

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

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



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologique

Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Présenté par :

ASNOUN Soumaya

BOUKHRIS Wissame

BOURABEH Manel

Intitulé

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

Soutenu le 15 Juillet 2021

**Jury:**

Président	Dr. ACHIR M.	MCB
Examineur	Dr. SOUANA K.	MCB
Encadrant	Dr. BOUSSAID M.	MCA
Co-encadrant	Dr. AIT ABDERRAHIM L.	MCA

Année universitaire 2020-2021

## **Remerciements**

*Au début, on remercie **Dieu** le tout puissant pour nous avoir donné la volonté, le courage et l'amour du savoir.*

*Nos profonds remerciements sont adressés :*

*- Au président du jury le Dr **ACHIR M**, Maître de conférences à l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret, d'avoir accepté de présider ce jury.*

*- Dr. **SOUANA K**, d'avoir accepté d'examiner le présent travail.*

*- Dr. **BOUSSAID M**. Maître et de conférences, nous vous remercions de nous avoir guidé dans la bonne voie, celle du travail, de la patience, et d'avoir consacré votre temps précieux pour diriger ce mémoire.*

*Nos remerciements s'adressent à notre adorable enseignante et co-encadrant Dr. **AIT ABDERRAHIM L**.*

*Pour ses aides et ses orientations au laboratoire et pour son soutien moral et ses encouragements.*

# *Dédicace*

C'est à l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé chemin de ma vie qui j'ai pu réaliser ce  
modeste travail que je dédie.

A mes chers parents ma mère et mon père pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur  
encouragement tout au long de ma vie

Que dieu le procure bonne santé et longue vie

A ma sœurs *IKREM* et mes frères *TAHER*, *ABDELBASSET* et *SABER*

A tout la famille *BOURABEH*

A mes chères *KARIMA*, *SOUHILA*, *IMEN*, *MOUNA*, *BOUCHRA*

A mes chères tentes *NAWEL*, *KHALDIA*, *ZARKA*, *KHAIRA*,

A mes grandes mères

A mes chères binome *WISSAM*, *SOUMIA*

Avec j'ai passé des moments inoubliables

A tous ceux qui me connaisse

*MANEL*

# *Dédicace*

Je tiens à saisir cette occasion et adresser mes profonds remerciements et mes profondes connaissances  
aux êtres les plus chers :

**A ma mère :**

« Tu m'a 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 porte.

En témoignage, je t'offre ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour l'affection  
dont tu m'as toujours entourée »

**A mon père :**

« L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne, de mon estime et de mon  
respect.

Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments que dieu te préserve et te procure santé et  
longue vie »

Je dédie ce modeste travail également :

A mes chers frères : Hama et abed

A mes chères sœurs : Hbibba et alia

A ma grand-mère « khaira » que dieu te préserve

A mes chères amies

A mes adorables neveux : Mohamed Anes, Mohamed louay, djawed, ihab abdelghani et iyad

A mes adorables nièces : Manel, sondos, yasmine ,samira maram ,lamia et assinet

A mes collaboratrices de travail : soumia et manel à qui je souhaite une vie pleine de réussites

A mes cousins et cousines

A toute la famille Boukhris

A tout aux que j'aime et ceux qui m'aiment ....

*Wissame*

# *Dédicace*

Avec l'aide de Dieu, le tous puissant qui m'a donné le courage et la volonté pour achever ce modeste travail que je dédie :

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour,  
A ceux qui m'ont encouragé dans mes moments les plus difficiles,  
A ceux qui m'ont fait confiance

« Mes très chers parents »

Sans eux je ne suis pas pu être ce que je suis, en reconnaissance de leurs efforts, de leurs précieux conseils, leurs amours, je ne les remercierai jamais assez pour tout ce qu'ils m'ont fait.

A mon deuxième père : BENOuada

A mon deuxième mère : MOKHTARIA

A ma chère grand-mère et grand père

A mes chers frères : HAKIM, BENOuAMER ET RABAHA

A mes chères sœurs : RABIA, SARA , FATIMA ET RACHIDA

A mes chères amie : MERIEM AMEL FADILA NADIA IMEN

A mes collaboratrice de travail: WISSEM ET MANEL pour ses patience, de m'avoir partagé les moments de ce travail

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

Epanouissement

A tout la famille ASNOUN et BOUNOUARA

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

*Soumaya*

## Résumé

Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal algérien, se trouve le cèdre de l'atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) qui est une essence endémique des montagnes de l'Afrique du nord occupant une aire de répartition géographique très fragmentée. Cependant, très peu de recherches ont été menées sur les activités biologiques de cette espèce forestière. C'est dans ce contexte, que s'inscrit cette étude qui a pour objectif d'évaluer l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits éthanoliques issus des aiguilles de *Cedrus atlantica* prélevés sur trois cédraies appartenant à trois parcs nationaux d'Algérie. L'extraction de la partie aérienne (aiguille) de la plante a permis d'obtenir un rendement intéressant en extrait éthanolique avec environ 18.82% pour la cèdre de Théniet El Had et une moyenne autour de 17.5 % pour les cédraies de Boutaleb et de Chréa.

Les résultats obtenus révèlent une activité antimicrobienne contre les bactéries à Gram+, et une légère activité vis-à-vis une seule souche à Gram- (*E. coli*). Le test *in vitro* de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH a montré que le pouvoir antioxydant est proportionnel à l'augmentation de la concentration de l'extrait, les extraits éthanoliques testés sont dotés d'un potentiel antiradicalaire appréciable surtout avec un IC<sub>50</sub> de 5 mg/ml.

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

## ملخص

من بين النباتات الطبية التي يتكون منها الغطاء النباتي الجزائري أرز الأطلس (*Cedrus atlantica* Manetti) وهو نوع مستوطن في جبال شمال إفريقيا يحتل نطاقاً جغرافياً مجزأً للغاية. ومع ذلك ، تم إجراء القليل جداً من الأبحاث حول الأنشطة البيولوجية لهذه الأنواع الحرجية. هذا هو السياق الذي تهدف فيه هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا والأوكسدة للمستخلصات الإيثانولية من إبر *Cedrus atlantica* المأخوذة من ثلاث بساتين أرز تنتمي إلى ثلاث حدائق وطنية في الجزائر. سمح استخراج الجزء الجوي (الإبرة) من النبات بالحصول على محصول مثير للاهتمام من المستخلص الإيثانولي بحوالي 18.82% لأرز ثنية الحد وبمعدل 17.5% لأرز بوطالب والشريعة.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وجود نشاط مضاد للميكروبات ضد بكتيريا Gram + ، ونشاط طفيف ضد سلالة جرام واحدة (*E. coli*). أظهر الاختبار في المختبر للنشاط المضاد للأوكسدة بواسطة طريقة DPPH أن قوة مضادات الأوكسدة تتناسب مع زيادة تركيز المستخلص ، المستخلصات الإيثانولية التي تم اختبارها لها إمكانات ملحوظة لمكافحة الجذور الحرة ، خاصة مع IC 50 من 5 ملغ / مل.

**الكلمات المفتاحية:** الأرز الأطلسي ، نشاط مضاد للأوكسدة ، نشاط مضاد للميكروبات ، مستخلص ميثانولي ، مستخلصات إيثانولية.

## **Abstract**

Among the medicinal plants that constitute the Algerian vegetation cover, is the Atlas cedar (*Cedrus atlantica* Manetti) which is an endemic species of the mountains of North Africa occupying a very fragmented geographical range. However, very little research has been done on the biological activities of this forest species. This is the context in which this study, which aims to assess the antibacterial and antioxidant activity of ethanolic extracts from the needles of *Cedrus atlantica* taken from three cedar groves belonging to three national parks in Algeria. The extraction of the aerial part (needle) of the plant has made it possible to obtain an interesting yield of ethanolic extract with approximately 18.82% for the cedar of Théniet El Had and an average around 17.5% for the cedars of Boutaleb and Chr ea.

The results obtained reveal an antimicrobial activity against Gram + bacteria, and a slight activity against a single Gram- strain (*E. coli*). The in vitro test of the antioxidant activity by the DPPH method showed that the antioxidant power is proportional to the increase in the concentration of the extract, the ethanolic extracts tested have an appreciable anti-free radical potential, especially with an IC50 of 5 mg / ml.

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



## Liste des figures

<b>Figure .1</b>	<i>Cedrus atlantica</i> M	03
<b>Figure .2</b>	Caractéristiques botaniques du cèdre de l'Atlas	04
<b>Figure .3</b>	Répartition du cèdre de l'Atlas en Afrique du nord	07
<b>Figure .4</b>	les principes des antioxydants	12
<b>Figure .5</b>	Protocole appliqué	16
<b>Figure .6</b>	Séchage et broyage des aiguilles (feuilles) des cèdres de l'Atlas.	17
<b>Figure .7</b>	protocole expérimentale de macération	18
<b>Figure .8</b>	Boîtes de pétri avec des puits	20
<b>Figure .9</b>	Ensemencement.	20
<b>Figure .10</b>	Protocole expérimental des dilutions	21
<b>Figure .11</b>	Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH	22
<b>Figure .12</b>	Protocole d'étude de l'activité antioxydant de DPPH (Scavenging)	23
<b>Figure .13</b>	Observation microscopique des souches après coloration	27
<b>Figure .14</b>	zones d'inhibition produite par l'extrait méthanolique	29

## Liste des tableaux

<b>Tableau .1</b>	Caractères botaniques et biologiques des différentes espèces de cèdre	02
<b>Tableau .2</b>	La coordonnée géographique des sites prélèvements	14
<b>Tableau .3</b>	Les caractères biologiques des différentes souches utilisées	15
<b>Tableau .4</b>	Caractéristiques et rendements d'extrait éthanolique des différentes sites de prélèvement de Cèdre de atlas	26
<b>Tableau .5</b>	Diamètre des zones d'inhibition des différentes extraits	28
<b>Tableau .6</b>	Activité des radicaux libres (DPPH ) des extraits d'aiguilles de Cèdre de atlas.	30
<b>Tableau .7</b>	IC50 des standards et des extraits méthanoliques des aiguilles du cèdre de l'Atlas	31

## Liste des abréviations

**CMI:** concentration minimal inhibitrice

**DMSO:** dimethyl sulfoxyde

**DPPH:** 2,2'-diphenyl -1-picrylhydrazil

**IC50:** concentration inhibitrice de 50% d'une activité

**E1:** extrait de Theniet El Had

**E2:** extrait de Boutaleb

**E3:** extrait de Chréa

## *Table des matières*

Remerciements  
Dédicaces  
ملخص  
Résumé  
Abstract  
Liste des figures  
Liste des tableaux  
Liste des abréviations

Introduction ..... 01

### *Première partie : Synthèse bibliographique*

1. Généralité sur le genre cedrus .....	02
1.1 Généralité sur le cèdre de l'Atlas .....	02
1.2 Position Systématique .....	03
1.3 Caractéristiques botaniques .....	03
1.4 Aire de répartition géographique du cèdre de l'atlas .....	06
1.4.1 Aire naturelle .....	06
1.4.2 Aire d'introduction .....	07
1.5 Intérêt du cèdre de l'Atlas .....	08
2. Les métabolites secondaires .....	10
2.1. Les composés phénoliques .....	10
2.2. Les terpenoïdes .....	10
2.3. Les alcaloïdes .....	10
3. Activité biologique .....	11
3.1 Activité Antimicrobienne .....	11
3.2 Activité Antioxydant .....	11

## ***Deuxième partie: Matériel et Méthodes***

1.Objectif .....	14
2.matériel et méthode .....	14
2.1 Matériel biologique .....	14
2.1.1 Végétal .....	14
2.1.2 Souche bactérienne utilisé.....	15
2.2 Méthode.....	16
2.2. 1 Préparation des extraie ethanologique.....	17
2.2.1.1 Séchage et broyage.....	17
2.2.1.2 Macération .....	17
2.2.1.3 filtration.....	17
2.2.1.4Calculer le rendement .....	18
2.2.2 Activité biologues .....	19
2.2.2.1 Anti bactérienne .....	19
2.2.2.1.1 Teste de confirmation des souches bactériennes .....	19
2.2.2.1.2 Préparation des milieux de culture .....	19
2.2.2.1.3 Isolement des souches .....	19
2.2.2.1.4 Préparation de l'étalon 0.5 Mc Farland .....	19
2.2.2.1.5. Préparation des suspensions bactériennes .....	19
2.2.2.1.6. Méthodes des puits .....	20
2.2.2.1.7. Ensemencement.....	20
2.2.2.1.8. Méthode de dillution .....	21
2.2.2.1.9. Incubation.....	21
2.2.2.2. Antioxydant.....	21
2.2.2.2.1 Principe .....	21
2.2.2.2.2.Méthode de réduction des radicaux libres DPPH.....	23
2.2.2.2.2.1Mode opératoire .....	23

## *Troisième partie: Résultats et Discussion*

3 .Résultats et discussion.....	26
3.1 Rendement d'extraction .....	26
3.2 Activité biologique .....	27
3.2.1Activité antibacterienne.....	27
3.2.1.1 Observation microscopique des microorganismes testé.....	27
3.2.1.2.Tests de antibacterienne .....	28
3.3.2Activité antioxydants .....	30
Conclusion .....	34
Références bibliographiques .....	36

# *Introduction*

Les plantes médicinales restent toujours la source importante des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Cet intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que 80% de la population globale dépend notamment de la médecine traditionnelle et de la phytothérapie pour les soins sanitaires, ce qui semble être une solution acceptable. Il a été rapporté aussi que 60% des préparations médicamenteuses, dans les pays industrialisés, dérivent des plantes; ces dernières agissent comme sources d'agents thérapeutiques modèles pour de nouveaux composés synthétiques ou comme matière de base pour la production semi synthétique de molécules de haute complexité (Fetah 2019).

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. Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses et pour la protection des aliments contre l'oxydation. Ces composés chimiques ont de multiples effets biologiques, notamment antimicrobiens et antioxydants. (Bouamar 2019).

Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal en Algérie, se trouve le cèdre del'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) qui est une essence endémique des montagnes de l'Afrique du nord (M'hirit, 1999). Le peu d'études réalisées sur les extraits de *Cedrus atlantica* Manetti ont montré que les flavonoïdes extraits des graines de *Cedrus atlantica* M possèdent une activité puissante à piéger les radicaux libres DPPH. (Murgan et Parimelazhagan 2014). Dans ce contexte s'inscrit ce présent travail dont l'objectif essentiel consiste à évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits éthanoliques issus des aiguilles de *Cedrus atlantica* M collectés sur trois différentes cédraies d'Algérie.



*Première partie*

*Synthèse Bibliographique*

## 1. Le cèdre

### 1. Le cèdre de l'atlas

#### 1.1. Généralité

Le genre *Cedrus*, appartenant à la famille des pinacées, est considéré comme étant le plus ancien après le genre *Pinus*. Il comprend quatre espèces (Tableau.1) qui sont : *Cedrus libani* (cèdre de Liban), *Cedrus brevifolia* (cèdre de Chypre), *Cedrus deodara* (espèce himalayenne) et *Cedrus atlantica* Manetti (Derridj, 1990).

**Tableau 1.** Caractères botaniques et biologiques des différentes espèces de cèdre (Toth, 2005).

Espèce	TA (cm)	LC (cm)	DC (cm)	LG (cm)	EG (cm)	EP DM
<i>C. atlantica</i>	1-2.5	5-8	3-5	0.8-1.3	2.5-3.5	Mi-septembre 2ans
<i>C.libani</i>	1-3.5	8-12	3-6	1-1.4	3.5-4	Mi-septembre 2ans
<i>C.previfolia</i>	0.5-1.5	5-10	3-6	0.8-1.4	3-4	D. septembre 2ans
<i>C.deodara</i>	2-6	7-13	5-9	1-1.5	3.5-4.5	D. Novembre 1 ans

TA=Taille des aiguilles, LC=Longueur des cônes, DC= Diamètre des cônes, LG=Longueur des graines, EG=Envergure des graines, EP=Epoque de pollinisation, D=début et DM=Durée de maturité.

Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus Atlantica* Manetti) est une essence endémique des montagnes de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie). Il est d'ailleurs considéré par plusieurs auteurs comme l'espèce la plus importante, économiquement et écologiquement, de la montagne méditerranéenne. Il compte parmi les résineux les plus caractéristiques de nos forêts.

## 1.2. Position Systématique

Selon Arbez 1978 et Toth 1978, la classification taxonomique de *Cedrus atlantica* M. est la suivante :

- ✓ Règne : Plantae
  - ✓ Embranchement : Spermaphyte
  - ✓ Sous-embranchement : Gymnosperme
  - ✓ Classe : Vectrice
  - ✓ Ordre : Coniférales
  - ✓ Sous -ordre : Abiétales
  - ✓ Famille : Pinacées
  - ✓ Sous-famille : Abiétées
  - ✓ Tribu des Lariceae
  - ✓ Genre : Cèdrus
  - ✓ Espèce : *Cedrus atlantica* Manetti
  - ✓ Nom vernaculaire :-arabe : Meddad ou El-Arz.
- Berbère : Beguenoun ou Inguel.
- Français : cèdre de l'Atlas

## 1.3. Caractéristiques botaniques

Le cèdre de l'Atlas est un arbre majestueux de première grandeur il peut atteindre 40 m de hauteur et de 2 à 3 m de diamètre chez les sujets âgés (**Fig 1.**).



**Figure 1.** *Cedrus atlantica* M

- **Le Port**

- Arbre jeune : port conique pyramidal.
- Arbre âgé : présente de grosses branches étalées et une cime tabulaire.
- Hauteur : de 50 à 60 m.
- Circonférence du tronc: de 1 à 2 m généralement,

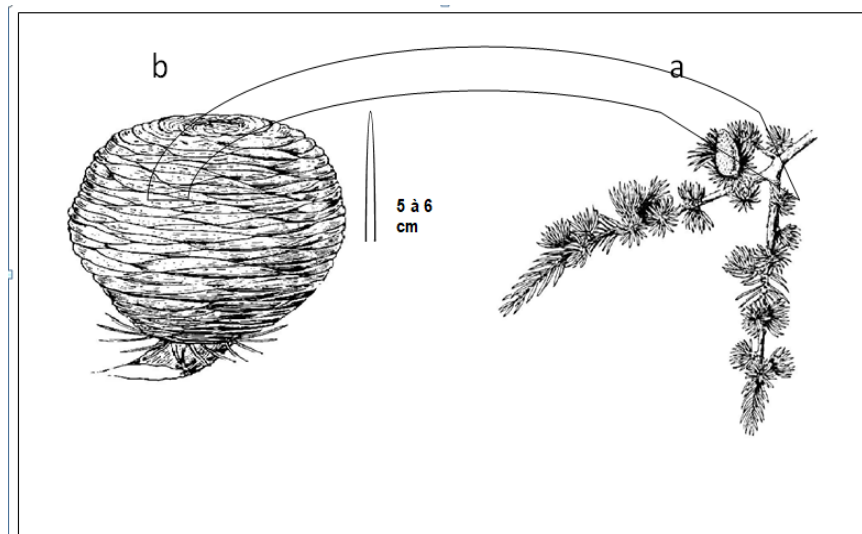
- **Les Aiguilles**

Sont groupées en petits bouquets au sommet et portées par de courts rameaux pouvant vivre 3 ans.

- Longueur : de 1 à 2 cm.
- Couleur : vert ou glauque.
- Persistance : 3 ans.
- Forme : raide et fine, peu aigüe, généralement arquée groupées en rosettes denses) de 30 à 40 aiguilles.

- **Les branches**

Ne sont pas étagées en verticilles, elles naissent isolément et une multitude de petits rameaux alors, sa ramure est horizontale (**Fig. 2**).



**Figure 2.** Caractéristiques botaniques du cèdre de l'Atlas  
a: rameau avec inflorescence mâle ; b : cône

- **Les fleurs**

Les fleurs du cèdre naissent en automne et le cône est mur à l'automne de la 3<sup>ème</sup> année il s'ouvre alors 2 ans après la fécondation, mais les fruits n'arrivent à maturité qu'à l'automne de la seconde année. Alors la fructification du cèdre de l'Atlas débute vers l'âge de 35 à 40 ans.

- **Graines**

Selon Khanfouci les caractéristiques de la graine du cèdre sont :

- ✓ Forme : assez grosse, pointue et longue avec une aile développée sur triangulaire.
- ✓ Longueur : 8 à 12 cm.
- ✓ Couleur : marron roux à marron clair.
- ✓ Poids : peut dépasser 0, 1g.

- **Le système racinaire**

Est très développé, pivotant, fixant l'arbre au sol. Les racines des plants d'une année sont comprises entre 14 et 20 cm. Quand le sol est peu profond ou qu'il contient des obstacles, l'enracinement devient latéral, causant les chablis.

- **L'écorce**

Est épaisse de couleur brune à l'état jeune et grisâtre crevassée à l'état adulte. Leur longévité est remarquable et sa limite supérieure n'a pas encore été arrêtée. Elle dépasse certainement 600 à 700 ans. Le cèdre donne également des cônes à graines fertiles jusqu'à un âge avancé.

Le Cèdre est une essence monoïque, ses fleurs sont groupées en chatons mâles de forme ovoïde qui apparaissent à mi-juin. Les inflorescences femelles, de forme ovoïde également et de couleur vert-bleuâtre. Ces dernières sont plus petites que les chatons mâles et apparaissent trois mois après les chatons mâles.

## **1.4. Aire de répartition géographique**

### **1.4.1 Aire naturelle**

#### **. Au Maroc**

C'est au Maroc que se trouve l'essentiel des peuplements de cèdre de l'Atlas. Il couvre près de 132.000 à 160.000 ha, répartis dans les chaînes de montagnes du Moyen Atlas oriental et central, du Haut Atlas oriental et du Rif. Les cédraies sont en général composées de peuplements de structure irrégulière à jardinée et sont à 70 % aménagées.

#### **. En Algérie**

Les cédraies algériennes (Fig. 3) occupent une superficie de 30 400 ha et sont réparties sur deux blocs :

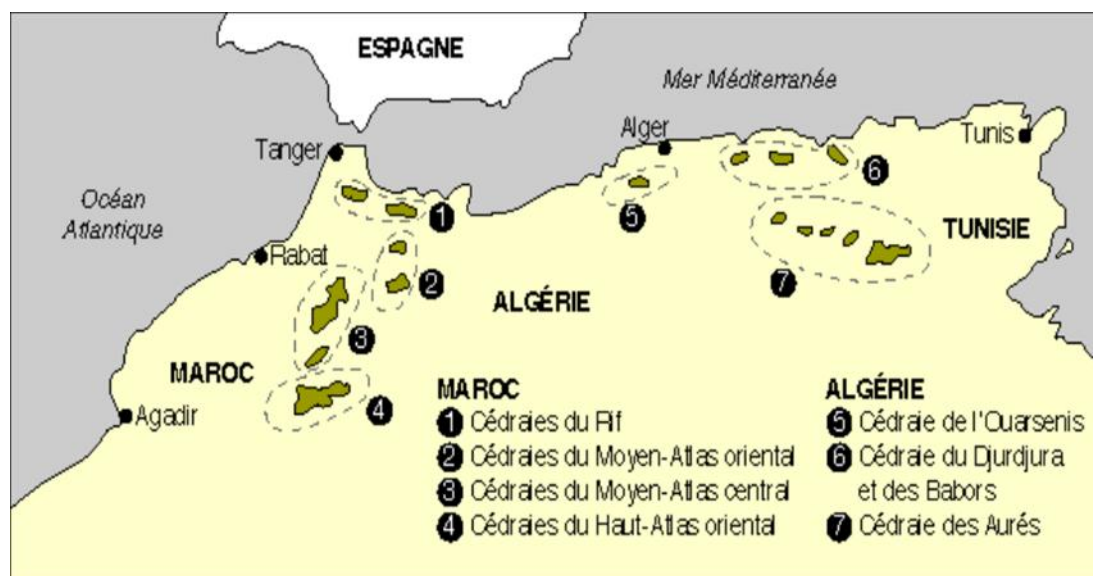
- Au niveau de l'Atlas saharien

Le cèdre est en régression drastique dans les Monts de HODNA (8000 ha), à Belezma avec (5000 ha) et dans les Aurès (5000 ha).

Selon Bentouati(2006), la superficie du *Cedrus atlantica* en Algérie et au Maroc reste discutable. Les chiffres relevés dans la littérature sont incohérents en raison probablement de l'absence d'inventaires précis et complets. Ceux recueillis sont contradictoires.

En effet, pour l'Algérie, Ezzahiri et Belghazi (2000) ont rapporté une superficie de 50.000 ha. M'hirit (2006) a donné une aire de 40.000 ha. Boudy (1950) l'a évaluée à 33.000 ha. Deridj (rapporte que différents auteurs ont estimé cette superficie à 32.000 ha.

Cette situation concerne en fait toutes les cédraies continentales en marge du bioclimat semi- aride, aussi bien au Maroc qu'en Algérie (Moyen et Haut Atlas orientaux et chaînons de l'Atlas saharien en Algérie). Pradal (1979) a fait les mêmes constatations, en mentionnant que dans ces régions le milieu actuel est trop hostile (400 mm de précipitation et des températures hivernales de -20 à -25 °C) pour que les arbres âgés de 300 ou 400 ans se régénèrent normalement.



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

#### 1.4.2. Aire d'introduction

Le cèdre de l'Atlas a été introduit depuis longtemps dans quelques pays du pourtour méditerranéen, tout d'abord dans les parcs et jardins, puis dans les reboisements forestiers. Il couvre en France 10.000 ha. Toth (1980a) ; M'hirit (1982,1994) et Aussenac (1984) signalent également son introduction aux U.S.A, en Crimée (Caucase), en Bulgarie, au Portugal, en Yougoslavie, en Belgique et en Allemagne

Le cèdre de l'Atlas a été employé d'abord comme espèce ornementale et ensuite comme espèce de reboisement dans les pays circumméditerranéens. On cite les dates

d'introduction de 1862 sur le mont Ventoux (France), 1864 en Italie, 1890 en Bulgarie (M'herit, 1982).

Il est introduit à titre expérimental en Yougoslavie, en Espagne, au Portugal, en Angleterre et en Belgique (Nedjahi, 1988).

### **1.5. Intérêts**

Le cèdre est une essence capable de remplir plusieurs rôles à la fois, et ceci malgré les conditions écologiques souvent difficiles et la surface restreinte qu'il occupe.

- Maintient d'un équilibre biologique en protégeant et en améliorant le sol.
- Production d'un bois de qualité et en quantité importante.
- Protection contre l'incendie feuillage peut inflammable.
- Arbre de grande valeur esthétique. Il présente une forte variabilité écologique et phréologique et de la présence d'écotypes ayant une bonne résistance à la sécheresse. Le cèdre de l'Atlas peut être utilisé comme arbre d'ornement dans les parcs et les jardins publics. Son bois noble à texture remarquable est utilisé en ébénisterie et il sert comme bois d'œuvre. Le cèdre peut également produire une huile essentielle aromatique qui a des propriétés antiseptiques. Les aiguilles sont par ailleurs utilisées comme fourrage pour le bétail durant les périodes d'enneigement.

#### **1.5.1. Intérêt écologique**

Selon Toth (1980) le cèdre est une essence capable de remplir plusieurs rôles à la fois et ça malgré les conditions écologiques souvent difficiles et la surface restreinte qu'elle occupe.

-Il maintient l'équilibre biologique en améliorant le sol et le protégeant, la production d'un bois de bon qualité et quantité importante et la protection contre l'incendie. Le cèdre est un arbre de grande valeur esthétique.

#### **1.5.2. Intérêt industriel**

- La qualité du bois du cèdre est supérieure à celle de tous les pins dans la méditerranée, Elle lui assure toutes sorte d'utilisation, fabrication de chalets de montagne, menuiserie, charpente poteaux, placage intérieur, meubles rustiques. Les produits d'éclaircie peuvent être utilisés également en papeterie, mélanges en faible quantité avec pins (M'herit, 2006). Il peut même fournir de la térébenthine (Becker et *al*, 1983).

- Il sert également à la fabrication des sarcophages et du cercueil de certains papes (De Vilmorin, 2003).
- Le cèdre de l'Atlas bénéficie d'une grande facilité de régénération naturelle dans les étages de chêne vert en Afrique du Nord et chêne pubescent en France, assurant ainsi la pérennité des peuplements et permettant des reboisements économiques par point d'appui (M'herit et Benzyane, 2006).
- Protection contre l'incendie, feuillage peu inflammable (Alexandrian et Gouiran, 1992 ; Aussenac, 1981), avec l'élimination de la végétation herbacée très inflammable (Toth, 1990).
- Maintient d'un équilibre biologique en protégeant et en améliorant le sol (Toth, 1990).

Toutes ces qualités d'adaptation a priori aux conditions climatiques, édaphiques de la zone méditerranéennes et justifie donc son utilisation importante en reboisement (Toth, 1990 ; Bariteau et Ferrandes, 1992).

### **1.5.3. Intérêt thérapeutique**

Dans l'Egypte ancienne, l'huile du cèdre a été utilisée pour l'embaumement des corps des défunts. Au Maroc, le cèdre de l'Atlas représente la principale source du bois d'œuvre. En France, le cèdre de l'Atlas est très largement utilisé dans le reboisement.

Les essences de *Cedrus atlantica* Manetti ont toujours été considérées comme des substances nobles et précieuses. Elles entrent dans la composition de nombreux produits tels que les parfums et certains produits d'hygiène.

En médecine traditionnelle, l'huile essentielle du cèdre de l'Atlas possède des propriétés antifongiques, antiseptiques, tonifiantes, astringentes, décongestionnantes, cicatrisantes. Elle est recommandée pour les problèmes de la peau et du cuir chevelu. D'autres effets sont rapportés tels que l'effet relaxant, lymphotonique, diurétique et lipolytique. Elle repousse également les moustiques et les mites.



## **2. Les métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes. Ils sont répartis en trois grandes familles chimiques : les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes (Boudjouref, 2011). Notre intérêt dans cette étude est essentiellement focalisé sur les composés phénoliques.

### **2.1. Les composés phénoliques**

Appelés également les polyphénols, sont des molécules spécifiques du règne végétal, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc (Les principales classes de ces derniers sont: les acides phénoliques, les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols et les tanins Bruneton, 2009).

### **2.2. Les terpénoïdes**

Les terpénoïdes de *Cedrus atlantica* ont fait l'objet d'un certain nombre d'enquêtes. Récemment, l'isolement de la structure de quatre terpénoïdes de l'extrait de l'essence de bois a été signalé. Trois nouveaux acides terpéniques ont été isolés l'acide nommé l'acide atlantonique , et l'acide dihydro atlantonique libanotique et trois acides résiniques, l'acide abiétique, l'acide déhydroabiétique et acide isodextropimarique (Avcibas *et al.*, 1988).

### **2.3. Les alcaloïdes**

Un alcaloïdes est un composé organique d'origine naturelle (le plus souvent végétal ) azoté ,plus ou moins basique,doué de propriété pharmacologique marquées (**Padrimi,2006** )

Les alcaloïdes se rencontrent dans toutes les parties de la plante, mais peuvent prédominer dans les feuilles,les graines, l'écorce ou dans les rhizomes (Verdrager, 1978 )

Les alcaloïdes se conservent généralement bien dans les plantes séchées et sont responsables de la toxicité de certains drogues ,peu d'alcaloïdes agissent sur le cœur ,mais quelques \_un sont employés pour augmenter ou abaisser la pression sanguine ,car leur action physiologique sur lesystème nerveux central séxerce sur la circulation et sur la respiration ,comme dépresseur ou comme excitant l'action sur le système nerveux peut aller jusqu'à une action anti-spasmodique et mydriatique ,et narcotique ,ils sont aussi utilisés comme apéritifs (schauenberg,2005) antalgique,antitussifs et laxatifs (Grunwald ;2006)

### **3. Activité biologique**

#### **3.1. Activité antimicrobienne**

Les extraits possèdent des propriétés antimicrobiennes plus ou moins prononcées. En effet, en raison de leur caractère lipophile, leurs constituants se lient aux membranes cellulaires des micro-organismes. Ils inhibent notamment les échanges d'électrons membranaires lors des phosphorylations oxydatives et freinent ainsi le métabolisme énergétique. De fortes concentrations en extraits conduisent également à la lyse membranaire et à la dénaturation des protéines cytoplasmiques (Teuscher et *al.* 2005).

Plusieurs études ont montré que les extraits des plantes sont capables de s'attaquer aux microbes les plus puissants, comme le staphylocoque, le bacille de koch (tuberculose) ou le bacille typhique (typhoïde) (Moro Buronzo, 2009).

Les extraits ont une double- action contre les microbes : Ils peuvent les tuer (effet bactéricide) et ils en arrêtent la prolifération (effet bactériostatiques). Les plus puissants pour cela sont ceux qui contiennent des phénols (Khater, 2011), des flavonoïdes (Judd et al. 2002), des tannins, des Saponines (Manase, 2014) et des alcaloïdes (Ceccon, 2015); lesquels sont utiles pour lutter contre les infections bactériennes (Moro Buronzo, 2009).

#### **3.2. Activité antioxydante**

##### **3.2.1 Définition des antioxydants**

Les antioxydants sont des composés chimiques capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit (Fedala, 2015).

##### **3.2.2. Principe des antioxydants**

La réaction d'oxydation est souvent une réaction en chaîne, les antioxydants bloquent cette chaîne et empêchent ainsi les radicaux libres d'attaquer les cellules du corps. Les antioxydants vont se lier aux radicaux libres et réalisent une réaction d'oxydation avec eux, ce qui va les rendre inoffensifs et donc rendre impossible leurs oxydations par les protéines ou les acides gras (Fettah, 2019) (Fig. 4).

# Antioxydants et radicaux libres

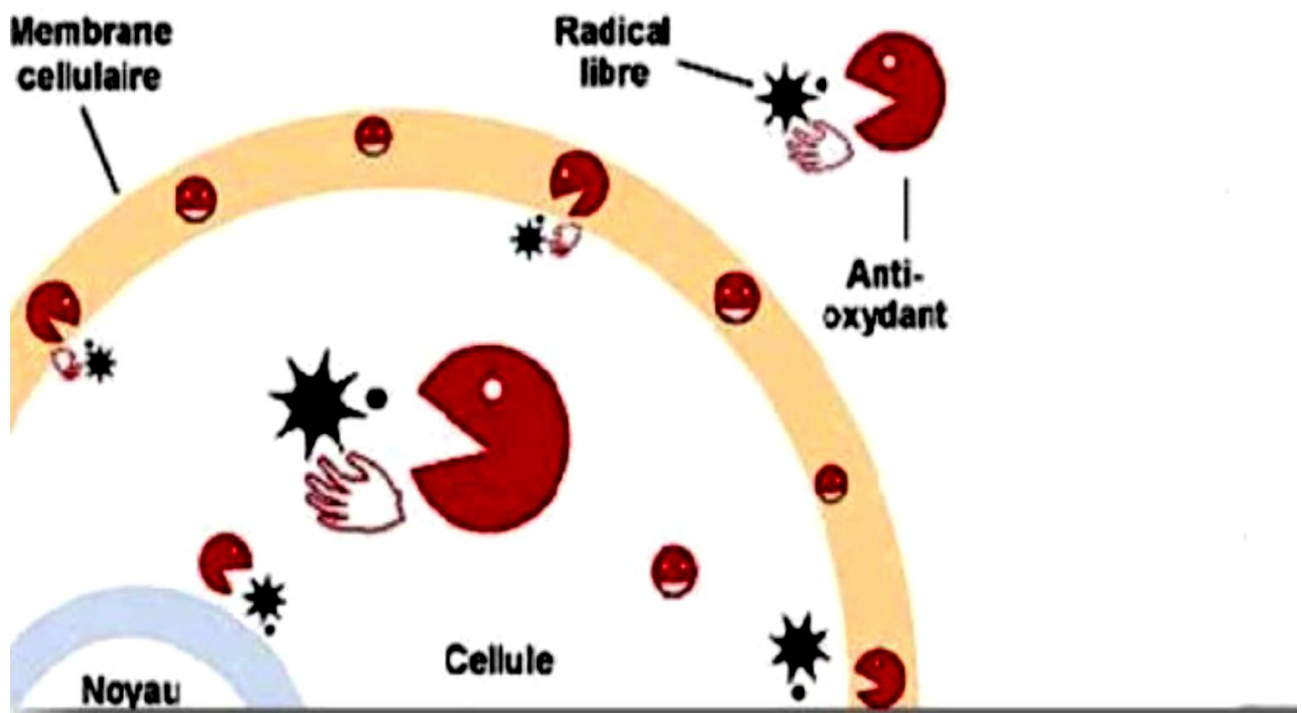


Figure 4. Le principe des antioxydants (Fettah, 2019).

*Deuxième partie*

*Matériel et méthodes*

## 1. Objectif

L'objectif de cette étude est l'évaluation in vitro de certaines activités biologiques (antioxydante et antimicrobienne) des extraits éthanoliques de la partie aérienne (feuilles) de *Cerdu atlantica* Manetti; une espèce endémique du Maroc et d'Algérie, caractérisée par une aire de répartition géographique très morcelée.

## 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) de Cèdre de l'Atlas récoltées sur trois différentes cédraies d'Algérie le moins de décembre 2020 (Tableau 2)

**Tableau 2.** Coordonnées géographiques des sites de prélèvements

Sites	Secteur administratif	latitude	longitude	Altitude (m)
Parc national de Boutalab	Sétif	35,44,14 N	5,21,08 E	1462
Parc national de Chréa	Blida	36,25,50 N	2,53,13 E	1564
Parc national de Théniet el Had	Tissemsilt	35,51,08 N	1,59,28 E	1450

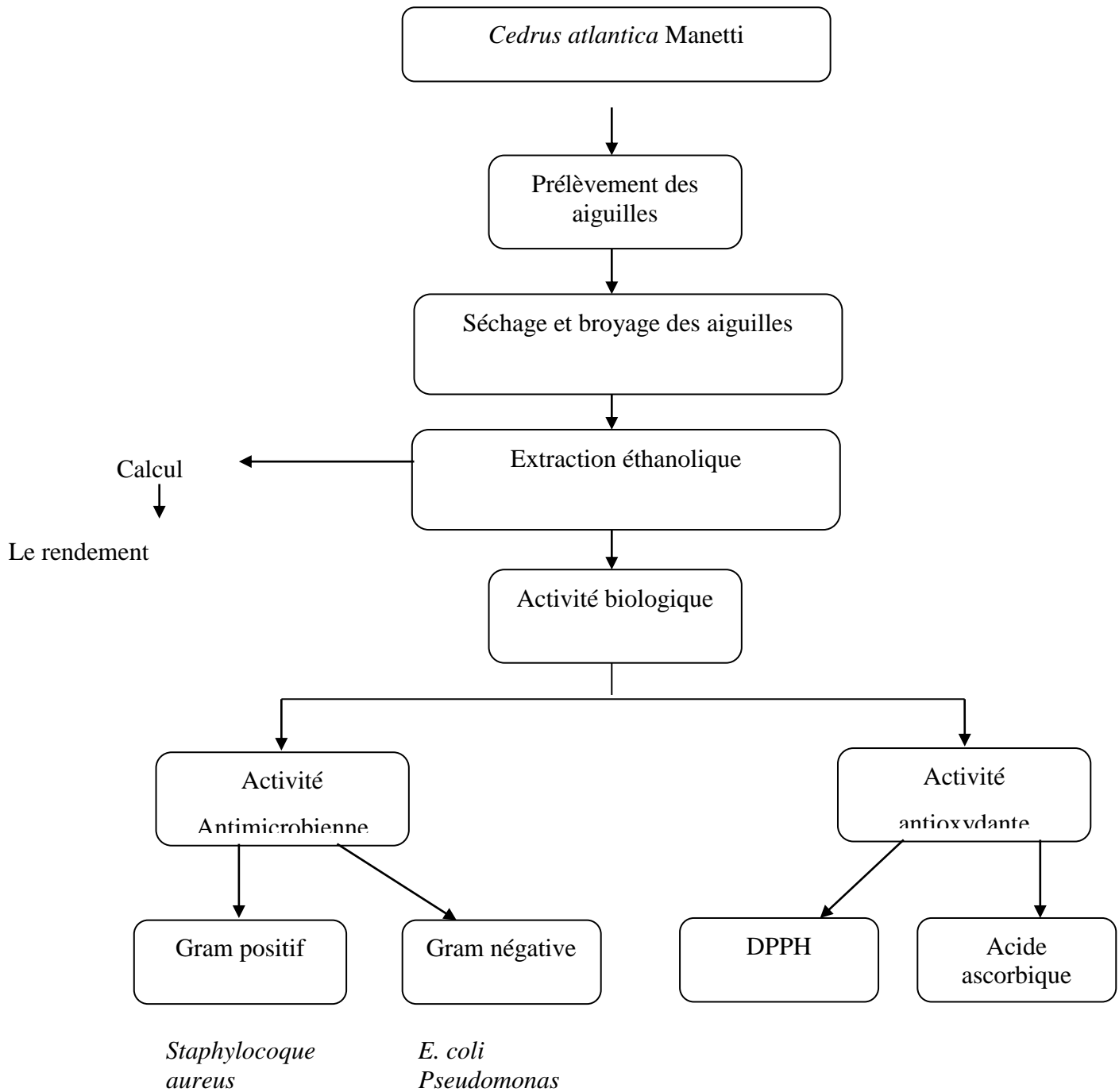
## 2.1.2. Souche bactérienne testées

Tableau 3. Caractères biologique des différentes souches utilisées

Bactéries	Caractéristiques
<i>Escherichia coli</i>	C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif des mammifères, non sporulée, généralement mobile, elle représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës (Laure et Guillou, 2016).
<i>Staphylococcus aureus</i>	C'est une bactérie à Gram positif de forme non sporulée, qui tend à se grouper en paires, non capsulée, représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, intoxication alimentaire (Velomalala et al., 2013).
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Appelé aussi bacille pyocyanique, est une bactérie Gram négatif, très répandue dans l'environnement, pathogène opportuniste, parfois commensal de sujets sains, fréquemment résistante aux biocides et aux antibiotiques (Leclerc 2002). Il est responsable d'infection pulmonaire. C'est un pathogène opportuniste responsable de nombreuses infections chez les patients immunodéprimés comme les brulés, et les cancéreux. La bactérie est également responsable d'infections urinaires principalement chez les patients porteurs de sondes, comme elle peut être responsable des infections nosocomiales (Bourhy et al., 1999).

## 2.2. Méthode

Les étapes suivies dans la présente étude sont décrites dans la figure 05 :



**Figure 5.** Protocole appliqué général

## 2.2.1 Préparation des extraits éthanoliques

### 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 quelques semaines. Après séchage, le matériel végétal est réduit en poudre à l'aide d'un broyeur électrique.

La poudre végétale obtenue est tamisée par un tamis de 250  $\mu\text{m}$  de diamètre puis conserver dans un endroit sec est à l'abri de la lumière.

Le protocole d'extraction est résumé dans la figure ci-dessous.



**Figure 6.** Séchage et broyage des aiguilles (feuilles) de cèdre de l'Atlas.

### 2.2.1.2 Macération

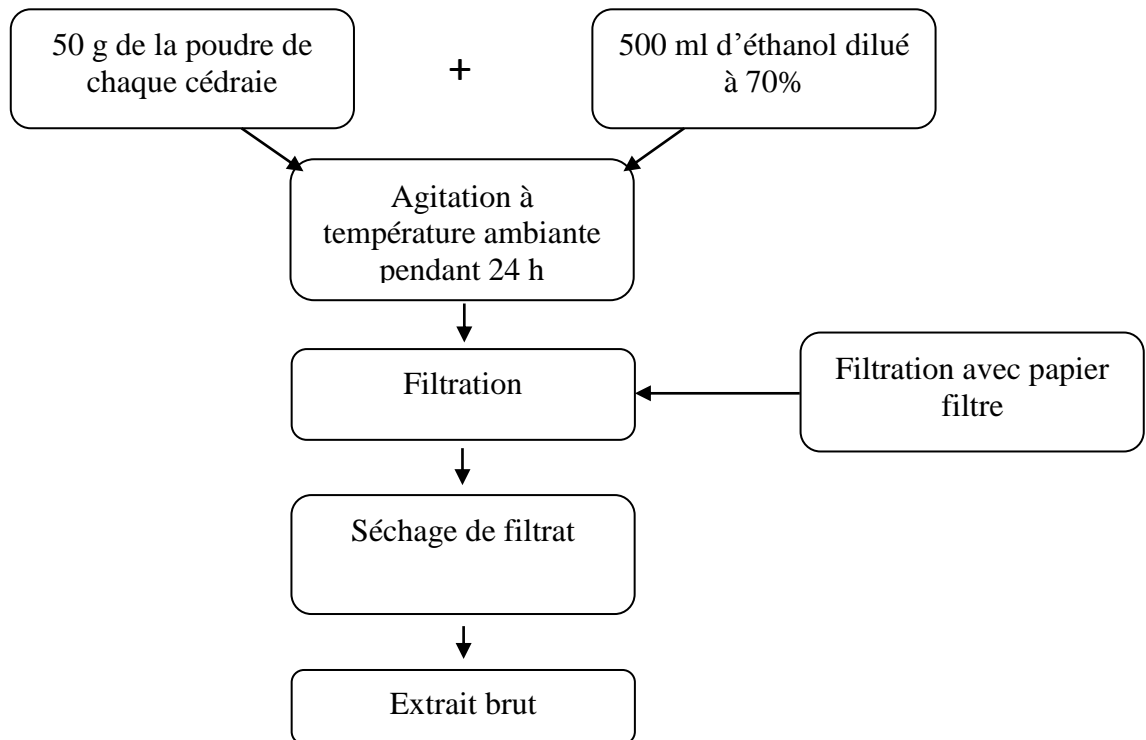
Une extraction solide liquide a été réalisée en utilisant la poudre végétale de chaque site avec comme solvant l'éthanol dilué à 70%.

### 2.2.1.3 Filtration

Lorsque la durée de macération est terminée, l'homogénat obtenu est filtré sur un papier filtre Wathman. L'extrait obtenu a été versé dans un plat de cristallisation en verre puis séché à une température voisinant 35°C. L'extrait sec obtenu a été pesé et conservé à l'abri de la lumière pour une éventuelle utilisation.

Le protocole de macération est résumé dans la figure ci-dessous.





**Figure 7.**protocol experimental de macération.

#### 2.2.1.4 Calcul du rendement

Le rendement en extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait brut et la masse du matériel végétal broyé à traiter, il est calculé selon la formule suivant :

$$R = (M1/M2) \times 100$$

**R** : rendement en extrait brut sec, exprimé en %

**M1** : masse en gramme de l'extrait brut sec

**M2** : masse en gramme du matériel végétal broyé à traiter (Mahmoudi et al. 2013).

## **2.2.2. Activités biologiques**

### **2.2.2.1. Activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne *in vitro* d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide (**Inouye, 2003**).

#### **2.2.2.1.1. Test de confirmation des souches bactériennes**

La souche bactérienne testée est une souche déjà identifiée et référenciée. Nous avons tenu à vérifier sa pureté par une observation microscopique.

Après la réactivation de la souche sur un milieu sélectif avec une incubation à 37°C pendant 24 h nous avons effectué la coloration de gramme pour les bactéries ce qui nous permis d'observer la couleur, la forme des cellules bactériennes, leur mode de regroupement et le type de gramme.

#### **2.2.2.1.2. Préparation des milieux de culture**

Les milieux de culture utilisés dans cette étude sont :

Muller Hinton Agar pour l'étude de la sensibilité des bactéries à l'échantillon, il est préparé comme suit : Dissoudre 38g de la gélose Muller-Hinton dans 1L d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, avec un pH =  $7.4 \pm 0.2$ , puis auto-claver pendant 20 minutes à 180 °C et finalement couler le milieu dans les boites de Pétri, après refroidissement du milieu.

#### **2.2.2.1.3. Isolement des souches**

Les différentes souches microbiennes isolées des pré-cultures ont été repiquées par la méthode de stries sur gélose Muller Hinton dans des boites de Pétri puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour optimiser leurs croissance.

#### **2.2.2.1.4. Préparation de l'étalon 0.5 Mc Farland**

Pour préparer l'étalon 0.5 Mc Farland, on ajoute 0.5 ml d'une solution de BaCl<sub>2</sub> déshydraté à 1% à 9.5ml du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 1%, une fois préparé, l'absorbance doit être comprise entre 0.08 à 0.1 à une longueur d'onde de 625 nm.

#### **2.2.2.1.5. Préparation des suspensions bactériennes**

À partir de cultures jeunes des différentes souches, on prélève quelques colonies isolées et identifiées sur le milieu de culture à l'aide d'un écouvillon puis le déchargé dans un tube de

10 ml de l'eau physiologique stérile (NaCl 0.9%). On agite bien la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex. L'opacité de ces suspensions est équivalente à 0.5 Mc Farland.

#### 2.2.2.1.6. Méthodes des puits

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.

La gelose est perfoce a l'aide de la partie supérieur d'une pipette pasteur (6mm de diamètre) formant les puits, les cavités ainsi formées sont remplies de 20 ul de l'une des concentrations des extraits préparés.



**Figure 8.** Boîtes de pétri avec des puits.

#### 2.2.2.1.7. Ensemencement

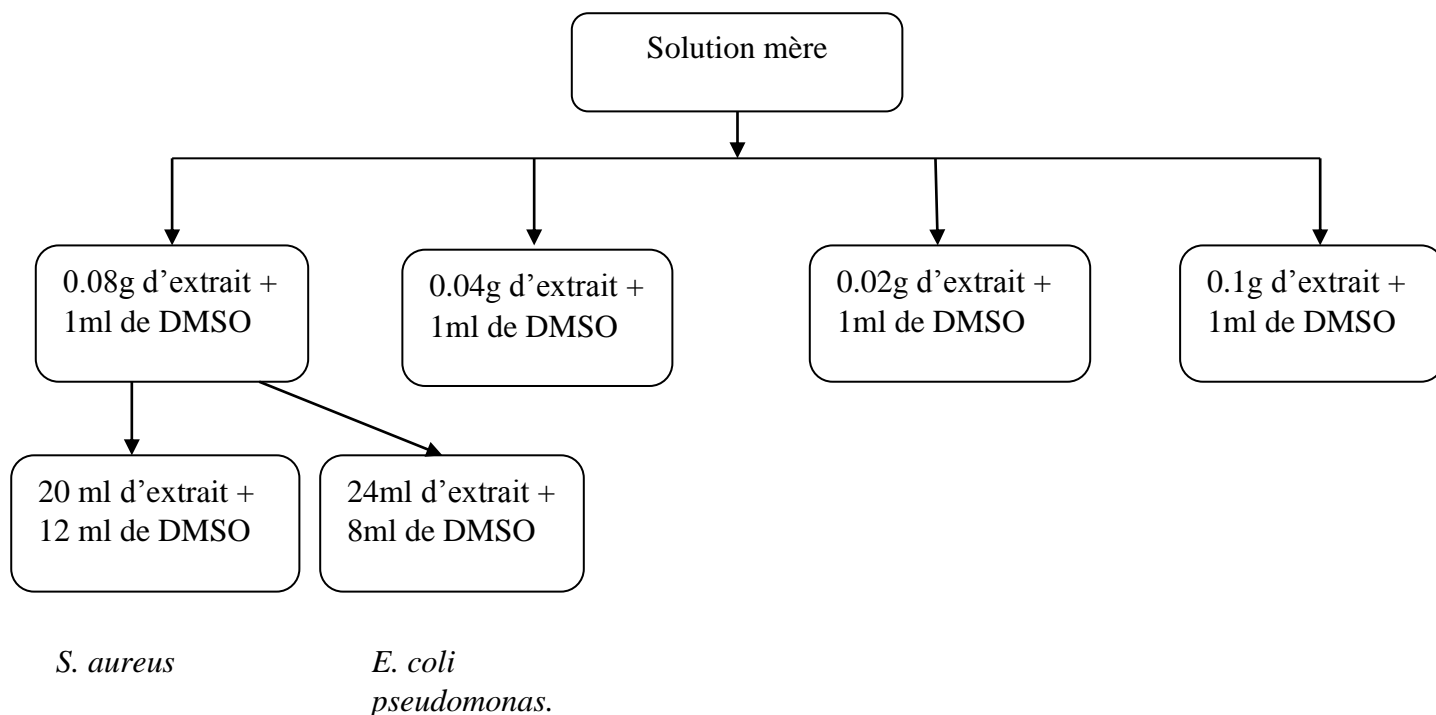
Les boîtes de Pétri préalablement coulées, seront ensemencées dans un milieu stérile en présence de bec Bunsen par trempage d'un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, puis l'ensemencement s'effectue par le frottement de l'écouvillon à la surface gélosée, sèche, en tournant la boîte de Pétrie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



**Figure 9.** Ensemencement.

### 2.2.2.1.8. Dilution

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 %.



**Figure 10.** Protocole expérimental de dilution

### 2.2.2.1.9. Incubation

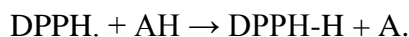
Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. Après incubation, le diamètre d'inhibition est mesuré en millimètres par un pied à coulisse ou une règle millimétrique. En mesurant les diamètres des zones d'arrêt, les résultats sont lus. L'évaluation de l'activité du produit est basée 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).

### 2.2.2.2. Activité antioxydante

#### 2.2.2.2.1. Principe

Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazine (DPPH•) est un radical organique libre, stable et de couleur rouge pourpre. En présence de composés antiradicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune, ce qui entraîne une diminution de son absorbance (Gachkar et *al.*, 2007). Le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration de la forme libre en solution dépend de la nature, de la concentration et de la

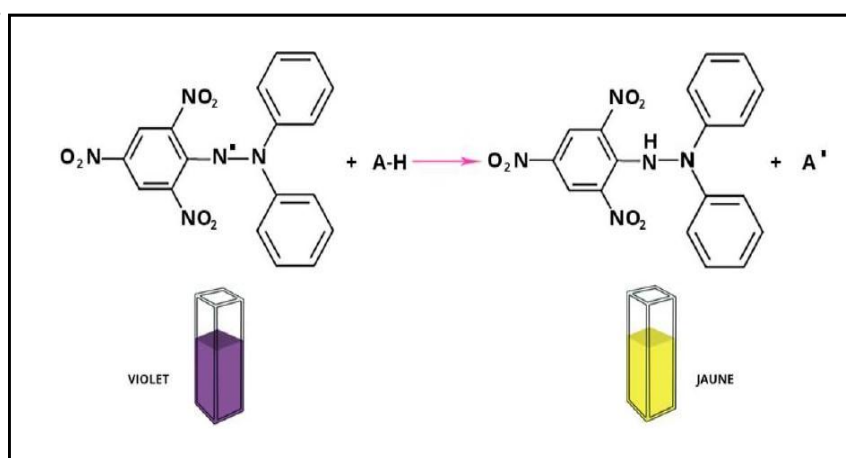
puissance de la substance antiradicalaire (Asadi *et al.*, 2010). On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :



(Violet)                      (Jaunâtre)

Où (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH. (violet) pour le transformer en molécule DPPH-H (Jaunâtre) (Wang *et al.*, 2002).

Le (DPPH•) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante, en raison de sa stabilité en forme radical libre et la simplicité de l'analyse (Figure 16). Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm (Bozin *et al.*, 2008).



**Figure 11.** Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH

Préparation antioxydant

0.01 g DPPH

+

250 ml de méthanol

Solution mère des extraits

0.32 g d'extrait

+

0.01 ml DMSO

Échantillon 0.5 ml

+

2.5 ml solution  
méthanolique de DPPH

↓

Incubation 30 min à l'obscurité

↓

Lecture à 517 nm

**Figure 12.** Protocole d'étude de l'activité antioxydant de DPPH (Scavenging)

### 2.2.2.2 Méthode de réduction des radicaux libres DPPH

#### . Mode opératoire

Nous préparons une gamme de dilution avec des différentes concentrations partant d'une solution mère dissoute dans l'éthanol (70%) (0.32 g de l'extrait éthanoliques et 4ml de DMSO). Pour le test, nous avons mélangé une solution méthanolique de DPPH avec différentes concentrations d'extrait éthanoliques des aiguilles de *Cedrus atlantica* (0.008g - 0.01g). Chacun des trois extraits éthanoliques a été dilué à 0.5ml et ajouté à 2.5 ml de solution méthanolique de DPPH et placé dans un tube à essai et laissé pendant 30 minutes à l'abri de la lumière à température ambiante. Les solutions sont passées à la lecture au spectrophotomètre à UV contre un contrôle négatif qui ne contient que du méthanol, la lecture est effectuée à une absorbance maximale de 517 nm. Nous répétons le même processus mais remplaçons l'extrait de *Cedrus atlantica* par acide ascorbique comme contrôle positif.

Trois essais ont été effectués pour chaque échantillon.

Le blanc : est préparé avec (0.01ml de DPPH + 250 ml de méthanol).

Le pourcentage de réduction du radical DPPH• est donné par l'équation suivante : Sachant que :

$$\% \text{ Scavenging de radical DPPH}' = \frac{Ac-AE}{Ac} \times 100 \frac{Ac-AE}{Ac} \times 100$$

**Ac** : Absorbance du contrôle (DPPH+ méthanol).

**AE** : Absorbance de l'échantillon [Absorbance du test (échantillon + DPPH) - Absorbance du blanc].

Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus par l'acide ascorbique pris comme antioxydant standard. Les concentrations inhibitrices à 50% « **IC50** » sont calculées graphiquement par un logiciel GraphPad Prism 5.

Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus par l'acide ascorbique pris comme antioxydants standards.

IC50 (concentration inhibitrice de 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. Résultats et discussion

### 3.1. Rendement d'extraction

Les composés biologiquement actifs sont généralement présents à faibles concentrations dans les plantes. Une bonne technique d'extraction est celle qui permet d'obtenir des extraits à rendement important avec des changements minimes des propriétés fonctionnelles. Cette opération a pour but de capter les produits élaborés par le végétal tout en veillant à éviter d'en altérer la qualité (Saidi 2019).

Les extraits éthanoliques des aiguilles étudiées sont obtenus par macération, exprimées en pourcentage (%) par rapport au poids de la poudre des aiguilles de *Cedrus atlantica* M. utilisée (50g), ainsi que les caractéristiques de chacun. Les rendements d'extraction, les aspects et les couleurs des extraits obtenus, sont mentionnés dans le tableau 4.

**Tableau 4.** Caractéristiques et rendements des extraits éthanoliques des différents sites de prélèvements.

Sites de prélèvements	Masse	couleur	Aspect	Rendement (%)
Theniet el Had	9.41	Vert foncé	Vitreux	18.82
Boutalab	8.96	Vert foncé	Vitreux	17.92
Chréra	8.61	Vert foncé	Vitreux	17.22

2.

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 des aiguilles provenances de Theniet el Had (18.82%) est plus élevé par rapport aux deux autres sites qui enregistrent des valeurs autour de 17%. 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 aiguilles 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.

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).

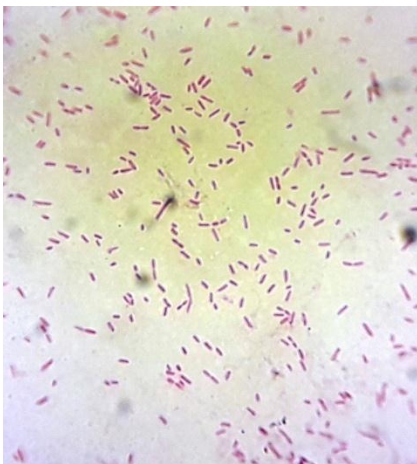
### 3.2. Activité biologique

#### 3.2.1. Activité antibactérienne

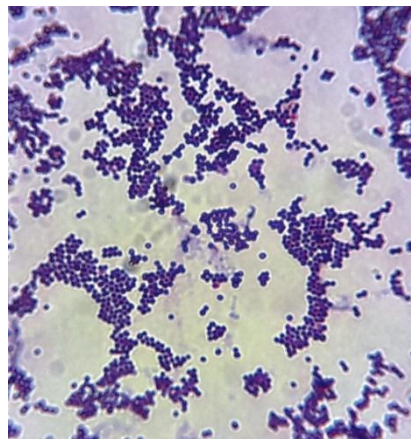
##### 3.2.1.1. Observation microscopique des microorganismes testés

Les résultats obtenus des différentes observations sur les souches étudiées (Figure13) montrent la pureté de ces dernières. On note bien la forme caractéristique de:

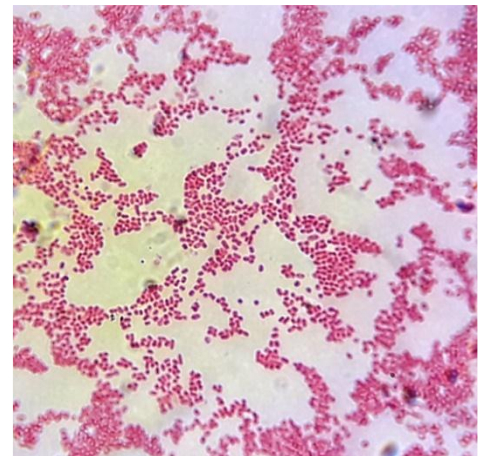
- *S. aureus* (c): Cocci Gram positif
- *E. coli* (f): Coccobacilles isolés Gram négatif.
- *P. aeruginosa* (g): Bacilles isolés Gram négatif



*P. aeruginosa*



*S. aureus*



*E. coli*

**Figure 13.** Observation microscopique des souches après coloration

### 3.2.1.2. Tests antibactérien

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode des puits par l'utilisation *in vitro* des extraits éthanoliques des aiguilles du cèdre de l'Atlas de trois provenances différentes sur des agents pathogènes médicalement importants tel que *E.coli* et *Pseudomonase* à gram négatif et *s.aureus* à gram positive, ainsi que par l'utilisation du solvant DMSO comme témoin négatif.

Les diamètre des zones d'inhibitiones de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de cèdre de l'Atlas (aiguilles) aux différentes concentration sont spécifiques à chacun des microorganismes testés dans trois régions différentes .les resultats sont illustrés dans les figures ainsi que le tableau 5 Un produit est considéré actif si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8mm (kabichat 2013).

**Tableau 5.** Diamètre des zones d'inhibition des différents extraits.

Souche bactérienne	Extrait	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)			
		Les dilutions d'extrait éthanolique (mg/ml)			
		0.02	0.04	0.08	0.1
<i>S .aureus</i>	E1	–	14	14	14
	E2	–	14	14	18
	E3	–	14	16	13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	E1	–	–	–	–
	E2	–	–	–	–
	E3	–	–	–	–
<i>E .coli</i>	E1	–	13	14	14
	E2	–	14	14	13
	E3	–	–	14	–
	DMSO	–	–	–	–

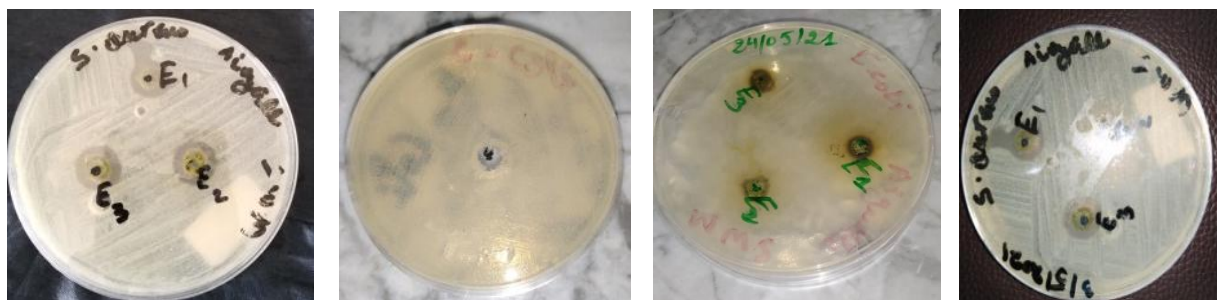
*E1 : Thneit el had*

*E2 : Boutaleb*

*E3 :Chrèa*

La souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* a gram négatif a exprimé une résistance vis-à-vis l'ensemble des extraits éthanoliques des aiguilles de cèdre de l'Atlas avec

les différentes concentrations testées. Par contre ces mêmes extraits ont exercé une activité microbienne sur les deux autres souches bactériennes à savoir *S. aureus* et *E. coli*, ils ont exprimé une inhibition sur une zone qui dépasse 14 mm à partir de la concentration de 0,04 mg/ml. Ces résultats confirment ceux obtenus par Bahouche et al (2016) qui ont démontré que les bactéries à Gram+ sont les plus sensibles à l'extrait éthanolique des tiges du *Cedrus atlantica*, *Bacillus sp* et *Staphylococcus sp* avec une CMI > à 7.8125 mg/ml.



**Figure 14.** Zones d'inhibition produites par les différents extraits éthanoliques

L'absence d'inhibition au niveau de la bactérie à Gram négatif (*Pseudomonas*), 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). Le DMSO a été testé comme contrôle négatif, les résultats montrent que le solvant ne présente aucun effet sur la croissance des souches bactériennes.

D'après les résultats de la CMI des différentes espèces testés sur *S. aureus* montrent que cette souche est sensible vis-à-vis les différents extraits, l'extrait éthanolique on une CMI compris entre  $14 \leq \text{CMI} \leq 16$  à la concentration (0.08g/ml) et  $13 \leq \text{CMI} \leq 18$  à la concentration (0.1g/ml).

Les CMI obtenues par la souche *E. coli* révèle une résistance importante pour les concentration (0.08g/ml), (0.04g/ml), (0.1g/ml) qui sont de l'ordre de  $\text{CMI} \leq 14$ ,  $13 \leq \text{CMI} \leq 14$ ,  $13 \leq \text{CMI} \leq 14$ .

Selon Kacher et Kedjar (2016), les résultats des tests de la CMI des extraits de feuilles à base de solvants d'acétate d'éthyle, n-butanol et Méthanol-brut sur *E. coli* ont montré sa résistance vis-à-vis ces extraits. L'extrait M-brut et les fractions (d'acétate d'éthyle et n-butanol) ont une CMI comprise entre ( $1000 > \text{CMI} > 500$ ), par rapport à l'antibiotique qui a une CMI de ( $125 > \text{CMI} > 62.5$ ). Par contre la souche *S. aureus* révèle une sensibilité importante pour ces extraits qui sont de l'ordre de : ( $125 > \text{CMI} > 62.5$ ,  $250 > \text{CMI} > 125$  et  $500 > \text{CMI} > 250$ ) ;

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).

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 à leurs concentrations. Une activité antibactérienne importante est enregistrée sur *S. aureus* (Gram+) plus que sur *E.coli* (Gram-).

### 3.3.2. Activité antioxydante

**Tableau 6.** Activité des radicaux libres (DPPH) (%) des extraits d'aiguilles de Cèdre de l'Atlas .

Extrait	E1		E2		E3	
Concentration mg/ml	0,008	0,1	0,008	0,1	0,008	0,1
% inhibition	84.31	84.37	86.25	87.54	78.60	81.06

Les résultats obtenus des tests de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques des feuilles de cèdre de l'Atlas n'indiquent pas des différences considérables entre les différentes provenances pour la même concentration. L'extrait de feuilles a montré une activité de piégeage du DPPH la plus élevée (87.54%) à une concentration de (0.1g / ml) pour l'extrait provenant de Boutaleb (E2). L'activité biologique augmente dans l'ensemble avec l'augmentation de la concentration des extraits comme indiqué dans le tableau (...), Ces constatations corroborent avec celles signalées par Kacher et al (2018) qui montre que l'activité antiradicalaire évolue avec l'augmentation des concentrations et que le pourcentage d'inhibition augmente progressivement.

Les extraits testés ont montré une activité antioxydante très importante en comparaison avec les résultats obtenus par Benouaklil (2018) sur les extraits méthanoliques des feuilles collectées dans le parc national de Blida et qui ne dépassent pas les 19,21% pour une concentration de 0,4 mg/ml.

L'IC<sub>50</sub> est inversement proportionnelle 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'IC<sub>50</sub> est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Khoudali et al., 2014).

**Tableau 7.** IC<sub>50</sub> des standards et des extraits méthanoliques des aiguilles du cèdre de l'Atlas

IC <sub>50</sub>			
Acide ascorbique	E1	E2	E3
0.01mg/ml	5.33 mg/ml	5.17 mg/ml	5.63 mg/ml

De même l'IC<sub>50</sub> la plus élevée a été obtenue avec l'extrait éthanolique des parties aériennes (aiguilles) du *Cedrus atlantica* de la cédraie de Boutalab (E2), qui montre une bonne activité anti radicalaire avec une IC<sub>50</sub> = 5.17mg / ml par rapport aux deux autres sites d'échantillonnage (Tableau 7). Cependant les différences des IC<sub>50</sub> entre les différentes provenances restent faibles, elles ne dépassent guère 0,46. Ce même phénomène a été constaté pour l'activité antibactérienne.

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 antiradicalaires intéressante.

Elle indique que 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 0,4 mg/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  $68,38 \pm 0,44\%$  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 : l'acide ascorbique (vitamine C) qui a montré une activité antiradicalaire très puissante avec des IC<sub>50</sub> de l'ordre de 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.

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 contenance en Taxifoline (Flavanones), dont l'efficacité comme agent antioxydant a été approuvée par Tournaire et al. (1994).

# *Conclusion*

## Conclusion

---

La grande diversité des métabolites secondaires des plantes médicinales fait d'elles un réservoir de substances bioactives qui ne cesse de fournir des alternatives efficaces aux produits de synthèse très utilisés en pharmacie et connus pour leurs effets délétères sur la santé humaine. Le présent travail a été conduit dans le but de contribuer à l'exploitation de notre médecine traditionnelle et à la valorisation des plantes endémiques d'Algérie.

C'est dans ce contexte que nous avons entamé notre étude qui nous a permis d'évaluer l'activité antioxydant et antibactérienne des extraits éthanoliques issus des aiguille collectées sur une espèce forestière endémique d'Algérie et du Maroc, le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti.). Les résultats d'extraction enregistrent des rendements en extraits éthanolique des aiguille de *Cedrus atlantica* qui varient d'une région à un autre, les feuilles collectés de la région de Theniet El Had ont donné le rendement le plus élevé (18.82 %) en comparaison avec celles de Boutaleb et de Chérea. L'activité antimicrobienne de l'extrait des aiguille du *cedrus atlantica* a été évaluée sur des souches bactérienne à Gram+ et Gram- par la méthode des puits, les résultats révèlent une activité antimicrobienne sur les Gram+ , par contre aucun effet antibactérien n'a été constaté sur les bactéries à Gram- à l'exception d'une inhibition observée sur *E. coli* avec les concentrations de 0.04 et 0.08 mg/ml des extraits. L'extrait organique des aiguilles de Cèdre de l'Atlas possèdent une activité antioxydant appréciable qui diffère d'une région à une autre. Cette activité est associée à la présence des composés phénoliques qui caractérise cette partie de la plante.

Comme perspective dans la continuité de ce travail, il serait intéressant de :

- Tester d'autres techniques d'extraction pour avoir la méthode optimale qui donne le bon rendement et la meilleure activité biologique.
- Isoler les molécules naturelles responsables des activités biologiques des feuilles et du reste des parties aériennes de la plante.
- Réaliser des tests sur une large gamme de microorganismes.

En perspective, ces résultats ne constituent qu'une petite partie dans le domaine de la recherche des antioxydants et des antibactériennes naturelles. Il serait intéressant d'approfondir ce travail par l'identification des composants dotés d'une activité antimicrobienne et d'une activité antioxydante dans les extraits actifs de cette plante endémique d'Algérie et du Maroc.



*Références*  
*Bibliographiques*

## Références Bibliographiques

---

- Alexandrian D., Gouiran M., 1992.** Les causes des incendies. Levons le voile !. *Forêt méditerranéenne*, n° 1, p. 41-47.
- Annie, S., Arun, S., Kuppusamy, R., Issac S.R.O. 2006.** In Vitro Antioxidant Studies on the Benzyl Tetra Isoquinoline Alkaloide Berberine. *Indian biology and pharmacology bulltin*, 29(9): 1906-1910.
- Arbez M., Ferrandes P., Uy AR N., 1978.** Contribution à l'étude de la variabilité géographique des Cèdres. *Annales des Sciences Forestières*, 35(4), 256-284.
- Aussenac G., 1984.** Le cèdre, essai d'interprétation bioclimatique et écologique. *Bull. Soc.Bot. Fr., Actuel Bot.*, (2/3/4). Pp : 385-398.
- Avcibasi, H., Anil, H. et Toprak, M. (1988).** Terpene acids from cedrus libani. *Phytochemistry*, 21 (12) :3967-3968
- BECKER M., PICARD J-F., et TIMBAL J., 1983.** Les arbres. Ed. Masson. Paris, 141p.
- Boudjoureif, M. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de doctorat en Biochimie. *Université Ferhat Abbes. Sétif*. P : 23.
- Bruneton, J. (2009).** Acides phénols. In : Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. *Ed: Tec & Doc. Lavoisier. Paris* : 198-260
- 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 temperture. *Food chemistry*, 110(3):659-669
- DE VILMORIN G.B., 2003.** Histoires d'arbres. Ed. Jean-paul Gisserot. Paris, 280p.
- Derridj A., 1990.** Etude des populations de *Cedrus atlantica* M. en Algérie. Th. Doct. U.P.S. Toulouse. 288 p.
- Derridj A., 1990.** Etude des populations de *Cedrus atlantica* M. en Algérie. Th. Doct. U.P.S. Toulouse. 288 p.
- 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.
- Fedala G.2015.**Evaluation de l'activité antioxydante des extraits des plantes : *Urtica dioica*, *Urtica pilulifera* et *Globularia alypum* L. Mémoire de Master. Université Abderrahmane MIRA .Bejaia. Algérie.
- Fetahh A .2019.** Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydant -

- antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. Sous espèce *Thymoïdes* de la région Beni Souik, Biskra. Thèse de Doctorat. Université Mohamed Khider .Biskra. Algérie.
- Gachkar L., Yadegari D., Rezaei MB ., Taghizadeh M., Astaneh SA., Rasooli I. 2007.** Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chemistry. 102 (3):898-904.
- Grunwald ,j.et janicke ,c., « Guide de la phytothérapie »,marabout(2006 ),416P .**
- Kabichat A .2013 .**évaluation de l'activité antébacérienne et antifongique des cendre de bois du chene vert « Kourriche ou ballout »(quercus ilex).mémoire de master .université Abou Bekr Bel Kaid –tlemcen,Algérie.
- 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.
- M'HIRIT O. et BENZYANE M., 2006.** Taxonomie et répartition historique, in M'HIRIT O, le cèdre de l'Atlas. Ed. Mardaga. Pp : 13-26.
- M'hirit O., 1982.** Etude écologique et forestière des cédraies du Rif Marocain : Essai sur une approche multidimensionnelle de la phytoécologie et de la production du cèdre de l'atlas. Ann. Rech. For. Maroc2(1). 499p.
- M'HIRIT O., BENZYANE M. et BLEROT P., 2006.** Le cèdre de l'Atlas : Mémoire du temps, Éd. Mardaga. 245p.
- M'hirit O., 1994 .** Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) présentation générale et état des connaissances a travers le réseau *Silva mediterranea* "Le cèdre". Ann. Rech. For. Maroc, T (27). Pp : 3-21.
- Nedjahi A., 1988 .** La cédraie de Chréa. (Atlas Blideen) : Phénologie, productivité, régénération. Thè. Doc. Univ. De Nancy. 184p
- Padrimi ,F –et lucheroni ,M.T., « le grand livre des huilles essentielles »,de vecchi S .A,paris, (2003),206p**
- Saidi I.2019.**Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae : *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès : Extraction des substances bioactives. Thèse de doctorat. Université Djillali Liabès Sidi Bel Abbés. Algérie
- Schauenberg,p.etparis,F., « Guide des plantes médicinales » delachaux&Niestlé,paris(2005) ;396P .
- Toth J., 1980.** Le cèdre III. La graine des plants en pépinière, reboisement, régénération naturelle. Forêt privée. Rev. For; Europe. N° 132. Pp : 41-47.

## ***Références Bibliographiques***

---

**TOTH J., M.** Le cèdre III. Intérêt paysage. Cédraie touristique. Forêt privée. N° 195. 8p.

**TOTH, 1978** Contribution à l'étude de la fructification et de la régénération naturelle du Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) dans le sud de la France. Thèse Université St Jérôme Marseille, 136p.

**Verdrager ,j .,** « les plante medicinales dans les traitements modernes »,maloine-S.H,(1978 ),227p.