

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des 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 : "Ecologie et environnement "

Spécialité : "Biodiversité et écologie végétale "

Présenté par :

- DERRER Imen

- GHALMI Nadjiba

**Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de
Genévrier oxycèdre dans le parc National de Thniet El Had (Cas
du canton OURTENE)**

Soutenu publiquement le 08/07/2019

Jury:	Grade
President: Mr LAHOUEL N.	M.C.B
Encadreur: Mme CHAFAA M.	M.C.A
Co-encadreur: Melle BOUAZZA Kh.	M.A.A
Examineur: Melle SOUDANI L.	M.C.B

Année universitaire 2018-2019

Remerciements

*Nous exprimons nos sincères gratitude et remerciements à notre promotrice et Co-promotrice **M^{me}CHAFAA Meriem** et **M^{lle}BOUAZZA Khaldia** qui avec leurs appui bénéfique cette mémoire a été réalisé.*

*Nous tenons à remercier vivement **Mr LAHOUEL Nour Eddine**, qui nous a fait l'honneur par sa présence en tant que président de jury,*

*Nous tenons également a remercie **M^{me} SOUDANI Leila** qui nous a honoré en acceptant d'examiner notre travail.*

*Nous s'adressons aussi nos vifs remerciements au **Mr SARMOUM Mohamed** notre professeur et chef de notre spécialité pour ses explications, ses conseils, ses directions et son compréhension aux étudiants.*

*Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à notre formation scientifique durant nos années d'études surtout **MR ZEDEK Mohamed**, **MR BENKHATOU** et **Melle REZZOUG Wafaa**.*

*Nos vifs remerciements s'adressent au **Mr SEDDIR LARBI** pour son aide et sa contribution à la récolte durant la sortie au parc National de Thniet El Had (canton OURTENE).*

Nos remerciements aussi le service du laboratoire d'écologie animale et laboratoire de microbiologie pour leurs contribution à l'achèvement de ce travail.

En fin nous remercions tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à l'élaboration de la présente étude.

Dédicace

À mes chers parents, Nesredine et Belehcene Houria pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

*À mon cher mari
À mon fils Mohamed Abd ellah*

À mes chers frères, Zakaria, Mhamed, Nesredine pour leur appui et leur encouragement.

À mes chères sœurs Asmaa, Sarah, Ines, Ahlem, Walaa, Fedaa pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

À toute la famille Derrar, Belehcene et Meghazi pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

À ma chère binôme Nadjiba

À tous mes amis : Fouzia, Souad et Imen

À toute la promotion master II de la Biodiversité et écologie végétale 2019.

Imen

Dédicace

Je dédie cet humble et modeste travail

A mes très chers parents, source d'amour, de noblesse, de fierté, de tendresse, de sacrifices, et d'encouragements durant toute ma formation et années d'étude.

A mes grandes mères.

A la mémoire de mes grands pères.

A mes chers frères : Ibrahim, Nabil et sa épouse.

A mes belles sœurs : Sara, Torkia et son mari.

A mes aimables petites nièces : Alae tasmim, Aridje Nour elbatoul.

A mon neveu : Ismail abd essalem.

A tous membres de ma famille.

A mes chères amies : Afifa, Asma, Chahra, Fatima, Khaldia, Messaouda, soumia, Zhour et zouzou.

A ma chère binôme Imen.

A mes collègues de Biodiversité et Ecologie végétale avec lesquelles j'ai partagé mes meilleures années des études.

A tous ceux qui m'a apporté d'aide de près ou de loin.

Nadjiba

Tables des matières

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
INTRODUCTION.....	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 01

Généralités sur le genévrier oxycèdre

1. Généralités sur le genévrier oxycèdre	3
1.1. Taxonomie.....	3
1.2. Description botaniques.....	4
1.3. Conditions climatiques.....	5
1.4. Conditions édaphiques	5
1.5. Répartition dans le monde.....	5
1.6. Répartition en Algérie.....	6
1.7. Intérêt.....	6
1.8. Ennemies.....	6

CHAPITRE 02

Généralités sur les huiles essentielles

2. Généralités sur les huiles essentielles.....	7
2.1. Historique	7
2.2. Définition des huiles essentielles	7
2.3. L'Aromathérapie.....	7
2.4. Propriétés des huiles essentielles.....	7
2.5. Utilisation des huiles essentielles.....	7
2.6. Techniques d' extraction	8
2.7. Précaution d' emploi	10
2.8.Toxicité des huiles essentielles.....	10
2.9. Conservation.....	11

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 03

Zone d'étude

3. Zone d'étude.....	12
3.1. Présentation du parc national de Theniet El Had	12
3.2. Aspect climatique.....	13
3.3. Aspect hydrographique.....	13
3.4.Aspect pédologique.....	14

3.5. Géologie.....	14
3.6. Faune.....	15
3.7. Flore.....	15
3.8. Présentation de la zone d' étude canton OURTENE.....	15

CHAPITRE 04

Matériel et méthodes

4. Matériel et méthodes	17
4.1. Objectif du travail.....	17
4.2. Lieu et période de la récolte	17
4.3. Echantillonnage	17
4.4. Matériel végétal.....	17
4.5. Les souches bactériennes utilisées.....	18
4.6. Matériel de laboratoire utilisées.....	19
4.7. Mise en place du protocole expérimentale.....	19
4.7.1. Extraction par l' hydrodistillation.....	19
4.7.2. Conservation de l' huile essentielle.....	21
4.7.3. Détermination du rendement d' extraction.....	21
4.8. Etude de l' activité antibactérienne.....	22
4.8.1 Milieux de culture.....	22
4.8.2. Préparation de la suspension bactérienne.....	23
4.8.3. Aromatogramme ou méthode des disques	23

CHAPITRE 05

Résultats et discussion

Résultats et discussion	
5. Résultats	27
5.1. Résultats et interprétation du rendement de l'huile essentielle de <i>juniperus oxycedrus</i> . 27	
5.2. Caractéristiques organoleptiques.....	29
5.3. Activité biologique antibactérienne.....	29
5.3.1. Test d' antibiogramme pour <i>Escherichia coli</i>	30
5.3.2. Test d' antibiogramme pour <i>Staphylococcus aureus</i>	31
5.4. Lecture des résultats.....	33
5.1.3. Interprétation	33
CONCLUSION	34
Références bibliographiques	
Annexe	

Liste des figures

Fig. 1 : Genévrier oxycède (<i>Juniperus oxycedrus</i>).....	3
Fig. 2 : Aiguilles de genévrière oxycède.....	4
Fig.3 : Rameaux de genévrier oxycède.....	4
Fig.4 : Aire de répartition des genévriers en région méditerranéenne.....	6
Fig.5 : Extraction des huiles essentielles par l'hydro distillation	9
Fig. 6 : Extraction des huiles essentielles par enfleurage	10
Fig.7 : Parc National de Thniet El Had	12
Fig.8: Localisation du parc National de Thniet el Had (wilaya de Tissemsilt).....	13
Fig. 9 : Délimitation du canton OURTENE	16
Fig.10 : Séchage des aiguilles.....	18
Fig. 11 : Montage d'extraction de l'huile essentielle par l'hydro distillation	20
Fig. 12 : Décantation de l'huile essentielle	21
Fig.13 : Ecoulement des boites.....	22
Fig. 14 : Illustration de la méthode des aromagrammes sur une boîte de pétré	24
Fig.15 : Dépôts des disques.....	25
Fig.16 : souches bactériennes de E. Coli et S.aureus	25
Fig 17 : protocole expérimentale.....	26
Fig18 : rendement en huiles essentielles de <i>Juniperus oxycedrus</i>	29
Fig.19 : Diamètres en (mm) des zones d'inhibition des souches E. Coli par l'effet des huiles essentielles des aiguilles de <i>Juniperus oxycedrus</i>	30
Fig.20 : (A) Zone d'inhibition provoquée par HE et(B) témoin contre la souche E. coli à la dose de 50µl	31

Fig. 21 : Diamètres en (mm) des zones d'inhibition des souches *S.aureus* par l'effet des huiles essentielles des aiguilles de *Juniperus oxycedrus*.....32

Fig.22 : (A) Zone d'inhibition provoquée par HE et (B) témoin contre la souche *S.aureus* à la dose de 50µl.....32

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les souches testées.....	18
Tableau 2 : Verreries et appareillages utilisés.....	19
Tableau 3 : Conditions opératoires	20
Tableau 4 : Comparaison des rendements en huiles essentielles de <i>Juniperus oxycedrus</i> avec ceux des travaux antérieurs.....	27
Tableau 5 : Résultats de mesure des zones d'inhibition de la souche E. Coli à la dose 50µl.....	30
Tableau 6 : Résultats des mesures des zones d'inhibition de la souche S. aureus à la dose 50 µl	31

Liste des abréviations

μl : Micro litre.

AFNOR : Association Française de NORmalisation

E. Coli : Escherichia Coli

H.E : Huile Essentielle

NA30 : Nalidixic Acide

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P. N.T.E.H : Parc National de Thniet El Had

R : Rendement

S.Aureus : Staphylococcus Aureus

UFC : Unité Frontale de Colonies

INTRODUCTION

Introduction

Depuis l'antiquité, les traces d'utilisation de diverses plantes a été retrouvés en Chine, en Inde, au moyen d'orient, en Grèce et aussi en Afrique. Ces plantes reconnues pour leurs puissantes propriétés thérapeutiques touchent plusieurs domaine de la vie tels que la parfumerie, la cosmétique, l'agroalimentaire, l'aromathérapie et aussi la biologie ; selon l'OMS (2012) les médicaments à base des plantes médicinales sont des pratiques traditionnelles ; à partir de ces plantes, elle reporte que plus de 2000 plantes aux vertus médicinales dont 1200 constituent la pharmacopée (ZHIRI et BAUDOUX, 2005).

Les plantes aromatiques sources de substances bioactives naturelles sont largement répandues dans la nature, le genévrier oxycèdre (*juniperus oxycedrus*) est l'un de ces plantes de la famille de cupressacée sous forme d'arbuste ou petit arbre très apprécié pour leur richesse en huile essentielle et leur propriétés antifongique, antiseptique, régulation métabolique, anti antioxydant et antibactérien pour ces usages dans la médecine traditionnelle (ADAMS, 1998 ;BRUNETON ,1999 ; MORO BURONZO ,2009).

Le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle est l'un des activités biologiques les plus utilisées actuellement vu l'apparition et l'extension rapide du phénomène de résistance aux agents microbiens classiques qui constituent un problème de santé public.

Le présent travail consiste à élaborer et mettre en œuvre un protocole d'extraction de l'huile essentielle de *juniperus oxycedrus* prélevé du canton OURTENE du parc national de Thniet El Had qui situé à 02 km au sud ouest de la ville de Theniet El Had et partie prenante de l'Ouarsenis, dont il occupe une superficie de 3484 ha son étage bioclimatique s'étale entre le sub-humide et l'humide (DGF, 2005 ; P.N.T.E.H, 2006).

L'extraction se fait par la méthode d'hydro distillation d'une part, et d'autre part, étudier le pouvoir antibactérien de cette l'huile essentielle vis-à-vis des souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) pour d'éventuelle utilisation en lutte biologique.

Pour établir ce travail on a accédé au plan suivant : une partie bibliographique englobe deux chapitres ; un décrivant l'arbuste étudié et l'autre les huiles essentielles ; et une partie expérimentale qui inclut trois chapitres dont le premier présente des informations relatifs à la zone d'étude, l'origine du matériel expérimental et les différentes méthodes adoptées seront identifiées au nivea2u du chapitre deux , la présentation et la discussion des résultats seront évoquées dans le

Introduction

troisième chapitre. Enfin, nous concluons sur la qualité exceptionnelle de l'huile essentielle de cette plante et son effet antibactérien et nous présenterons les perspectives qu'ouvre ce travail pour des éventuelles extensions de cette pratique.

Partie Bibliographique

CHAPITRE 01 :

*Généralités sur le genévrier
oxycède*

1.1. Généralités

Le genévrier oxycèdre est une plante de la famille de cupressaceae (QUEZEL et SANTA, 1962). il a été décrit par (LINNE, 1753) sous le nom *Juniperus oxycedrus* qu'il désigne le cèdre à feuille piquant (RIOU-NIVERT, 2001 ; F-BAYER et *al*, 2009), d'après MAIRE (1952) c'est un arbuste (Fig.1) ou arbre atteignant 10 m de hauteur. Sa physiologie permet à lui de s'adapter ou conditions environnementales dure et leur donne une résistance à la sécheresse (QUEZEL et SANTA ,1962), selon RIOU-NIVERT (2005) cette espèce est d'origine de la région méditerranéenne.

1.2. Taxonomie (EMBERGER, 1960)

- ✓ Règne : Planta ;
- ✓ Embranchement : Spermaphytes ;
- ✓ Sous-embranchement : Gymnospermes ;
- ✓ Classe : Coniféroopsides ;
- ✓ Ordre : Coniferales ;
- ✓ Sous-ordre : Cupressales ;
- ✓ Famille : Cupressacées ;
- ✓ Sous-famille : Junipéroïdées ;
- ✓ Genre : *Juniperus* ;
- ✓ Espèce : *JuniperusOxycedrus L.*



Fig.1: *Juniperus oxycedrus* (photo prise 25/03/2019)

1.3. Description botanique

Le genévrier est un arbrisseau ou arbre aromatique de petite taille (DEBAZAK, 1991), il peut vivre près de 200 ans (RIO-NIVERT, 2001), il présente les caractéristiques suivantes :

- ✓ **Feuille** : d'après MOUSSAOUI (2014) et DEBAZAC (1991) son feuillage persistant et épineux, tout aciculaires verticillés par trois autour du rameau de forme des aiguilles (Fig.2).



Fig. 2: Aiguilles de genévrier oxycèdre (Photo prise le 25/03/2019)

- ✓ **Rameaux** :

Selon MARCEL (2001) et RIOU-NIVERT (2001) ses rameaux sont plus étalés, plus souples, anguleux (Fig.3).



Fig.3: Rameaux de genévrier oxycèdre (Photo prise le 25/03/2019)

- ✓ **Bourgeons** : RIOU-NIVERT (2001) signale que leurs bourgeons sont peut visible.
- ✓ **Cône** : brun rouge, il s'appelle les baies males petits terminaux ou axillaire, cônes femelle formées d'un petit nombre d'écaille (RIOU-NIVERT, 2001 ; QUEZEL ET SANTA ,1962).
- ✓ **Ecorce** : fissurée en minces lanières de couleurs brun grise (RIOU-NIVERT ,2001).
- ✓ **Fleurs** : les femelles devenant fruit en forme de baie jusqu'au 1,5 cm de large, jeune givré coloré brun marron à maturité, les male courts ensemble en forme de cône d'étamines à écailles triangulaires (BAYAER et *al*, 2009)
- ✓ **La Floraison** : au printemps à lieu vers le mois de Mars à Avril (MAIRE ,1952 ; MOUSSAOUI ,2014)
- ✓ **Le Bois** : il présente un bois homogène de couleurs jaune à odeur vive et agréable (RIOU-NIVERT, 2001).

1.4. Condition climatique

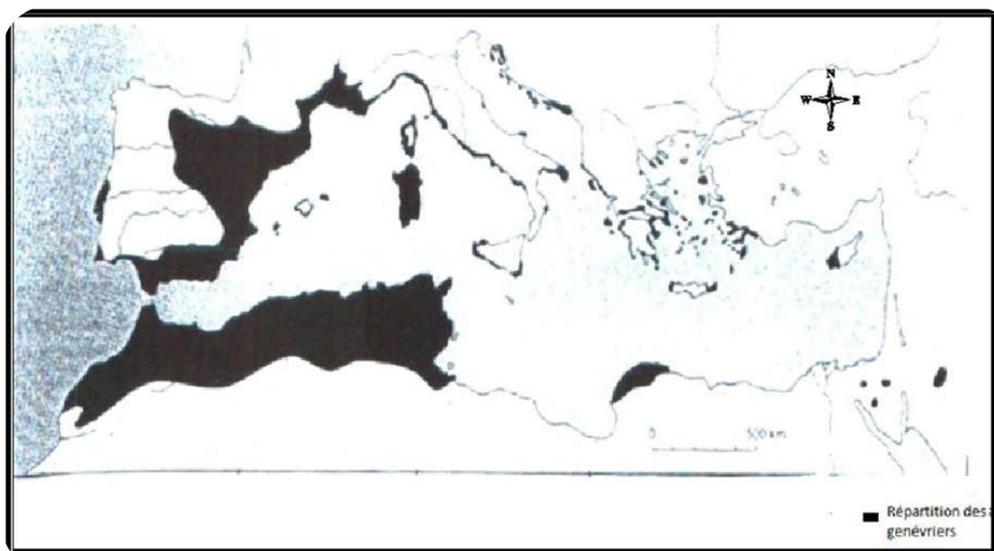
MAIRE (1952) a signale que le *genévrier oxycèdre* résiste à la sécheresse et sensible ou froid, il exige beaucoup de lumière et chaleur (RIOU-NIVERT, 2001), il apprécie les lieux ou des rocailleux et très commune dans les zones méditerranéenne aride et semi-aride (MOUSSAOUI, 2014 ; RIOU-NIVERT ,2005).

1.5. Condition édaphique

Concernant les conditions édaphiques, le *genévrier oxycèdre* , préfère les sols non carbonatés , accepte les sols superficielle secs , calcaire , et sol acides , Il occupe les terraines rocheux et les dunes proche de la cote, il constitue un des éléments essentiels du maquis et surtout de la garigue en association au chêne vert et au chêne kermès (RIOU-NIVERT , 2001 ; MOUSSAOUI ,2014 ; BAYER et *al* .,2009 ; MARCEL , 2001) .

1.6. Répartition dans le monde

Le *genévrier oxycèdre* est fréquent en région côtière méditerranéens (Fig. 4), on le rencontre dans les régions allant du Maroc à l'Iran et ou sud de l'Europe France et Espagne ou il est l'une des plantes caractéristique des maquis et garigue. Il est plus rare dans le sud du massif centrale et les Alpes sud (de 0 à 1000 m), son association plus souvent avec le chêne vert et le chêne kermès (MOUSSAOUI ,2014 ; RIOU-NIVERT ,2001 ; MARCEL ,2001).



**Fig.4 : Aire de répartition des génévriers en région méditerranéenne
(QUEZEL et MEDAIL, 2003 *in* BELKACEM ,2015)**

1.7. Répartition en Algérie

Très ré pondue dans les secteurs des haut plateaux (Algérois ,Constantinois, la grande Kabylie) (QUEZEL et *al.*,1962) , selon BOUDY (1950) et MAIRE (1952) , il s'étend sur une superficie de 112 000 ha , depuis les dunes littorale jusqu'aux limites du grand Sahara, soit sous la forme d'un arbre de 10 m de hauteur avec un tronc de 1 m de diamètre , soit plus souvent sous la forme d'un arbuste buissonnant plus petit.

1.8. Intérêt

Le *génévrier oxycède* fournisse un bois recherché autre fois pour marqueterie et petite ébénisterie et apprécie pour le chauffage et donne un charbon de bon qualité et par la distillation il nous donne l'huile de cade à odeur très pénétrante utilisée en médecine et savonnerie et pour la fabrication des produit pharmaceutique (MARCEL ,2001), et aussi leurs cônes peut agréable à la manger car ils sont charnus et un peut farineux, parfois sucres. Et utilise pour la préparation de la purée (COUPLAN, 2015).

1.9. Ennemies

Selon RIOU-NIVERT (2005) le *génévrier oxycède* est attaqué par des insectes au niveau des aiguilles ou écailles comme *Cinarajuniperi* et aussi les cochenilles, et au niveau des branches et troncs par la Bupreste du *génévrier* et *Lamprafestiva* et des champignons comme *Gymnosporangium*.

Chapitre 02

*Généralités sur les huiles
essentiels*

2.1. Historique

Les huiles essentielles sont connues dès l'antiquité ils ont été utilisé depuis 7000 ans en Inde, en Chine et Egypte ainsi que en Mésopotamie, pour leur action bénéfique sur l'homme, Quatre mille ans avant JC les égyptiennes utilisaient les huile comme parfum dans la momification des corps (MORO BURONZO ,2009 ; LEFIEF 2012).

2.2. Définition des huiles essentielles

Huile essentielles ou bien on appelle « essence » pour les agrumes, il s'agit d'une substance de nature volatile, elle concentre les composer aromatique, en clair c'est le concentré du parfum de la plante, les molécules qui constituent une huiles essentielles s'évaporent plus ou moins rapidement pour se déplacer dans l'aire (MORO BURONZO et *al*, 2012 ; LEFIEF, 2012).

2.3. L'aromathérapie

Le mot « aromathérapie »apparu en 1930, fait partie de phytothérapie qu'elle ne se limite pas à une question de parfums mais c'est la méthode de soins avec les huiles essentielles sur le plan physique, psychique, et donc sur la totalité d'un individu (FESTY, 2014 ; MORO BURONZO et *al*, 2012).

2.4 .Propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles contiennent plusieurs composants complexe alcool, aldéhyde ,terpènes ,stères ,éthers , oxydes , phénols ,acides ,lactones , coumarines ..,avec un dosage qui dessine le profile des huile essentielle (LEFIEF, 2012).

2.5. Utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas seulement des parfums, elles sont indispensables à la vie de la plante et jouent, en quelque sort, un rôle de « médicament naturel», leur aptitudes couvrent des domaines plus larges on peut lister les principales caractéristiques de la plupart des huiles essentielles (MORO BURONZO ,2009 ; FESTY, 2014) :

2.5.1. Antibactérienne, antiseptique et antifongique

Les huiles essentielles peuvent rendre stérile une culture de microbes, signe d'une activité antiseptique, les expériences et les études ont montré que les huiles essentielles ont un pouvoir de s'attaquer aux microbes les plus puissants comme, les staphylocoques le bacille de koch (tuberculose) ou le bacille typhique (typhoïde) (MORO BURONZO, 2009).

2.5.2. Anti-inflammatoires

Les aldéhydes contenus dans un grand nombre d'huiles essentielles ont la propriété de combattre les inflammations (MORO BURONZO, 2009).

2.5.3 Antispasmodique

Les huiles essentielles peuvent arrêter les spasmes, c'est à-dire les contractions que se manifestent de façon involontaire dans le corps (MORO BURONZO, 2009).

2.5.4. Antiparasitaires

Elles sont efficaces pour protéger des attaques des insectes, en particulier des moustiques en tenant à distance tous ces petits indésirables (MORO BURONZO, 2009).

2.5.5 .Antivirales

Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques contenues dans les huiles essentielles qui ils ont la capacité de combattre certaines pathologies virales (MORO BURONZO, 2009). Ces huiles assurent d'autres fonctions comme les calmantes, anxiolytique, cicatrisantes, insecticides et antioxydants (FESTY, 2008).

2.6. Technique d'extraction

Il existe plusieurs façons de les extraire de différentes parties du végétal : les feuilles (présente recherche de Genévrier), les fleurs, les fruits ou les baies, le bois, les graines, les aiguilles par les procédés suivants (FESTY, 2014 ; MORO BURONZO, 2009).

2.6.1. Distillation

L'extraction de l'huile essentielle par l'hydro distillation a été proposée par Garnier en 1891, C'est la méthode la plus utilisée consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un ballon rempli d'eau distillée qu'est ensuite portée à ébullition (Fig.5)(BRUNETON, 1999)

L'huile essentielle grâce à sa légèreté se flotte à la surface, et l'eau qui reste peut se servir à la fabrication des hydrolats (FESTY, 2014 ; MORO BURONZO, 2009).

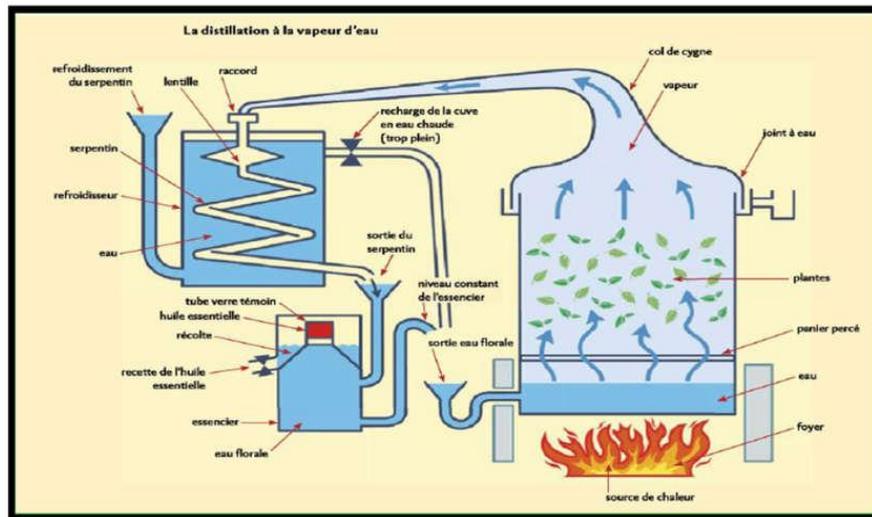


Fig.5 : Extraction des huiles essentielles par hydro distillation (BENETEAUD, 2011)

2.6.2 .Expression

L'expression aussi appelée « pression à froid » est un procédé très simple, cette opération mécanique vise à l'obtention des huiles essentielles uniquement d'agrumes (FESTY, 2014 ; MORO BURONZO, 2009).

2.6.3. Extraction par solvant

Consiste à dissoudre les essences dans un solvant volatile, le résultat s'appelle « absolue », on l'utilise en parfumerie et non pas en thérapeutique (FESTY, 2014).

2.6.4. Enfleurage

L'enfleurage est une ancienne méthode d'extraction manuelle, elle est moins utilisée actuellement (faible rendement est coûteuse). Cette méthode consiste à mettre les plantes choisit à température ambiante sur des plaques de graisse qu'ils jouent le rôle d'absorption de parfum (Fig.6) (MORO BURONZO, 2009)



Fig. 6 : Extraction des huiles essentielles par enfleurage (LISAN, 2014)

2.7. Précaution d'emploi

Les huiles essentielles doivent être manipulées avec grande précaution et prudence, il est indispensable de respecter les règles de son utilisation avec conscience, parmi ces règles on cite :

- Respectez les dosages et posologies. Attention à la prise par voie orale.
- Soyez prudent avec les femmes enceintes, surtout dans le premier trimestre ainsi que les celles qui allaitent et les enfants.
- N'utiliser pas les huiles essentielles de façon prolongée même en faible dose.
- Ne jamais utiliser l'huile essentielle en intraveineuse, en intramusculaire ni dans les yeux.
- Eviter l'exposition au soleil après l'application d'huile essentielle sur la peau (cas de photosensible).
- Adoptez les bons gestes en cas d'«accident »

En cas de doute, il est toujours préférable de consulter un expert pour être à l'aise dans leur utilisation (MORO BURONZO *et al*, 2009 ; LEFIEF ; 2012 FESTY, 2014).

2.8. Toxicité des huiles essentielles

Un surdosage ou une fragilité des huiles essentielles des voies digestives peuvent entraîner des risques toxiques (hémorragie digestive, atteinte hépatique ou altération du système nerveux),

Les huiles essentielles mélangées entre elles pour augmenter leur efficacité peuvent aussi causer toxicité surtout pour les personnes fragiles comme les enfants et aussi lorsque les HE sont utilisées dans une période sans pause (BRUNETON, 1993).

2.9. Conservation :

Pour une bonne conservation de l'huile essentielle qui favorise à garder intactes leur vertus pendant plusieurs années , en doit les protéger de la lumière (dans des flacons en verre teinté), de l'air (oxydation),la chaleur , l'humidité et des variabilité de température , conservez-les en position verticale au lieu sec et frais , à évitez de laisser le flacon débouchés a longue durée (MORO BURONZO, 2009) .

PARTIE
EXPERIMENTALE

CHAPITRE03 :

Zone d'étude

3. Zone d'étude

3.1. Présentation du parc national de Thniet El Had

Le parc national de Thniet El Had qui représente le premier parc national en Algérie (Fig. 7), ce dernier a été créé en date du 03 Aout 1923 par le décret présidentiel N° : 83 /459 dont le but est de sauvegarder les qualités exceptionnelles de la nature, il dispose une richesse faunistique et floristique assez variée (DGF ,2005 ; P.N.T.E.H, 2012).

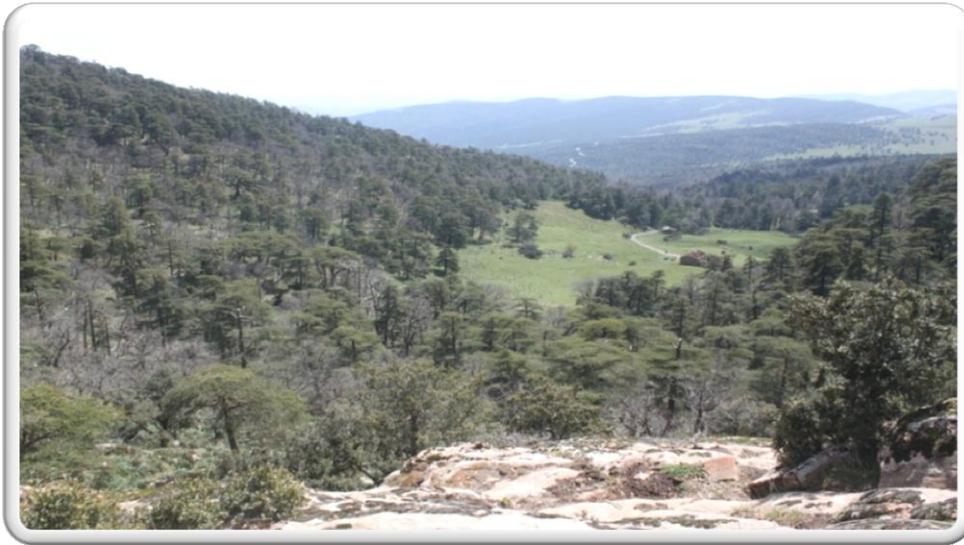


Fig.7 : Parc National de Thniet El Had (Photo prise le 25/03/2019).

Le parc national de Thniet El Had est un massif forestier occupant les deux versant du djebel el Meddad (forêt de cèdre) il est situé à 2 Km au Sud-Ouest de la ville de Thniet El Had (Wilaya de Tissemsilt) (Fig8) (BOUAZZA, 2011). Faisant partie du prolongement de l'Ouarsenis, dont il occupe une superficie de 3484 ha, il s'insère entre 858 et 1787m d'altitude où son étage bioclimatique s'étale entre le subhumide et l'humide (DGF, 2005 ; P.N.T.E.H, 2006).

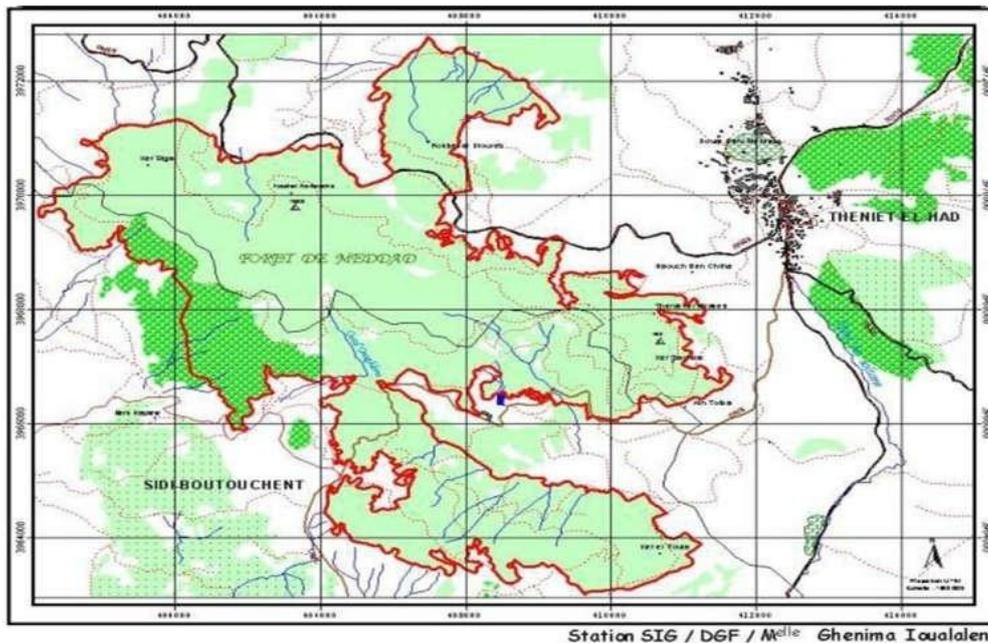


Fig.8 : Localisation du parc National de Theniet El Had (wilaya de Tissemsilt) (P.N.T.E.H, 2006).

3.2 Aspect Climatique :

Par manque de données climatiques de notre zone d'étude suite à l'absence de station météorologique, il était nécessaire de refaire les données climatiques de Selzter (1946) qui était établi durant la période (1913-1938). Les vents qui caractérisent la cédraie durant toute la saison sont ceux de direction : Nord, Nord-Ouest d'origine océanique. L'humidité relative montrée en mois de Décembre jusqu'au mois de Mai diminue progressivement. L'enneigement est de 22 jours d'une manière irrégulière (P.N.T.E.H, 2012)

3.3 Aspect hydrographique :

Le parc national de Theniet El Had possède de nombreuses sources d'eau distribuées sur les cantons du parc, Nous pouvons les citer comme suit (BOUAZZA, 2011 ; P.N.T.E.H, 2012):

- ✓ Source d'Ain el Harhar (canton ROND-POINT).
- ✓ Source de Djedj el Ma (canton OURTENE).
- ✓ Source de Toursout (canton PRES BEN CHOIRA).
- ✓ Source Ourtene (canton OURTENE).
- ✓ Source d'Ain Kinia (canton FERCOUANE).
- ✓ Source d'Ain Gugeb (canton ROND-POINT).
- ✓ Source de Plate-Forme (canton PEPINIERE).

- ✓ Source d'Ain Touila (canton SIDI ABDOUN).

Selon MESSABIS (2009), il y a deux oueds permanents au périphérique du parc sont les suivants :

- ✓ Oued El Mouilha au Nord Est du parc ;
- ✓ Oued El Ghoul au sud du parc.

3.4. Aspect pédologique

Dans le parc, nous avons distingué l'existence de trois types de sols y sont identifiées : sols peu évolués d'apport colluvial, sols minéraux bruts d'érosion et sols brunifiés lessivés.

- ✓ **Sols peu évolués d'apport colluvial** : ce sont des sols trouvés dans le versant sud, dans le centre et le coté inférieur du versant nord, non carbonatés, ils se caractérisent par des bonnes propriétés physiques, peuvent être constitués de particules pierreux au pied des pentes et très pauvres en matière organique et d'éléments nutritifs (DUCHAUFOR, 1988 ; BOUAZZA, 2011 ; FEDDAG, 2012).
- ✓ **Sols minéraux bruts groupe d'érosion** : peu profond, de matériaux grossiers et de neutre réaction, ce sont des sols convenables juste pour le reboisement car ils sont de petites épaisseurs de l'horizon podzolique et leur absence de matière organique (BATEL, 1990).
- ✓ **Sols brunifiés lessivés** : ce sont des sols acides de texture argileuse riche en matière organique, ils sont localisés dans les grandes clairières et pied des monts ou les pentes sont faibles (BOUAZZA ,2011 ; P.N.T.E.H, 2012).

3.5. Géologie

Le massif de Theniet El Had a une structure géologique caractérisée par des parties Ouest, centrales et des parties les plus hautes d'altitude du massif sont de nature calcaire superposées sur des couches fines d'argiles et de marnes et de schistes (BELKAID, 1988 ; BOUDY, 1955 in BOUAZZA, 2011).

3.5.1. Reliefs

La zone d'étude est caractérisée par un relief très accidenté et diversifié (HADJI, 1988 ; ZEDEK, 1993 ; P.N.T.E.H, 2012) :

- Le versant nord est très accidenté avec des pentes fortes ou le point le plus haut « Ras El Braret » relevant du canton ROND-POINT ;
- Le versant sud avec relief moins accidenté ;

- La pente varie en général entre 25 et 50.

3.6. Faune

Au niveau du parc de Thniet El Had la faune rencontrée est assez diversifiée par des espèces mammaliens tels que : le chat sauvage (*Felis libyca*), le chacal, l'hyène rayée (*Hyena hyena*), la genette commune (*Genetta genetta*), le sanglier, le renard roux, le lapin des garennes, le mangouste, l'hérisson d'Algérie (*Ateleria algirus*), le porc épic et la belette (*Mustela nymedica*) et aussi par les oiseaux comme : l'aigle botté (*Hieraetus pinnatus*), chouette chevêche (*Athene noctua*), milan noir (*Milvus migrans*), pic vert (*Picus viridis*), le coriole d'Europe (*Oriolus oriolus*), le cigogne blanche (*Ciconia ciconia*). Les reptiles et les amphibiens comme : grenouille verte, et le crapaud commun (*Bufo mauritanicus*), la tortue grecque, le caméléon commun, dans les lacs, les mares et les étangs. En outre les insectes existants comme : la cigale des montagnes, citron de Provence, Machaon (*Papilio machaon*), le parc est aussi riche d'une multitude d'espèces d'animaux invertébrés (P.N.T.E.H, 2012).

3.7. Flore

Une large diversité floristique existant au niveau du parc, qu'elle est présentée par les essences forestières tels que : le cèdre de l'atlas (*Cedrus atlantica*) qu'il forme des beaux paysages du parc, *Quercus ilex*, *Quercus faginea*, *Quercus suber*, *Pinus halepensis*, *Pistacia atlantica*, le frêne, *Acer monspessallum*, *Salix alba*, *Fraxinus oxyphylla*, *Prunus angustifolia*, *Prunus avium*, quelque pied de *Juniperus oxycedrus* et d'autres espèces. Et aussi par des familles comme les composés, les papilionacées, les liliacées, les ombellifères, les labiacées, les orchidées, les cistacées, les graminées, les crucifères, les caryophyllacées, les renonculacées (BOUAZZA, 2011; P.N.T.E.H, 2012).

3.8. Présentation de la zone d'étude canton OURTENE

Le canton OURTENE (Fig. 9) est situé au fond d'une combe boisée à proximité d'une source d'eau ferrugineux. Il occupe une superficie de 538 ha 35 ares, avec une altitude de 1601m, il est limité au Nord par canton PRE BENCHOIRA, au Sud par canton FERCIOUANE, à l'Est par canton SIDI ABDOUN et à l'Ouest par canton KEF SIGA (P.N.T.E.H, 2006).

CHAPITRE04 :

Matériel et méthodes

4. Matériel et méthodes

4.1. Objectif du travail

Notre travail consiste en l'élaboration et la mise en œuvre d'un protocole d'extraction de l'huile essentielle de *Junipurus oxycedrus* par la méthode d'hydrodistillation et d'étudier le pouvoir antibactérien de cette huile essentielle vis-à-vis des souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) pour d'éventuelle utilisation en lutte biologique.

4.2. Lieu et période de récolte

La récolte des aiguilles de *Junipurus oxycedrus* a été réalisée au sein du canton OURTENE du parc national de Theniet El Had (wilaya de Tissemsilt) le 25/03/2019. Les arbres échantillonnés se trouvent à une altitude de 1545 m qui est déterminée à l'aide d'un GPS (voir annexe N° 1), sur un terrain de pente estimée en 8° (déterminée par un Blum leiss), sur un microrelief concave (observation à l'œil nu) et une exposition Nord-Est (déterminée à l'aide d'une boussole forestière).

4.3. Échantillonnage

L'échantillonnage préconisé dans notre étude est celui de l'échantillonnage subjectif qui consiste à choisir des arbres sains et en bon état avec des aiguilles vertes. Les aiguilles ont été prélevées à partir de deux arbres dont le premier a une hauteur de 2,5 m et une circonférence de 40 cm et le deuxième à une hauteur de 3,5 m et une circonférence de 50 cm.

4.4. Matériel végétal

La récolte des aiguilles (Fig. 10) a été effectuée à l'aide d'un sécateur puis récupérée dans des sacs propres et secs. Les aiguilles sont séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant 15 jours. Une fois arrivé au laboratoire d'Ecologie animale de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, nous avons entamé le tamisage à l'aide d'un tamis de 250 mm de diamètre pour éliminer les déchets et les pierres et commencé l'hydro-distillation



Fig.10 : Séchage des aiguilles (Photo prise le 25/03/2019)

4.5. Souches bactériennes testées

Les souches bactériennes utilisées dans notre étude sont connues dans la pathologie humaine et animale et qui sont naturellement résistantes à certains agents antimicrobiens, nous avons sélectionné deux groupes de bactéries comme le montre le tableau 01.

- Bactérie gram positif : *Staphylococcus aureus*.
- Bactérie gram négatif : *Escherichia coli* (JEAN-LOUP et al, 1992).

Ces souches proviennent du laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Tiaret.

Tableau 1. Les souches testées.

Souches	Forme	Milieu de culture
<i>S.aureus</i>	Suspension	Gélose nutritive
<i>E. Coli</i>	Suspension	Gélose nutritive

4.6. Matériels du laboratoire utilisés

Nous avons utilisé quelques verreries et appareillages qui sont cités dans le tableau ci-dessous :

Tableau 2. Verreries et appareillages utilisés.

Appareillages	Verreries
Autoclave	Ballons
Agitateur	Béchers
Bain marie	Boîtes pétri
Balance	Burettes
Bec benzène	Ampoule à décanté
Chauffe ballons	Eprouvettes
Etuve	Erlen meyers
Incubateur	Micropipette (50 µl)
Microscope optique	Pipettes pasteur
Spectrophotomètre	Tubes à essai
	Réfrigérants
	Entonnoirs
	Barreaux magnétiques
	Cuves
	Ance de platine
	Papier filtre stérile
	Tubes endorf

4.7. Mise en place du protocole expérimental

4.7.1. Extraction de l'huile essentielle par l'hydro distillation1

L'extraction de l'huile essentielle par l'hydro-distillation a été proposée par Garnie en 1891, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les HE et pouvoir les séparer à l'état pur mais de fournir de meilleurs rendements. Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparé par différence de densité (BRUNETON, 1993).

Après avoir séché les aiguilles, nous avons ajouté 50 g de matière végétale sur un ballon contenant 500 ml d'eau distillée et nous avons mis le ballon sur le chauffe ballon après ébullition, la vapeur chargée d'huiles essentielles traversant le réfrigérant se condense et elle est récupérée dans un bécher bien fermé par l'aluminium (Fig. 11).



Fig. 11 : Montage d'extraction de l'huile essentielle par hydro-Distillation (Photo prise le 25/03/2019)

Les conditions opératoires sont citées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3. Condition opératoires.

Matière végétale	<i>Juniperus oxycedrus</i>
La quantité de matière végétale sèche(g)	50
La quantité d'eau distillée (ml)	500
Température (°C)	Inférieur à 100
Temps d'extraction (h)	4

L'huile essentielle récupérée est séparée de l'eau par décantation, cette dernière est réalisée dans une ampoule à décanter dans laquelle le distillat se sépare en deux phases l'une est la phase organique (huile essentielle) et l'autre la phase aqueuse (hydrolat). Après on ouvre le robinet de l'ampoule pour éliminer l'hydrolat et récupérer l'huile essentielle (Fig12).

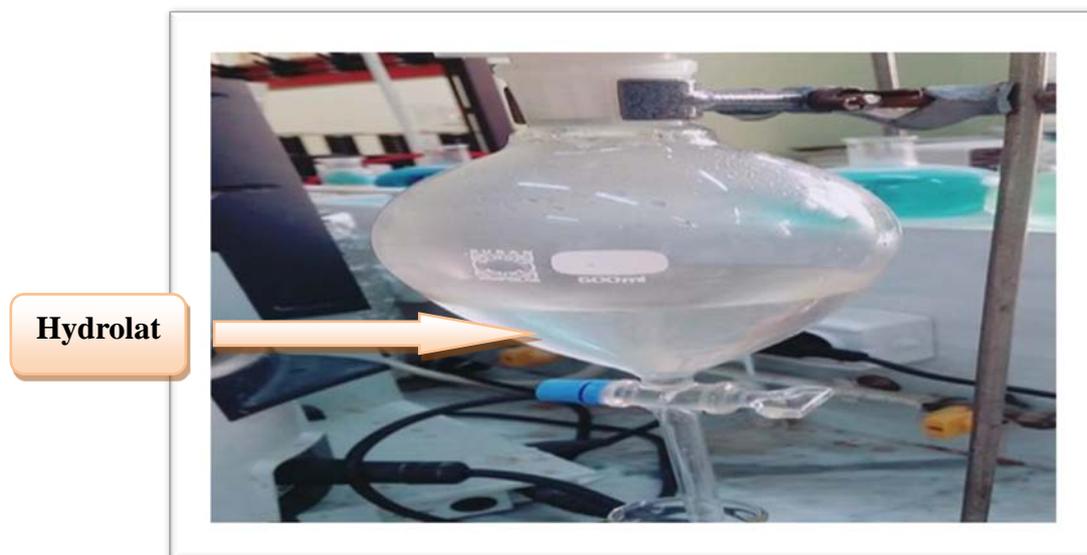


Fig. 12. Décantation de l'huile essentielle (Photo prise le 25/03/2019).

4.7.2. Conservation de l'huile essentielle

Afin que les huiles essentielles gardent leurs propriétés le plus longtemps possible, il est indispensable de bien conserver l'huile essentielle, tout d'abord, les flacons doivent être en verre teinté, car elles craignent la lumière. Il faut bien fermer les bouchons et bien les abriter dans un lieu sec et frais, pour les protéger de l'air, de la chaleur et des écarts de température (MORO BURONZO et SCHNEBELEN, 2012).

C'est pour cette raison que nous avons utilisé le réfrigérateur pour conserver notre huile essentielle à une température de 4 °C dans un tube en verre stérile et fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière (en utilisant le papier d'aluminium).

4.7.3. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue (MHE) et la masse du matériel végétal utilisé (Mv) après récupération de l'huile essentielle (AFNOR, 2000).

Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = (\text{MHE}/\text{Mv}) \times 100$$

Avec : RHE : Rendement en huile essentielle en %

MHE : Masse d'huile essentielle récupérée en gramme (g)

Mv : Masse du matériel végétal en gramme (g)

4.8. Etude de l'activité antibactérienne

4.8.1. Milieux de cultures

Dans cette étude, nous avons utilisé les milieux de cultures suivants :

- Gélose nutritive : pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes
- Gélose de Mueller Hinton : pour l'étude de la sensibilité des bactéries à huile de genévrier ;
- Gélose Chapman : milieux sélectifs pour tous les Staphylocoques ;
- Eau physiologique : pour dilutions.

La gélose de Mueller Hinton a été formulée à l'origine comme un milieu gélose transparent simple servant à la culture de différents types de bactéries celle-ci est aujourd'hui largement utilisée (Fig. 13).



Fig. 13. Ecoulement des boites (Photo prise le 19/06/2019).

Mode opératoire

- Préparer le matériel nécessaire comme le bec benzène, les boîtes de pétries....etc ;
- Mettre le premier réactif l'agar dans l'eau chaude, cette étape est plus importante pour préparer un bon milieu ;
- Ajouter les autres réactifs un par un, vider le milieu dans les flacons puis le mettre dans l'autoclave pendant 15 minute à 120 °C.

4.8.2. Préparation de la suspension bactérienne

A partir des cultures jeunes sur gélose nutritive, nous avons prélevé 3 à 5 colonies bien isolées et identiques dans 9 ml d'eau physiologique stérile, nous avons agité au vortex pendant quelques secondes. La standardisation de la suspension à 108 UFC/ml est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à 625 nm.

Selon les normes de MAC FARLAND, nous avons admis qu'une densité optique comprise entre 0,09 et 0,13 correspond à une concentration de 107 à 108 germes/ml.

4.8.3. Aromatogramme ou méthode des disques

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale appelée antibiogramme ou méthode de disque ou méthode de diffusion en milieu gélosé. La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester. Puis déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencées avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelée zone d'inhibition (Fig.14). Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible à la substance testée, plus il est petit plus la bactérie est résistance. Le diamètre de ces zones d'inhibition est proportionnel à l'activité bactériostatique de l'HE sur le germe testé. On peut exprimer cette activité soit en indiquant directement le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre, soit en traduisant en croix le degré d'activité (GUERIN et CARRET, 1999).

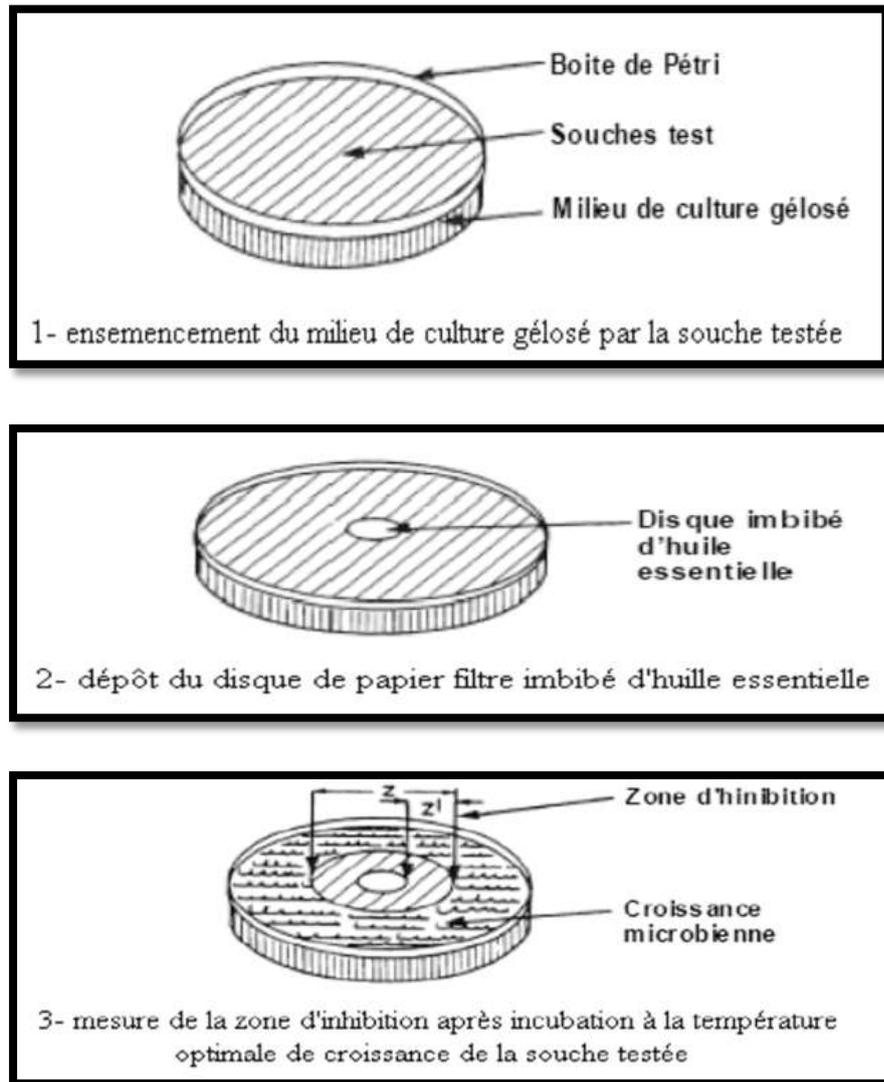


Fig. 14 : Illustration de la méthode des aromagrammes sur une boîte de pétri (LAGHOUTER ,2012).

4.8.3.1. Mode opératoire

Nous avons coulé aseptiquement le milieu de culture gélosé, Mueller Hinton (M.H), en surfusion dans des boîtes de Pétri, à refroidissement et solidification à température ambiante. 9 ml de chaque suspension de culture bactérienne de concentration d'environ (108 UFC/ml) est préparée à partir d'une culture de 18 heures et ensuite étalée à la surface du milieu gélosé.

Nous avons prélevé à l'aide d'une micropipette la concentration (50 μ l) juste des traces d'huile essentielle de genévrier, puis nous avons imbibé lesdisques (papier de

Wattman) pour les deux souches bactériennes (*S. aureus* et *E. coli*) comme elle montre la figure 15.

Pour les témoins, nous avons déposé les disques antibiotiques (NA30 μ g : Nalidixic Acid) pour chaque souche.



Fig. 15. Dépôts des disques (Photo prise le 19/06/2019).

A l'aide d'une pince stérile, nous avons prélevé le disque de cellulose stérile (disque de papier filtre Wattman de 6 mm de diamètre) et nous l'avons imbibé avec des traces d'huile de genévrier. Cette dernière est soigneusement déposée sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen. Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à température ambiante, puis mises en étuve à une température de 37 °C pendant 18 heures. L'expérience est répétée deux fois pour les deux souches bactériennes (Fig. 16).



Fig 16 : souches bactériennes d'E_Coli et S aureus(photo prise le19/06/2019)

Notre protocole expérimental se résume comme le montre la figure 17.

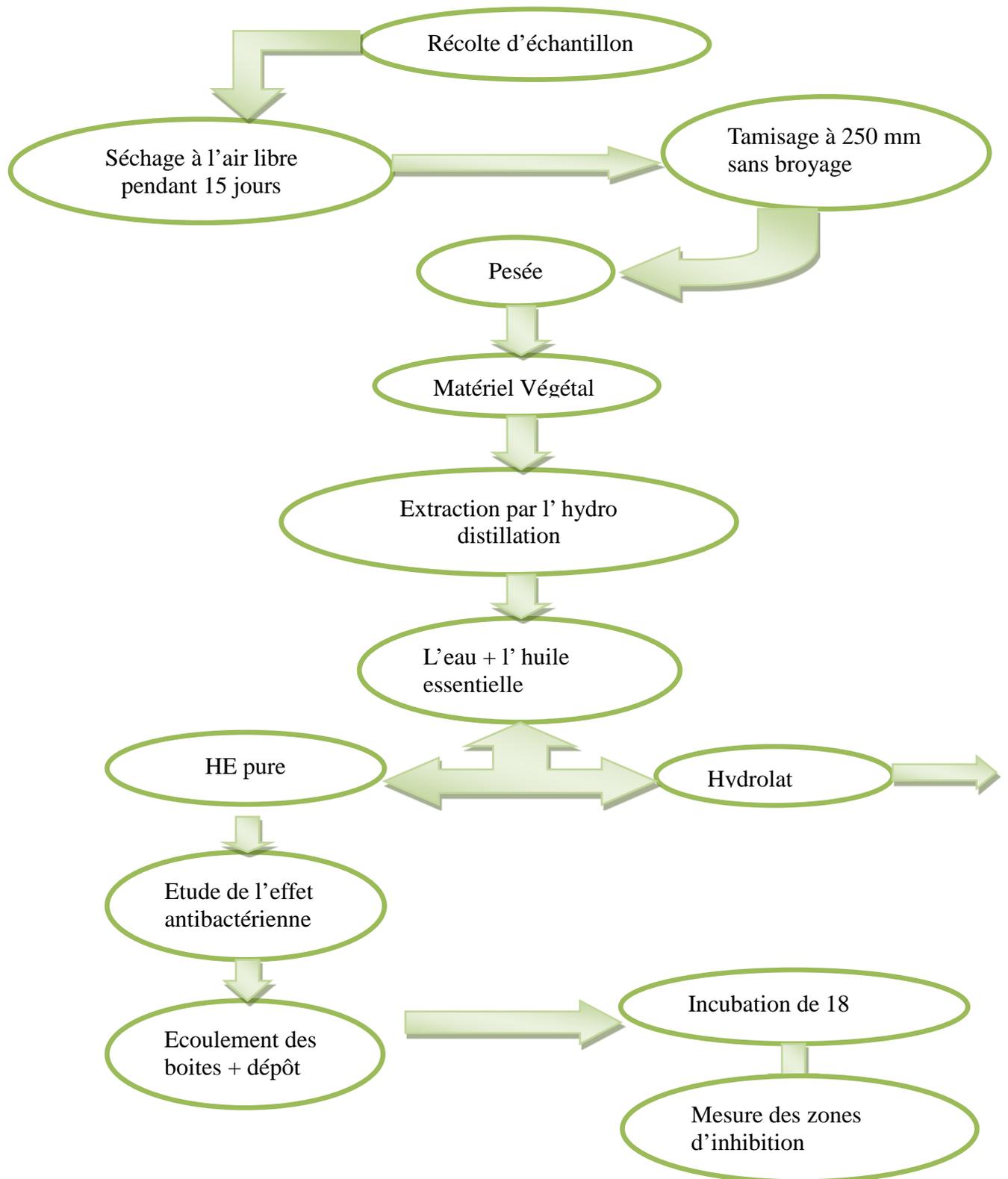


Fig. 17 .Protocole expérimental

CHAPITRE05

Résultats et discussion

Résultats et discussion

5. Résultats 5.1. Résultats et interprétation du Rendement d'huile essentielle des aiguilles de *Juniperus oxycedrus*

Après plusieurs essais (50 essais) d'extraction de l'huile essentielle des aiguilles de *Juniperus oxycedrus* obtenue par la méthode d'hydrodistillation, nous avons confronté une difficulté d'estimation de la valeur du rendement de cette huile suite aux traces obtenues qui ne permettent pas d'avoir une teneur numérique.

La comparaison entre nos résultats et d'autres travaux sémillants de notre thème étudié est montré dans le tableau 04

Tableau 04 : comparaison des rendements en huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus*

Avec ceux des travaux antérieurs

plante (origine)	Partie utilisée dans la plante	Rendement %	Références bibliographique
Juniperus oxycedrus (Tlemcen)	Feuilles (les aiguilles)	0.11	MASARI (2009)
Juniperus oxycedrus (Maroc)	Feuilles	0.4	DJAMEL EDDINE(2010)
Juniperus oxycedrus Thniet El Had	Feuilles	0.73	BOUHADJ(2012)
Juniperus oxycedrus oum el bouagui	Feuilles	0.36	DJEBAILI(2012)
Juniperus oxycedrus Thniet el Had (canton pépinière)	Feuilles	0.75	BERDALI et KERROUM (2017)
Juniperus oxycedrus Thniet El Had (canton OURTENE)	feuilles	Juste des traces	Travail personnel(2019)

D'après la figure 18, nous remarquons que le rendement en huile essentielle des aiguilles de *Juniperus oxycedrus* dans le canton OURTENE du versant Sud du parc du Theniet El Had présente une valeur non chiffrable (tend vers zéro) est inférieur à celui trouvé par BERDALI et KERROUM (2017) dans le canton PÉPINIÈRE du versant Nord de la cédraie où elles ont trouvé une valeur de 0.75 %. Ces résultats

nous permettent de conclure que l'exposition du versant joue un rôle important dans le rendement des HE de cette essence. Si nous nous référons aux résultats de CHOPRA et *al.*, (1960) in DJEBAILI (2012), nous trouvons que leurs études ont montré que le milieu aride est le plus favorable pour la production des HE de *Juniperus oxycedrus*, cette formation en huile essentielle par certaines plantes semble jouer un rôle dans leur protection contre la sécheresse, ce serait ainsi un caractère xérophytique. En revanche, BOUHADJ (2012), a signalé un rendement de 0.73% d'EH dans la région de Thniet El Had. Alors que les travaux de MASARI (2009), réalisés dans la région de Tlemcen et ceux de DJAMEL EDDINE (2010), réalisés au Maroc dévoilent un rendement de 0.11% et 0.4 % respectivement toujours pour la même espèce. Les travaux de DJEBAILI (2012), ont montré que le rendement en HE des aiguilles de cette espèce provenant d'Oum El Bouagui présente une valeur de 0.36%.

Ces variations de teneurs peuvent être dues à plusieurs facteurs notamment le degré de maturité, l'interaction de l'environnement et le moment de récolte DJEBAILI (2012). LEE et *al.* (2003) in DJEBAILI (2012) ont signalé que le rendement en HE varie beaucoup selon la plante utilisée ainsi que la partie de la plante utilisée, le matériel employé pour l'extraction et la méthode d'extraction, aussi bien les conditions d'environnement (sol-climat) de l'origine de la plante. La température et les précipitations affectent également tout le contenu total en huile essentielle, phénols et flavonoïdes (MANSOURI et *al* 2011).

La figure 18 m illustre mieux ces résultats

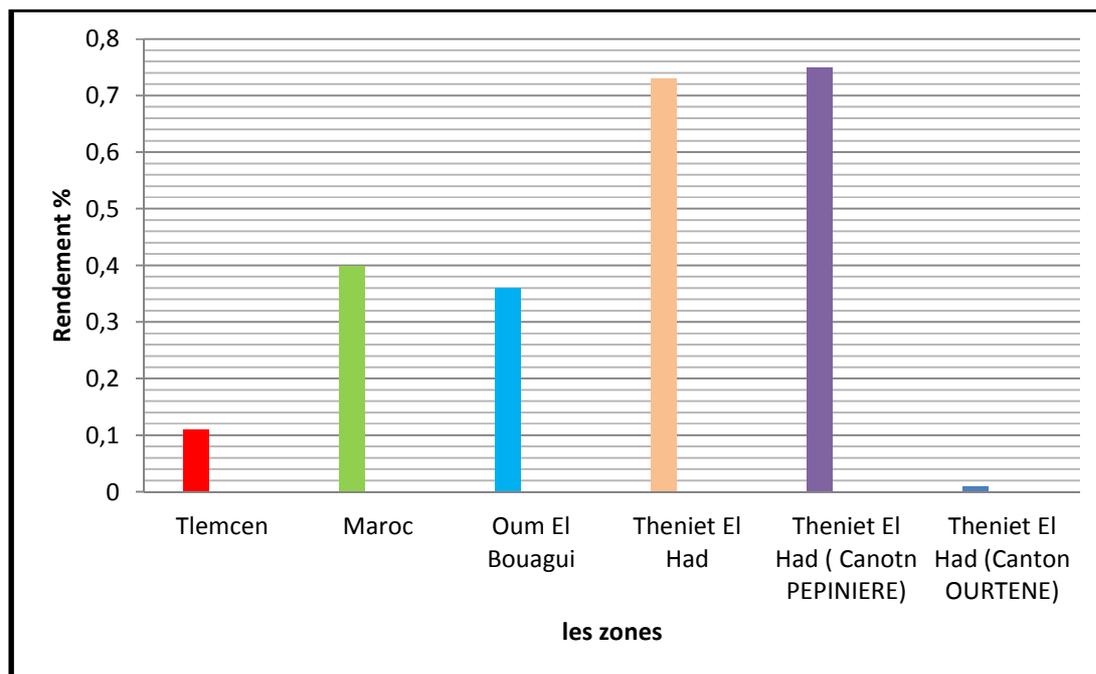


Fig. 18 : Rendements en huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus*

5.2. Caractéristiques organoleptiques

Nous n'avons pas pu déterminer les caractères organoleptiques de l'huile essentielle des aiguilles de *Juniperus oxycedrus* suite à sa faible teneur (traces). DJEBAILI (2012) signale que l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* de la région d'El kala présente une couleur jaunâtre et possède une forte odeur.

5.3. Activité biologique antibactérienne

L'activité antibactérienne est mesurée par le degré d'inhibition de la croissance des germes testés par l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus*.

Le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle a été effectué par la technique des disques par diffusion sur milieu solide ou technique d'antibiogramme.

La sensibilité des souches bactériennes est exprimée par l'apparition d'une zone autour des disques appelé zone d'inhibition (apparition d'un halo), ces disques ont été traités par les HE de genévrier oxycède.

Le pouvoir antibactérien des huiles essentielles de genévrier oxycède du canton OURTENE de la cédraie de Thniet El Had a été appliqué sur deux souches bactériennes ; les bactéries à gram négatives *Escherichia coli* et des bactéries à gram positives *Staphylococcus aureus*.

5.3.1. Test antibiogramme pour *Escherichia coli*

Durant la réalisation de nos essais nous avons utilisé la dose de 50 μ l pour évaluer le degré de sensibilité des bactéries, vis-vis l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus*.

Nous avons utilisé la technique d'antibiogramme pour tester la réaction de *E. coli* vis-à-vis de l'antibiotique (Nazidixic acid 30) et l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* pour voir sa sensibilité bactérienne dont les diamètres des zones d'inhibition sont illustrés dans la tableau 05 :

Tableau 05: Résultats de mesure des zones d'inhibition de la souche *E. coli*

<i>E.Coli</i>	Moyenne de la zone d'inhibition d'HE	Témoin disque antibiotique (NA30)
Halo d'inhibition (mm)	7	25
Sensibilité	Non sensible (-)	Extrêmement sensible (+++)

A travers ces résultats, nous remarquons que la bactérie *E.coli* est non sensible voir résistante à cette dose d'huile dont le diamètre des zones d'inhibition est de 7 mm, contrairement au disque antibiotique (NA30,) qui est très efficace avec un diamètre de la zone d'inhibition égale à 25 mm (Fig.19 et 20).

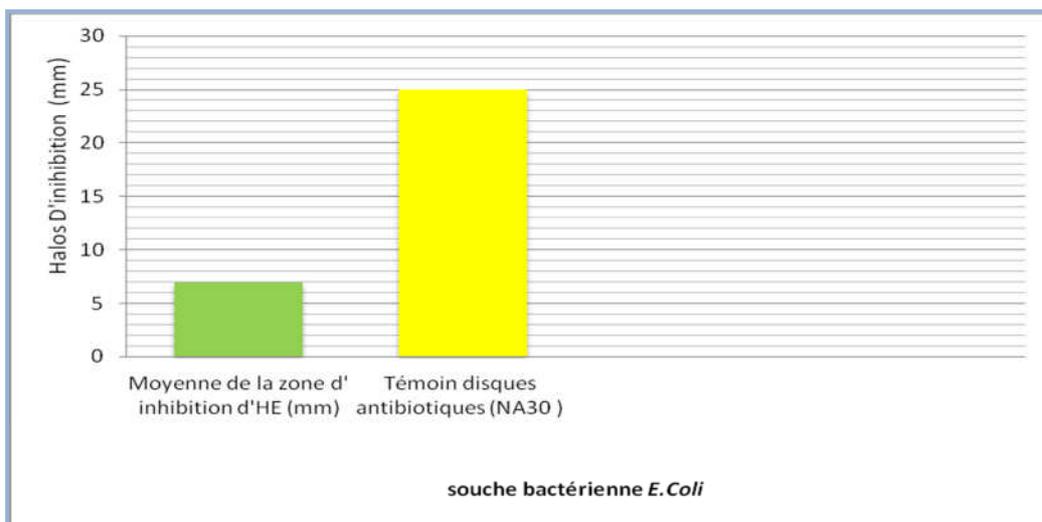


Fig. 19. Diamètres des zones d'inhibition de la souche *E. Coli* par l'effet d'huile

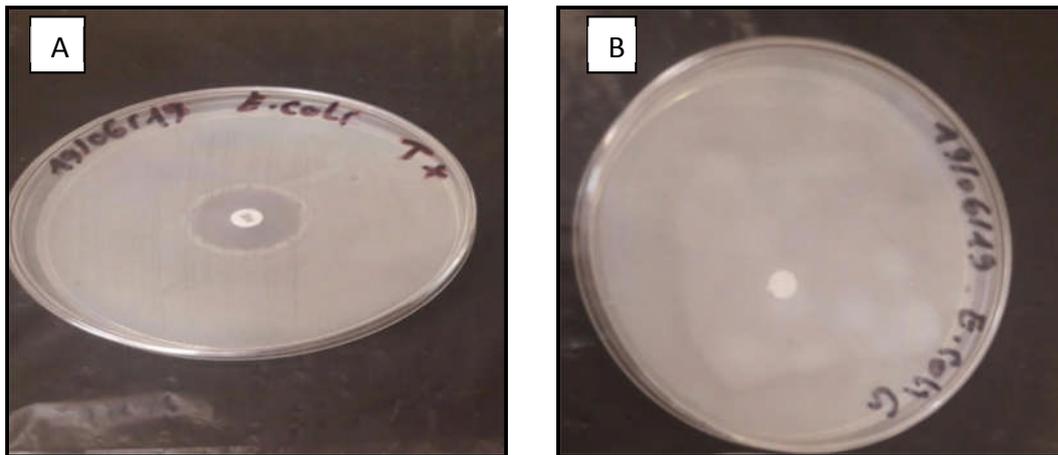


Fig.20. (A) Zone d'inhibition provoquée par HE et (B) témoin contre la souche *E coli* à la dose de 50 μ l

5.3.2. Test antibiogramme pour *Staphylococcus aureus*

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'HE de genévrier oxycède vis-à-vis la bactérie *Staphylococcus aureus* sont illustrés dans le tableau 06.

Tableau 06: Résultats de mesure des zones d'inhibition de la souche *S. aureus*

<i>S. aureus</i>	Moyenne de la zone d'inhibition d'HE	Témoin disque antibiotique(NA30)
Halo d'inhibition (mm)	0	28
Sensibilité	Non sensible (-)	Extrêmement sensible (+++)

D'après le test réalisé dans le tableau ci-dessus, aucun résultat n'a été marqué, cela se traduit par une résistance de la souche bactérienne vis-à-vis cette dose utilisée, nous notons que la valeur moyenne des diamètres de la zone d'inhibition est égale de 0mm

La comparaison avec le témoin montre que la souche est extrêmement sensible au disque d'antibiotique utilisé, avec une valeur de diamètre d'halo d'inhibition égale à 28mm (Fig.21et22).

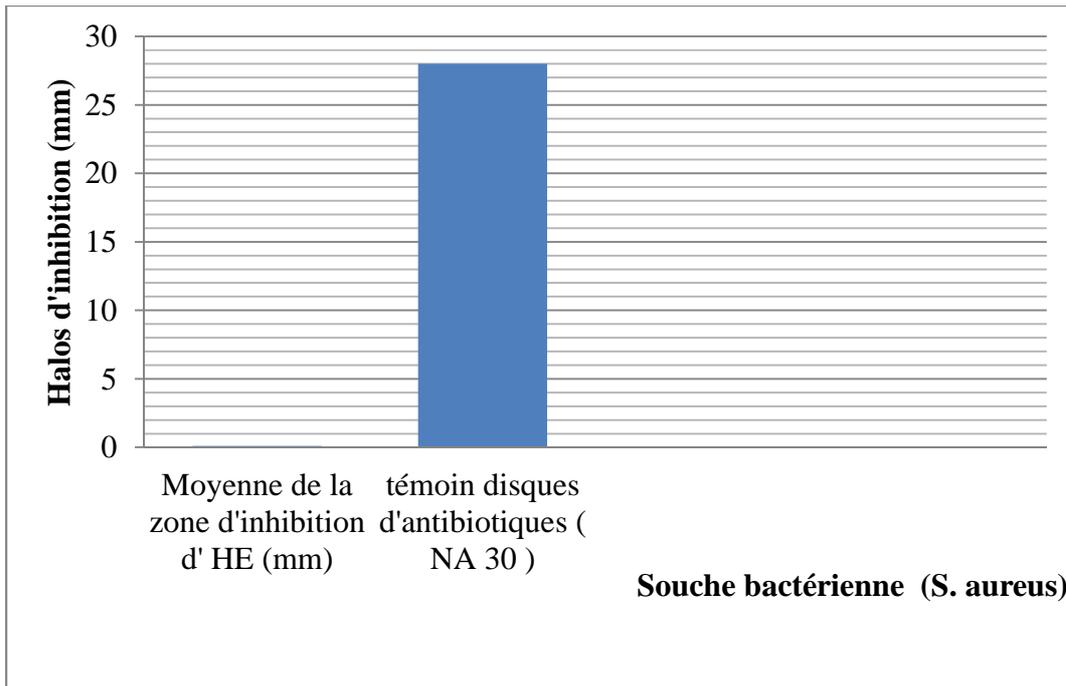


Fig. 21. Diamètres des zones d'inhibition des souches *S.aureus* par l'effet des huiles essentielles des aiguilles de *Juniperus oxycedrus*.

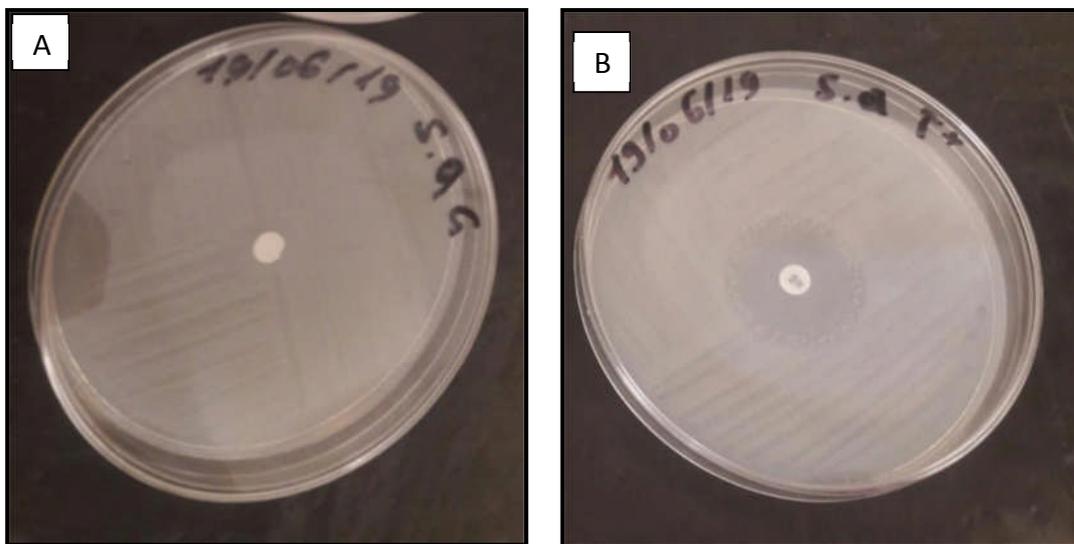


Fig. 22. (A) Zone d'inhibition provoquée par HE et (B) témoin contre la souche *S.aureus* à la dose de 50µl

5.4. Lecture des résultats

La lecture des résultats se fait par la mesure des zones d'inhibition, qui sont représentés par une auréole claire formé autour de chaque disque. Les résultats sont exprimés selon quatre niveaux d'activité (PONCE et al, 2003 in HADJI ,2013) :

- ✓ $D < 8\text{mm}$: souches résistantes (-) ;
- ✓ $9\text{ mm} \leq D \leq 14\text{ mm}$: souches sensibles (+) ;
- ✓ $15\text{ mm} \leq D \leq 19\text{ mm}$: souches très sensibles (++) ;
- ✓ $D \geq 20\text{ mm}$: souches extrêmement sensibles (+++).

Les deux bactéries résistent à l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* avec des diamètres inférieurs à 8mm.

5.5. Interprétation

L'action antimicrobienne des huiles essentielles se déroule en trois phases D'après (CAILLET et al, 2007 in ALDJI et al, 2016) :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaire.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie Cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

CONCLUSION

Conclusion

L'objectif de notre travail se réside dans l'étude d'extraction de l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* qui appartient à la famille des cupressacées récolté dans le canton « OURTENE » du parc national de Theniet El Had. Ce dernier est situé à 2 Km au Sud-Ouest de la ville de Theniet El Had (wilaya de Tissemsilt), d'une superficie de 3484 ha, il fait partie dans le prolongement Est du massif l'Ouarsenis. Sur la base des caractéristiques climatiques du milieu d'étude, il en ressort que la cédraie de Theniet El Had est soumise à un étage bioclimatique sub-humide à hiver froid.

Afin de mieux élucider la problématique soulevée au préalable, notre travail est consacré à la détermination du rendement de l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* et d'évaluer au mieux l'effet antibactérien de ces huiles sur les bactéries : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

Le processus d'extraction d'huile essentielle des aiguilles prélevées de *Juniperus oxycedrus* par l'hydrodistillation, a permis dans notre cas d'avoir seulement une infime quantité huileuse dont le rendement tant vers zéro. Cela se traduit par l'existence de plusieurs facteurs tels que les facteurs climatiques, facteurs édaphiques, la partie de la plante utilisée, le cycle végétatif de l'organe, l'origine de la plante et le mode d'extraction.

En ce qui concerne la sensibilité des espèces microbiennes contre l'huile essentielle, nous avons constaté que les deux souches bactériennes sont résistantes dans la mesure où nous avons trouvé 0 mm pour la souche *Staphylococcus aureus* et un diamètre de 7 mm pour la souche d'*Escherichia coli*. Par contre les deux bactéries possèdent une extrême sensibilité vis-à-vis l'antibiotique testé (Nalidixic Acid NA30 µg).

Il s'avéra indispensable de pouvoir approfondir les études sur l'effet des autres conditions environnementaux notamment les conditions pédologiques, ainsi que l'étude et la valorisation de l'effet des variations pédologiques sur la teneur et la composition chimique des métabolites secondaires à travers l'utilisation d'autres méthodes d'analyse. De même, étudier l'activité biologique afin de développer le marché de l'industrie des médicaments pour faire cette étude une source supplémentaire de revenu et un outil de développement durable.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographique

- ❖ **ADAMS ,R.P .1998** .the leaf essential oils and chemotaxonomy of juniperus sect .juniperus biochemical systematic and ecology 26pp -673-645
- ❖ **ALDJI, R. BENKELTOUM, K.REGHIOUI, B.** Etude des propriétés antibactériennes de huiles essentielles .Cas huile essentielle du romarin. Thèse de master en écosystème steppiques et sahariens, Univ. Ibn khaldoun, Tiaret, (2016) :38pp.
- ❖ **BATEL, DJ. 1990.** Contribution à l'étude de la productivité de *Cedrus atlantica manetti* en relation avec la station écologique, application au parc national du Thniet el Had. Mémoire d'Ingénierie Agronomie, INA, El Harrach, Alger, 62p.
- ❖ **BAYER, E, BUTTLER, K, p ; FINKENZELLER. J .2009.** Guide de la flore méditerranéenne, caractéristiques, habitat, distribution et particularité de 536 espèces, Edition : Del chaux et Neislé. France .287p.
- ❖ **BELKACEM, Z.** Contribution à l'étude du cortège floristique de l'espèce *juniperus oxycedrus* (cupressacées) dans la région de Tlemcen, Univ. Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, (2015) :99pp.
- ❖ **BELKAID, B. 1988.** Etude phyto - écologique et possibilité d'amélioration dans la cédraie du parc national de Theniet El Had. Thèse Ing. ITA, Mostaganem, 46p.
- ❖ **BENETAUD, E. 2011.** Les techniques d'extraction. Edition comité français du parfum. France. pp : 02-07
- ❖ **BOUDY, P.1950.** Economie forestière nord africaine Tom 2 monographie et traitement des essences forestière Edition : la rousse, Paris ; 638p.
- ❖ **BOUDY, P.1952.** guide forestier en Afrique du nord .Edition La Maison rustique, Paris, 288 p.
- ❖ **BOUHADJ, F.** L'effet thérapeutique des huiles essentielles de trois plantes médicinales (Genévrier oxycédre, Pistachier de l'Atlas, le Rosier sauvage) dans la lutte contre les pucerons Thèse d'ingénieur d'état en sciences biologique écosystèmes forestiers, Univ .Ibn Khaldoun

- ❖ **BOUAZZA, K.** Variabilité situationnelle et état actuel de la cédraie de Theniet El Had (cas du canton PEPINIERE), Thèse d'ingénieur d'état en écologie végétale et environnement, Univ. IBN KHALDOUN, Tiaret, (2011):79pp.
- ❖ **BRUNETON, J.1993.**Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales 2eme éd ; Tech & doc, Lavoisier, paris, 350p.
- ❖ **BRUNETON J.1999. Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales.** 3ème édition. Ed. Lavoisier, Paris, 500p
- ❖ **COUPLAN, F.** 2005.le régal végétal. Edition son de terre, Paris, 499 p
- ❖ **DEBAZAC, E, F. 1991.** Manuel des conifères : 2eme Edition : ENGREF, Nancy, 172p
- ❖ **DUCHAUFOR, PH. 1988.** Abrège. Pédologie.2eme Edition, Masson, Paris, 224p.
- ❖ **DGF. 2005.** Parc national de Theniet El Had.DGF., Alger, 3p
- ❖ **EMBERGER ,1960** Les végétaux vasculaires. Tom 2.Masson et éditeur : Paris, 753p
- ❖ **FEDDAG, F .2012 .** la gestion intégrée de la formation forestière du chêne liège (*Quercus suber L*) à partir de sig dans le parc national de Thniet El Had cas de canton OURTENE .Mémoire d'Ingénierie. agronomie INT.80 p
- ❖ **FESTY .D.2014.**Ma bible des huiles essentielles, Guide complet d'aromathérapie, Edition MALIN ,549p.
- ❖ **FOUDIL, AEK ; GUETOUACHE, T ; MANSEUR, H.** Mise à jour et inventaire du Peuplement mammalien du parc national de Theniet El Had. Thèse d'ingénieur d'état en écologie animal, Univ.IBN KHALDOUN, Tiaret(2012) : 63 pp +annexes.
- ❖ **JAMALLEDDENE, M.** Extraction et caractérisation des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et *Juniperus oxycedrus* du Moyen Atlas. Thèse de master Science et Technique Gestion et conservation de la biodiversité, Univ. Sidi Mohamed Ben Abdellah Maroc (2010) :53pp+ Annexes
- ❖ **JEAN_ LOUP, A ; HANRY, D ; FRONCOIS, D ; HENRI, M.1992.**Bactériologie clinique. Edition France1992, 511p
- ❖ **HADJI, O .1998.** contribution a l'étude écophysiological de cèdre de l'atlas (*Cedrus atlantica Manetti*) au parc National de Thniet El Had (w de Tissemsilt).Mémoire magister .Sciences Agro, INA, E l Harrach, Alger, 147 p. Annexes
- ❖ **HADJ, W .**valorisation des huiles essentielles : cas de l'utilisation de l huile de cade dans les eaux. Thèse de magister en génie de procédés, Univ Kasdi Marbeh , Ouargla (2013) : 79 pp + Annexes

- ❖ **HADDOUCHI F. ET BENMANSOUR A. (2008).** Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques: Applications à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire.* 8 (3) : 20-27.
- ❖ **GUERIN, V ; CARRET, G. 1999.** L'antibiogramme, principes, méthodologie, intérêt et limite Journées Nationales GTV-INRA, p. 5-12.s
- ❖ **LAGHOUIER, O-K.** Etude des activités biologiques des huiles essentielles de menthe de la région de Ghardaïa. Thèse de magister en chimie organique appliqué, Univ. Amar Telidji, Laghouat, (2012) :127pp +Annexes.
- ❖ **LISAN, B. 2014** .atelier présentation, huiles essentielle version V1 .France .90p
- ❖ **LEFIEF, A .2012.** le grand livre des huiles essentielles ; Edition, paris, 191 p
- ❖ **MAIRE .R .1952.** flore de l'Afrique du Nord. Encyclopédie biologique. Volume 1. Ed .Paul Le Chevalier, France, 520p.
- ❖ **MARCEL, J .2001.** Foret guide de dendrologie arbres arbustes arbrisseaux des forêts françaises, 4 eme Edition NANCY : Paris, 347.
- ❖ **MAZARI, K.** Etude phytochimique et pouvoir antimicrobien de *Juniperus phoenicea L.*, *Juniperus oxycedrus L.* et *Cupressus sempervirens L.* de la région de Tlemcen .Thèse de magister en biologie, Univ.Abou Bakr Belkaid, Tlemcen (2009) :102pp +Annexes
- ❖ **MESSABIS. 2009.** Etude de la régénération naturelle du cèdre de l'atlas (*Cedrus atlantica Manetti*) dans le parc national de Thniet El Had (W de Tissemsilt) approche par SIG .Mémoire. Ingénierie Agro .INA, El Harrach, Alger, 72 p+ annexe
- ❖ **MORO BURONZO .A. 2009.** grand guide des huiles essentielles, santé –beauté-bien-être, Edition HACHETTE PRATIQUE, Paris ; 254p.
- ❖ **MORO BURONZO, A ; SCHNEBELEN, 2012.** Huiles essentielle, les 18 huiles essentielles pour se soigner ,2012 ; Edition FIRST : Paris, 160p.
- ❖ **MOUSSAOUI, M.2014.** Plante médicinales de méditerranée et d'orient. France : UBIN-PRINT.137p.
- ❖ **PNTEH. 2006.** Atlas des parcs nationaux Ed_Eddiwan, 98p.
- ❖ **PNTEH. 2012.** Parc national des cédres de Theniet El Had, Plan de gestion (2008-2012)65p.
- ❖ **QUEZEL, P ; SANTA, S.1962.** Nouvelle flore de l'Algérie Tom 1. Edition du centre de la recherche scientifique : Paris, 558p
- ❖ **RIOU-NIVERT, P.2001.** les résineux. Tom 1.Instituts pour le développement forestier : Paris, 254p
- ❖ **RIOU-NIVERT, P .2005.** les résineux Tom 2 écologie et pathologie. .Instituts pour le développement forestier : Paris, 447p.

- ❖ **ZEDEK, M .1993.** contribution à l'étude de la productivité du *cédrus atlantica Manetti* (cedre de l'atlas) dans le P .N .T. H .Thèse magister INA, Alger, 175 p + annexes
- ❖ **ZHIRI, A ; BAUDOUX, D.2005.**Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies.
Edition inspire Développement ; Luxembourg : 80p

ANNEXE
ANNEXE

Annexe:1 Matériels utilisé sur le terrain et récolte des aiguilles



Mire pliante

Sécateurs

Boussole

Blum-Leiss

Appareil GPS

Résumé :

Ce travail relevé de l'étude d'évaluation antibactérienne des huiles essentielles des aiguilles de la plante de *Juniperus oxycedrus* récoltés de canton «OURTENE» du parc national de Theniet El Had (wilaya de Tissemsilt).

L'extraction des huiles essentielles par l'hydro distillation a révélé un rendement très faible (des traces n'atteignent pas à une valeur numérique). L'étude de l'effet antibactérienne de ces huiles a été effectué par la méthode des disques vis- a- vis les souches bactérienne testé *S. aureus* et *E. Coli*. Le résultat ne montre que *E. coli* avec une zone d'inhibition de diamètre de 7 mm par contre l'absence d'inhibition chez *S. aureus* sensible à l'huile essentielle de *Juniperus oxycédrus* . *aureus* ce qui nous permet de conclure que Les deux souche bactérienne sont non

Mots clés : *Juniperus oxycédrus*, Canton OURTENE, huiles essentielles, activité antibactérienne, rendement.

المخلص:

يركز هذا العمل على دراسة تقييميه للفعالية المضادة للبكتيريا للزيوت الأساسية لأوراق نبتة العرعر الشربيني (الطاقة) المستخلصة من Canton OURTENE للحظيرة الوطنية لثنية الحد .

استخلاص الزيوت الأساسية بالتقطير المائي كان مردوده ضعيفا جدا حال دون تسجيل قيمة عددية . أما دراسة التأثير المضاد البكتيري لهذه الزيوت من خلال طريقة الأقراص ضد السلالتين البكتيريتين المختبرتين (اشريشيا كولي و ستا فيلو كوكيس) التي اظهرت النتائج أن البكتيريا الأولى لها منطقة التثبيط ذات قطر 7 مم في حين أنه لم يسجل أي تثبيط للبكتيريا الثانية, مما يسمح لنا بالقول أن البكتيريتين ليستا حساستين للزيوت الأساسية لأوراق نبتة العرعر الشربيني ستافيلوكوكيس.

الكلمات المفتاحية : العرعر الشربيني (الطاقة) , Canton OURTENE , الزيوت الأساسية , الفعالية المضادة للبكتيريا , المردود.