

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 : 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 Biologiques

Spécialité : Biologie moléculaire et cellulaire

Présenté par :

- Melle. REGUIEG Chahrazad

- Melle. SIKADDOUR Selma

Thème

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

Soutenu le : 03/11/2020

Devant les membres de jury :

Grade

Président: M. TADJ AEK.

MAA

Examineur: M. YEZLI W.

MCA

Encadrant: M. BOUSSAID M.

MCA

Co-encadrant: Mme. TAIBI F.

Doctorante

Année universitaire 2019-2020

REMERCIEMENTS

Avant toutes choses, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir

Donné la force et la patience.

Nous tenons tout d'abord à adresser nos plus vifs remerciements à

M. BOUSSAID Mohamed enseignant à Université Ibn Khaldoun –Tiaret qui nous a encadré tout au long de ce travail et qui nous a fait partager ses brillantes Intuitions. Qu'il soit aussi remercié pour sa gentillesse, sa disponibilité permanente et pour les nombreux encouragements qu'il nous a prodigué.

Nous remercions également M. TADJAEK enseignant à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de Université Ibn Khaldoun –Tiaret d'avoir accepté de présider ce jury.

Nous remercions également M. YEZLI W enseignant 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.

Nous remercions la Co-encadrant Mme. TAIBI F. pour les nombreux services qu'elle nous a rendu durant la réalisation de ce travail.

Nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Nous tenons également à remercier nos enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie pour les moments agréables que nous avons passé avec eux durant les cinq années de notre parcours.

DEDICACES

« Il n'est pas d'hiver sans neige, de printemps sans soleil et de joie sans partagée »

Je dédie ce modeste travail avant tout

A ma très chère mère, tu m'as donné la vie, la tendresse, et le courage pour réussir.

Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te

Porte. En témoignage, je t'offre ce modeste travail

Pour te remercier, tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée

Que Dieu te préserve.

A mon très cher père

A mon deuxième père : Ahmed

Merci pour l'amour, la gratitude pour tous les soutiens et les

Sacrifices dont il a fait preuve à mon égard

Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments

Que Dieu te préserve et te procure santé et longue vie

A ma grand-mère, que Dieu te préserve

Aux petites princesses : Assil, Rama, Achouak, Bouchra, Anfale, Kenza et Manal

Aux enfants : Fayçal, Nabil et Sohaïbe. A mes chers frères : Lakhdar et Boutaleb.

A ma collègue Selma. A tous mes amies: Ibtissem, Fatiha, Aïcha, Nabila

Sans oublier mes camarades : Kheir dinne, M'hamed

Aucun mot, ni aucun signe ne pourront décrire votre implication dans mon

Epanouissement

A toute la famille Reguieg et Djilali

A tous ceux que j'aime.....

Chahrazad

DEDICACES

Je tiens à saisir cette occasion et adresser mes profonds remerciements et mes

Profondes reconnaissance aux êtres les plus chers:

Merci et mille fois merci mes très chers parents pour l'amour inconditionnel qui m'accompagne depuis toujours; pour le soutien dans mes choix, les tendres encouragements et les grands sacrifices que vous m'avez apporté durant ces années de formation.

Je prie le bon Dieu de veiller sur vous, en espérant que vous serez toujours fiers de moi.

Je dédie ce modeste travail également

A mes frères Rachid ; M'hamed ; Abdelkader ; Abdelaziz ; Mohamed et mes sœurs

Zohour, Kheira ; Khadra ; Nawal ; Sara.

A mes amies Fatiha ; Ibtissem ; Wassila, Sara et Chahrazad

Mes cousins Mohamed et Omar

A tous ceux que j'aime et à toute la famille Sikaddour.

A toutes mes amies et mes camarades de promotion Biologie moléculaire et cellulaire pour les années qu'on a passé ensemble.

Selma

ملخص

تتواجد مركبات الأيض الثانوي في مختلف المستخلصات الطبيعية كمصدر لمختلف الأنشطة البيولوجية. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الأنشطة المضادة للميكروبات والمضادة للأكسدة للمستخلصات الإيثانولية لأوراق شجرة الأرز الأطلسي والتي تم جمعها من ثلاث مناطق من منطقة توزيعها في الجزائر باعتبارها من أهم الأنواع المستوطنة فيها.

أثبتت النتائج المتحصل عليها باستخدام مختلف التقنيات في العديد من الدراسات أن للأرز الأطلسي نشاط مضاد للميكروبات ضد البكتيريا موجبة الجرام وضد خميرة المبيضات البيضاء. يتأثر هذا النشاط بنوع المستخلص والسلالة المختبرة. من ناحية أخرى أظهرت الأجزاء الهوائية للأرز الأطلسي نشاطا هاما من مضادات الأكسدة بعد اختبارها بطريقة DPPH والتي اعطت قيم منخفضة لـ (تركيز مثبط 50) IC_{50} خاصة عند المستخلصات الميثانولية للمخروط.

تعتمد الأنشطة البيولوجية على ضرورة وجود البوليفينول والفلافونويد والعفص على مستوى الأجزاء الهوائية للنوع المدروس.

الكلمات المفتاحية: الأرز الأطلسي، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للميكروبات، المستخلص الإيثانولي، المستخلص العضوي، الجزائر.

Résumé

Les extraits naturels de plantes contiennent une variété de composés de métabolites secondaires aux quels sont attribuées diverses activités biologiques.

La présente étude porte sur l'évaluation des propriétés antimicrobienne et antioxydante des extraits éthanoliques issus des feuilles de l'espèce forestière et endémique « *Cedrus atlantica* » collectées sur trois régions de son aire de distribution en Algérie. Les résultats obtenus par l'utilisation de différentes techniques à travers plusieurs études sur cette espèce ont révélé une activité antimicrobienne contre les bactéries à Gram positif ainsi que sur la levure *Candida albicans*.

Cette activité varie d'un type d'extrait à un autre et selon les souches testées. De même, des extraits organiques des parties aériennes du cèdre de l'Atlas testés par la méthode de DPPH ont présenté des une activité antioxydante intéressante, représentée par leurs valeurs d'IC50 faibles surtout pour les extraits méthanoliques du cône. Ces activités biologiques sont associées aux polyphénols, aux flavonoïdes et aux tanins que renferment les différentes parties aériennes de cette espèce endémique.

Mots clés : *Cedrus atlantica*, activité antioxydante, activité antimicrobienne, extrait éthanolique, extraits organiques, Algérie.

Abstract

The Secondary metabolite compounds exist in several natural extracts as a source for various biological activities.

The objective of this study is to assess the antimicrobial and antioxidant activities of the ethanolic extracts of the leaves of the Atlantic cedar tree, which were collected from three regions of their distribution area in Algeria, as they are considered the most important endemic species in them. The results obtained using various techniques are proven in many studies. The Atlantic rice has antimicrobial activity against Gram-positive bacteria and *Candida albicans* yeast. This activity is influenced by the type of extract and the strain tested.

On the other hand, the aerial parts of Atlantic rice showed significant antioxidant activity after testing with the DPPH method, which gave reduced values for IC₅₀, especially on extracts Methanolism for the cone. Biological activities depend on the necessity of the presence of polyphenols, flavonoids and tannins at the level of the aerial parts of the studied species.

Key words: *Cedrus atlantica*, antioxidant activity, antimicrobial activity, ethanolic extract, organic extracts, Algeria.

Liste des figures

Figure 1. <i>Cedrus atlantica</i>	4
Figure 2. Répartition naturelle du cèdre de l'Atlas.	5
Figure 3. Aiguilles (feuilles) sèches du cèdre de l'Atlas de deux sites différents.....	12
Figure 4. Quelques étapes de préparation de l'extrait éthanolique	13
Figure 5. Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH	16

Liste des tableaux

Tableau 1. Les coordonnées géographiques des sites de prélèvement.....	11
Tableau 2. Souches microbiennes utilisées.....	11
Tableau 3. Rendements des différents extraits éthanoliques selon les sites de prélèvements.....	18
Tableau 4. Résultats des tests antimicrobiens.....	19
Tableau 5. Activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique.....	20
Tableau 6. IC ₅₀ des standards et des extraits méthanoliques des aiguilles et des cônes du Cèdre de l'Atlas.....	23

Liste des abréviations

Abs:	Absorbance.
BHA:	Butylated hydroxyanisole.
C:	Chloramphenicol 30mcg.
CMI:	Concentration minimal inhibitrice.
DMSO:	Dimethyl sulfoxyde.
DO:	Densité optique.
DPPH:	2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazil.
EMA:	Extrait méthanolique des aiguilles.
F :	Amphotericine B.
FRAP :	Ferric Reducing Antioxydant Power
IC50:	Concentration inhibitrice de 50% d'une activité.
MHA :	Muller Hinton Agar.
ROO• :	Radical peroxyde
RO• :	Radical alkoxyde
TPTZ:	2, 4, 6-tris 2-pyridyl-1, 3, 5-s-triazine.

Table des Métiars

Remerciements

Dédicaces

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

PREMIÈRE PARTIE: Synthèse bibliographies

1. Le cèdre de l'Atlas	3
1.1 .Généralité	3
1.2. Caractéristique botanique	3
1.3. Aire de répartition.....	4
1.3.1. Aire naturelle	4
1.3.2. Aire d'introduction	5
1.4. Intérêt médicinal	5
1.5. Composition biochimique	6
2. Activité antioxydante et antimicrobienne.....	6
2.1. Activité antioxydante	6
2.1.1. Stress oxydative	6
2.1.2. Les antioxydants	6
2.1.3. Les radicaux libres	6
2.1.4. Méthodes d'évaluation d'activité antioxydants par la méthode de DPPH.....	6
a. Le test du DPPH (2 ; 2_diphényl_1_picrylhydrazyle)	6
b. Le test de FRAP	7
2.2. Activité antimicrobienne	7
2.2.1. La méthode de la microdilution en milieu liquide.....	7
2.2.2. La technique en milieu solide (diffusion en disque).....	8

3. Les méthodes d'extractions des métabolites secondaires.....	8
3.1. Hydrodistillation.....	8
3.2. Entrainement à la vapeur.....	8
3.3. Extraction au CO ₂ supercritique.....	8
3.4. Extraction par macération.....	9
3.5. Extraction assisté par Soxhlet.....	9
3.6. Extraction assisté par ultrasons.....	9
4. <i>Les microorganismes testés</i>	9
4.1. Bactéries.....	9
4.2. Champignons.....	10

DEUXIEME PARTIE : Matériel et méthodes

1. Objectif de l'étude.....	11
2. Matériel et méthodes.....	11
2.1 Matériel biologique.....	11
2.1.1. Matériel végétal.....	11
2.1.2. Souches microbiennes utilisées.....	11
2.2. Méthode.....	11
2.2.1. Préparation de l'extrait éthanolique.....	11
2.2.1.1. Séchage et broyage.....	11
2.2.1.2. Macération et filtration.....	12
2.2.2. Calcule de rendement.....	13
2.2.3. Activité antibactérienne.....	13
2.2.3.1. Protocole de l'activité antimicrobienne.....	13
a. Préparation de milieu de culture.....	13
b. Repiquage des espèces bactériennes.....	14
c. Préparation de l'inoculum.....	14
d. Ensemencement.....	14
e. Préparation des dilutions.....	14
f. Dispersion des solutions des extraits.....	15
g. Incubation.....	15
2.2.4. Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante.....	15
a. Principe.....	15

b. Mode opératoire	16
--------------------------	----

TROISIEME PARTIE : Résultats et discussion

1. Rendement des extraits éthanoliques	18
2. Activité biologique.....	19
2.1. Activité antimicrobienne	19
2.2. Activité antioxydante	21
Conclusion	25
Références Bibliographiques	

Introduction

Dans le monde entier, l'intérêt pour la médecine traditionnelle ne cesse de croître. Compte tenu du nombre de maladies qu'elle soulage à moindre coût (**Ali-Delille 2013**). En effet, l'utilisation des plantes médicinales par les herboristes et certains chimistes a valorisé la médecine traditionnelle, à laquelle sont intégrées les connaissances de la biologie moderne (**Ali-Delille 2013**). Les parties de plantes médicinales sont généralement riches en composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les phénols, les stilbènes, les tanins, les coumarines, les lignanes, etc. Ces composés chimiques ont de multiples effets biologiques, notamment antimicrobiens et antioxydants.

La multirésistance microbienne pose de grands problèmes au niveau de la santé publique. En fait, il ne reste que peu d'agents antimicrobiens effectifs contre certains microbes multirésistants. Les scientifiques sont donc à la recherche de nouveaux produits antimicrobiens (**Kuete et al 2004**). Ces substances antimicrobiennes sont d'origine naturelle, et on considère que leur influence sur l'environnement est faible et qu'elles peuvent être utilisées comme des agents de contrôle biologique efficaces.

Les antioxydants, également appelés inhibiteurs d'oxydation, sont des composés qui retardent ou empêchent l'oxydation et, en général, prolongent la vie des matières oxydables. Les oxydants ou radicaux libres sont des espèces ayant une demi-vie très courte, une réactivité élevée et une activité dommageable envers les macromolécules comme les protéines, les lipides et l'ADN. Les formulations de médicaments à base d'antioxydants sont largement utilisées pour la prévention et le traitement de maladies complexes telles que la maladie d'Alzheimer, le cancer, l'athérosclérose, les accidents vasculaires cérébraux et le diabète. Cependant, les antioxydants synthétiques sont susceptibles de causer des effets indésirables, de ce fait, les scientifiques se tournent vers les soins à base de plantes qui sont moins agressifs et bien acceptés par l'organisme. En effet, les plantes représentent une source inépuisable de principes actifs (**Iserin 2001 ; Adida et al 2016**). Ainsi, les plantes médicinales à potentiel antioxydant sont généralement utilisées comme source alternative de médecine pour atténuer les maladies associées au stress oxydatif.

Les plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études (**Sanago, 2006 ; Bérubé-Gagnon, 2006**).

Introduction

Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, 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). Cependant, très peu de recherches ont été menées sur les activités biologiques des feuilles de *Cedrus atlantica*, telles que l'activité antibactérienne et l'activité Antioxydant. C'est dans ce but que s'inscrit notre travail qui est réalisé sur les aiguilles (feuilles) du *Cedrus atlantica* collectées sur trois cédraies d'Algérie très éloignées géographiquement. L'objectif de cette étude consiste à évaluer l'activité antimicrobienne et antioxydant de extraits éthanoliques du matériel végétal collecté (aiguille).

Ce travail sera donc repartit en trois parties, initié par une recherche bibliographique ou nous apportons une monographie sur le cèdre de l'Atlas et sur les méthodes d'extractions des métabolites secondaires. La partie pratique présente les méthodes de l'évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante sur les aiguilles de cèdre d'Atlas. Enfin la dernière partie discute les résultats obtenus dans cette étude.

Suite à la pandémie de Covid-19, nous n'avons pas pu entamer l'intégralité de la partie méthode, à l'exception de la préparation des extraits éthanoliques des parties aérienne de la plante testée, ni la partie résultats et discussion. Afin de compléter cette étude, nous nous sommes contentés d'une synthèse sur les travaux déjà réalisés en relations avec notre thématique.

Première partie :

Synthèse bibliographique

1. Le cèdre de l'Atlas

1.1 .Généralité

Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti), est une espèce endémique de l'Afrique du Nord (**Abdelhamid 2017**), appelé aussi Arz el Atlas en Arabe ou Bignon en berbère (**Demartau 2007**), appartient à la famille des Pinacées (**M'hirit 1993**). Il couvre une surface de (27 000 hectares) au niveau des sommets Haut des montagnes d'Algérie et du Maroc (130 000 ha) (**Lemiti 2019**). *Cedrus atlantica* est l'un des arbres les plus importants économiquement et écologiquement de la montagne méditerranéenne (**Demartau 2007**).

1.2. Caractéristique botanique

a. Le Port

Le cèdre d'Atlas est l'un des conifères les plus rares, caractérisée naturellement par une hauteur qui dépasse 50 mètres avec un diamètre spéciale pouvant aller jusqu'à 2 mètres, il est considéré comme vivace depuis des centaines d'années car il a vécu plus de mille ans, nous n'oublions pas sa couronne distinctive il prend une forme tabulaire en vieillissant (**Boudy et al 1952**).

b. Les aiguilles

Les feuilles en forme d'aiguilles aiguës, isolées sur les jeunes rameaux longs et en rosettes sur les rameaux Courts latéraux, persistantes, elles présentent un certain nombre de lignes de stomates sur les trois faces, et elles sont dotée d'un apex pointu (**Maire 1952**), gris bleu et vivant généralement 3ans. La longueur des aiguilles est comprise entre 1et 2 cm et en moyenne de 25mm (**Boudy 1952**), Pour le Djurdjura, elle est en moyenne de 17mm à l'échelle de 30 sujets adultes de la cédraie de Tala Guilef (**Debazak 1964**) et de 19.32mm à l'échelle d'un échantillon plus large de 79 arbres de la même cédraie (**Krouchi 2010**).

c. Cône

La phase de floraison suit la formation du cône, portant initialement une couleur jaune verdâtre qui change avec le temps en brun-violet en fonction de son diamètre (**Toth 2005**) et de sa longueur (**Derridj 1990**). Il Comprend des écailles à texture douce pendant deux années entières.

d. La graine

Elle est caractérisée par une couleur marron roux (**Toth 1978**), protégée par une membrane protectrice, de forme grande taille(**Toth 2005**), son poids est de 65 mg à 85 mg et sa longueur de 8 à 12 mm (**Toth 1978**), elle possède une aile très développée

dépassant la longueur de la graine, on l'appelle la graine de résine car elle contient de chaque côté une poche de résine, le nombre de graines par cône varie entre 12 et 140 (Toth 2005).

e. Système racinaire

Le système racinaire est développé, mais rarement pivotant et la stabilité de l'arbre est assurée (Boudy 1952). Les racines obliques sont très fortes, colonisent les sols profonds et humides (Toth 1970 in Krouchi 2010).

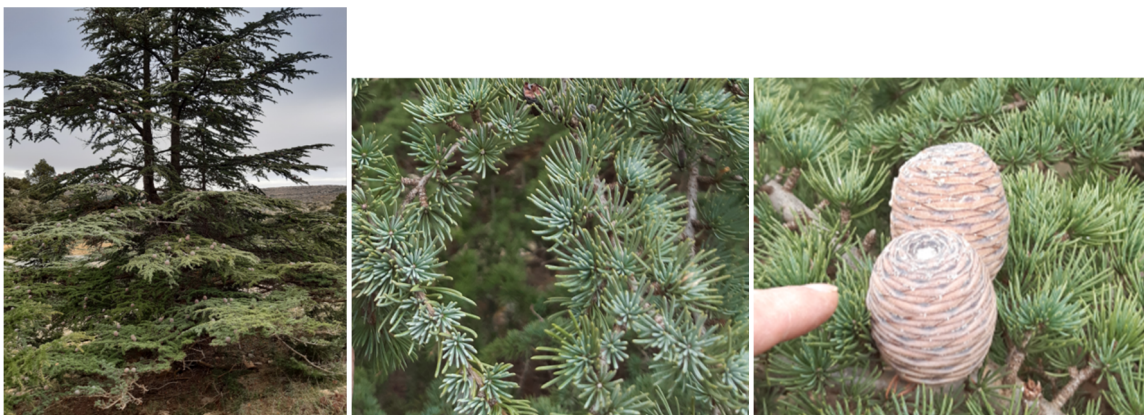
f. L'écorce

Il se caractérise par une couleur grise et des écailles lisses, les écailles se fissurent avec la longévité (M'hirit 2006).

g. Les Rameaux

Les rameaux ne sont jamais verticillés, ils sont de deux types:

- Les rameaux longs de couleur grise jaunâtre pubescents qui ne portent que des aiguilles isolées pendant la première année.
- Les rameaux courts trapus, insérés sur les précédents et terminés par un bouquet d'aiguilles très nombreuses et très serrées. Les bourgeons sont petits et écailleux de couleur gris jaunâtre.



(a)

(b)

(c)

Figure 1. (a): Pieds de cèdre, **(b):** bouquets d'aiguilles, **(c):** Cônes (Photos auteurs).

1.3. Aire de répartition

1.3.1. Aire naturelle

Le cèdre de l'Atlas est une espèce endémique d'Afrique du Nord et caractéristique des forêts des étages montagnards du Maroc (16 000 ha dans le Rif, 116 000 ha dans les moyen et haut Atlas) et de l'Algérie (quelque 30 000 ha dans les Atlas tellien et saharien)

(Fig. 2). En Algérie, selon **Abdessemed (1981)** la répartition des cédraies est conditionnée par le climat (sec et humide) ce qui nous permet de distinguer deux types:

Les cédraies de l'Atlas tellien (humide) se rencontrent dans le massif du Djurdjura (2000 ha à Tala Guilef et Tikjda principalement), des Babors et Tababors (1 300 ha), de l'Ouarsenis (2000 ha à Theniet El Had, Boukaïd, etc.) ainsi que dans les monts Blidéens (1000 ha à Chréa). Les cédraies de l'Atlas saharien (sec), on les retrouve principalement dans les Bélézma de (17 000 ha) ainsi que dans les monts du Hodna (8 000 ha à Boutaleb).

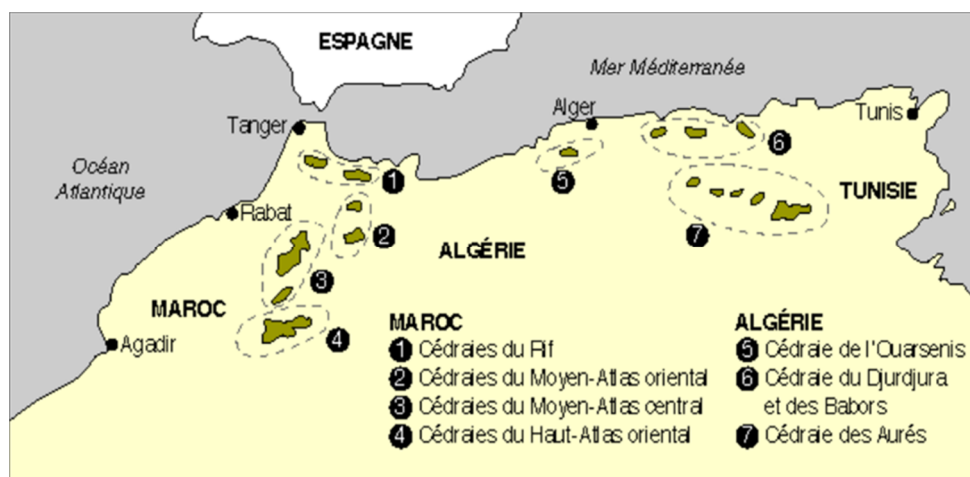


Figure 2. Répartition naturelle du cèdre de l'Atlas (M'hirit, 1994)

1.3.2. Aire d'introduction

Le cèdre de l'Atlas a été introduit dans les parcs et jardins comme espèce ornementale et ensuite dans les reboisements forestiers. La première introduction de l'espèce, en dehors de son aire naturelle a été réalisée au sud de (Mont Ventoux) en 1862 sur une surface de dix hectares semés à l'aide des graines provenant d'Algérie (**Toth, 1970**). Aussi, Il a été également introduit en Italie en 1864, en Bulgarie 1890, dans quelques états américains : Pennsylvanie, New York, Côte pacifique et dans les régions de l'ex URSS (Crimée et Caucase (**Toth 2005**).

1.4. Intérêt médicinal

a. L'huile de cèdre est considéré comme un antiseptique, astringente, diurétique expectorante et sédative (**Larousse 2001**).

b. Il est utilisé dans la médecine traditionnelle pour les cicatrisants, comme un antifongique, relaxants (**Benouaklil et al 2017**).

c. Le goudron est considéré comme l'un des produits les plus importants de l'huile de cèdre d'Atlas, car il était largement utilisé en particulier en médecine traditionnelle au Maroc (**Bellakhdar 1997**).

d. Le cèdre a des propriétés antifongiques, telles que la capacité de contrôler la décomposition fongique des épices pendant le stockage (**El Haib 2011**).

1.5. Composition biochimique

Le plus caractéristique du cèdre de l'atlas est ses composants d'huile essentielles, en particulier le biochimique, qui est envahi par sesquiterpènes: cédrène (30%) sesquiterpénols : cédrol (30%) , les sesquiterpènes (α himachalène, β himachalène , γ himachalène) (**Haluk 2005**) .

2. Activité antioxydante et antimicrobienne

2.1. Activité Antioxydante

2.1.1. Stress oxydative

Il est défini comme un déséquilibre qui provoque des dommages au niveau de diverses biomolécules qui conduit à des maladies chroniques comme le cancer, le diabète, les maladies cardiovasculaires, le vieillissement prématuré, ainsi qu'une mort programmée (l'apoptose) (**Haleng 2007**).

2.1.2. Les antioxydants

Un antioxydant est toute substance qui, lorsqu'elle est présente à des concentrations faibles par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde considérablement ou inhibe l'oxydation de ce substrat, qu'elle soit de nature enzymatique et non enzymatique (**Halliwell et Gutteridge 1990**).

2.1.3. Les radicaux libres

Un radical est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron (ou plus) non apparié (**Bouhadjra 2011**). En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé (**Goudable et Favier 1997**). Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (radical peroxy $\text{ROO}\bullet$, radical alkoxy $\text{RO}\bullet$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Novelli 1997**).

2.1.4. Méthodes d'évaluation d'activité antioxydants par la méthode de DPPH

Plusieurs méthodes sont utilisées pour mesurer le pouvoir antioxydant de l'extrait de plante tel que DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).

c. Le test du DPPH (2 ; 2_diphényl_1_picrylhydrazyle)

Le DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. Quand la solution de DPPH est mélangée à celle d'une substance qui peut donner un atome d'hydrogène ou un électron, alors ceci provoque la forme réduite (DPPH₂) avec la perte de la couleur violette et l'apparition d'une couleur jaune pâle due à la présence de groupement picryl et l'absorbance est lue à 517 nm (**Guillouty 2016**).

d. Le test de FRAP

Le test FRAP ou ferric reducing antioxydant power est basé sur la réduction d'un complexe ferrique tripyridyletriazine ferrique (TPTZ-Fe³⁺) en sa forme ferreux (TPTZ-Fe²⁺) par un antioxydant à faible pH.

La solution de TPTZ a une couleur bleu intense dont le maximum d'absorbance est de 593 nm (**Kholkhal et al 2014**).

2.2. Activité Antimicrobienne

On sait que les antibiotiques sont des dérivés de micro-organismes, chaque année, des chercheurs mettent des antibiotiques sur le marché car ils ont une courte période d'efficacité et cela explique le développement de résistances chez les micro-organismes car ces antibiotiques sont constitués d'une molécule synthétique qui incite les chercheurs à essayer une alternative forte efficacité et durabilité, y compris les plantes médicinales (**Benouaklil 2018**). On peut évaluer l'activité antimicrobienne par:

2.2.1. La méthode de la microdilution en milieu liquide

Cette méthode a pour but de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'une souche bactérienne vis-à-vis des divers antibiotiques. La CMI est définie comme la plus faible concentration d'une gamme de dilutions d'antibiotique de demi en demi, qui entraîne une inhibition de toute croissance bactérienne visible (**kalel 2018**). La méthode de micro dilution est effectuée en milieu liquide sur microplaque (**Labiod 2016**).

2.2.2. La technique en milieu solide (diffusion en disque)

Est une technique appelée aussi aromatoگرامme, elle consiste à déterminer l'activité inhibitrice par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque imprégné d'extrait de plante ou d'un produit à base d'huile (**Vincent 1991**).

3. Les méthodes d'extractions des métabolites secondaires

3.1. Hydro distillation

La plus ancienne technique traditionnelle. Elle a été utilisée à diverses fins thérapeutiques (**Pellerin 2000**). Elle fonctionne sur le principe de l'immersion des matières premières de la plante dans un ballon, et cela se fait pendant le processus d'extraction et passe ensuite directement au processus d'ébullition (**Baser 2010**). La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant, qui utilise le système Clevenger pour extraire les huiles essentielles et contrôler les matériaux utilisés et traités.

3.2. Entraînement à la vapeur

Cette technique diffère des autres car elle réduit la dissolution de l'eau, le matériel végétal à distiller sera uniquement en contact avec la vapeur. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange d'huile essentielle et d'eau. Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur puis séparé en phases organiques et aqueuses. Cette technologie maintient la qualité de l'huile grâce à l'absence de contact direct entre l'eau, la matière végétale et les molécules aromatiques (**Pellerin 2000**).

3.3. Extraction au CO₂ supercritique

Une des dernières technologies, elle fonctionne sur le principe de l'extraction à froid des matières premières végétales en utilisant du dioxyde de carbone à une température maximale de 31 °C et sous la pression la plus élevée. Dans ce cas, le CO₂ joue le rôle de médiateur entre le liquide et le gaz ; ce cas est appelé supercritique. Le CO₂ présente la particularité de dissoudre de nombreux composés organiques. Cette propriété a été mise à profit pour extraire des matières premières végétales intéressantes notamment pour la parfumerie, l'extraction au CO₂ supercritique présente de nombreux avantages par rapport aux procédés d'extraction traditionnels. Il est considéré comme l'une des meilleures méthodes en termes de matières premières résultantes, car elles sont presque identiques à l'original (**Martini et Seiller 1999**).

3.4. Extraction par macération

La macération est une méthode qui consiste à laisser la poudre de la plante en contact prolongé avec un solvant (**Feknous et al 2014**). Généralement les solvants les plus utilisées sont l'éthanol, le méthanol ou même l'eau pour l'extraction des composés polaires et le dichlorométhane pour l'extraction des composés non polaires (**Gobbi et Khebbaz 2014**).

3.5. Extraction assisté par Soxhlet

La technologie d'extraction par solvant organique chaud fonctionne sur le principe du trempage des installations dans un solvant organique volatil chaud. Il vise à produire des rendements plus élevés que ceux obtenus dans d'autres technologies et cherche à créer un produit qu'aucune autre technologie ne peut produire. Cette technologie intègre le système Soxhlet qui permet la régénération interne du solvant et permet un contact direct entre la plante et le solvant pur. Les critères de sélection d'un solvant varient par des paramètres techniques et économiques : sélectivité, stabilité (**Herzi 2013**).

3.6. Extraction assisté par ultrasons

Le but de cette technique est de déformer la structure des parois végétales, en particulier dans la région de la cellulose cristalline, en raison de l'effet des petites cavités résultant des ondes ultrasonores qui augmentent la mobilité pour produire l'huile. C'est la technologie préférée pour les solvants à bas point d'ébullition, donc les ultrasons ne sont pas une bonne option pour l'ébullition. Il se caractérise par l'abondance du produit et son extraction en peu de temps (**Lagunez 2006**).

4. Les microorganismes testés

Six souches microbiennes fréquemment rencontrées dans les infections communes qui ont été utilisées lors de cette étude, il s'agit de souches de référence excepté *Candida albicans* qui est un isolat clinique.

4.1. Bactéries

a. Bactéries à Gram positif

- *Bacillus cereus*

Se trouve dans la terre ; les végétaux et même dans les aliments. Elle est trapu mobiles par ondulation à Gram positif à une forme régulière, c'est une bactérie pathogène sporulée. Elle a la capacité de se développer dans les conditions variable comme le froid. Elle cause des maladies chez homme tel que Toxi-infection alimentaire (**Clave 2014**).

- ***Bacillus subtilis***

Dont le nom signifie (bacille fin, svelte), catalase positif de petite taille, aérobie obligatoire, formant des endospores se trouve dans le sol. Elle est connue pour sa capacité de dégradation des polysaccharides végétaux et de la pectine, elle peut être responsable de l'intoxication alimentaire (**Jerome et al 2004**). Les applications de *B. subtilis* concernent plusieurs domaines notamment le domaine médical, agro-alimentaire et écologique. Elle occupe également une place importante dans l'industrie des détergents et du tannage (**Danchin et al 1998**).

- ***Staphylococcus aureus***

Appartient à la famille de micrococcacea à gram positive, elle est immobile, peuvent être aérobie ou facultatif anaérobie. Elle produit des endotoxines. *Staphylococcus aureus* est l'espèce le plus pathogène du genre staphylococcus (**Descour et al 2015**).

b. Bactéries à Gram négatif

- ***Escherichia coli***

Est une espèce prédominante de la flore aérobie_ anaérobie à gram négative, mobile; vivant couramment dans les intestins l'humain et des animaux. Certain souche de *E. coli* responsable à des infections extra intestinal (méningites; infection urinaire) soit intestinale de type de diarrhées (**Mariani et al 2012**).

4.2. Champignons**a. Levures**

- ***Candida albicans***

Est une levure non capsulé qui se trouve à l'état saprophyte dans la muqueuse digestive, et même vaginal. Elles peuvent changer de l'état saprophyte à l'état pathogène. *Candida albicans* provoque des infections telles que candidose (**Lagane 2007**).

b. Moisissures

- ***Aspergillus niger***

C'est un champignon microscopique qui contamine la récolte. Le genre *aspergillus* comprend plus de 200 espèces dont 20 provoquent des infections opportuniste chez l'homme, les plus connu dans le monde. Il se nourrit de matière fœtale animale et humaine. Il est considéré comme un agent de fermentation (**Boutera et al 2017**).

Deuxième partie :

Matériel et méthodes

1. Objectif

Ce travail a pour but de valoriser une espèce forestière endémique de l'Algérie et du Maroc *Cedrus atlantica* Manetti, à travers l'évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante des extraits éthanoliques de ses parties foliaires.

2. Matériel et méthode

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est composé des échantillons d'aiguilles (feuilles) du cèdre de l'Atlas récoltés en Algérie sur trois différentes cédries le mois de décembre 2019 (tableau 1).

Tableau 1. Les coordonnées géographiques des sites de prélèvements.

Pop	Sites	Secteur administratif	Latitude	Longitude	Altitude
P1	Boutaleb	Sétif	35.44.14 N	5.21.08 E	1462
P3	Chrèa	Blida	36.25.50 N	2.53.13 E	1564
P5	Theniet el Had	Tissemsilt	35.51.08 N	1.59.28 E	1450

2.1.2. Les microorganismes testés

Tableau 2 : Souches microbiennes utilisées

Souches utilisées		
Gram positive		<i>Bacillus cereus</i>
		<i>Bacillus subtilis</i>
		<i>Staphylococcus aureus</i>
Gram négative		<i>Escherichia coli</i>
Champignons	Levure	<i>Candida albicans</i>
	Moisissure	<i>Aspergillus niger</i>

2.2. Méthodes

2.2.1. Préparation de l'extrait éthanolique

2.2.1.1. Séchage et broyage

Les aiguilles fraîchement récoltées et insérées en bouquets, ont été séparées des branches et des rameaux puis nettoyées et laissées sécher dans un endroit sec et aéré à l'abri de la lumière et du soleil et à température ambiante pendant une vingtaine de jours. Après séchage, le matériel végétal est réduit en poudre à l'aide d'un broyeur mécanique afin d'obtenir une granulométrie assez fine pour permettre une surface maximale de contact avec le solvant. La poudre obtenue est conservée dans des bocaux en verre étiquetés à l'abri de la lumière et à température ambiante.

2.2.1.2. Macération

L'extrait éthanolique a été préparé par macération de 50 g de poudre de chaque cédrie par 500 ml d'éthanol dilué à 70% avec agitation au pendant 24 heures à température ambiante. La solution obtenue est filtrée sur papier Watman, l'éthanol est évaporé après la mise du cristallisateur contenant le filtrat à l'étuve pendant quelques jours à température de 35 °C. Les extraits secs ainsi obtenus sont conservés à 4°C à l'abri de la lumière.



Figure 3. Aiguilles (feuilles) sèches du cèdre de l'Atlas de deux sites différents.

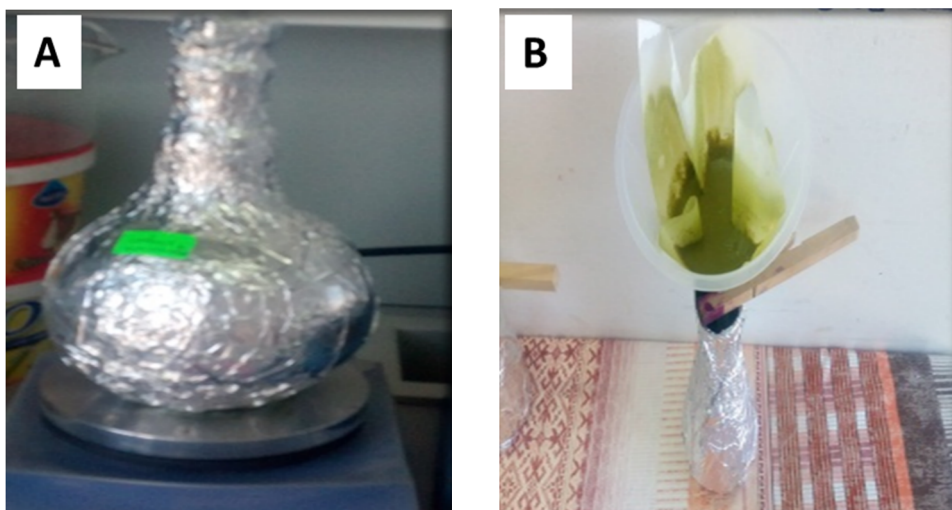


Figure 4. Quelques étapes de préparation de l'extrait éthanolique ;
A : Macération , B : Filtration.

2.2.2. Calcul de rendement

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 :

$$R = (m_1/m_2) \times 100$$

R : Rendement en extrait sec résultant, exprimé en %.

m₁ : Masse en grammes de l'extrait sec résultant.

m₂ : Masse en grammes du matériel végétal broyé à traiter.

2.3.3 .Activité antibactérienne

L'étude de l'activité antimicrobienne a consisté à déterminer l'efficacité du pouvoir antibactérien des extraits éthanoliques vis-à-vis des souches bactériennes. Différentes concentrations de l'extrait alcoolique (éthanol) sont soumises au test antibactérien selon la méthode des puits.

2.3.3.1. Protocole de l'activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne de plusieurs concentrations de l'extrait éthanolique des feuilles de Cèdre de l'Atlas provenant de trois sites écologiques différents est testée sur des souches référenciées de bactéries et de champignons, selon le protocole ci-dessous.

a. Préparation de milieu de culture

Le milieu Muller Hinton a été utilisé comme milieu de culture approprié pour cette étude. On dissout une quantité dans de l'eau distillée. Nous avons utilisé le milieu de culture Mueller Hinton (MHA) préparé à partir de 40 g de poudre d'agar Muller-Hinton dans 1000 ml de l'eau distillée, on la laisse bouillir sous agitation afin de la dissoudre

complètement, puis on la place dans un autoclave à 121°C pendant 15 minutes et on la vide après refroidissement dans des boîtes de Petri en plastiques stériles (Harrar 2012), 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.

b. Repiquage des espèces bactériennes

Les différentes espèces bactériennes ont été 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.

c. Préparation de l'inoculum

À partir de chaque espèce bactérienne testée, les inoculums ont été préparés en prélevant séparément une ou deux colonies bien distinctes de la même boîte de Petri à partir d'une culture jeune (24h), puis les dissoudre dans de l'eau distillée stérile (ou en eau physiologique à 0,9 % NaCl) formant une suspension homogène. Puis cette suspension est ajustée au standard Mc Farland 0,5 à l'aide d'un spectrophotomètre, correspondant à une densité optique DO entre 0,08 à 0,1 lue à 625 nm, ce qui correspond à une suspension contenant environ 10^8 UFC/ ml (CA-SFM 2013).

d. Ensemencement

Les boîtes de Petri 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 Petrie de 60° à chaque fois, de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

e. Préparation des dilutions

Afin d'évaluer l'action antimicrobienne des extraits éthanoliques obtenus de la partie aérienne de *Cedrus atlantica*, des tests antimicrobiens ont été effectués avec une gamme de concentrations de chaque extrait préparées dans du diméthyle sulfoxyde (DMSO) à 70 %. Nous avons établi pour cette étude une gamme de dilution en partant d'une concentration de solution mère de 1g/10ml d'eau distillée stérile.

f. Dispersion des solutions des extraits

La gélose est perforée par la partie supérieure d'une pipette Pasteur formant des puits de 6 mm de diamètre, le fond des puits est obturé par une goutte de gélose Mueller Hinton pour limiter la diffusion des huiles sous la gélose. Les cavités ainsi formées sont remplies de 20 µL de l'un des extraits testés (dissous préalablement dans le DMSO) à raison de plusieurs concentrations. Trois répétitions sont réalisées pour chaque concentration.

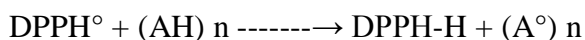
g. Incubation

Les boîtes de Petri sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures pour les bactéries et 48 h pour les levures à 25°C et 4 jour pour les champignons à 25°C. Après incubation, le diamètre d'inhibition est mesuré en millimètres par un pied à coulisse ou une règle millimétrique. En mesurant les diamètres des zones d'arrêt, les résultats sont lus. L'évaluation de l'activité du produit est basée sur le diamètre de la zone d'inhibition, dans le cas où le diamètre dépasse 8 mm le produit est actif (**Ela et al 1996**).

2.2.4. Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante

a. Principe

Nous avons testé l'activité anti-radicalaire des extraits à l'aide de DPPH selon la méthode de Blois (1958). Le DPPH est un radical libre stable qui peut se dissoudre dans l'éthanol, de couleur violette avec un taux d'absorption maximal de 517 nm. Sa couleur passe du violet au jaune pâle lorsqu'une molécule anti oxydante réduit la DPPH par la réaction suivante (**Pokorny et al 2001 ; Roginsky et al 2005**). L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons, elle est mesurée à 517 nm (**Sanchez-Moreno 2002**).



(AH) n : représente une molécule capable de réduire (céder un atome d'hydrogène au radical DPPH°), le radical DPPH-H violet au DPPH-H (DPPH réduit) d'une couleur jaune pâle .

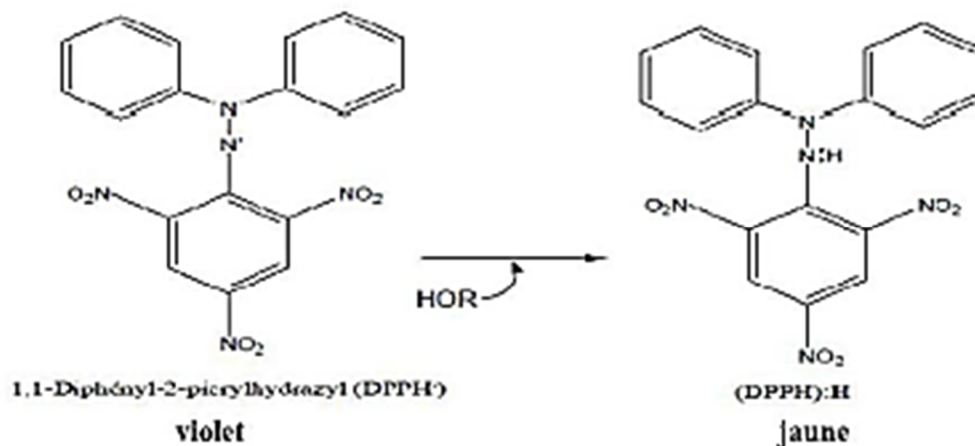


Figure 5. Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH (Zitouni 2017).

b. Mode opératoire

Pour le test, nous avons mélangé une solution éthanolique de DPPH avec différentes concentrations d'extrait de *Cedrus atlantica*. Chaque extrait a été dilué et placé dans un tube à essai avec l'ajout d'une solution éthanolique de DPPH et laissé pendant 30 minutes à l'abri de la lumière à température ambiante. La lecture est effectuée à une absorbance maximale de 517 nm sous la condition d'un vide contenant de l'éthanol pur. Nous répétons le même processus mais remplaçons l'extrait *Cedrus atlantica* par du Butyl Hydroxy Anisol (BHA) comme contrôle positif et de l'éthanol comme contrôle négatif.

Une solution éthanolique de DPPH a été mélangée avec différentes concentrations des extraits éthanoliques des feuilles (aiguilles) de *Cedrus atlantica*. A 1ml de chaque dilution de ces extraits a été ajouté 1ml de solution éthanolique de DPPH. Après une incubation de 30 min à l'abri de la lumière et à température ambiante, les solutions sont passées à la lecture au spectrophotomètre à UV contre un contrôle négatif qui ne contient que l'éthanol, la lecture est effectuée à une absorbance maximale de 517 nm. Nous répétons le même processus mais remplaçons l'extrait *Cedrus atlantica* par du Butyl Hydroxy Anisol (BHA) comme contrôle positif et de l'éthanol comme contrôle négatif.

Afin d'exprimer l'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant la méthode DPPH en pourcentage, nous appliquons la relation suivante:

$$\% = [(Abs \text{ contrôle} - Abs \text{ échantillon}) / Abs \text{ contrôle}] \times 100$$

% de l'activité anti-radicalaire

Abs Échantillon : Absorbance de l'échantillon.

Abs contrôle : Absorbance du Contrôle négatif (DPPH + éthanol).

□ Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus par l'acide ascorbique et Butyl Hydroxy Anisol (BHA) pris comme antioxydants standards.

IC₅₀ (concentration inhibitrice de 50%), aussi appelée IC₅₀ (Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement en représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits testées. L'acide ascorbique, a été utilisé comme contrôles positif.

Troisième partie :

Résultats et discussion

1. Rendement des extraits éthanoliques

Le rendement a été déterminé par rapport aux 50 g du broyat des aiguilles du *Cedrus atlantica*, les résultats ont été exprimés en pourcentage. Le rendement en extrait éthanolique dans la région de Theniet el Had est plus élevée à celui de Chéra et de Boutaleb qui est égale 17,2% par contre les rendements obtenus des prélèvements de Chéra et Boutaleb étaient de 10,04 % et 10,02 %, respectivement (tableau 3). Les résultats des trois régions révèlent des rendements élevés par rapport à celui réalisé par **Fadel et al (2016)** sur les aiguilles (9.8 %) avec la même dilution de l'éthanol, et à celui obtenu par **Bahouche et al (2016)**, par l'extracteur de Soxhlet (7,35±0,56 %), sur les tiges du cèdre de la région d'Adekar (Bejaia). Par contre ces taux d'extractions sont largement inférieurs à ceux réalisés par **Kacher et al (2018)** (32.17±2.77 %), dans leur étude également sur les feuilles de cèdre d'atlas de la région d'Adekar (Bejaia) par l'utilisation de l'éthanol à 70%.

L'éthanol est reconnu comme un excellent solvant d'extraction de métabolites secondaires tels que les polyphénols, avec une faible toxicité par rapport aux autres solvants tel que le méthanol (**Contini et al 2008**). Les résultats obtenus par **Kacher et al (2018)** révèlent un rendement plus élevé en utilisant l'éthanol 70° sur les feuilles du cèdre par rapport aux autres extraits éthanoliques de dilutions différentes. D'après **Quy et al. (2014)**, l'utilisation combinée de l'eau et du solvant organique peut faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et / ou dans le solvant organique.

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

Site de prélèvement	Rendement (%)
Theniet el Had	17,20
Chrèa	10,04
Boutaleb	10,02

La différence de rendement peut être expliquée par l'origine géographique de l'échantillon prélevé, par la période de récolte du matériel végétal, par la partie de la plante utilisée, ou par la technique et le type de solvants utilisés dans l'extraction (**Benouaklil 2018; Kacher et al 2018 ; Smith et al 2005**).

2. Activité biologique

2.1. Activité antimicrobienne

Selon l'étude menée par **Benouaklil (2018)** sur l'activité antimicrobienne des feuilles de cèdre d'Atlas par la méthode des disques, les extraits méthanoliques ont montré une légère activité antibactérienne contre trois souches bactéries à Gram positif testées, à savoir , *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Enterococcus faecalis*. Comme, il est à signaler qu'aucun pouvoir antimicrobien n'a été enregistré sur toutes les bactéries à Gram négatif, et le reste des souches à Gram positif étudiées ni contre la levure *Candida albicans* (tableau 4).

Tableau 4. Résultats des tests antimicrobiens (mm) (**Benouaklil 2018**)

	Souche	EMA	DMSO	C	F
Gram positive	<i>Staphylococcus aureus</i>	8,37±0,29	–	22,34 ±0,2	–
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	8,14±0,23	–	28,55 ±0,30	–
	<i>Enterococcus faecalis</i>	8,67±0,18	–	22,78 ±0,36	–
	<i>Bacillus subtilis</i>	–	–	31,82 ±0,42	–
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	–	–	34,12 ±0,47	–
Gram négative	<i>Escherichia coli</i>	–	–	26,23 ±0,07	–
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	–	13,99 ±0,75	–
Champignons	<i>Candida albicans</i>	–	–	–	9,15±0,15

EMA : Extrait méthanolique des aiguilles

DMSO : Dimethyl de sulfoxide

C: Chloramphenicol 30mcg

F : Amphotericine B

De même **Bahouche et al (2016)** ont évalué l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique des tiges du *Cedrus atlantica* sur sept bactéries et deux souches fongiques par la méthode de diffusion sur disque de cellulose. Les résultats ont révélé que l'extrait a une activité antibactérienne contre toutes les bactéries utilisées sauf *klebsiella sp.* Les bactéries

à Gram⁺ sont les plus sensibles à l'extrait éthanolique, *Bacillus sp* et *Staphylococcus sp* avec une CMI > à 7.8125 mg/ml. L'extrait éthanolique a exercé une activité antifongique importante sur *Candida albicans* à une concentration de 500 mg/ml avec un diamètre d'inhibition de 21±01 mm. Par contre la souche fongique *Aspergillus niger* a présenté une résistance à l'extrait éthanolique (tableau 5)

Tableau 5. Activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique (**Bahouche et al 2016**).

Souche bactérienne	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)							
	Les dilutions d'extrait éthanolique (mg/ml)							
	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	T
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	14 ±01	11.33 ±0.58	9.33 ±0.58	08 ±00	7.67 ±0.58	---	---	---
<i>Staphylococcus sp</i>	16.67 ±0.58	15.33 ±0.58	13.33 ±0.58	11.33 ± 0.58	9.83 ±0.29	9.33 ±1.15	7.33 ±0.58	---
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	12 ±01	9.67 ±1.53	6.67 ±0.58	---	---	---	---	---
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10.33 ±0.58	7.33 ±0.58	6.67 ±0.58	---	---	---	---	---
<i>Entérocooccus sp</i>	11.67 ±0.58	10 ±1	7.67 ±0.58	---	---	---	---	---
<i>Klebsiella sp</i>	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>Baccilus sp</i>	18 ±0.58	16.33 ±0.58	15.33 ±0.58	14.33 ±0.58	11.67 ±0.58	9.67 ±0.58	7.50 ±0.50	---
<i>Candidas albicans</i>	17,5± 0,5	16,33± 0,76	14,33± 0,58	13,17± 0,76	11,17± 0,29	08,83± 01,61	07± 01	---
<i>Aspergillus niger</i>	---	---	---	---	---	---	---	---

L'absence d'inhibition au niveau des bactéries à Gram négatif, 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**).

Selon **Kacher et Kedjar (2016)**, les résultats des test de la CMI des extraits de d'extraits de feuilles à base de solvants d'acétate d'éthyle, n-butanol et Méthanol-brut sur *E.coli* ont montré que cette souche est résistante vis-à-vis ces extraits. L'extrait M-brut et les fractions (d'acétate d'éthyle et n-butanol) ont une CMI comprise entre (1000>CMI>500), par rapport à l'antibiotique qui a une CMI de (125>CMI>62.5). Par contre la souche *S. aureus* révèle une sensibilité importante pour ces extraits qui sont de l'ordre de : (125>CMI>62.5, 250>CMI>125 et 500>CMI>250) ; respectivement, par rapport à l'antibiotique qui a une CMI de (62.5>CMI>31.25). Cependant, La souche *B. subtilis* est moyennement sensible aux différentes dilutions pour l'extrait Méthanol-brut (500>CMI>250) et une même CMI pour d'acétate d'éthyle et n-butanol qui est comprise entre (250>CMI>125), par rapport à l'antibiotique qui a une CMI de (62.5>CMI>31.25).

Dans ses travaux, **Bouaklili (2018)**, a conclu que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits méthanoliques testés sur neuf micro-organismes par la méthode de diffusion sur gélose, a montré une inhibition variable vis-à-vis de ces souches, avec un pouvoir antimicrobien remarquable des huiles essentielles des aiguilles et des cônes contre *Enterococcus faecalis* qui est une bactérie commensale et multi-résistante, causant des infections mortelles chez l'Homme.

2.2. Activité antioxydante

Les résultats obtenus lors du test de mesure de pouvoir Scavenger du radical DPPH mené par **Bahouche et al en 2016** sur l'extrait éthanolique des tiges de cèdre de l'Atlas, en comparaison avec les antioxydants synthétiques BHA et Acide ascorbique, montrent des pourcentages d'inhibition moyens obtenus avec une concentration de 20 µg/ml 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 60µg/ml présente un pourcentage d'inhibition de 92.95% pour l'extrait éthanolique, 94.13% pour BHA et 96.02% pour l'acide ascorbique.

On a constaté que l'extrait éthanolique présente un taux d'inhibition proche de celui des antioxydants standards. Même à des faibles concentrations, l'extrait éthanolique montre un pourcentage d'inhibition important, ce qui permet de déduire que les composés phénoliques contenus dans l'extrait éthanolique des tiges de *Cedrus atlantica* sont très efficaces comme antioxydants

L'IC₅₀ est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, parce qu'elle 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 antioxydante d'un composé est grande (**Khoudali et al 2014**).

De même l'IC₅₀ la plus élevée a été obtenue avec l'extrait éthanolique (10.31µg/ml) suivi par celle de BHA qui est 6.12µg/ml et enfin vient l'acide ascorbique avec IC₅₀= 4.55µg/ml. Ces résultats sont proches à ceux obtenus par **Fadel et al** en 2016 sur l'extrait éthanolique des parties aériennes (aiguilles) du *Cedrus atlantica* de la région de l'Aures (Batna), qui montrèrent une bonne activité anti radicalaire avec une IC₅₀ = 8,919 ±0,353 µg / ml par rapport aux extraits de *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea* (IC₅₀ = 403,8 ±30,8 et 481,3 ±1 µg / ml respectivement).

Benouaklil (2018) a révélé dans son étude sur l'activité antioxydante des extraits méthanoliques et des huiles essentielles des différentes parties aériennes de cèdre de l'Atlas du parc national de Chréa (Blida) que ces dernières possèdent des propriétés anti-radicalaires intéressante, comme il a été indiqué par d'autres auteurs.

Pour la même concentration, le pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique de la partie aérienne du cèdre de l'Atlas varie d'un organe à un autre. Pour une concentration de 0,4mg/ml, l'extrait des cônes a exprimé une forte activité anti-radicalaire en enregistrant un pourcentage de 89,69, par contre ce pourcentage ne dépasse guère les 19,21% pour l'extrait des aiguilles.

Cependant, il a été remarqué que pour une concentration de 1,6 mg/ml, l'extrait méthanolique des aiguilles a piégé 68,38 ± 0,44% des radicaux libres.

Dans l'ensemble, l'activité anti-radicalaire des parties analysées du cèdre de l'Atlas demeure largement inférieure à celle enregistrée par les antioxydants de référence à savoir : 86% pour une concentration de 0,02 mg/ml, 86% pour une concentration de 0,05 mg/ml et 85% pour une concentration de 0,10 mg/ml des extraits de l'acide gallique, de la quercétine et de l'acide ascorbique respectivement.

En outre les résultats des travaux **Kacher et al (2018)** obtenus par les concentrations de 12,5-400µg/ml des différents extraits, montrent que l'activité anti-radicalaire de ces derniers évolue avec l'augmentation des concentrations et que le pourcentage d'inhibition augmente progressivement. Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'extrait méthanolique (96.68±1.02%), l'extrait éthanolique (74.81±1.76%) et extrait-acétone (42.70±1.87%).

Nous avons constaté dans l'étude menée par **Benouaklil (2018)** que les valeurs de la IC₅₀ diffèrent entre les anti radicalaires de référence et entre les parties aériennes de

l'espèce étudiée. La plus faible valeur de la IC₅₀ correspond au pouvoir réducteur le plus élevé. L'acide gallique, la quercétine et l'acide ascorbique ont présenté l'activité antiradicalaire la plus élevée, suivie par l'extrait méthanolique des cônes (IC₅₀ = 0,16±0,01mg/ml). Par contre la valeur la plus élevée a été mentionnée par l'extrait méthanolique des aiguilles (1,12 ± 0,01mg/ml) (tableau 6) qui dépasse largement celle révélée par **Fadel** en (2016), (8,919 ± 0,353 µg/ml), par **Rached** (2009), (24, 83 ± 1,99 µg /ml) et par **Kacher et al** (2018), (144.86±17.49 µg/ml).

Les travaux de **Naimi et al** (2015) sur l'extrait flavonoïque des graines du cèdre de l'Atlas de la région d'Azrou (Maroc), ont montré que ce type d'extrait présente un potentiel antiradicalaire atteignant 86,29% à une concentration de 1mg/ml et une IC₅₀ égale à 0,40 mg/ml.

Tableau 6. IC₅₀ des standards et des extraits méthanoliques des aiguilles et des cônes du cèdre de l'Atlas (**Benouaklil 2018**).

Substrat	IC ₅₀
Acide gallique	0,01±0,00 mg/ml
Quercétine	0,01±0,00 mg/ml
Acide ascorbique	0,03±0,01 mg/ml
Extrait méthanolique des cônes	0,16± 0,01mg/ml
Rutine	0,17±0,02 mg/ml
Î tocophérol	0,22±0,01mg/ml
Extrait méthanolique des aiguilles	1,12 ± 0,01mg/ml

Les extraits organiques des parties aériennes du cèdre de l'Atlas possèdent une activité antioxydante intéressante, qui diffère d'un organe à un autre, et d'une région à une autre, elle est liée à la composition chimique de chaque partie du cèdre.

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

Cependant, **Kacher et al (2018)**, ont trouvé une relation linéaire entre l'activité antioxydante des échantillons testés et le contenu en polyphénols et en tanins condensés. Les échantillons les plus riches en polyphénols totaux et en tanins condensés sont les plus actives.

Plusieurs études ont révélé que la présence des composés phénoliques dans les plantes est associée à leurs activités antioxydantes, cela est probablement due à leurs propriétés réductrices qui les rendent des agents réducteurs ou des donneurs d'hydrogène (**Ismail et al; 2010**).

D'après **Agrawal et Rastogi (1984)** in (**Benouaklil 2018**), les aiguilles du cèdre de l'Atlas sont connues pour leur teneur en Taxifoline (Flavanones), dont l'efficacité comme agent antioxydant a été approuvée par **Tournaire et al (1994)**.

Les extraits méthanoliques des cônes et des aiguilles de *Cedrus atlantica* possèdent une activité antiradicalaire qui est liée à leur composition chimique. Il est difficile d'attribuer cette activité à un seul composé puisque un effet de synergie entre les différents composés peut avoir lieu. Mais, cette capacité peut probablement s'expliquer par la présence de certains métabolites actifs (**Benouaklil 2018**).

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 antiradicalaire de DPPH• de ces échantillons pourrait être due aux tanins condensés (**Okamura et al 1993**).

Pareillement, les flavonoïdes sont reconnus pour leurs activités antioxydantes (**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

Ce travail vise l'étude d'une plante endémique d'un grand intérêt écologique et thérapeutique, le cèdre de l'Atlas, qui occupe les montagnes d'Afrique du Nord. En Algérie où a lieu notre échantillonnage, les massifs de cèdres sont très dispersés. Les résultats des différents travaux ont montré que les extraits organiques des feuilles de *Cedrus atlantica* ont une activité antioxydante et antibactérienne intéressante.

Les rendements en extraits éthanoliques des aiguilles de *Cedrus atlantica* varient d'une région à une autre, les feuilles collectées de la région de Theniet el Had ont donné le rendement le plus élevée (17,2 %) en comparaison avec celles de Chéra (10,04 %) et de Boutaleb (10,02 %).

Les extraits méthanoliques des feuilles du cèdre de l'Atlas ont révélé une légère activité contre trois souches bactéries à Gram+ testées, à savoir, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Enterococcus faecalis*. Cependant aucune activité antimicrobienne n'a été signalé ni sur les souches bactérienne à Gram⁻, ni sur la levure *Candida albicans*. En revanche dans une autre étude, les tests des extraits éthanoliques des tiges du cèdre de l'Atlas ont montré une activité antimicrobienne sur six souches bactérienne dont deux à Gram⁻ (ces dernières sont sensible uniquement aux concentrations élevées) et une activité antifongique sur une levure (*Candidas albicans*). Tandis que la souche bactérienne *Klebsiella sp* et la souche fongique *Aspergillus niger* ont présenté une résistance à cet extrait.

De mêmes d'autres tests de CMI d'extraits de feuilles à base de solvants d'acétate d'éthyle, de n-butanol et de Méthanol-brut ont révélé une sensibilité importante de la souche *S. aureus*. Néanmoins, la souche *B. subtilis* est moyennement sensible aux différentes dilutions de ces extraits. Par contre, les résultats de la CMI ont montré une résistance de la souche *E.coli* vis-à-vis ces différents échantillons.

Un pouvoir antimicrobien remarquable des huiles essentielles des aiguilles et des cônes a été observé contre *Enterococcus faecalis* qui est une bactérie commensale et multi-résistante, causant des infections mortelles chez l'Homme. La comparaison des résultats obtenus démontre que la capacité antibactérienne est variable d'une souche à une autre et d'un échantillon à un autre et d'une concentration à une autre, avec une activité antibactérienne importante sur les bactéries à Gram+. 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).

Les extraits organiques des parties aériennes du cèdre de l'Atlas possèdent une activité antioxydante intéressante, qui diffère d'un organe à un autre, et d'une région à une autre, elle est liée à la composition chimique de chaque partie du cèdre. Cette activité est associée à la présence des composés phénoliques dans cette plante. Une relation linéaire a été trouvée entre l'activité antioxydante des extraits organiques de la partie aérienne du cèdre de l'Atlas et le contenu en polyphénols et en tanins condensés. Le pouvoir antiradicalaire de l'extrait méthanolique des cônes qui est plus élevé que celui de l'extrait des aiguilles peut être expliqué par sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdes par rapport aux aiguilles. Ces dernières sont connues pour leur teneur en Taxifoline (Flavanones), dont l'efficacité comme agent antioxydant a été approuvée. De même l'extrait de flavonoïdes de graines de *C. atlantica* Manetti avait un fort pouvoir piègeur des radicaux libres. En outre, des corrélations ont été constatées entre la teneur en tanins condensés et les IC₅₀.

Les résultats des différentes études ont permis de mettre en évidence l'activité antiradicalaire intéressante des extraits organiques des différents organes de la partie aérienne de *Cedrus atlantica*. Ces résultats ne constituent qu'une petite partie dans le domaine de la recherche des antioxydants et des antibactériens naturels. Cependant, d'autres études sont nécessaires pour l'isolement et la caractérisation des principes actifs responsables de cette activité et la mise en évidence de leur mécanisme d'action in vivo tout en tenant compte de l'étude de leur toxicité sur des lignées cellulaires (in vitro) et sur des modèles utilisant les animaux (in vivo).

Références bibliographiques

- Abdelhamid.DJ., Marniche.F., Allal-Benfekih.L., Benadjroud.N et Mouna.M.2017.** Importance des coléoptères sylvatiques associés au cèdre de l'atlas au niveau du parc national de Theniet El Had (Algérie).Revue Agrobiologia (2017) x(x): 297-311.Page 298.
- Adida, H., Benariba, N., Bechiri, A., Chekroun, E., & Djaziri, R. 2016.** Étude phytochimique et évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius*. *Phytothérapie*, 14(4), 207-212.
- Ali-Dellile.L.2013.** « Plantes médicinales d'Algérie ».Edition Berti.p240.
- Bahorun, T., (1997).** « Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle », Food and Agricultural Research Council, 83-94.
- Baser K.H.C and Buchbauer.G.2010.**Handbook of essential oils: Science, Technology and Applications.Ed.Taylor and Francis Group, LLC.UN.St.America.994p.
- Bellakhdar.J.1997.**Contribution a l'étude de la pharmacopée traditionnelle au Maroc : la situation actuelle, les produits, les sources du savoir.Thèse de doctorat. Université de metz.-94
- Benouaklil.F., Hamaidi-Chergui.F., Hamaidi M.S.et Saidi.F.2017.**Chemical composition and antimicrobial properties of Algerian *Cedrus atlantica*.essential oils. *Revue Agrobiologia* (2017) 7(1): 355-362.Page 356.
- Bérubé-Gagnon J., 2006.** Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Thèse de Magister, Université de Québec. 145p.
- Besseghier.DJ.2014.**Contribution à l'évaluation du pouvoir antioxydant et de l'activité antimicrobienne de quelques plantes médicinales. Université A. Benbadis Mostaganem. Mémoire de Magister.
- Boudy.P.1952.** Guide du forestier en Afrique du Nord. Ed. La Maison Rustique. 505 p.
- Bouhadjra K., 2011.** Étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge, thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
- Boukerker.H.2016.** Autoécologie et évaluation de la biodiversité dans les Cédraies de *Cedrus atlantica* Manetti du parc national de Belezma (Batna, Algérie). Thèse de Doctorat en Sciences agronomiques. Université Mohamed khider, Biskra, 229p.
- Boutera Z. et Saddalahe SM.2017.**Optimisation de production de protéase acide par l'*Aspergillus Niger* sur milieu solide. Mémoire De Fin D'étude. Université Echahid Hamma Lakhdar-El OUED.

- Boukerker.H.2016.** Autoécologie et évaluation de la biodiversité dans les Cédraies de *Cedrus atlantica* Manetti du parc national de Belezma (Batna, Algérie). Thèse de Doctorat. Université Mohamed khider, Biskra, 229p.
- Clave.D.2014.** Bacillus Creus. EN.FTBAC. 31-08-17.01.Page 1.
- Contini, M., Baccelloni, S., Massantini, R., Anelli, G. (2008).**Extraction of natural antioxidants from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. Food chemistry, 110(3):659-669
- Danchin. A., Glaser.PH. Kunst.F., Moszer.I et Rapport.G.1988.** Bacillus Subtilis dévoile ses gènes. Page 1.
- Debazac.E.F. (1964).**Manuel des conifères. Ecole Nationale des Eaux et Forêts, Nancy. 79-82.
- Demarteau.M., François.L., Cheddadi.R et Roche.E.2007.**Responses of *Cedrus atlantica* when faced with past and future climatic changes.Geo-Eco-Trop, 2007, 31: 105 – 146.Page 112.
- Derridj.A. 1990.**Etude des populations de *Cedrus atlantica* Manetti en Algérie. Thèse de Doctorat de l'Université Paul Sabatier, Toulouse, 288p.
- Descours.G., Pestel-Caron.M et Marchandin.H.2015.** Staphylococcus aureus. Page 1.
- Ela M.A., El-Shaer N.S. et Ghanem N.B.1996.**Antimicrobial evaluation and Chromatographic analysis of some essential and fixed oils. Pharmazie; 51 pp.993-995.
- El Haib.A. 2011.** Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse de doctorat. Université de Toulouse.
- Fadel, H., Benayache, F. et Benayache, S., 2016.** «Antioxidant properties of four Algerian medicinal and aromatic plants *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus phoenicea* L., *Marrubium vulgare* L. and *Cedrus atlantica* (Manetti ex Endl)», Der Pharmacia Lettre, V.8, n°3, 72-79.
- Faucher, J.L., Avril, J.L., 2002.** Bactériologie générale et médicale. Tome 1, Ellipses (Ed.), Paris, 214p
- Feknous S., Saidi F., Ramdhane MS. 2014.** Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L.). Nature & Technologie.11 :7-13.
- Gobbi R., Khebbaz W.2014.**Traçabilité de l'identification des métabolites secondaires végétaux. Mémoire de Licence. Université Kasdi Merbah. Ouargla. Algérie.

- Goudable, J. Favier, A. 1997.** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme 11,115-120.
- Guillouty.A.2016.**Plantes médicinales et antioxydants.Thèse de doctorat. Université Toulouse Iii Paul Sabatier.
- Haleng .J., Pincemail.J., Defraigne.JO., C.Charlier et Chapelle.JP.2007.**Le stress oxydant.Rev Med Liege 2007; 62 : 10 : 628-638.Page 628.
- Halliwell B., Gutteridge J.M.C. 1999.** Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd ed., Oxford University Press.
- Haluk.J.P.2005.**The parfume trees.Bulletin de L'académie Lorraine Des Sciences 2005, 44 (1-4).
- Harrar A.E.2012.** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus L. Mémoire de Magister. L'université Ferhat Abbas - Sétif.
- Herzi.N.2013.**Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles.Thèse de doctorat.Université de toulouse.
- Iserin P.2001.** Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation et soins, éd. Larousse.
- Ismail, H. I., Chan, K. W., Mariod, A. A. et Ismail, M., 2010.** « Phenolic content and antioxidant activity of cantaloupe (*Cucumis melo*) methanolic extracts », Food Chemistry, V. 119, 643–647.
- Jerome, J.P., James, S., et Stephen, L. 2004.** Microbiologie. Ed Dunod; 483P.
- Kellal.C et Lacete.D.2018.** Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Origanum compactum* et *Cedrus atlantica* : Application pour la conservation des fruits de pomme. Mémoire De Fin D'études. Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.
- Kholkhal.F.2014.**Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *thymus ciliatus ssp coloratus* et *ssp euciliatus*. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid.
- 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, 5 (3) : 887-898.

- Krouchi.F. (2010).** Etude de la diversité de l'organisation reproductive et de la structure génétique du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) en peuplement naturel (Tala-Guilef, Djurdjura nord-ouest, Algérie). Thèse de Doctorat de l'Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou (UMMTO).127 p. + Ann.
- Kuete, V., Penlap, B. V., Etoa, F.X., Modjo, S.L., Bogne,P., Assob, J. C and Lontsi, D. 2004.**Activités antimicrobiennes de l'extrait total et des fractions de jus de fruit de citrus medica lin. (rutaceae). Pharmacologie Médecine Traditionnelle Africaine, 13 : 91-101.
- Labiod.R.2016.**Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba.
- Lagane C.2007.**Rôle de l'il-13 et des ligands de ppar- γ dans la réponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-à-vis de candida albains .Implication de ppar- γ .Thèse de Doctorat. Université Toulouse Iii – Paul Sabatier.
- Lemiti.S., Taieb Solimane.S., Tami.H et Djazouli.Z.E.2019.**Effets de la canopée du cèdre de l'atlas sur la structuration des peuplements de nématodes dans deux versants du parc national de Chréa (Algérie). Revue Agrobiologia (2019) 9(1): 1327-1342.Page 1328.
- Maire.R.1952.** Flore de l'Afrique du Nord. Vol. 1. Edition le chevalier. Paris.
- Mariani-Kurkdjian P. et Bingen É.2012.** Physiopathologie et virulence des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines. Page 1. Réanimation (2012) 21:268-279
doi : 10.1007/s13546-012-0481-x.
- Martini.MC et Seiller.M. 1999.**Actifs et additifs en cosmétologie. Procédés d'extraction des huiles essentielles. Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales. p 563.
- M'hirit.O.,Samih. A et Malagnoux. M. 1994.** *Cedrus atlantica* (Manetti). Ann. Rech. For. Maroc, (1994), T(27), 363-379
- M'hirit O., 1994.** Le Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) présentation générale et état des connaissances à travers le réseau Silva Méditerranéa "le Cèdre". Ann. Rech. For. T (27), 205-217.
- M'hirit O. 1999.** Le cèdre de l'atlas à travers le réseau Silva méditerranéenne « cèdre ».billon et perspectives. Forêt méditerranéenne. N°3.V.XX : 91-99.
- M'hirit O.2006.** Le Cèdre De L'atlas : Mémoire Du Temps. Ed. Mardaga: 288p.
- Naimi, F., Bousta, D., Balouiri, M. et EL Meskaoui. A. 2015.** «Antioxidant and free radical-scavenging properties of seeds flavonoids extract of *Cedrus atlantica* Manetti,

Linum usitatissimum L. and Ocimum basilicum L. species». J App Pharm Sci, V.5, n°8, 95-99.

Novelli G. P. 1997. Role of free radicals in septic shock. J. Physiol. Pharmacol. 1997 ; 48: 517-527.

Okamura, H., Mimura, A., Yakou, Y., Niwano, M. et Takahara, Y., (1993).

« Antioxydant activity of tannins and flavonoids in Eucalyptus rostrata », Phytochem, V.33, 557-561.

Pellerin.P.(2000).Techniques d'extraction des huiles essentielles.Actes de la journée de réflexion sur les plantes aromatiques et médicinales. Ann. Rech. For. Maroc, Numéro spécial: 74-103.

Pokorny J., Yanishlieva N et Gordon M. 2001.Antioxydants in food: practical application. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC.

Quy, D.D., Angkawijaya, A.E., Phuong Lan, T.N., Lien H.H., Felycia, E.S., Suryadi, I., Yi-Hsu, J. (2014).Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. Journal of food and drug analysis, 22:296-302.

Rached, W. (2009). Evaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique. Thèse de doctorat. Université Es-Sénia. Oran. P : 30 - 45. • Re, R., Pelliègrini, N., Posteggente, A. (1999). Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free radicals in biology and medicine, 26 (9-10): 1231-1237.

Sanago. R. 2006. Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53.

Sanchez-Moreno C., 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Inter. J. Food Sci. and Technol., 8 (3): 121–137.

Smith, R. I., Cohen, S. M., Doull, J., Feron, V. J., Googman, J. I., Marnett, L. J., Portoghese, P. S., Waddell, W. J., Wagner, B. M. et al. 2005. A procedure for the safety evaluation of natural complexes used as ingredients in food: essential oils, Food chem toxicol, 43: 345-363.

Toth.J.1970. Plus que centenaire et plein d'avenir : le cèdre en France. Rev. For. Fr, 22 (3): 355-364.

Toth. J. 1978.Contribution A L'étude De La Fructification De La Régénération Naturelle Du Cèdre De L'atlas (*Cedrus Atlantica* Manetti) Dans Le Sud De La France. Thèse De Doctorat Ingénieur A La Faculté De St Jérôme, Marseille.

Toth.J. 2005.Le Cèdre De France: Etude Approfondie De L'espèce. Editions L'Harmattan. Biologie, Ecologie, Agronomie. 207 P.

Tournaire, C., Hocquaux, M., Beck, I., Oliveros, E. et Maurette, M.T., (1994). « Activité anti-oxydante de flavonoïdes, Réactivité avec le superoxyde de potassium en phase hétérogène », Tetrahedron, V.50, n°31, 9303-9314.

Vincent.MC. 1991. L'aromatogramme. Encyclopédie de médecine naturelle, phytothérapie, aromathérapie, Paris.

Zitouni.A.2017.Profil polyphénolique et activité antioxydante de deux plantes médicinales pistacia lentiscus.l et gymnocarpos decander.Forsk.thèse de doctorat.Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.