu stérile en présence de bec benzène par trempage d'un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, puis l'ensemencement s'effectue par le frottement de l'écouvillon à la surface gélosée, sèche, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

2.2.2.3.2.6. Dispersion des solutions des extraits

Détermination de l'activité antimicrobienne par l'utilisation de la méthode de diffusion de l'extrait sur milieu solide dans une boîte de Pétri .

La gélose est perforée par la partie supérieure d'une pipette Pasteur formant des puits de 6 mm de diamètre. Les cavités ainsi formées sont remplies de 10 μl de l'un des extraits testés (dissous préalablement dans le DMSO) à raison de plusieurs concentrations. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque concentration.

2.2.2.3.2.7. Incubation

Les boites sont mises à incuber dans une étuve à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant une semaine pour la levure. L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre (en mm) de la zone d'inhibition produite après incubation autour de chaque puit à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle.

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition (**Braz 2018 ; Ela et coll 1996**).

L'activité antimicrobienne est évaluée par la lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits.

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm (**Tekwu et al.2012 ; Braz et Hanchour 2018**).

2.2.2.4. L'activité antioxydant

2.2.2.4.1. Préparation de la solution mère (SM), la dilution de SM et 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH)

- **SM** : 0.08 g d'extrait +1 ml DMSO
- **dilution de SM** : 0.01g/ml (0.25 ml SM +1.75 ml DMSO)
- **DPPH** :

Une quantité de 0,003 g en poudre de DPPH a été dissoute dans 100 ml de Méthanol et mise sous agitation. La solution obtenue est conservée à l'abri de la lumière.

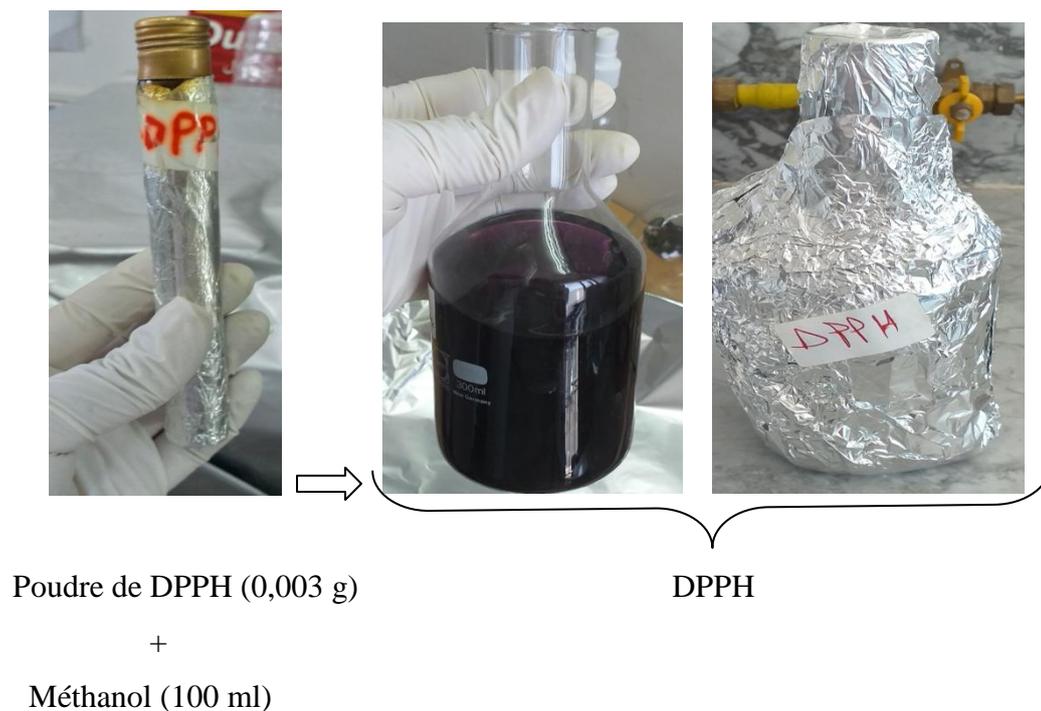


Figure 9. Préparation de DPPH .

2.2.2.4.2. Test du radical DPPH

L'effet piègeur a été évalué en utilisant le test de DPPH qui est un radical libre stable caractérisé par une couleur violette dans la solution de méthanol. Il présente une forte bande d'absorption à 517 nm. La présence des antioxydants réduit un radical libre relativement stable le DPPH ayant une couleur violette en diphényl picryl-hydrazine de couleur jaune dont l'intensité (Absorbance) est inversement proportionnelle à la capacité antioxydant (polyphénols) présents dans le milieu (Koksal et al . 2011).

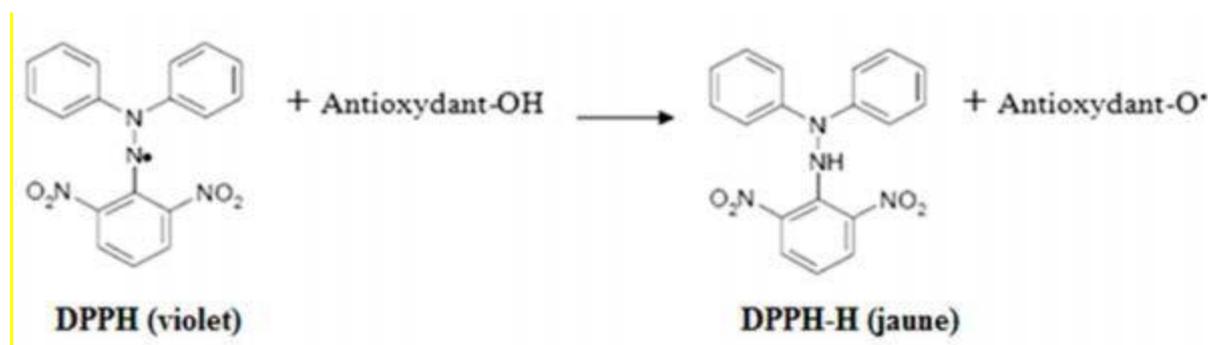


Figure 10. Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Talbi et al. 2015).

Cette méthode est basée sur la capacité antioxydant des extraits de cèdre testés à piéger le DPPH. Un volume de 0.5 ml de chaque extrait de rameaux à différentes concentrations est ajouté à 2.5 ml de solution méthanolique du DPPH (0,03 mg/ml) fraîchement préparée. Parallèlement nous avons préparé un tube contrôle négatif qui contient 0.5 ml de méthanol avec 2.5 ml de la solution méthanolique du DPPH. Après incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 mn la mesure de l'absorbance est effectuée à 517 nm au spectrophotomètre. Dans les mêmes conditions l'absorbance du contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est aussi déterminée. L'activité antioxydant des extraits est calculée à partir de ces absorbances selon la relation ci-dessous :

$$\text{Inhibition du DPPH (\%)} \% = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Avec :

Ac : Absorbance du contrôle négatif

At : Absorbance du test effectué

La CI50 qui est la concentration d'extrait de plante responsable de 50% d'inhibition du radical DPPH a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la vitamine C.

TROISIEME PARTIE :

Résultats et discussion

3. Résultats et discussion

3.1. Rendement des extraits éthanoliques

Les extraits bruts récupérés après évaporation à sec ont été pesés pour déterminer les poids sec résultant. Le rendement a été déterminé par rapport à 50 g du broyat des rameaux du cèdre de l'Atlas. Les résultats des quantités d'extraits obtenus sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3. Rendements des différents extraits éthanoliques selon les sites de prélèvements.

Sites de prélèvements	Poids de l'extrait (g)	Rendement (%)
BT	6,706	13,4
BL	5,075	10,2
T. E. H	5,04	10,08

Les extraits obtenus présentent majoritairement un aspect vitreux de couleur brune. Le rendement le plus élevé a été enregistré chez l'extrait des rameaux prélevés de la cédraie de Boutaleb avec 13.40%. Alors que les rendements obtenus par le matériel végétal collecté des sites de Blida et de Théniet El Had sont similaires, avec des pourcentages autour de 10%.

Les résultats obtenus pour les trois extraits dépassent largement ceux obtenus par Bahouche et Gabis (2016) sur les rameaux prélevés de la région d'Adekar le mois de janvier (7,35 %).

Toutefois, il est difficile de comparer strictement nos résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et dépend de l'espèce végétale étudiée, de l'origine géographique et la période de prélèvement du matériel végétal, la partie de la plante,

les conditions de séchage et d'entreposage, le contenu de chaque espèce en métabolites secondaires, la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou le fractionnement, sa polarité ainsi que la méthode d'extraction elle-même (Svoboda et Hampson 1999 ; Smallfield 2001).

3.2. Activité antimicrobienne et antioxydant

3.2.1. Activité antimicrobienne

3.2.1.1. Résultats des examens microscopiques

En faisant correspondre la description morphologique précédente des souches étudiées avec l'observation microscopique nous avons confirmé la pureté des souches testées (Fig. 11).

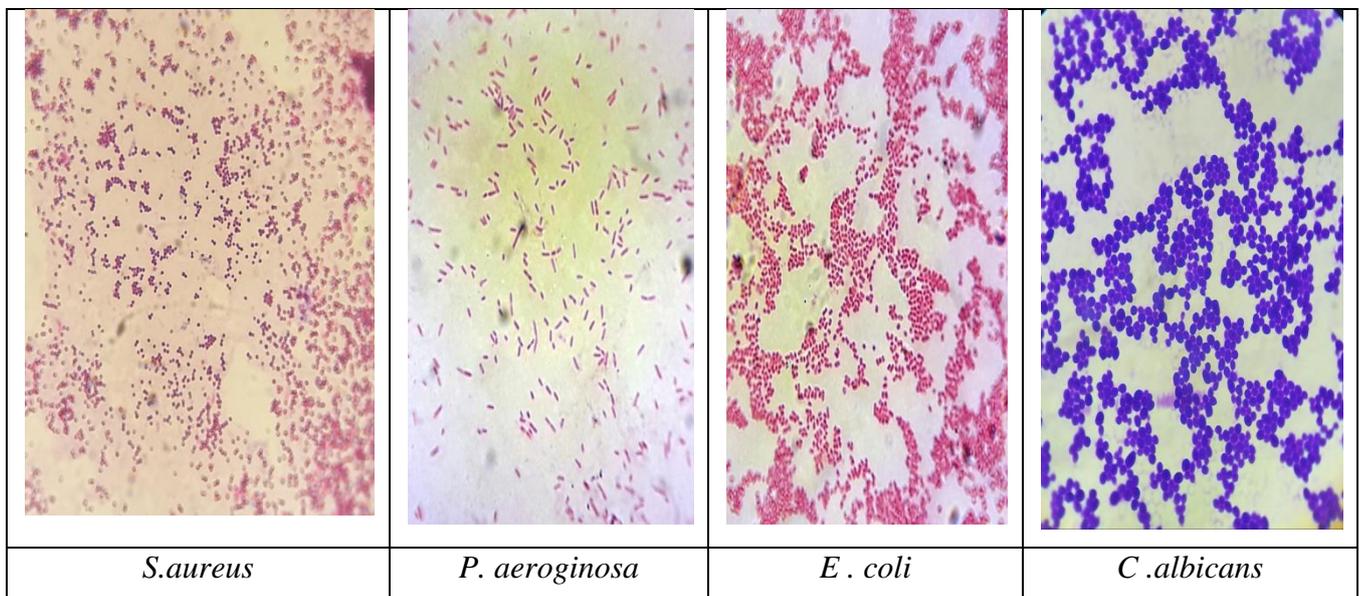


Figure 11. Les souches microbiennes testées.

3.2.1.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Le tableau 4 montre les résultats de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de rameaux de *Cedrus atlantica*. On note que l'ensemble des concentrations des extraits testés n'ont pas pu inhiber la croissance mycélienne de la levure *C. albicans*, à l'exception de la concentration (0,08 mg/ml) qui a engendré des zones d'inhibition de 12 mm (extrait T.E.H) et 16 mm pour les deux autres extraits. Selon Bahouche et Gabis (2016) l'extrait éthanolique issus des tiges de cèdre de la région d'Adekar a exercé une activité antifongique importante sur *C.albicans* à une concentration de 500 mg/ml avec un diamètre d'inhibition de 21±01 mm, et la sensibilité de la souche diminue en fonction de la concentration de l'extrait, avec une Concentration minimal d'inhibitrice CMI > 3.9 mg/ml.

A l'égard des bactéries, ces mêmes extraits n'ont pas présenté une activité antibactérienne sur les bactéries à Gram- à savoir: *E. coli* et *P. aeruginosa*, même avec des concentrations élevées (Fig. 13). Par contre, toutes les concentrations de la totalité des extraits testés ont exercé une activité antibactérienne vis-à-vis *S. aureus* avec une zone d'inhibition très claire compris entre 12 et 17 mm (Tableau 4) et (Fig.12).

Tableau 4. Zones d'inhibition produites par les EER de *Cedrus atlantica*.

		Diamètre de la zone d'inhibition (mm)											
Concentration		(0.04 g/ml)			(0.05 g/ml)			(0.08 g/ml)			(0.1 g/ml)		
Extrait	Souches	BT (EA)	T.H.E (EB)	BL (EC)	BT (EA)	T.H.E (EB)	BL (EC)	BT (EA)	T .H.E (EB)	BL (EC)	BT (EA)	T.H.E (EB)	BL (EC)
		<i>S.aureus</i>	13	12	14	17	16	17	12	15	16	16	16

<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C.albicans</i>	-	-	-	-	-	-	16	12	16	-	-	-

- : Résultat négatif

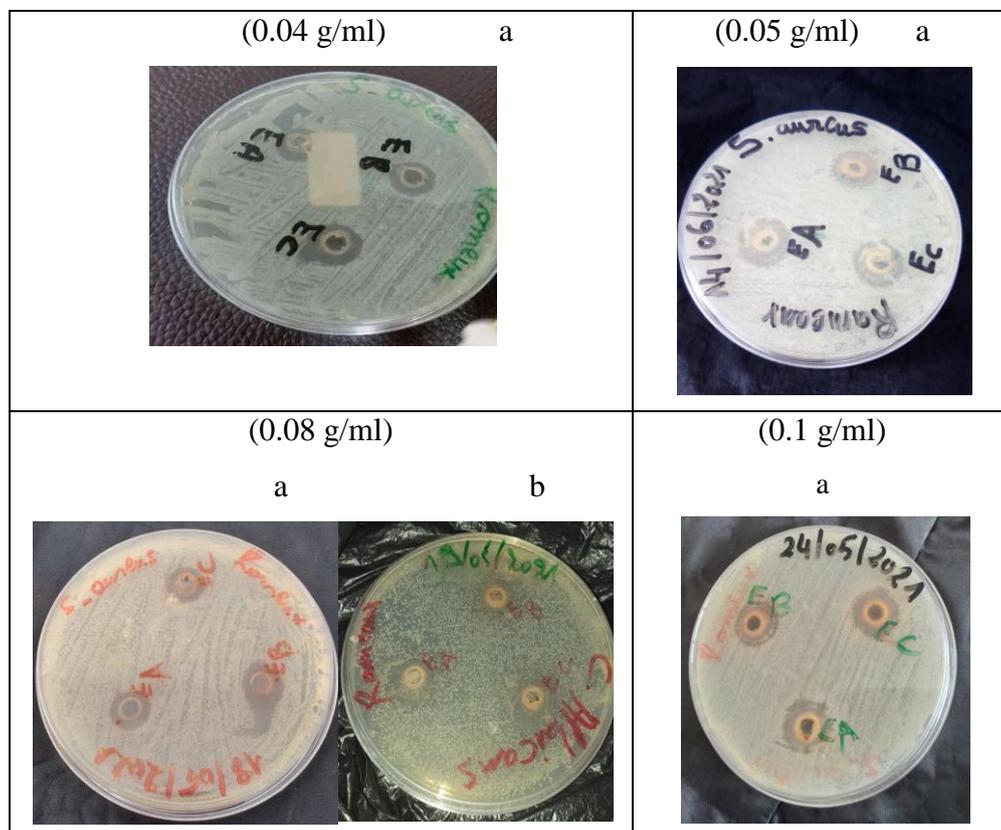


Figure 12. Zones d'inhibitions des extraits éthanoliques sur a : *S. aureus* et b : *C.albicans*.

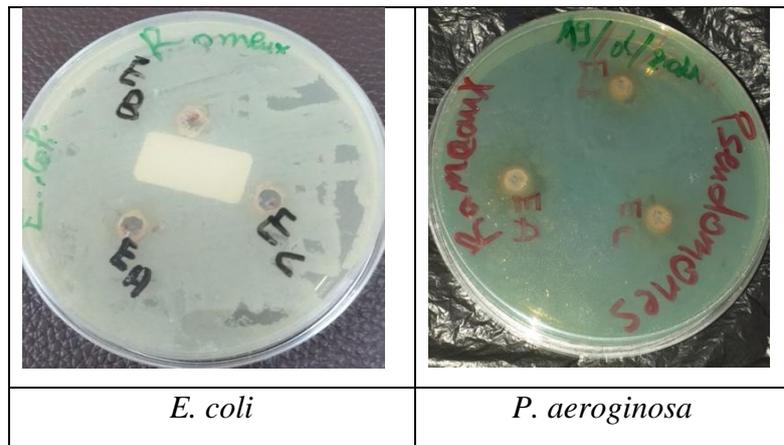


Figure 13. Absence d'inhibition de l'extrait éthanolique sur *E. coli* et *P. aeruginosa*.

L'EER s'est montré plus efficace contre les espèces des bactéries Gram + par contre les Gram – manifestent une résistance aux extraits testés. Ces résultats corroborent avec ceux obtenu par Bahouche et Gabis (2016) sur les extraits éthanoliques des tiges de cèdre collectées dans la région d'Adekar.

L'absence d'inhibition au niveau des bactéries à Gram-, peut être expliqué par la forte résistance de ces dernières en raison de la nature de leurs membranes externes (imperméables à la plupart des agents biocides) (Faucher et Avril 2002). Il est a noté que Bahouche et Gabis (2016) signalent une activité antibactérienne de ces extraits sur les souches à Gram- à partir des concentrations élevées supérieur à 250 mg/ml. Les bactéries Gram + possèdent une paroi cellulaire fine est recouverte par une membrane externe cette dernière est composée de nombreuses couches de peptidoglycane.

Les bactéries Gram – présentent une paroi bactérienne, épaisse composée de deux bicouches phospholipidiques contenant les molécules de lipopolysaccharides. L'absence de ces molécules permet le contact direct des constituants des composés phénoliques isolés avec la membrane cellulaire, le rend plus ou moins sensible aux corps étrangère qui le cible, comme cela s'est produit avec *S. aureus* en présence des extraits.

Par contre la présence de lipopolysaccharides forme une barrière imperméable aux composés hydrophobes le cas de *P. aeruginosa* et *E coli* (Daouda 2015 ; Ben Abdallah et al. 2019). Cette étude constitue une base importante pour l'utilisation de divers extraits de *Cedrus atlantica* pour le traitement des infections associées aux micro-organismes étudiés.

Ces résultats indiquent que les extraits de l'espèce *Cedrus atlantica* ont des propriétés antimicrobiennes intéressantes, ils peuvent inhiber la croissance des bactéries de Gram - ainsi que certaines levures.

3.2.2. Activité antioxydant

3.2.2.1. Détermination de la quantité d'IC₅₀ inhibiteur des radicaux libre DPPH

En utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour les extraits éthanoliques, L'activité anti-oxydante des différents extraits s'exprime en pourcentage d'inhibition et en termes de valeurs IC₅₀ (µg / ml), Ce dernier est considérée comme un paramètre d'efficacité anti-radicalaire. Elle exprime la quantité d'antioxydants requise pour diminuer la concentration de DPPH de 50 %. Il est à noter que l'IC₅₀ le plus petit évalue le mieux l'activité antioxydant d'un composé.

L'IC₅₀ est inversement proportionnel à la capacité antioxydant d'un composé, parce qu'il exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est petite, plus l'activité antioxydant d'un composé est grande (Khoudali et al. 2014). Dans cet travaille les résultats sont les suivant :

Tableau 5. IC₅₀ du standard et des EER.

IC 50			
Acide ascorbique	BT	T.E.H	BL
0.01 mg/ml	6.85 mg/ ml	6.24 mg/ ml	6.42 mg/ml

Pour chaque extrait l'IC50 a été déduite de la courbe d'étalonnage correspondante. L'IC50 la plus élevée a été obtenue avec l'extrait éthanolique de Théniet El Had qui est 6.24 mg/ml suivit par celle de Bliba qui est 6.42 mg/ml et enfin par Boutaleb qui est de 6.85 mg/ml. Ces résultats indiquent une activité anti-radicalaire très faible en comparaison avec celle de l'acide ascorbique (vitamine C) qui est utilisé comme référence et qui enregistre une IC50 à 0.01mg/ml seulement (Tableau 5).

Tableau 6. Pourcentage d'inhibition de DPPH des EER.

Extrait	BT	T .E.H	BL
0.01g/ml	73,02	80,09	77,88

A concentration égale de 0 .01 g/ml, le taux d'inhibition du radical DPPH est le plus élevé avec l'extrait de Théniet El Had 80,09%, alors que le pourcentage le plus faible qui est de l'ordre de 73.02% est observé au niveau de l'extrait de Boutaleb (Tableau 6).

3.2.2.2. Test de capacité antioxydant totale (CAT)

Pour étudier l'activité anti-radicalaire, le test de DPPH a été utilisé, avec l'acide ascorbique comme antioxydant de référence. Les résultats obtenus lors du test de mesure de pouvoir scavenger du radical DPPH sont comparés avec un antioxydant de référence, l'acide ascorbique (vitamine C) (Fig. 14).

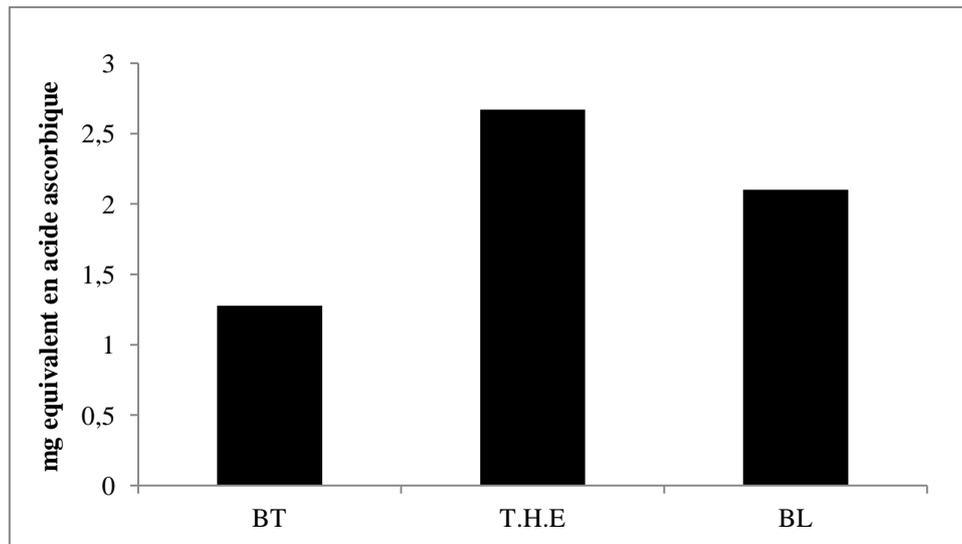


Figure 14. Résultat du test CAT (mg Eqaa/g d'extrait).

Les résultats du test d'évaluation de la CAT, ont montré la masse en milligrammes correspondant à l'acide ascorbique par gramme de poids de l'extrait testé. Elle est de 2.67g pour Thneit El Had, 2.1g pour Blida et 1.276 g pour Boutalab, équivalente à 0,01mg de l'acide ascorbique.

Les résultats des tests de mesures de pouvoir Scavenger du radical DPPH menés par Bahouche et Gabis en 2016 sur l'extrait éthanolique avec la concentration de 20 µg/ml des tiges de cèdre de l'Atlas, en comparaison avec les antioxydants synthétiques Butylated hydroxyanisole (BHA) et l'acide ascorbique, montrent des pourcentages d'inhibition moyens pour les antioxydants standards et l'extrait éthanolique à savoir: 95,48% pour l'acide ascorbique, 89,88% pour la BHA et 80,18% pour l'extrait éthanolique. La plus grande concentration 60 µg/ml présente un pourcentage d'inhibition de 92.95% pour l'extrait éthanolique, 94.13% pour BHA et 96.02% pour l'acide ascorbique.

L'activité antioxydant de tous les extraits étudiés a été exprimée en valeurs IC₅₀ (une valeur faible d'IC₅₀ indique une forte capacité de l'extrait, tandis qu'une valeur élevée indique une faible activité de l'extrait).

Ces mêmes constatations sont valables lorsqu'on compare nos résultats avec ceux obtenus par Bahouche et Gabis en 2016 et par sur les extraits éthanoliques des tiges de cèdre de l'Atlas collectées dans la région d'Adekar et par Fadel 2018 sur les extraits éthanoliques de la partie aeriene, qui ont enregisté une IC₅₀ correspondant à 10.31µg/ml et 8.92 µg/ml respectivement.

Selon Benouaklil (2018), le pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique des cônes qui est plus élevé que celui de l'extrait méthanolique des aiguilles du cèdre de l'Atlas peut être expliqué par les concentrations des composés phénoliques et des flavonoïdes qui sont plus élevées dans le premier extrait que dans le deuxième.

Les analyses statistiques effectuées par Kacher (2018) ont révélé la présence de corrélation entre la teneur en tanins condensés et les IC₅₀ des échantillons testés, qui indique que la puissance de l'activité anti-radicalaire de DPPH● de ces échantillons pourrait être due aux tanins condensés (**Okamura et al. 1993**). Pareillement, les flavonoïdes sont reconnus pour leurs activités antioxydants (**Bahorun 1997**), d'après Naimi (2015), l'extrait de flavonoïdes de graines de *C. atlantica* Manetti avait un fort pouvoir piègeur des radicaux libres.

Conclusion

Conclusion

La flore algérienne jouie d'une biodiversité considérable, elle possède de nombreuses plantes endémiques, aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques. Dans le cadre d'une valorisation de ces ressources, une espèce forestière endémique à l'Algérie et le Maroc, le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) a fait l'objet de notre étude, à travers l'évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydant des extraits éthanoliques de ses rameaux prélevés sur trois différentes cédraies.

L'extraction de la partie aérienne (rameaux) de la plante a permis d'obtenir un rendement en extrait éthanolique d'environ 13,4 % pour le cèdre de Boutaleb et une moyenne autour de 10% pour les cédraies de Théniet El Had et Chréa (Blida). Les extraits éthanoliques des rameaux du cèdre de l'Atlas ont révélé une activité antimicrobienne sur les souches bactérienne à Gram+, et une légère activité fongique contre la levure *Candida albicans* Cependant aucune activité antimicrobienne n'a été signalée sur les souches bactériennes à Gram-.

L'activité antioxydant in vitro est aussi étudiée avec la méthode de réduction du radical libre 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl (DPPH). Le test a montré que le pouvoir antioxydant est proportionnel à l'augmentation de la concentration de l'extrait. Selon les résultats obtenus du test de l'effet scavenger du radical DPPH, l'extrait éthanolique testé jouie d'un potentiel antiradicalaire appréciable surtout avec un IC50 de 6 mg/ml. D'après les résultats obtenus, nous pouvons déduire que l'extrait testé de la plante (*Cedrus atlantica*) est pourvue d'une activité antioxydante modérée. Néanmoins, cette activité reste bien inférieure aux antioxydants des standards utilisés.

Ces résultats ne constituent qu'une petite ébauche dans le domaine de la recherche des antioxydants et des antimicrobiens naturels. Il serait donc judicieux de poursuivre ce travail par l'évaluation des activités biologiques de l'ensemble des organes de la partie aérienne de la plante et par l'identification et l'isolement des principes actifs responsables de ces activités et de procéder à leurs évaluations biologiques par des tests *in-vivo* sur des modèles animaux ainsi que la détermination de leur toxicité ou leur innocuité éventuelles, en préalable à leur évaluation clinique.

Références bibliographique

- Arbez. M. 1987** .Les ressources génétique forestières en France. T(1).Les conifères. (Ed), I.N.R.A Université, Paris, p 81.
- Azzaz. S, Dehbi .T ., 2019** .Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Cedrus atlantica* et son potentiel synergique avec la nisine.Thèse. Université de Tizi-Ouzou.
- Bahorun.T.1997**.Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle, Food and Agricultural Research Council, 83-94.
- Bakchiche .B, Gherib. A, Aazza. S, Gago .C, Miguel M G ., 2013**. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. Industrial Corps and Products.V 46, 85- 96.
- Behera. JN, Rao. J ., 2006**. Kagome Compound Templated by 1,8- Diazacubane. American of Chemistry Society.V 128, n°29 ,9334-9335.
- Ben Abdallah .R, Frikha. D, Maalej. S, Sassi. S., 2019**. Evaluation in vitro de l'activite antibacterienne et antifongique de quatre especes algales marines in vitro evaluation of the antibacterial and antifungal activities of marine algae. n°31, 38-44.
- Benabid. A. 1994**. Biogeographie phytosociologie et phytodynamique des Cedraies de l'Atlas *Cedrus atlantica* Manetti. Ann. Rech. For. Maroc. T (27), 61-76.
- Benouaklil .F, Hamaidi-Chergui.F, Hamaidi. M S, Saidi.F., 2017**.Chemical composition and antimicrobial properties of Algerian *Cedrus atlantica*.essential oils. Revu 1 ,p356.
- Bouazza. K. 2019**. La Biodiversité végétale et le dépérissement du Cédrus atlantica dans le parc national de Theniet El Had (W. Tissemsilt). These Doctorant. *Université djillali liabes de sidi bel abbes*.
- Boudarene L. 1991**. Analyse d'huiles essentielles d'aiguilles de Cedre de l'Atlas'poussant en Algerie, Master Thesis, Algeria (U.S.T.H.B). 153 (1), 97-104.
- Boudjouref. M .2011** .Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Diplôme de Magister .Université Ferhat Abbes. Sétif. Algérie.
- Boudy .P.1950** .Economie forestière nord-africaine. Monographie et traitement des essences forestières. (Ed). Larose, Paris.T(2), p 638. Mémoire . Contribution à l'étude de la variabilité

stationnelle sur la croissance radiale du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) au niveau de Tikjda (Massif Djurdjura).

Boukerker. G. 1992 .Ameloiration des especes vegetale cultuvees. (Ed) I.N.R.A, Paris,p738.

Boukerker. H. 2016. Autoécologie et évaluation de la biodiversité dans les Cédraies de *Cedrus atlantica* Manetti dans le parc national de Belezma (Batna, Algérie). Thèse Doctorant. Université Mohamed Khider –Biskra-.

Braz. L,Hanchour .M F ., 2018 . Etude phytochimique et activite antibacterienne de quatre plantes Sahariennes (*Artemisa herba helba*, *Haloxylon scoparium*, *Peganum harmala* et *Zygophyllum album*). Mémoire de Master.Universite Abdel Hamid Ibn Badis-Mostaganem-Algerie.

Bruneton. 1999 .Champignons basidiomycetes lignivores. Thèse Doctorant. Université Mohammed.

Charles. M, Benbrook .P D., 2005. Accroitre la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Rapport sur l'état des connaissances scientifiques. The Organic Center 10.

Claude. T. 2012. Paysage végétaux du domaine méditerranéen. (Ed), I.R.D Marseille, p303.

Dahel. R. 2015 .Revue Agrobiologia ; le parc national de chreaune aire protégée à influence régionale. n°7, 05-14.

Daouda. T.2015. Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques medicinales de côte d'ivoire .Thèse Doctorant. Université felix houphouët-boigny.

Debazac. E K. 1964 .Manuel des conifères. Ecole Nationale des Eaux et Forêts, Nancy,79-82.

Defraigne. J O, Pincemail. J., 2008. Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. Revu, 63 ,10-19.

Delarras .C. 2010. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contole sanitaire. (Ed), Paris,p128.

Demarrteau.M, Francois.L, Cheddadi.R, Roche .E., 2007.Responses of *Cedrus Atlantica* when faced with past and future climatic changes.31, 105 – 146.

- Denis .F, Cecile ploy .M, Martin. C H, Bingen .E, Quentine .R., 2012.**Bactériologie Médical. (2ème Ed), p15.
- Derridj. A. 1990.** Etude des populations de Cedrus atlantica Manetti en Algérie. Thèse de Doctorat .Université Paul Sabatier, Toulouse.
- EL azzouzi .K H, Keller .R., 1998.** Propriétés techniqunologiques du bois de cèdre de l' Atlas (Cedrus atlantica Manetti) forêt méditerranéenne.n°1.
- El haib. A. 2011.** Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse de doctorat. Université de Toulouse.
- Ela .M A, El-Shaer. N S, Ghanem .NB., 1996.** Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. Pharmazie.51 ,993-994.
- Faucher. J L, Avril. J L., 2002.** Bactériologie générale et médicale. T(1), Ellipses (Ed), Paris, p 214.
- Federighi. M. 2005 .**Bactériologie alimentaire compendium d'hygiène des aliments. (2ème Ed), Paris.
- Fekih. N .2015 .** Les bactéries : Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *pinups* poussant en Algérie. Thèse.
- Feknous. S, Saidi. F, Ramdhane. M S., 2014.** Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinales. L*). Nature et Technologie.n°11 ,7-13.
- Ferdjioui. S. 2014 .** Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits méthanoliques et de l'huile essentielle de la plante *Mentha rotundifolia* .Mémoire. Université ferhat Abbas-Setif-1.
- Fidah. A. 2016.** Etude de la durabilité de naturelle des bois de cedrus atlantica (manetti) et de *tetraclinis articulata* (VAHL) masters et évaluation de la bioactivité de leurs huiles essentielles sur les champignons basidiomycetes lignivores. Thèse doctorant. Université des sciences rabat.
- Gausсен. H. 1967.** Les Gymnospermes actuelles et fossiles. Faculté des sciences de Toulouse.n°7, p 477.

- Guillouty.A.2016.**Plantes médicinales et antioxydants.Thèse doctorant. Université Toulouse Iii Paul Sabatier.
- Gustave .M, Zotinaire., 1929.** L'huile pyrogène "Cedrus Atlantica" en dermatologie vétérinaire .Thèse Doctorant.
- Haleng. J, Pincemail. J, Defraigne. J O, Charlieier. C, Chapelle. J P ., 2007.** Le stress oxydant. Revu .V 62, n°10, 628-638.
- King . A , Young .G .,1999.**Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. Journal of the American dietetic association .99 ,213-218.
- Kebaili. I. 2009** .influence de quelque variable du milieu sur la régénération naturelle du cèdre de L'Atlas dans le massif de Belezema.Mémoire.Université Batna.
- Khedim .R .2018** .Étude de la biodiversité lichénique du Parc National de Theniet-el-Had (Tissemsilt, Algérie). Thèse.
- Khellaf .R, AkliAhlem .A, Djouhri. N , Salem.Y , Boudedja.S ,Messaoudene .M.,2018** .Bilan et croissance des reboisements de cèdre de l'Atlas, *Cedrus atlantica* (Endl.) Carrière, en Algérie : cas du Djurdjura et de l'Atlas blidéen .V 337, p11.
- Khoudali.S, Benmessaoud left .D, Essaqui. A, Zertoubi. M, Azzi .M, Benaissa. M., 2014.** Etude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc. Journal of materials and environmental science .V5, n°3 ,887-898.
- Koksal.E, Bursal. E, Dikici. E, Tozoglu. F, Gulcin. I., 2011.** Antioxidant activity of *Melissa officinalis* leaves. Journal of Medicinal Plants Research. 5, 217-222.
- Krouchi. F. 2010.** Etude de la diversité de l'organisation reproductive et de la structure génétique du cèdre de l'Atlas (Cèdres Atlantic Manetti) en peuplement naturel (Tala Guilef, Djurdjura nord-ouest, Algérie). Thèse doctorant. U.M.M.T.O.
- Lefiér. A. 2012.** Le grande livre des huiles essentielles. (Ed), E.S.I, p54.

Lutge. U, Kluge.M , Bauer. G.,2002. Technique et documentation. Lavoisier. Botanique (3eme Ed) ,Paris, p211.

M'hirit. O . 2006 . Le Cèdre de l'Atlas : Mémoire du temps. (Ed), Mardag, p288.

M'hirit.O. 1999 . Le Cèdre de l'atlas à travers le réseau Silva méditerranée « cèdre ».billon et perspectives. Forêt méditerranéenne. n°3, 91-99 .

Madjour. K.2015 .Régénération naturelle du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) au niveau du Parc National du Djurdjura (Secteur de Tala-Guilef). Mémoire. Magistère. Université Mouloud MAMMERY, Tizi-Ouzou ,p78.

Maurice .N. 1997. De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle, (Ed) Lavoisier, Paris, 12-14.

Mechele .B.2001 . Natural durability, physical and mechanical properties of Atlas cedar (*Cedrus atlantica* Manetti) Wood from Southern Italy. Annals of forest science. V58 ,607-613.

Messat . S . 1994 . Modèle matriciel pour la croissance des futaies jardinées ou irrégulières de *Cedrus Atlantica* Manetti cas de la foret du Seheb au moyen Atlas du Maroc. T (27), 313-319

M'hirit . O . 1994 . Le Cèdre de l'Atlas (*Cedrus Atlantica* Manetti). Présentation générale et état des connaissances à travers le réseau Silva Méditerranéen "Le Cèdre". In : Le cèdre de 125 l'Atlas. Actes du séminaire international sur le Cèdre de l'Atlas. Ifrane (Maroc), 7 -11. Annales de la recherche forestière au Maroc 27 (spécial), 4-21.

Mounia. YA.2014 .Etude de l'activité anti-Candida albicans des microorganismes isolés à partir du sol des zones arides. Thèse Doctorant. Université –Constantine- 1.

Nabors. M. 2008. Biologie végétale, Structure, fonctionnement, Ecologie et Biotechnologie. (Ed),Paris, p159.

Naudin. C. 1887. Manuel l'Acclimateur ou choix de plantes recommandée pour l'Agriculture, l'Industrie et la Médecine et adaptées aux divers climats de l'Europe et des Payes tropicaux. (Ed), Paris.

- Nedjahi. A. 1988** .La Cédraie de Chréa. (Atlas Blideen) : Phénologie, Productivité, Régénération. Thèse Doctorant. Université de Nancy.
- Okamura. H, Mimura.A, Yakou. Y, Niwano.M ,Takahara. Y.,1993**. Antioxydant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata* , *Phytochem* .V 33, 557-561.
- Protova . J,Lasousky.J,Vicar.J., 2003**.Metal-chelating properties. Electrochemical behaviour, scavenging and cytoprotective activities of six naturel phenolics.
- Quezel . P, Santa .S ., 1962**. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. T(1), p 618.
- Riou-nivert . P . 2001** . Les résineux Connaissance et Reconnaissance. (Ed), p179.
- Sahraoui .H ,Kemouch .T ,mdani.T ., 2008**.Systemes de production agricole dans le massif forestier se boutalab.
- Satrani .B, Aberchane. M, Farabi. A, Chaouch. A, Talbi .M., 2006** .Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites par hydrodistillation fractionnée du bois de *Cedrus atlantica* Manetti. *Acta Bot. Gallica*.V 153,n°1,97-104.
- Schauenberg. P, Ferdinand. P., 2005**. Guide des plantes medicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes. Delachaux et Niestle. Les guides du naturaliste.
- Smallfield. B. 2001**. Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop and Food Research*.V 45, 1-4.
- Svoboda. KP, Hampson .JB., 1999**. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. (Ed)Plant Biology Department.
- Talbi .H, Boumaza .A, El-Mustafa .k, Talbi .J, Hilali.A., 2015**. Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraites méthanolique et aqueuse de la *Nigella sativa* L.V 6, n°4, 1111-1117.

- Tapiero .H, Tew .K D , Nguyen . Ba G, Mathe .G., 2002.** Poly phénol : Do they play a role in prevention of human pathologies ? *Biomed Pharmacother* .V 56 ,200-207.
- Tekwu .E M , Pieme. A C, Beny. V P., 2012.** Investigation of antimicrobial activity of some Cameroonian medicinal plant extracts against bacteria and yeast with gastrointestinal relevance. *Journal of Ethno pharmacology* .V 142 ,265-273.
- Tim .C T P, Andrew . J L., 2005.** Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Ag.* V 26 ,343–356.
- Toth. J. 1973.** Premières approches de la production potentielle du Cèdre de l'Atlas dans le sud de la France. *Revu. For. Fra.* V 25, n°5, 381-389.
- Toth. J. 1978 .** Contribution à l'étude de la fructification de la régénération naturelle du cèdre de l'atlas (*Cedrus atlantica manetti*) dans le sud de la France. Thèse Doctorant ingénieur de St Jérôme, Marseille.
- Toth. J. 1990 .** Croissance, sylviculture et production de cèdre de l'Atlas (*Cedrus Atlantica Manetti*) implanté dans une zone de chêne vert (*Quercus ilex*) de la région méditerranéenne. Française. (Ed). I.N.R.A. Vivaldi. Avignon. France, p 40.
- Wing. S, Melnyk. J P, Tsao. R, Marcone. M F., 2011.** How natural dietary antioxidants in fruits, vegetables and legumes promote vascular health. *Food Research International*, 44, 14-22.
- William .2003 .** physiologie végétale. (Ed) Université Paris, p 26.

