

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique Et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض

Faculté Des Sciences de la Nature et de la
Vie et des Sciences de la Terre

Department : Science Biologique



جامعة الجيلالي بونعاما – خميس مليانة

Université Djilali Bounaama

Khemis Miliana

قسم : بيولوجيا

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de Nature et de vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

THEME

**Les Activités Biologiques de *Tetraclinis articulata* de la région de Sidi-sbaa
wilaya de Ain Defla**

Réalisé par :

Abdelouahed Amina

Khaouda Rabab

Soutenu le 30/ 06 /2024 devant le jury composé de :

| | | | |
|---------------------|-------------------|-----------------|---------------------------------|
| Président(e) | Mme. GUERMACHE L. | MAA | U. Khemis Miliana |
| Promoteur | Mme. AFKIR K. | Agent forêstier | Conservation des forêts –Médéa- |
| Co-promoteur | Mme. HALFAOUI F. | MAA | U. Khemis Miliana |
| Examineur | M. BELABED B. | MAB | U. Khemis Miliana |

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

En premier lieu, je remercie le bon dieu, de m'avoir donné la force d'accomplir ce travail jusqu'à
la fin,

Mes vifs remerciements vont à,
Madame AFKIR K. et Mme. HALFAOUI F., pour avoir accepté de nous encadrer et pour la
confiance qu'elle nous a accordée, pour leurs multiples conseils et pour tout le temps consacré
à diriger cette recherche.

Nous remercions également très chaleureusement pour son aide si précieuse.
Nous voudrions exprimer nos remerciements les plus sincères à Mme. GUERMACHE L., qui
nous a fait l'honneur de présider ce jury.

Nos remerciements s'adressent également à Mr. BELABED B. qui a accepté d'examiner
notre travail.

N'oublions pas de remercier les forestiers à leur tête le chef de circonscription de
Miliana et la conservation d'Ain-Defla qui vous ont transporté et aidé à collecter Nos
échantillons

Nous remercions aussi les membres de laboratoire ZIBOUCHE de Ain Defla, service de
Bactériologie pour leur aide.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui de près ou de loin, ont contribué à
l'élaboration de ce mémoire.

RABAB et AMINA

Dédicaces

Je dédie ce travail,

A mes parents

Les mots et les expressions ne peuvent exprimer ma gratitude et mon appréciation pour les efforts que vous avez déployés pour mon confort et mes réussites.

*La fleur de ma vie, à celle qui m'a donné l'existence dans cette vie, à celle dont les prières accompagnent mes pas, à celle en qui je puise ma force dans mes moments de faiblesse et de brisement, à celle qui a cru en moi et dans mon succès, à mon âme « **MAMA** »*

*Mon soutien et la droiture de mon dos, ma fierté et l'accomplissement de mes désirs avant même de le demander, mon soutien financier et psychologique, source de sécurité et d'espoir, « **ABI** » mon Seigneur, ne me prive pas de sa présence.*

*À mes frères qui ont partagé mon étreinte, ma mère et mon père, et les beaux moments et la chaleur de la famille, « **Romaïssa** » ma sœur, et ma boîte à secrets « **Omar** » mon soutien, mon épaule et mon refuge après mon père, « **Ali** » le plus jeune de la famille, que Dieu lui accorde le succès.*

*Un morceau de mon âme, le sucre de la famille, le premier petit-fils, mon chéri « **joude** »*

*A ma chère partenaire dans ce Mémoire « **AMINA** » qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail, et à toute sa famille.*

*Mes amis et ma deuxième famille, nous avons partagé ensemble le chemin doux et difficile de ceux qui ont su me faire sourire dans mes moments de tristesse et me consoler dans mes moments d'anxiété et de confusion : **Chaïma, Manel, Sihem, Khawla, Fahima, Hadjer, Hamida, Romaïssa, Samah, Roufaïda, Asmaa, Farida, Ihsan, Ndjoud, Mimi, Khawla, Insaf, Samah.***

Rabab

Dédicaces

*Du profond de mon cœur,
je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers,
A la mémoire de **mon père**,
Tu as été pour moi la source à laquelle j'ai toujours puisé patience, courage et
volonté. Ta tendresse et ton dévouement sont tels qu'aucune dédicace ne saurait
traduire la reconnaissance et la profonde affection que je te porte.*

*En choisissant cette voie,
J'ai réalisé un rêve que tu as longtemps caressé.
A ma très **chère mère**, qui a œuvrée pour ma réussite, de par
son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses
précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence
dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste
soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.
A mes chers frères **ZAKI, ABDO, OKBA**, A ma chère sœur **LAMIS**
Et ma cousines, A toute ma famille.*

*A ma chère partenaire dans ce Mémoire « **Rabab** » qui a partagé
avec moi les moments difficiles de ce travail, et à toute sa famille.*

*A tous mes enseignants.
À toutes les personnes qui m'ont aidé, soutenu et
contribué de près ou de loin à la réalisation de
ce travail*

Amina

Résumé

Notre étude s'inscrit dans le cadre de la contribution à la valorisation des feuilles d'une plante aromatique et médicinale *Tetraclinis articulata* (Vahl) récoltées au niveau des quatre points cardinaux de la de la forêt domaniale de Sidi-Sbaa dans la wilaya d'Ain-Defla.

La valorisation porte sur les activités biologiques : l'activité anti oxydante et l'activité antimicrobienne. Deux types d'extractions ont été effectués, l'une par hydro distillation pour extraire l'huile essentielle et l'autre par solvant pour l'extraction des composés phénoliques. Les meilleurs rendements en huile essentielle et celui de l'extrait éthanolique enregistrés sont ceux de l'exposition sud avec respectivement 0.7% et 64%.

L'activité anti oxydante de l'extrait éthanolique des feuilles a montré un effet plus important par rapport à celle de l'huile essentielle. Par contre l'huile essentielle des feuilles possède une forte activité antimicrobienne en agissant de façon très active contre les souches de *S. aureus* et contre *E- coli*, avec un diamètre maximal de zone d'inhibition en exposition sud de l'ordre de 40 mm par rapport à l'extrait éthanolique auquel ces microorganismes sont résistants.

La richesse des feuilles de *Tetraclinis articulata* en huile essentielle et ses propriétés antimicrobiennes en exposition sud font de cette plante spontanée forestière une inestimable source de composés terpéniques qui ont un intérêt industriel, socio-économique et médicinal intéressants.

Mots clés : antioxydant, antifongique, antibactérien, extrait, huiles essentielles ,*Tetraclinis articulata*.

Abstract

The aim of this study is valorize the leaves of an aromatic and medicinal plant *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters collected from the four zones (North, East, West and South) of the national forest of Sidi-Sbaa (province of Ain-Defla).

The valorization concerns its biological activities: antioxidant and antimicrobial activity. Two types of extractions were carried out, one by hydro distillation to extract the essential oil and the other by solvent to get phenolic compounds.

The best yields of essential oil and that of the ethanolic extract recorded are those of the southern exposure with respectively 0.7% and 64%.

The antioxidant activity of the ethanol extract showed a greater effect compared to that of essential oil. on the other hand, the essential oil had a strong antimicrobial activity against *S. aureus* and *E. coli*, with a maximum inhibition zone diameter of the southern zone equal to 40 mm compared to the ethanolic extract where there was no antimicrobial effect.

Keywords: Antioxidant, antifungal, antibacterial, extract, essential oil, *Tetraclinis articulata*.

ملخص

دراستنا لنبات العرعار البري هي جزء من المساهمة في تثمين أوراق النباتات العطرية والطبية *Tetraclinis articulata* تم الجمع في أربعة جهات أساسية (شرق، غرب، شمال و جنوب) للغابة الوطنية سيدي السبع بولاية عين الدفلى.

يتعلق بتثمين الأنشطة البيولوجية: النشاط المضاد للأكسدة ومضاد الميكروبات. تم إجراء نوعين من الاستخلاص، أحدهما عن طريق التقطير المائي لاستخراج الزيت العطري والآخر بواسطة مذيب لاستخلاص المركبات الفينولية. أفضل مردود سجل للزيت العطري والمستخلص الإيثانولي هو الخاص بالجهة الجنوبية 0.7% بالنسبة للزيت العطري و64% بالنسبة للمستخلص الإيثانولي .

أظهر النشاط المضاد للأكسدة أن المستخلص الإيثانولي له تأثير قوي مقارنة بالزيت العطري من ناحية أخرى، للزيت العطري الموجود نشاط قوي مضاد للميكروبات خاصة سلالات المكورات العنقودية الذهبية و الإيشيريشيا القولونية، أقصى قطر لمنطقة التثبيط هو للعينة من الجهة الجنوبية بقطر 40 ملم مقارنة بالمستخلص الإيثانولي الذي تقاومه هذه الكائنات الحية الدقيقة.

الكلمات المفتاحية : *Tetraclinis articulata* ، مضادات الأكسدة، مضادات الفطريات، مضادات البكتيريا، المستخلص الإيثانولي ، الزيت الأساسي

Liste des abréviations

A : absorbance

ATCC : American Type Culture Collection

BHT: Butyl-Hydroxy-Toluène

CMI : Concentration minimale inhibitrice

Cv : Coefficient de Variation (%)

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

EQ: équivalent

EXT: extrait ethanologique

GN: gélose nutritive

I% : Pourcentage d'inhibition.

IC50 : Concentration d'inhibition correspondant à 50 % de la concentration.

M : Masse engramme du matériel végétal à traité.

M₀ : Masse engramme de l'extrait sec résultant.

MH: Muller – Hinton Agar

PAM : Plantes Aromatiques Médicinales

PDA: Potato Desxtrose Agar.

R%: Rendement en pourcentage.

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1: Composants majoritaires des feuilles de <i>Tetraclinis articulata</i> par différents auteurs..... | 7 |
| Tableau 2: Comparaison des composants majoritaires des feuilles de <i>Tetraclinis articulata</i> entre l'Algérie, la Tunisie et le Maroc (Larabi et al., 2015). | 7 |
| Tableau 3: Variation du pourcentage des composés principaux en fonction de la période de récolte des feuilles matures du Thuya de Berbérie (Bourkhiss et al., 2011)..... | 8 |
| Tableau 4: Teneurs en huiles essentielles obtenues suivant l'âge des feuilles de Thuya de Berbérie et durant les trois périodes de récolte (Bourkhiss et al, 2011). | 9 |
| Tableau 5: Les espèces des bactéries à utilisation pour les tests de l'activité antimicrobienne des extraits et des huiles essentielles de <i>Tetraclinis articulata</i> (feuilles) | 19 |
| Tableau 6: la souche fongique utilisée pour le test de l'activité fongique sur l'extrait éthanolique et HE | 19 |

Liste des figures

| | |
|---|---------------|
| Figure 1:Port de <i>Tetraclinis articulata</i> à Sidi Sbaa (Originale, 2024)..... | 3 |
| Figure 2:Feuilles, cônes et graines de <i>Tetraclinis articulata</i> (Farah,2007) | 4 |
| Figure 3:Carte de répartition de <i>Tetraclinis articulata</i> au monde (Benjelloun,1997) | 5 |
| Figure 4:Localisation de la forêt de Sidi Sbaa par rapport à Miliana (Google earth) | 13 |
| Figure 5:Récolte des feuilles de <i>Tetraclinis articulata</i> et la quantité utilisée (original) | 14 |
| Figure 6: Les quatre points cardinaux retenus pour la récolte de notre étude (original)..... | 15 |
| Figure 7:phase de Sèchage a l'air libre des feuilles de <i>Tetraclinis articulata</i> (original)..... | 15 |
| Figure 8: la demarche d'échantillonnage | 16 |
| Figure 9: preparation de matériel végétale | 16 |
| Figure 10:Principles étapes de la preparation de l'extrait éthanolique (Originale, 2024) | 20 |
| Figure 11: Elimination de solvant par évaporation rotatif (original, 2024) | 21 |
| Figure 12:Démarches de L'extractions de HE par l'hydrodistillateur (originale,2024)..... | 22 |
| Figure 13:Mode opératoir de Preparation des echantillons d'activite onti-oxydant | Error! |
| Bookmark not defined. | |
| Figure 14:Mode opératoire de l'activité antibactérienne | 26 |
| Figure 15:Aspect de l'extrait éthanolique de les quatre région | 27 |
| Figure 16:Rendement d'extrait éthanolique des feuilles de <i>T.a</i> | 28 |
| Figure 17:Aspect de HE..... | 29 |
| Figure 18:Rendement d'HE des feuilles de <i>T.a</i> | 29 |
| Figure 19: Mesure de la zone d'inhibition en (mm) (original,2024)..... | 30 |
| Figure 20: Resultat d'activite fongique de l'EXT (original 2024)..... | 31 |
| Figure 21:Resultat d'activite fongique de l'HE | 32 |
| Figure 22: Diamètre d'inhibition de l'HE vis-à-vis de <i>E.coli</i> à différentes concentrations | 34 |
| Figure 23: Diamètre d'inhibition de l'HE vis-à-vis de <i>S. aureus</i> à différentes concentrations | 36 |
| Figure 24: Resultat de l'extrait éthanolique des quatres positions | 37 |
| Figure 25: Pourcentage d'inhibition de EXT de <i>Tetraclinis articulata</i> | 38 |
| Figure 26: pourcentage d'inhibition de HE de <i>Tetraclinis articulata</i> | 39 |
| Figure 27: IC50 de HE, EXT de 4 positions,avec s ASC et de BHT | 40 |

Table des matières

| | |
|--|----------|
| Remerciements | |
| Résumé | |
| Abstract | |
| المخلص | |
| Liste de tableaux | |
| Liste des figures | |
| <u>Introduction</u> | 1 |
| CHAPITRE I : Généralités sur <i>Tetraclinis articulata</i> | |
| 1.1 -Description botanique | 3 |
| 1.2-Systématique | 4 |
| 1.3 Répartition de <i>Tetraclinis articulata</i> | 5 |
| 1.5 Ecologie..... | 6 |
| 1.5-1-Conditions climatiques | 6 |
| 1.5-2-Conditions édaphiques | 6 |
| 1.6-Composition chimique des feuilles de <i>Tetraclinis Articulata</i> | 6 |
| 1.6.1-Facteurs de variabilité de la composition chimique des huiles essentielles | 7 |
| • Influence de l'origine géographique | 7 |
| • Influence du mode et de la période de récolte | 8 |
| • Influence du cycle végétatif | 9 |
| 1.7-Domains d'utilisation de <i>Tetraclinis articulata</i> | 9 |
| 1.7-1-Usage thérapeutique | 9 |
| 1.7 -2- Autres Utilisations..... | 9 |
| 1.8-Huiles essentielles..... | 10 |
| CHAPITRE II : Activités biologiques | |
| 2.1 Activités antimicrobiennes..... | 11 |
| 2.2 Activités antibactériennes | 11 |
| 2.3 Activités antifongiques | 11 |
| 2.4 Activités antioxydantes..... | 12 |
| CHAPITRE III: Materiel et methodes | |
| 3.1 -Présentation du site d'étude..... | 13 |
| 3.1-1- Situation géographique de Sidi-Sbaa | 13 |

| | |
|---|-------------------------------------|
| 3.1-2- Situation administrative de Sidi-Sbaa | 13 |
| 3.1-3-Climat | 14 |
| 3.1.-4- Sol | 14 |
| 3.2 Méthode du travail..... | 14 |
| 3.2.1-Prospection de <i>Tetraclinis articulata</i> | 14 |
| 3.2.2-Echantillonnage..... | Error! Bookmark not defined. |
| 3.3 Etude des propriétés biologiques des feuilles | 16 |
| 3.3.1 -Matériel végétal | 16 |
| 3.3.2-Matériel microbiologique..... | Error! Bookmark not defined. |
| • Espèces bactériennes..... | 19 |
| • Espèce de champignons | 19 |
| 3.3.3 -Matériel non biologique | Error! Bookmark not defined. |
| 3.4 -Préparation de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle..... | 20 |
| 3.4-1-Extrait éthanolique | 20 |
| 3.4.2-Préparation de l'huile essentielle..... | 21 |
| 3.5-Evaluation des activités biologiques..... | 22 |
| 3.5.1- Activité anti-oxydant de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle | 22 |
| 3.5.2-Activité antifongique | 23 |
| • Préparation des cultures fongiques :..... | 23 |
| • Préparation des suspensions fongiques | 23 |
| • Préparation des dilutions des extraits des feuilles de T.a : | 23 |
| 3.5.3-Activité antibactérienne | 24 |
| • Repiquage des souches bactériennes | 24 |
| • -Préparation de suspension bactérienne..... | 24 |
| • Préparation des dilutions des extraits et HE des feuilles de <i>T.a</i> | 25 |

CHAPITRE IV :**Resultats et Discussion**

| | |
|--|----|
| 4.1 Evaluation de rendement | 27 |
| 4.1.1 Rendement d'Extrait éthanolique | 27 |
| 4.1.2 Rendement en huile essentielle | 28 |
| 4.2 -Evaluation de l'activité biologique | 30 |
| 4.2.1-Evaluation d'activité antifongique | 31 |
| • activité antifongique de l'extrait | 31 |
| • activité antifongique de l'huile essentielle | 31 |
| 4.2.2-Evaluation d'activité antibactérienne | 33 |

| | |
|---|-----------|
| • Huile essentielle avec <i>E-coli</i> | 33 |
| • Huile essentielle avec <i>S.aureus</i> | 35 |
| 4.2.3 -Evaluation de l'activité antioxydant | 37 |
| • Activite antioxydante d'extrait ethanolique | 38 |
| • Activité antioxydant de l huile essentielle | 39 |
| • Evaluation de IC50 pour l'EXT et l'HE | 40 |
| Conclusion | 43 |
| References bibliographies..... | 45 |
| Annexes | |

INTRODUCTION

Introduction

La situation géographique particulière de l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de bioclimats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée. En effet, le pays compte un important potentiel en plantes aromatiques et médicinales (PAM) estimé à plus de 300 espèces (Direction Générale des forêts, 2023) dont un grand nombre est endémique. Cette richesse hisse l'Algérie au rang des principaux pays producteurs et fournisseurs de plantes aromatiques et de leurs huiles essentielles.

Mise à part le rôle environnemental des plantes aromatiques et médicinales, elles jouent un rôle socio-économique important dans l'histoire des peuples à travers les âges et les civilisations.

Parmi les plantes aromatiques et médicinales d'Algérie *Tetraclinis articulata* (Vahl), c'est un arbre forestier de la famille des Cupressaceae. Il s'agit d'une espèce très répandue en Algérie couvrant 161 000 ha (Letreuch- Belarouci, 1991 et Hadjadj Aoual, 2009). Elle joue un rôle socio-économique important dans le domaine de l'artisanat pour la valeur de son bois en ébénisterie et à son écorce riche en résine utilisée dans la fabrication de certains vernis (Montassir et *al.*, 2017 ; Mhirit et Benchekroun, 2006).

Par ailleurs, cette essence forestière est très utilisée en médecine traditionnelle en raison de la richesse de ses organes aériens en particulier les feuilles en composés phénoliques (Rebahi, 2015 ; Rached et *al.*, 2018 ; Sadiki et *al.*, 2018 ; Benyamina, 2019). Les nombreuses propriétés thérapeutiques de *Tetraclinis articulata* lui confèrent le nom de l'arbre de vie (Rebahi, 2015).

Il s'agit d'une espèce préconisée aussi bien pour le traitement des infections intestinales et respiratoires que pour le diabète, l'hypertension et la fièvre (Belkhadar et *al.*, 1999 ; Ziyyat et *al.*, 1997). C'est une essence dotée de propriétés antimicrobiennes et anti oxydantes (Bourkhiss et *al.*, 2007 ; Bourkhiss et *al.*, 2010). Dans le cadre de la valorisation de nos ressources naturelles, notre étude constitue une contribution à la recherche des propriétés biologiques (activités antioxydantes, antibactériennes et antifongiques) des feuilles de *Tetraclinis articulata* des quatre points cardinaux de la forêt domaniale de Sidi-Sbaa, wilaya de Ain-Defla.

DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE I : Généralités sur *Tetraclinis articulata***1.1 Description botanique**

Le thuya de Berbérie, aussi appelé *Tetraclinis articulata* ou *Callitris articulata*, est un arbre à feuillage persistant qui peut mesurer entre 6 à 8 mètres de hauteur, mais qui peut atteindre plus de 15 mètres. Les zones où il pousse sont souvent désignées sous les noms de *titraclinaies* ou *callitraies*. Cette espèce est connue pour sa résistance et son adaptation aux conditions arides (UICN, 2011). Dans sa jeunesse, il a une forme pyramidale (figure 1). Le tronc du Thuya de Berbérie est initialement droit avec un écorce gris clair qui devient plus foncée et se fissure dans le sens de la longueur. Les branches sont dressées et minces, avec de petites branches plates vertes, alignées selon la disposition des feuilles (Boudy, 1952).



Figure 1: *Tetraclinis articulata* à Sidi Sbaa (Originale, 2024)

Les fruits sont des cônes glauques et pruneaux, dotés de quatre valves munies d'un appendice plat et réfléchi au sommet (Quézel et Santa, 1962). Ces cônes ont une apparence cubique et s'ouvrent grâce à la chaleur, libérant six graines ailées (figure 2).

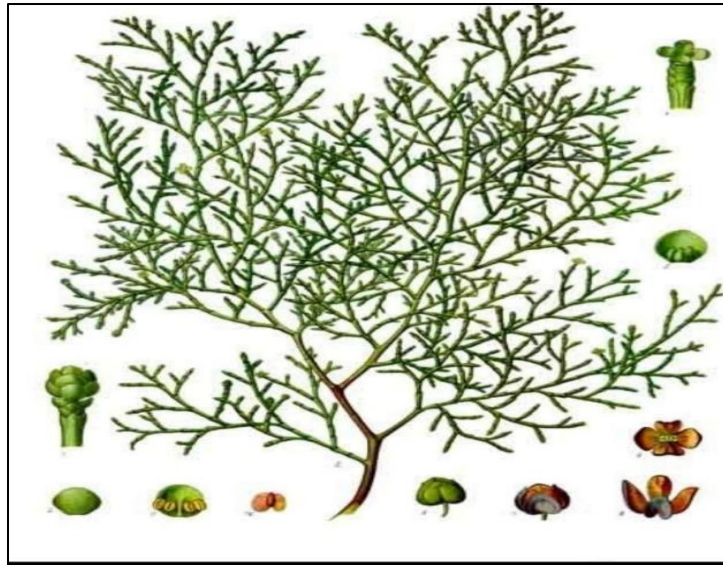


Figure 2: Feuilles, cônes et graines de *Tetraclinis articulata* (Farah,2007)

Les fleurs se présentent en chatons situés à l'extrémité des branches. La fructification commence généralement vers l'âge de 15 ans et se répète tous les deux à trois ans (Boudy,1952).

Les feuilles sont réduites en écailles disposées de manière opposée et imbriquées par deux.

Les cônes du thuya ne s'ouvrent qu'à la fin de l'été. Cette essence produit une quantité de graines relativement bonne, voire très bonne, atteignant jusqu'à 100 000 graines par kilogramme. La régénération naturelle de cette espèce ne semble pas être entravée par la quantité abondante de graines produites (Hadjadj, 2009).

1.2 Systématique

1.2-1- classification

Selon la classification de APG IV (Tela botanica,2021) *Tetraclinis articulata* appartient à:

Règne: *Plantae*

Classe: pinopsida

Ordre: *Pinales*

Famille: *Cupressaceae*

Genre: *Tetraclinis*

Espèce: *Tetraclinis articulata* (Vahl) Master

Numéro Nomenclature: 83715

1.2.2- Étymologie

Les noms international et mondial commun de *Tetraclinis articulata* selon Lamnauer; Batanouny (2005) sont:

En Arabe: Aaraar berri, sandarus, Aaraar berboush). Shajrat el-Hayat عرعار بري

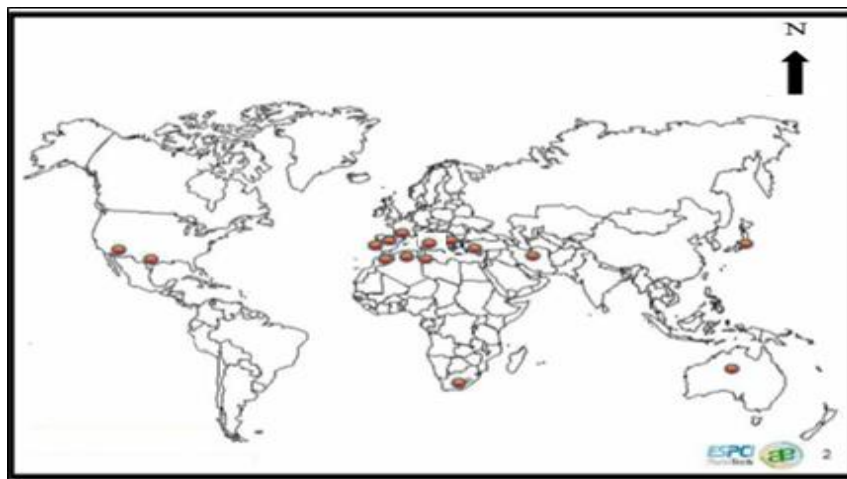
En Anglais: Arar tree, sandarch tree, thyia, sandarc tree, sandarc gum tree, juniper gum tree, alerce, thuja, ghardar, thuya from berberie

En Français: thuya de Berbèrie, thuya, callitris, thuia articulé, thuia à la sandarque, vernix Berbère.

1.3 Répartition de *Tetraclinis articulata*

Le thuya de berbère est quasiment endémique d'Afrique du Nord et principalement concentré dans la région du Maghreb. Il est rarement trouvé en dehors de cette zone, avec des occurrences résiduelles sur le littoral du sud-est de l'Espagne et à Malte, où il est en danger d'extinction (Boudy,1950;Benabid,1976; Benabdeli,1992; Quézel et Médail, 2003)

En Algérie, *Tetraclinis articulata* occupe environ 160 000 hectares, principalement dans la région ouest du pays, sous forme de taillis pour la plupart (Ahmed Haddad et *al.*, 2006).



 Présence de *Tetraclinis articulata*

Figure 3: Carte de répartition de *Tetraclinis articulata* au monde (Benjelloun,1997)

Selon Quezel et Santa (1962), le thuya est commun dans le secteur Oranais, assez présent dans le secteur Algérois et dans une moindre mesure dans les hauts plateaux, mais rare dans la grande Kabylie. Dans le nord-ouest de l'Algérie, les peuplements de thuya sont souvent mélangés avec le Pin d'Alep, surtout dans les circonscriptions de Cherchel, Média, Ténès et

Theniet el Had, où ils se présentent principalement sous forme de taillis anciens dégradés par les incendies. On les trouve également dans les régions de Delles et Lakhdaria, parfois isolés ou en petits groupes, ainsi que dans la vallée de l'oued Sahel vers M'Chandella sur le piémont sud de Lalla Khadîdja du Djurdjura (Lapie et Maige, 1914 et Hadjadj Aoual, 1995).

1.5 –Écologie

Les facteurs climatiques (températures extrêmes et précipitations) et la concurrence avec des espèces arborées écologiquement proches, expliquerait son maintien au sud-est ibérique et son incapacité pour se répandre tout au long de la côte méditerranéenne (Guerra et *al.*, 1990) (Templado, 1974).

1.5.1 Conditions climatiques

Tetraclinis articulata est considéré comme une espèce qui préfère les environnements chauds et secs. Les températures moyennes minimales du mois le plus froid varient entre 2 et 11°C. Quezel (1980) précise que la limite thermique inférieure est généralement de 4°C.

1.5.2 Conditions édaphiques

Bien que *Tetraclinis articulata* ne semble pas être sélectif en ce qui concerne les types de sols, il montre une préférence pour les sols calcaires, en particulier ceux qui sont rocheux et fissurés. Il est possible que cette dépendance aux substrats calcaires soit due à la présence de microsites ou de micro habitats, tels que des cavités et des fissures, ainsi qu'à la nature pierreuse de ces matériaux, qui semblent être associés à la germination de *Tetraclinis* dans ces régions. Ces préférences lithologiques pourraient également être influencées par des facteurs liés à la disponibilité en eau, ainsi qu'à une protection physique pendant les premières étapes du cycle biologique des plantules (Guerra et *al.*, 1990).

1.6 Composition chimique des feuilles de *Tetraclinis Articulata*

Pour la première fois en Algérie, la qualité et la composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* a été étudiée dans trois régions écologiquement différentes de l'Ouest algérien par Benali Toumi et *al.* (2013).

Les rendements moyens obtenus par hydro distillation sont de 0,75% pour la région d'El Haçaïba (wilaya de Sidi Bel Abbés), 0,78% pour Ouled Mimoun (wilaya de Tlemcen) et 0,35% pour Frenda (wilaya de Tiaret) (Benali Toumi et *al.*, 2013).

Les mêmes auteurs, en faisant l'analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS), a permis d'identifier 36 composés dans l'huile essentielle de la région d'Ouled Mimoun et 43 dans celles d'El Haçaiba et de Frenda. Les composés majoritaires des trois régions présentent une variabilité quantitative et sont, respectivement, le camphre (31,60% ; 26,67% ; 23,41%), l'acétate de bornyle (17,12% ; 25,79% ; 24,59%), le bornéol (14,27% ; 12,96% ; 6,64%), le limonène (3,0% ; 2,67% ; 10,09%) et l' α -pinène (6,49% ; 3,65% ; 11,34%)

Tableau 1: Composants majoritaires des feuilles de *Tetraclinis articulata* par différents auteurs

| Auteur et année de publication | Partie utilisée | Composé majoritaire |
|--------------------------------|------------------|---|
| (Benali Toumi et al.,2011) | Feuilles vertes | Bornyle acetate (24.59%) Comphre (23.41%) α -pinene (11.34%) |
| (Ben jemia et al.,2012) | Feuilles séchées | Bornyle acetate (31.4%) Comphre (20.3%) α -pinene (24.5%) |

1.6.1 Facteurs de variabilité de la composition chimique des huiles essentielles

Plusieurs facteurs influent sur la composition d'une huile essentielle parmi lesquels nous pouvons citer dans le cas du thuya :

- **Influence de l'origine géographique**

La composition de l'huile essentielle d'une plante aromatique varie en fonction de son lieu d'origine, ce qui donne des indications précieuses sur son environnement et les principaux composés actifs qu'elle contient (Laurent, 2017) (Tableau 2).

Tableau 2: Comparaison des composants majoritaires des feuilles de *Tetraclinis articulata* entre l'Algérie, la Tunisie et le Maroc (Larabi et al., 2015).

| Composants majoritaires du Thuya | Algérie | Tunisie | Maroc |
|----------------------------------|---------|---------|-------|
| α -pinène | 3,2% | 23,54% | 16,8% |
| Camphre | 19.6% | 17.27% | 17.6% |
| Limonène | 2.8% | 5.98% | 5.7% |
| Bornéol | 6.3% | 4.57% | 4.7% |
| Acétate de bornyle | 18.7% | 0.12% | - |
| α -terpinol | 0.6% | 0.4% | 0.4% |

| | | | |
|---------------------|------|-------|------|
| Trans-caryophyllène | 7.1% | - | - |
| Germacrène-D | 7.6% | 0.04% | 0.3% |

Le tableau ci-dessus révèle, un taux majoritaire du camphre pour le Thuya d'Algérie avec 19.6%, de l'Acétate de bornyle avec 18.7% alors qu'en Tunisie c'est α -pinène qui présente le composant le plus remarquable avec 23,54%. Par ailleurs, le Trans-caryophyllées n'est présent qu'au niveau des feuilles du thuya d'Algérie avec 7.1%.

Par conséquent les feuilles du Thuya d'Algérie sont plus riche en composés chimiques par rapport à celles du thuya des pays voisins.

- **Influence du mode et de la période de récolte**

Les conditions de culture, de récolte, de séchage, de fragmentation et de stockage ont un impact direct sur la qualité des plantes.

- Le mode de récolte, qu'il soit manuel ou mécanique, ainsi que l'origine biologique de la culture, influent sur la composition chimique des huiles essentielles extraites.
- De plus, la saison de récolte joue un rôle majeur dans la variation des principaux composés des huiles essentielles (Laurent, 2017) (Tableau 3)

Tableau 3: Variation du pourcentage des composés principaux en fonction de la période de récolte des feuilles matures du Thuya de Berbérie (Bourkhiss et al.,2011).

| Les composés majoritaires | Période de récolte | | |
|---------------------------|--------------------|-------|-------|
| | Janvier | Mars | Juin |
| α -pinene | 18.5% | 7.8% | 15.2% |
| Limonene | 7.2% | 5.7% | 4.6% |
| Camphre | 15.1% | 18.6% | 20.2% |
| α -Bornéol | 7.3% | 4.7% | 3.2% |
| Acétate de bornyle | 27.0% | 30.6% | 33.0% |

- Le α -pinene et le Limonene et α -Bornéol a un fort pourcentage ou cours de mois janvier, les autres composés y a une Légère augmentation ou cours de mois juin, dans le mois de mars. Tous les composés ont faible pourcentage.

- **Influence du cycle végétatif**

La composition des huiles essentielles peut varier selon le stade de développement de chaque espèce, ce qui influence le moment optimal de récolte des plantes aromatiques. Des variations significatives peuvent être observées, même au sein d'une même espèce (Laurent,2017).

La teneur en essence du thuya de Berbéri atteint son pic chez les feuilles adultes, avec une moyenne de 0,20%, tandis qu'elle est au plus bas chez les feuilles juvéniles, avec une moyenne de 0,15% (Bourkhiss et al, 2011) (Tableau 4).

Tableau 4: Teneurs en huiles essentielles obtenues suivant l'âge des feuilles de Thuya de Berbérie et durant les trois périodes de récolte (Bourkhiss et al, 2011).

| Période de récolte | Teneur moyenne (%) feuilles jeunes | CV (%) | Teneur moyenne feuilles adultes | CV (%) |
|--------------------|------------------------------------|--------|---------------------------------|--------|
| Janvier | 0.12 | 4.75 | 0.16 | 1.42 |
| Mars | 0.17 | 3.68 | 0.22 | 0.85 |
| Juin | 0.16 | 4.37 | 0.19 | 2.24 |

Les molécules présentes dans une plante peuvent varier en fonction de son âge et du stade de maturité des parties végétales récoltées. Par exemple, les huiles essentielles produites par les feuilles adultes peuvent différer biochimiquement.

1.7-Domains d'utilisation de *Tetraclinis articulata*

1.7.1-Usage thérapeutique

Le thuya est traditionnellement employé pour traiter divers maux tels que les infections respiratoires et intestinales, les douleurs gastriques, le diabète et l'hypertension. De plus, il est utilisé comme remède contre la diarrhée, la fièvre, et comme diurétique, antirhumatismal et hypoglycémiant (Bellakhdar et al., 1982; Bnouham et al., 2002)

En plus de ses applications dermatologiques, buccales et antipaludéennes (Bellakhdar, 1997), le thuya est également utilisé comme antibactérien et antifongique (Bourkhiss et al., 2007).

1.7.2 Autres utilisations

Le thuya berbère est intéressant pour sa résine, connue sous le nom de sandaraque, extraite par germination profonde de l'arbre qui est utilisée dans:

- Les vernis et les laques sont hautement valorisés pour protéger les peintures (Farjon,2005).
- La fabrication de lamelles microscopiques en remplacement du baume du Canada est également bien perçue (Fasla, 2009).

En général, cette industrie présente des opportunités significatives, y compris dans le domaine des colles et des fumigations dentaires (Seth,2002).

L'huile de sandaraque, également appelée Gatran el-ghalid en arabe, est employée en remplacement dans le soin des blessures chez les animaux d'élevage (UICN, 2005).

L'huile essentielle extraite des feuilles démontre en laboratoire une action antimicrobienne et antifongique selon Bourkiss et *al.* (2015), en plus de posséder des propriétés anti oxydantes, comme l'ont souligné Bourkhiss et *al.* (2010).

1.8 Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances volatiles et instables, extraites de plantes odorantes par divers procédés comme la distillation à la vapeur d'eau. Elles sont caractérisées par leur complexité structurelle et leur composition variée. (Belaiche, 1979).

Les huiles essentielles offrent une vaste gamme de bienfaits grâce à la diversité des plantes aromatiques et des composés qu'elles contiennent. Elles agissent sur divers troubles comme les problèmes respiratoires, nerveux, cutanés, et musculaires, grâce à leurs propriétés antivirales, calmantes, anti-inflammatoires, et bien d'autres encore. Cette variété biochimique permet de traiter de nombreux problèmes de santé et de bien-être de manière efficace et naturelle).

Site 1 (<https://www.compagnie-des-sens.fr/huiles-essentielles>)

CHAPITRE II : Activités biologiques

Cette partie de l'étude se concentre sur l'évaluation de l'activité antioxydant, anti fongique et antibactérienne des extraits de plantes médicinales *Titraclinis articulata*, qui sont à la base des médecines alternatives, des procédés de conservation alimentaire et de substances utilisées dans les produits pharmaceutiques.

Les bienfaits médicaux des font l'objet d'une recherche approfondie dans le domaine médical, où ils sont appréciés pour leurs actions biologiques et pharmacologiques (Yakhlef, 2010).

2.1 Activités antimicrobiennes

Au fil des décennies, le risque d'infections graves a considérablement augmenté en raison de la propagation des bactéries multi-résistantes. Pour faire face à cette problématique, de nombreuses études ont été entreprises dans le but de découvrir de nouveaux agents antibactériens issus de sources naturelles, notamment les plantes. C'est dans cette optique que l'on s'intéresse à l'huile essentielle et l'extrait extraite par hydro- distillation à partir du bois de *Tetraclinis articulata*, étudiant son potentiel antibactérien La résistance aux antibiotiques est en effet un sujet préoccupant dans le domaine de la santé Publique, avec l'émergence de bactéries multi-résistantes. (Zahir et al., 2018).

2.2 -Activités antibactériennes

Les résultats de deux études sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites du bois et des feuilles de *T. articulata*, montrant des effets inhibiteurs significatifs contre plusieurs souches bactériennes lequel *Enterococcus faecalis* *Escherichia e-coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Streptococcus*, ce qui suggère un potentiel d'utilisation dans la lutte contre les infections bactériennes résistantes aux antibiotiques (El Moussaouiti et al., 2010).

2.3-Activités antifongiques

Les maladies des plantes, principalement causées par des microorganismes comme les champignons, sont un défi majeur pour l'agriculture, entraînant des pertes économiques significatives. (Zahir et al., 2018).

Actuellement, le recours aux pesticides pour traiter les cultures affectées pose des problèmes environnementaux et de santé. Pour pallier cela, l'utilisation de plantes médicinales dans le contrôle biologique offre une alternative prometteuse, grâce à leur richesse en principes actifs. Une étude sur l'huile essentielle (HE) des branches terminales et des racines de *T. articulata* en Tunisie a révélé leur composition chimique, mettant en évidence des composés aux propriétés antifongiques. Les tests ont montré une activité significative contre plusieurs

champignons phytopathogènes, suggérant que ces composés volatils pourraient être utilisés comme pesticides non conventionnels pour lutter contre les maladies des plantes. (Tekaya-karoui et *al.*, 2011).

2.4 Activités anti oxydantes

L'importance des antioxydants dans la lutte contre les dommages causés par les radicaux libres dans le corps humain, (Ben Jemia et *al.*, 2013; Sayah et *al.*, 2017)

Ainsi que dans la préservation des aliments contre l'oxydation. Il souligne les risques associés à l'utilisation d'antioxydants synthétiques comme le BHA et le BHT. (Ben Jemia et *al.*, 2013)

En outre, il met en avant le potentiel des extraits et des huiles essentielles de plantes médicinales, telles que *T. articulata*, en tant qu'alternatives naturelles aux antioxydants synthétiques, avec des effets secondaires limités ou inexistantes. Les résultats des études montrent une forte activité anti oxydante des extraits de *T. articulata*, soulignant une corrélation entre cette (activité et la concentration en phénols totaux. Cependant, d'autres études montrent une activité anti oxydante plus faible des huiles essentielles de *T. articulata* provenant de différentes régions en Algérie, en comparaison avec des antioxydants synthétiques comme le BHT. (Chikhouné et *al.*, 2013).

CHAPITRE III
MATÉRIEL ET MÉTHODE

CHAPITRE III

Matériel et Méthodes

3.1 Présentation du site d'étude

Le site d'étude représenté sur la (figure 6) est localisé au niveau de la forêt de Sidi-Sbaa chevauchant les communes de Miliana et celle de Khemis-Miliana.



Figure 4: Localisation de la forêt de Sidi Sbaa par rapport à Miliana (Google Earth)

3.1.1- Situation géographique de Sidi Sbaa

Localisée au nord centre de l'Algérie et faisant partie de l'Atlas Télien, la forêt domaniale de sidi sbaa est située sur le piémont sud du mont Zaccar à 5 km de la ville d'El Khemis-Miliana et à 4 km de la ville de Miliana. L'altitude y varie de 375 à 525 m. Exactement entre les coordonnées géographiques 36°16'60" latitude Nord et 2°15'0" longitude Est.

Sa superficie s'étale sur 687hectares 146 ares 160 centiares dont la majeure partie s'étend sur la commune de Miliana, le reste de la superficie est localisée sur la commune de Khemis-Miliana (Sources: conservation des forêts Ain-Defla, 2024).

3.1.2- Situation administrative de Sidi Sbaa

Située au sud de la commune de Miliana et au nord de celle de Khemis-Miliana, la forêt de Sidi-Sbaa est limitée au nord par Sidi L'Ghoul, au sud par Cherfaoui à l'est par la route nationale N°04 et à l'ouest par Zougala.

3.1.3-Climat

Le bioclimat de la forêt de Sidi-Sbaa est de type subhumide à hiver frais avec des précipitations moyennes annuelles de 475 mm et une température moyenne minimale de 2,5 °C (site 2).

3.1.4- Sol

Le sol est de type argile schisteux en exposition sud. Cependant le sol des expositions nord, est et ouest il est de type ferrugineux (Brahimi et Bellali, 2020).

3.2 Méthode d'étude

3.2.1 Prospection de *Tetraclinis articulata*

Les investigations de terrain ont été menées au cours du mois de février 2024 avant la floraison car c'est le moment où les substances actives sont en abondance.

3.2.2 Échantillonnage

La méthodologie adoptée est la suivante:

La récolte des feuilles a été opérée en utilisant un échantillonnage systématique en prélevant deux grands sacs de chaque situation géographique (nord, sud, est et ouest) (figures 5 et 6)



Figure 5: Récolte des feuilles de *Tetraclinis articulata* (original2024)

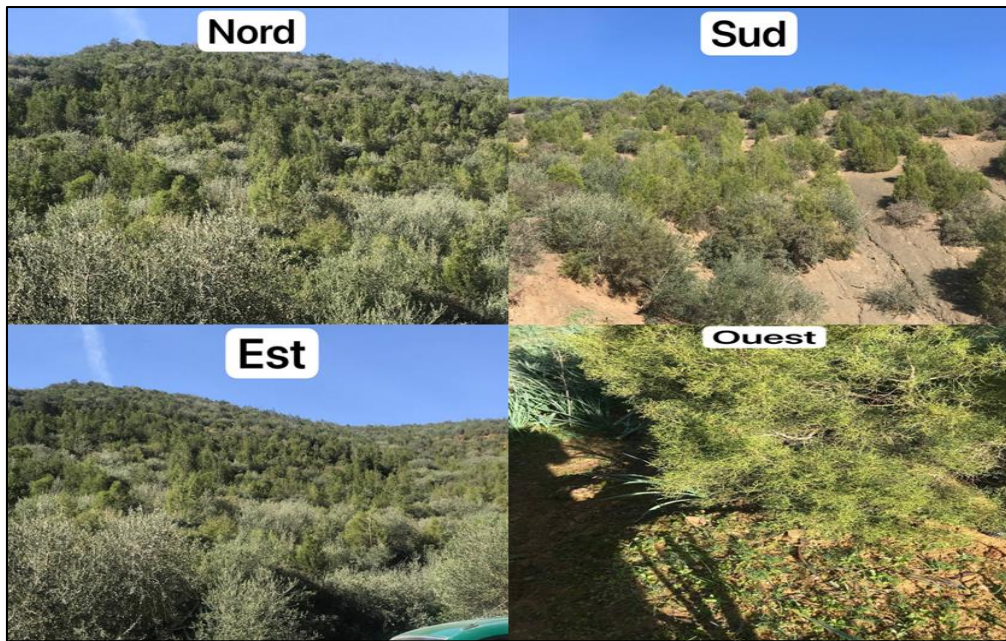


Figure 6: Les quatre points cardinaux retenus pour la récolte de notre étude (original2024)

Les feuilles de chaque position sont étalées sur du papier absorbant après à l'ombre et à l'air libre (figure 7). Après un mois les feuilles sèches sont utilisées pour notre étude.



Figure 7: le Séchage des feuilles de *Tetraclinis articulata* (original2024)

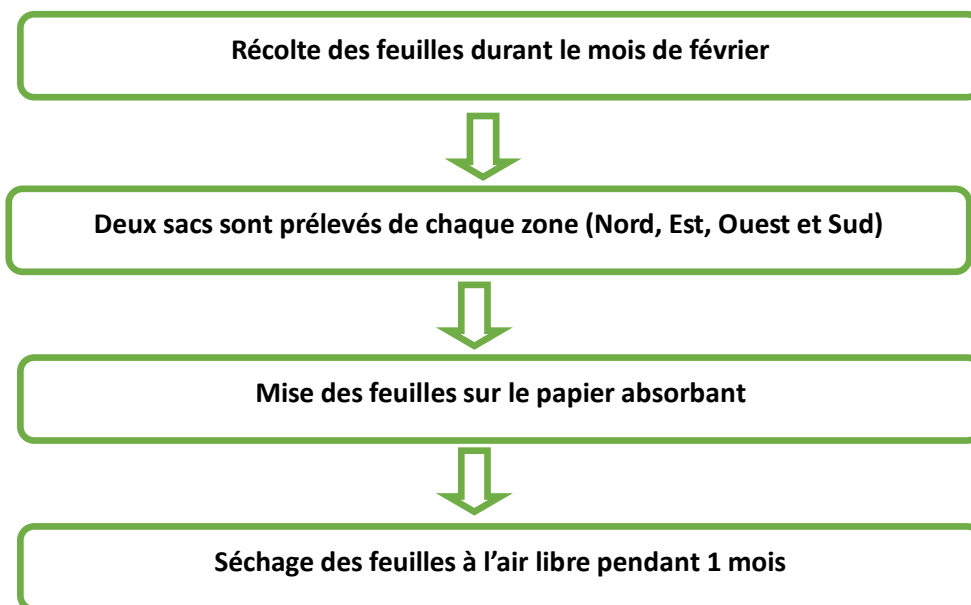


Figure 8: démarches d'échantillonnage

3.3 Etude des propriétés biologiques des feuilles

3.3.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est le broyat de feuilles sèches de *Tetraclinis articulata* pour la préparation de l'extrait éthanolique et les feuilles entières pour l'extraction des huiles essentielles.



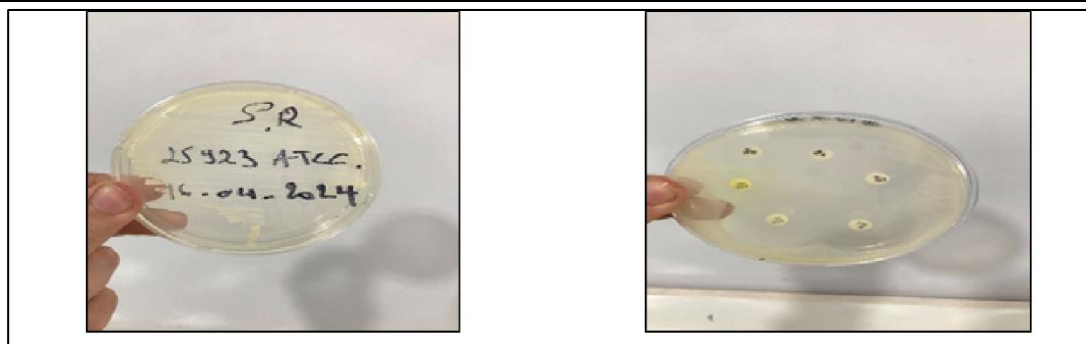
Figure 9: préparation du matériel végétale

3.3.2 Matériel microbiologique

- Espèces bactériennes

Tableau 5: Les espèces des bactéries à utilisation pour les tests de l'activité antimicrobienne des extrais et des huiles essentielles de *Tetraclinic articulata* (feuilles)

| Souches testées | Code | Grame | Source |
|------------------------------|-----------|----------|--|
| <i>E. coli</i> | ATCC25922 | Négatif | Laboratoire privé Dr. zibouche - Ain defla |
| <i>Staphylocoque -aureus</i> | ATCC25923 | Positive | |



S. aureus

E.coli

- Espèce de champignons

Tableau 6: Souche fongique a utilisée pour le teste de l'activité fongique sur l'extraie ethanolique et HE

| Souches testées | Code | Grame | Source |
|-------------------------|------|----------|--|
| <i>Candida albicans</i> | //// | Positive | Laboratoire privé Dr.zibouche -Ain defla |

3.3.2 Matériel non biologique

Milieux de culture

Nous avons utilisé pour notre étude différente types des milieux de culture. Pour l'activité antibactérienne, deux milieux de culture se sont avérée nécessaires à savoir: le MH plus le GN. Pour l'activité antifongique, nous avons opté pour le PDA. Avec la précaution de stérilisation de tous les milieux avant utilisation sar autoclavage.

3.4 Préparation de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle

3.4.1-Extrait éthanolique

Par principe La macération éthanolique est une technique d'extraction des substances actives à partir de matières végétales, telles que les feuilles de *Tetraclinis articulata*, en utilisant de l'éthanol comme solvant. Elle est largement employée pour obtenir des extraits concentrés de plantes.

Le protocole suivi est celui de le Ali B. et *al.*, (2020) avec modifications : 30 g de poudre fine de feuilles de *Tetraclinis articulata* sont macérés à température ambiante avec 300 ml d'un mélange éthanol/eau distillée (240 ml d'éthanol pour 60 ml d'eau). Les ingrédients sont mélangés dans un bécher, puis une baguette est placée dans le mélange et recouverte de papier d'aluminium. Ce mélange est ensuite agité pendant 24 heures. Après cette période, le mélange est filtré à l'aide de papier filtre.



Pesée de 30 g de poudre



Ajout de 80% d'éthanol et 20% de l'eau distillée



Agitation pendant 24h en obscurité



Filtration

Figure 10: Principales étapes de la préparation de l'extrait éthanolique (Originale, 2024)

Après avoir filtré, le solvant d'extraction est évaporé sous basse pression dans un rota évaporateur à 80 °C. Les résidus restants sont l'extrait brut, conservé dans des flacons stériles au réfrigérateur jusqu'à utilisation ultérieure (Benalia H., Naili D.,2020).



Figure 11:Élimination de solvant par évaporation rotatif (original, 2024)

Calcul du rendement

La formule utilisée pour le calcul du rendement est donnée ci-dessous selon (Mahmoudi S et *al.*,2013):

$$R (\%) = M / M_0 \times 100$$

(%): Rendement exprimé en %.

M: Masse en gramme de l'extrait après évaporation

M₀: Masse en gramme du matériel végétal

3.4.2-Préparation de l'huile essentielle

Les huiles essentielles sont extraites à l'aide d'un appareil de type Clevenger par hydro distillation pendant 2h30. Les rendements sont déterminés en comparant la masse d'huile essentielle à celle de la matière végétale sèche utilisée. Les huiles sont ensuite conservées dans l'obscurité à une température de $4 \pm 1^\circ\text{C}$ pour éviter leur détérioration (Carré, 1953).

Dans un ballon de 1L, 50 g de matière végétale sont mélangés à 500 ml d'eau distillée.

Une plaque chauffante est réglée pour assurer une extraction stable et contrôlée d'huile essentielle pendant environ 3 heures, jusqu'à ce que le rendement soit maximal.

L'huile essentielle, différenciée de l'hydrolat par sa densité et sa couleur, est récupérée via un condenseur et séparée par décantation.

Elle est ensuite conservée dans un tube stérile, stocké dans un endroit frais et à l'abri de la lumière.(Figure15)

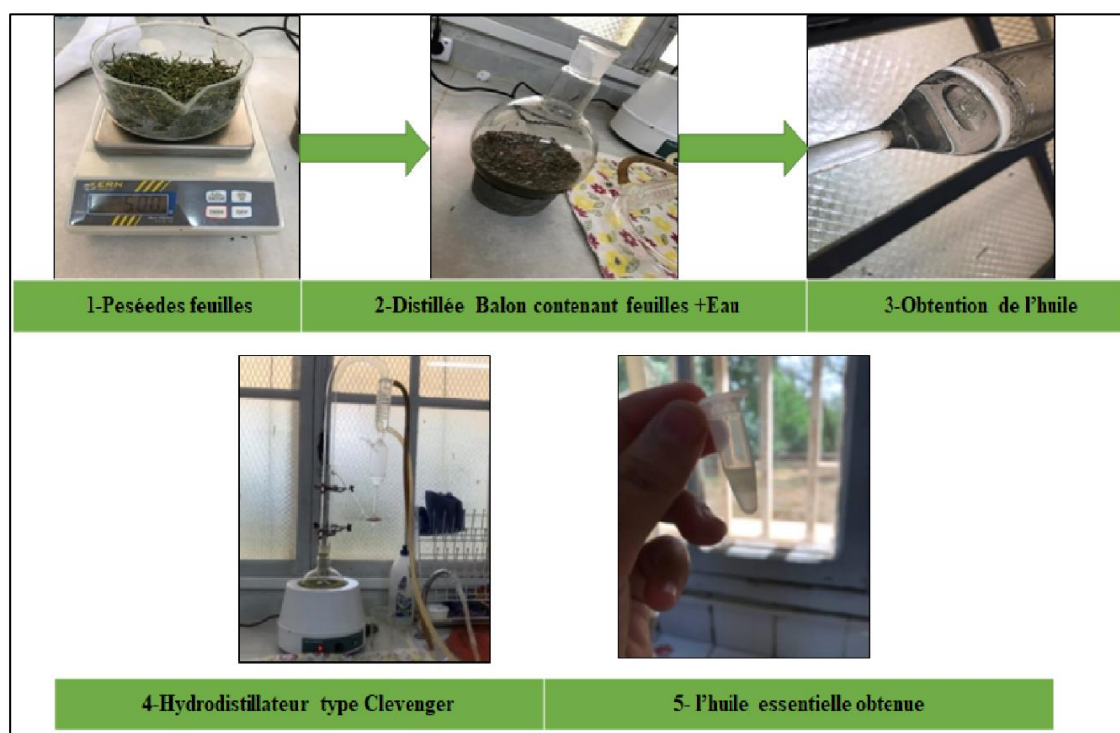


Figure 12:les démarches de L'extractions de HE par l'hydro distillateur (originale,2024)

3.5-Évaluation des activités biologiques

Les Activités biologiques d'un espèce montre sa richesse et sa diversité en métabolite secondaire en effet les poly phénols en plusieurs activité biologique tel que les activité anti oxydants (Ulomsky et *al*, 2020),anti bactériennes (Abudunia et *al*,2017) antifongiques (Ali et *al*,2007)

3.5.1-Activité antioxydant de l'extrait éthanolique et de l'huile essentielle

La méthode utilisée pour évaluer l'activité anti-oxydante est celle du Piégeage du radical libre DPPH (Popovici et *al.*,2009).

Nous avons utilisé une solution de DPPH préparée par solubilisation de 0.004 g de DPPH dans 100 ml d'éthanol. Tandis que les extraits de feuilles de *Titraclinis articulata* sont établis à différentes concentrations de (10, 20, 40, 60, 80, 100, 200 et 250 µL) dans des tubes à essai a dilution de 1 ml d'éthanol. Les échantillons d'extraits sont mélangés avec 1 ml de la solution de DPPH préparée et la réaction est laissée à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance des échantillons et mesurée à une longueur d'onde de 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre avec un tube contenant uniquement la solution de DPPH comme blanc (figures 16)

L'activité anti-oxydante des extraits est calculée selon la formule suivante

$$AS\%=(Absctl-Absctl/Absctl).100$$

AS%: Le pourcentage d'inhibition

Abs ctl: Absorbance du contrôle (solution DPPH)

Abs ext: Absorbance de l'extrait.

3.5.2-Activité antifongique

- **Préparation des cultures fongiques :**

Les cultures fongiques sont préparées par ensemencement d'une suspension sporale sur milieu PDA, puis incubée à 25 °C pendant 3 à 7 jours.

- **Préparation des suspensions fongiques**

Pour cela, des tubes contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ont été préparés et un inoculum de spores a été prélevé de la périphérie des colonies mycéliennes. Après agitation vigoureuse à l'aide d'un vortex, les spores ont été dispersées dans le liquide.

- **Préparation des dilutions des extraits des feuilles de *T.articulata* :**

Pour préparer les différentes concentrations, nous ajoutons au milieu PDA 150 ml d'extrait Ethanolique en fonction des concentrations suivantes:

De manière similaire, nous avons également préparé des dilutions d'extrait éthanolique avec les concentrations suivantes: 25%,50%,75%.

Les solutions sont ensuite mélangées et aseptiquement versées dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre, à raison de 17 ml par boîte, avec trois répétitions par dilution. Les boîtes de Pétri contenant le milieu de culture de contrôle sont constituées de gélose PDA sans ajout d'extrait.

L'activité antifongique est évaluée selon la procédure suivante: des extraits éthanolique sont préparés à différentes concentrations indiquées (mélange d'extraits éthanolique avec du PDA). Ensuite, des boîtes de Pétri stériles de 90 mm de diamètre remplies sont préparées et étiquetées en conséquence. Un milieu de culture témoin a été préparé sans ajout d'extrait. Les échantillons de test sont versés de manière aseptique dans des boîtes de Pétri, avec trois échantillons répétés pour chaque concentration. Les comprimés stérilisés sont trempés dans la suspension préparée au centre des boîtes. Les boîtes de Pétri sont ensuite scellées et incubées à une température adéquate pour favoriser la croissance fongique. Pendant la période d'incubation de 24h.

-Même protocole fait pour les 4 point cardinaux (Nord, Sud, Est, Ouest)

3.5.3. Activité antibactérienne

- **Repiquage des souches bactériennes**

Pour obtenir des cultures bactériennes jeunes (bactéries) et des colonies isolées, différentes souches bactériennes ont été repiquées en utilisant la méthode des stries. Les cultures ainsi obtenues ont été incubées à 37°C pour les bactéries dans une étuve pendant 18 à 24 heures, favorisant ainsi la croissance exponentielle des cellules bactériennes. Les colonies isolées obtenues ont ensuite été utilisées pour préparer l'inoculum nécessaire aux expériences ultérieures.

- **Préparation de suspension bactérienne**

À partir d'une culture jeune de 18 heures sur gélose nutritive et en utilisant un écouvillon, des colonies ont été prélevées pour réaliser une suspension dans 5 ml d'eau physiologique stérile. Les suspensions ont été soigneusement homogénéisées et leur opacité a été ajustée pour atteindre une densité optique comprise entre 0,08 et 0,10, mesurée à une longueur d'onde de 625 nm, correspondant à une concentration de 108 unités formant colonie par millilitre (UFC/ml) (Gachkar *et al.*, 2007).

- **Préparation des dilutions des extraits et HE des feuilles de *T.a***

Préparation des dilutions des extraits et de HE des feuilles de *Tetraclinis articulata*

Les dilutions des éthanoliques ont été préparées avec l'eau distillée stérile, et de l'huile essentielle fait par DMSO

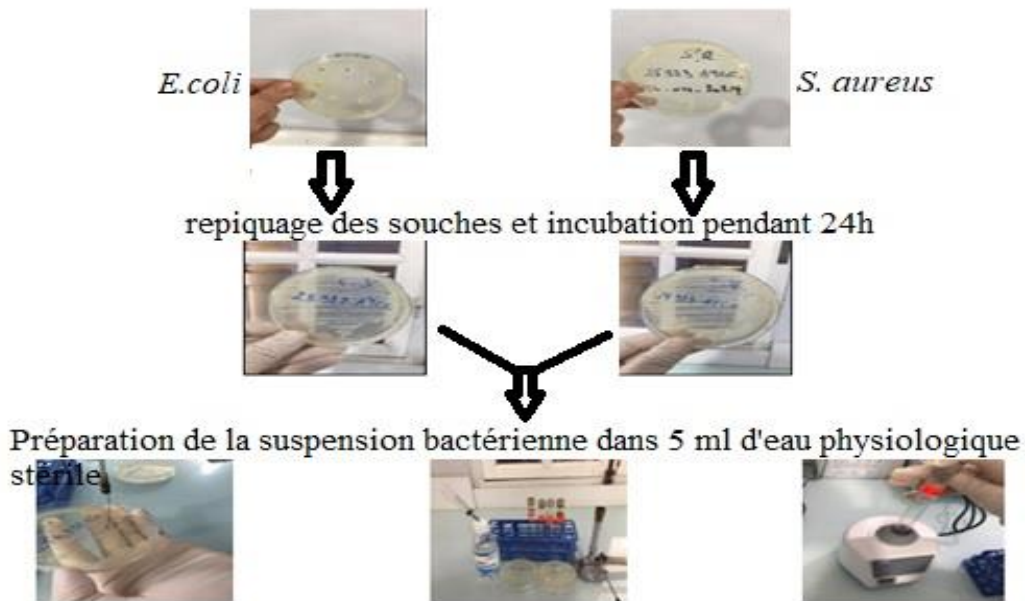
-Pour l'extrait éthanolique: 25%,50%,75%

-pour l'huile essentielle :25% ,50%,75%

Selon le protocole de **Vincent (1991)**, l'évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la technique de diffusion en milieu solide :

- Après préparation des suspensions, faire fondre le milieu Mueller-Hinton au bain-marie bouillant.
- On verse aseptiquement le milieu de culture dans des boites de Pétri et on ensemence les suspensions à la surface de la gélose selon la technique du beurre. A l'aide de pinces stériles, un disque stérile est prélevé et imbibé d'une des dilutions des extraits puis déposé sur la gélose.
- Ensuite on ferme les boites de pétri et on laisse les extraits circuler à température ambiante pendant 30 minutes, puis on les incube dans une étuve à 37°C pendant 24 heures (**Lahoum et al ,2016**)

Partie1 :



Partie2 :

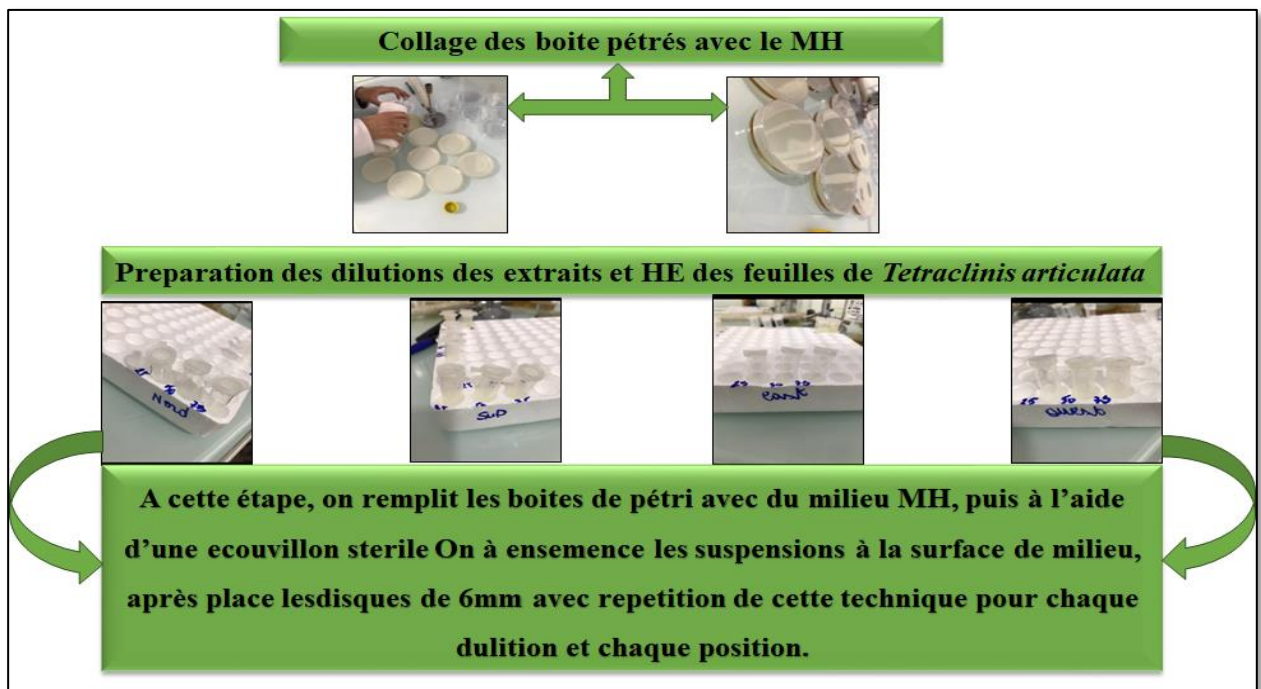


Figure 13: Mode opératoire de l'activité antibactérienne

RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE IV

Résultats et Discussion

Dans la présente partie, nous présenterons et traiterons les résultats obtenus de l'étude de L'activité biologique des extraits de plante *Titraclinis articulata*
Il s'agit de l'étude phyto-chimique des feuilles des feuilles de *Titraclinis articulata*. Ceci dans le but d'extraire d'huile essentielle et l'extrait et l'analyse quantitative par Dosage colorimétriques ainsi que l'évaluation de l'activité anti-oxydante, et de l'activité antifongique et antibactérienne

4.1 Évaluation de rendement

4.1.1 Rendement d'Extrait éthanolique

Pour une prise d'essai de 50g de la matière végétale, le rendement d'extraction de la phase éthanoïque (extrait), valeur de l'extrait obtenu par macération à un solvant organique polaire qui est l'éthanol pour les quatre régions (Nord, Sud, Est, Oust)



Figure 14:Aspect des extraits éthanoliques des les quatre régions

Le pourcentage de le rendement et la qualité organoleptique de l'extraits des feuilles de *Titraclinic articulata*

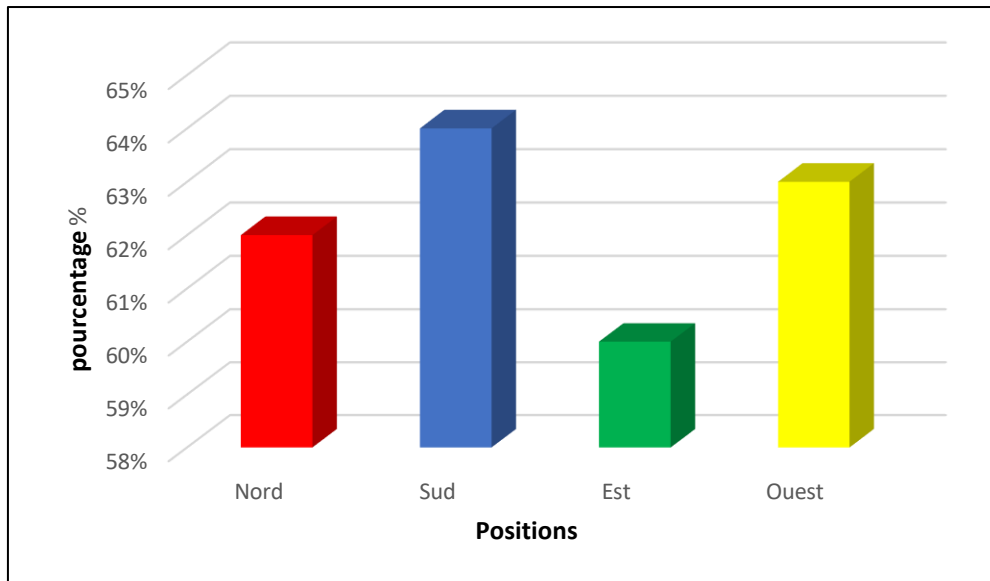


Figure 15: Rendement d'extrait éthanolique des feuilles de *T. articulata*

Les rendements en extrait éthanolique des feuilles de *Titraclinis articulata* que nous avons obtenu sont assez élevés dans les quatre positions choisies. Au sud, on enregistre un taux en extrait éthanolique le plus élevé (64%), il est proche à celui de Nord et à celui de l'ouest (62% et 63% successivement), tandis que à l'est le taux est le plus faible (60%).

Les conditions pédologiques, l'ensoleillement et l'exposition de l'espèce étudiée sont des facteurs pouvant influencer la différence de rendement en extrait éthanolique.

Selon le travail effectué par El Jemli (2020), le taux de rendement le plus bas était celui de

L'extrait aqueux avec 16,86%, cela concorde avec nos résultats.

Cette variation dans le rendement peut être due à plusieurs facteurs entre autres : la période de récolte, l'organe de la plante, la durée de séchage et la méthode d'extraction, la polarité de solvants utilisés (Salminen, 2003)

4.1.2 -Rendement en huile essentielle

L'hydro distillation des échantillons des feuilles de *Tetraclinis articulata* prélevées dans la forêt de Sidi-Sbaa réalisée à l'aide du dispositif type Clvenger, a donné des huiles essentielles sous forme liquide, d'un aspect huileux, d'une couleur jaune verdâtre, caractérisées par une forte odeur balsamique.

les rendements obtenus oscillent entre 0.2% et 0.7% dont la plus haute valeur est obtenue pour l'échantillon de la position sud.

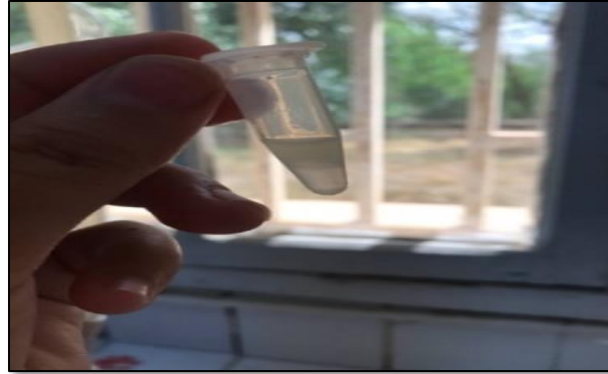


Figure 16: Aspect de HE

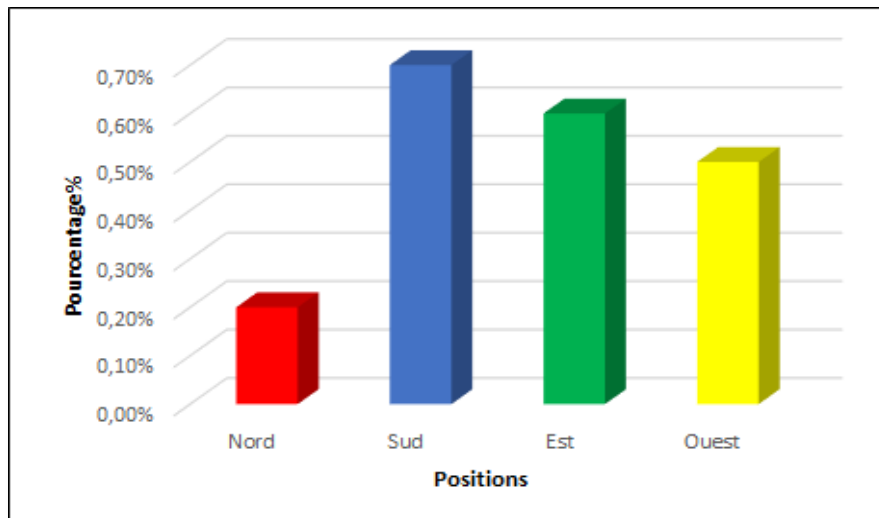


Figure 17: Rendement d'HE des feuilles de T.a

Le pourcentage de rendement et la qualité organoleptique de l'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata*.

Les rendements en huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata* obtenu pour chaque exposition de la région de Sidi-Sbaa ont montré un pourcentage supérieur pour l'exposition sud soit de (0.70%), lui succède l'exposition est avec (0.60%), ensuite l'ouest (0.50%) et en fin d'exposition nord avec (0.20%).

La comparaison de nos résultats avec ceux de Benali Toumi et *al.* (2010) qui ont travaillé sur l'huile essentielle isolée des feuilles de *Tetraclinis articulata* dans trois régions écologiquement différentes de l'Ouest algérien. Les rendements obtenus par ces auteurs sont :

(0,75%) pour la région d'El Haçaiba (wilaya de Sidi Bel Abbès), (0,78%) pour Ouled Mimoun (wilaya de Tlemcen) et (0,35%) pour Frenda (wilaya de Tiaret).

Les rendements obtenus pour l'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata* de la région de Sidi-Sbaa sont supérieurs à ceux de Sidi Bel Abbès, Tlemcen et Tiaret. Cette différence des taux des rendements des huiles essentielle dépend de plusieurs facteurs pour une même espèce. En effet, le chimio-phénotype, le phénotype et le rendement des huiles essentielles des plantes sont affectés par les facteurs endogènes, dont le génotype de la plante (Boachon et *al.*,2018; Bornowski et *al.*, 2020), l'âge de la plante, stade du cycle de développement de la plante (croissance, floraison et fructification), les facteurs du milieu (climat, sol ...), le moment de la récolte, pratiques et techniques d'extraction (Bruneton, 1993 et Bonin et *al.*, 1994)

4.2 Évaluation de l'activité biologique

Le pouvoir antimicrobien des extraits végétaux des feuilles de *Tetraclinis articulata* est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètre (mm).

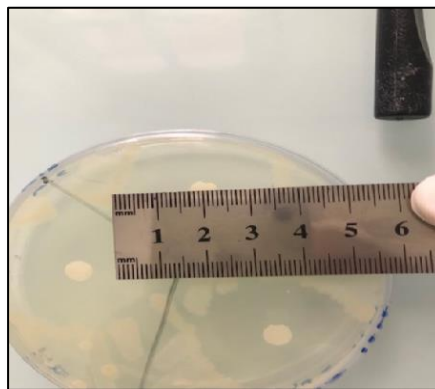


Figure 18: Mesure de la zone d'inhibition en (mm) (original,2024)

Les résultats des tests antimicrobiens des extraits des feuilles de *T.a* vis-à-vis des 02 souches bactériennes testées et (*Candida albicans*).

4.2.1-Évaluation d'activité antifongique

- activité antifongique de l'extrait

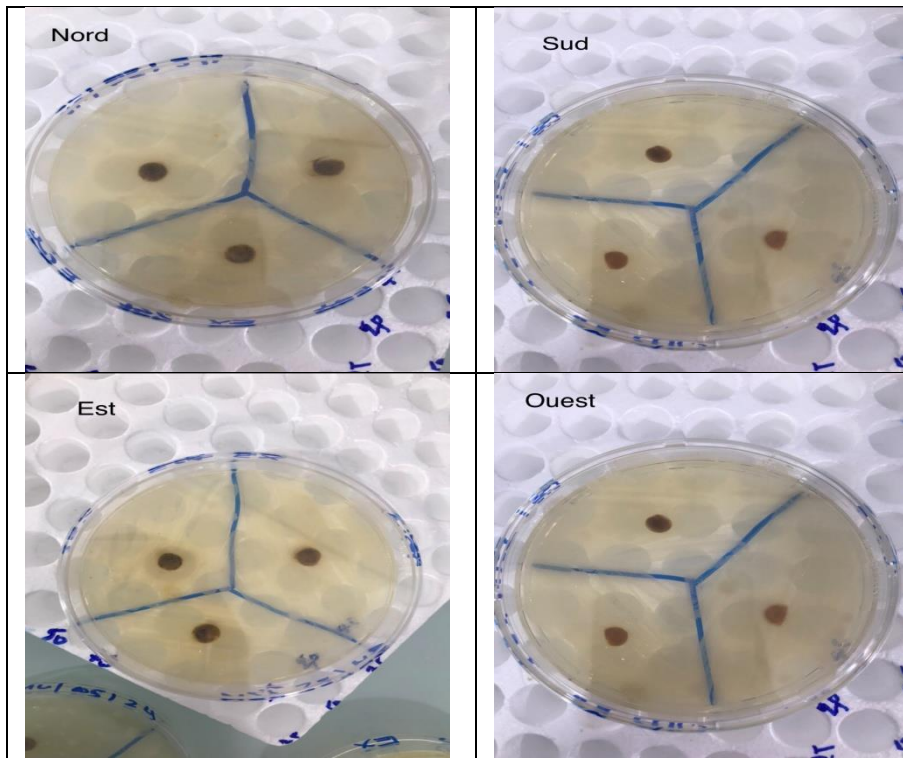
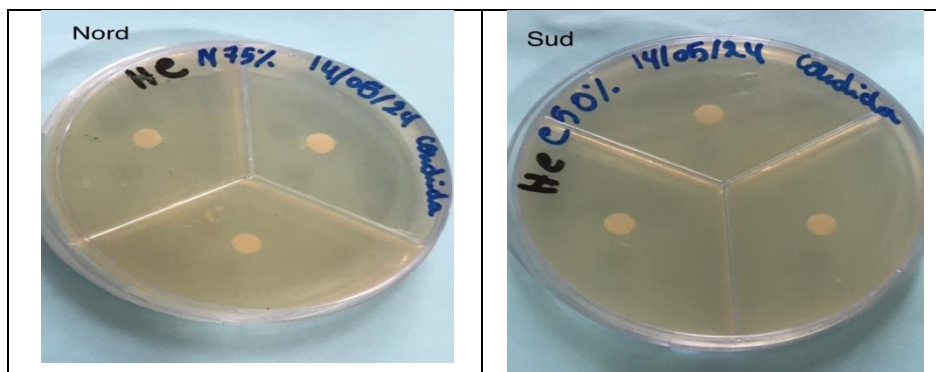


Figure 19: Résultat d'activité fongique de l'extrait (original 2024)

Aucun développement du mycélium n'est constaté après l'application de l'extrait éthanolique sur le champignon pathogène (*Candida albicans*) Dans le premier jour jusqu'à le dernier jour d'observation. Cela indique que l'extrait de *T.articulata* inhibe le développement du champignon.

- activité antifongique de l'extrait:



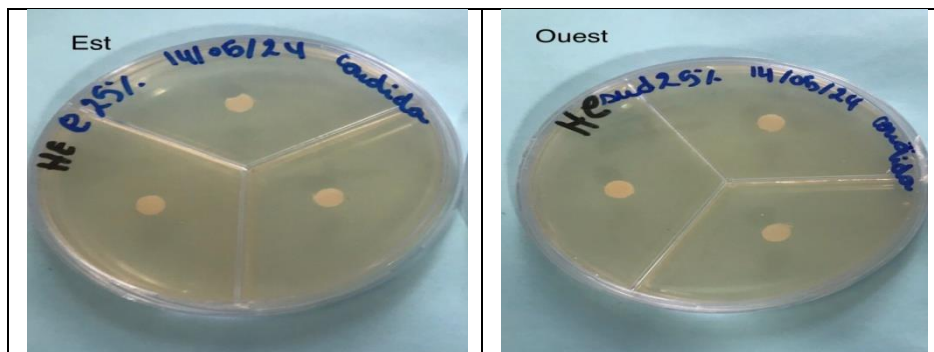


Figure 20:Résultat d'activité fongique de l'HE

On remarque que le champignon est complètement inhibé le long d'observation (7jours), cette huile essentielle des quatre positions (Nord, Sud, Est, Ouest),n'a aucun effet sur les champignons(*candida albicans*). Par conséquent, on peut dire que ces champignons ont résisté à leur travail, c'est-à-dire qu'elles résistaient à l'extrait et n'inhibaient pas son action.

***Discussion générale sur l'activité antifongique**

Nous avons remarqué que l'huile essentielle et l'extrait éthanolique n'a aucune activité contre les souches fongique (*candidat albicans*) testées.



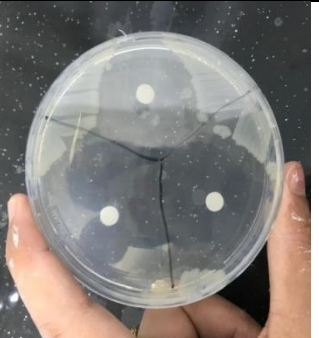




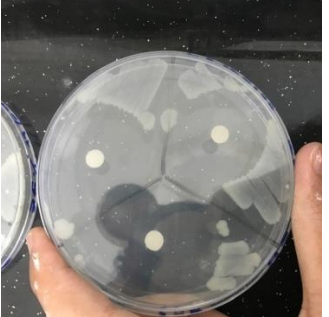
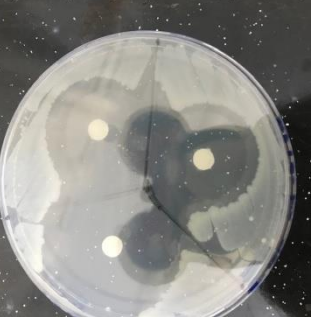
L'activité de l' α - et du β -pinène contre un groupe de microorganismes a en effet été rapportée très faible (Dorman et Deans, 2000 ; Sonboli et *al.*, 2006 ; Jung, 2009 ; Leite et *al.*, 2007). Selon Quadrir et Shah (2014), l'huile essentielle de *Pinus roxburghiqui* contient une quantité importante d' α -pinène (60,8%), a démontré une faible activité antibactérienne contre les bactéries *S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans*

C'est le cas des recherches d'Angioni et *al.* en 2003. Plusieurs espèces végétales, telles que *Juniperus oxycedrus*, *J. communis* et *J. phoenicea*, ont été testées par ces auteurs, avec une forte présence d' α -pinène. Ces huiles essentielles ont été testées contre *S. aureus*, *E. coli*, *P.aeruginosa* et *C. albicans*. Ces mêmes souches microbiennes ont montré une grande résistance à ces micro-organismes. D'un autre côté, les recherches menées par Mohan démontrent que l'huile essentielle présente une activité efficace contre *S. aureus*. De la même manière, Stojkovic a étudié l'efficacité antimicrobienne de l' α -pinène à une pureté de 98% contre les bactéries *S. aureus*, *E. coli* et *A. flavus*. Ces écrivains mentionnent également une activité satisfaisante de ce composé. En même temps, en 2009, Kivrak et ses collègues ont démontré une efficacité élevée de l'huile essentielle de *Salvia potentillifolia* et de l' α -pinène contre *E. coli*, *S. aureus* et *Candida albicans*, mais plus significativement contre *C. albicans*. D'autres composés antimicrobiens sont présents dans cette huile essentielle, tels que le cinéole, le camphre, le bornéol, le terpinène et l'acétate de bornyle.

L'huile essentielle de *Salvia potentillifolia* et l' α -pinène ont une activité efficace contre *E. coli*, *S. aureus* et *Candida albicans*, mais avec une activité plus importante contre *C. albicans*. D'autres composés antimicrobiens sont présents dans cette huile essentielle, tels que le cinéole, le camphre, le bornéol, le terpinène et l'acétate de bornyle. Enfin, il convient de souligner que les huiles essentielles étudiées renferment également des niveaux importants de bornéol. Plusieurs recherches ont prouvé l'activité antimicrobienne (Skaltsa et al., 2003 ; Rather et al., 2012). De plus, les recherches menées sur les huiles essentielles de *Micromeria cristana* subsp. *Phrygia* contenant du bornéol ont démontré que ce composé possède un fort pouvoir antimicrobien (Tabanca et al., 2001, Runyoro et al., 2010).

4.2-2-Évaluation d'activité antibactérienne

- Huile essentielle avec *E-coli*

| Position | 25% | 50% | 75% |
|----------|---|--|---|
| NORD |  |  |  |
| SUD |  |  |  |
| EST |  |  |  |

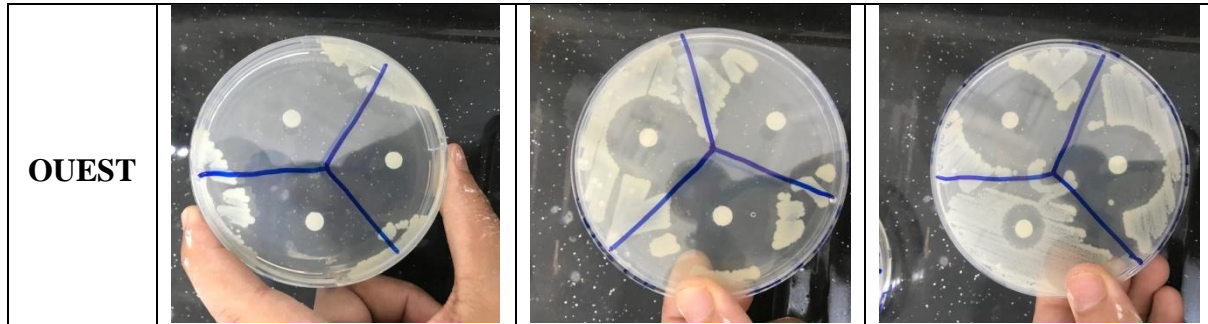


Figure 21 : les résultats de la zone d'inhibition de l'HE avec *E. coli*

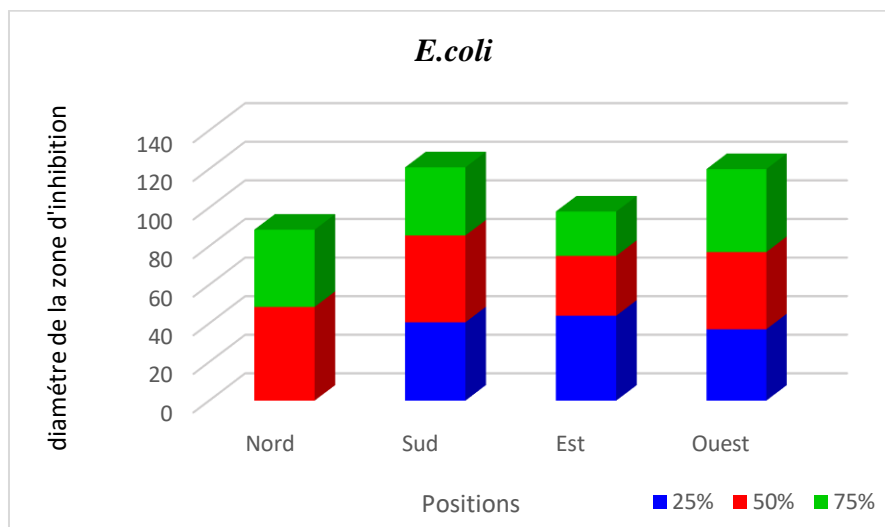


Figure 21: Diamètre d'inhibition de l'HE vis-à-vis de *E. coli* à différentes concentrations

Le diamètre d'inhibition (mm) d'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata* obtenu pour chaque exposition de la région de Sidi-Sbaa ont montré un effet antibactérienne supérieur pour les différentes concentrations qui utilisée (25%, 50%, 75%).

Pour la concentration (25%), le diamètre de la position est montre un diamètre d'inhibition supérieur soit ($44 \pm 5,29$), ensuite sud ($40,66 \pm 1,15$), lui succède l'exposition ouest avec un diamètre minimale ($37 \pm 14,7$), quant au nord nous n'avons enregistré aucun diamètre d'inhibition à cette concentration.

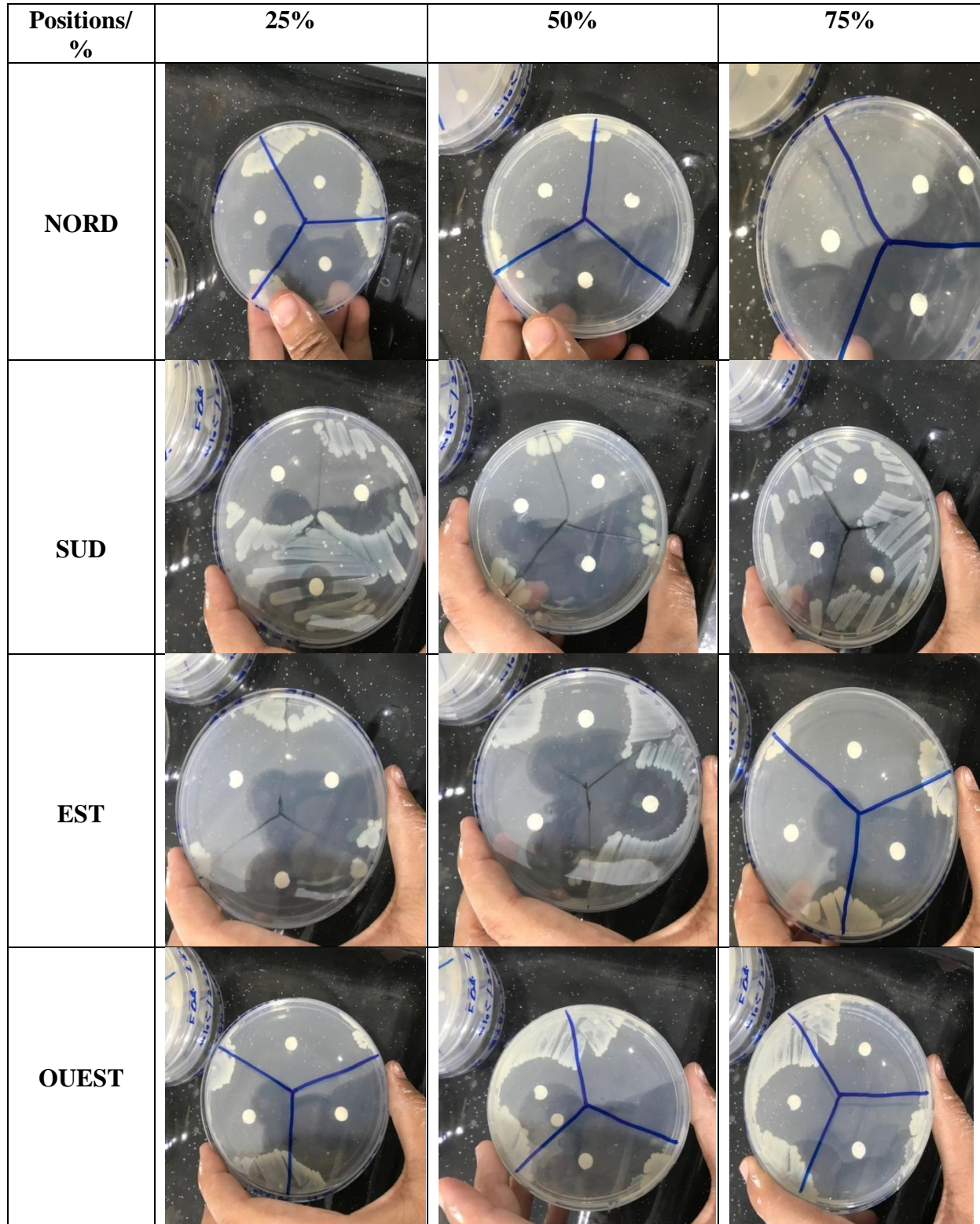
Pour les concentrations de (50%) et (75%), on remarque une convergence dans la zone d'inhibition en (mm), car le plus grand diamètre dans la concentration (50%) est enregistré au nord ($48,6 \pm 2,3$) et le plus petit diamètre à l'est ($31,33 \pm 4,04$).

Nous avons également la plus grande zone d'inhibition en termes de concentration, (75%), à l'ouest ($43,3 \pm 3,05$), suivi du nord (40 ± 0), puis du sud et de l'est avec ($35,3 \pm 7,57$) (23 ± 11) successivement.

Après les résultats obtenus, on constate que l'huile essentielle de thuya de berbérís a une excellente efficacité antibactérienne contre *e. coli*.

- Huile Essentiel avec *S.aureus*

Figure 23 : Les résultats de la zone d'inhibition de l'HE avec *S.aureus*



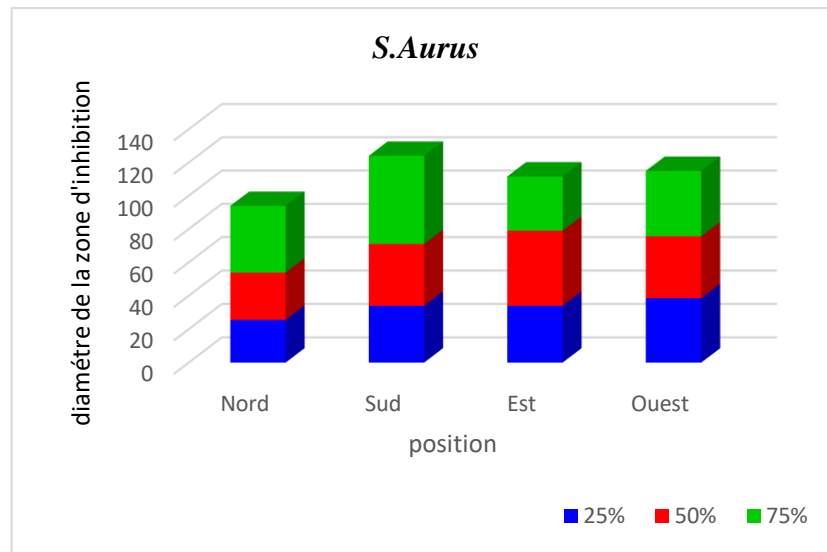


Figure 22: Diamètre d'inhibition de l'HE vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* à différentes concentrations

À concentration (25%), on remarque une convergence dans la zone d'inhibition, avec son diamètre compris entre $(38,6 \pm 8,08)$ et $(34 \pm 5,2)$ au sud, à l'est et à l'ouest, tandis que nous avons enregistré la plus petite zone au nord avec une valeur de $(25,6 \pm 9,6)$.

Nous avons enregistré un diamètre d'inhibition $(45 \pm 6,55)$ comme plus grand diamètre que la concentration est de 50% à l'est, suivie du sud et de l'ouest avec le même diamètre $(37 \pm 6,24)$, et le nord le plus petit diamètre pour cette concentration avec $(28,3 \pm 12,58)$.

En (75%), le diamètre d'inhibition montre la grande zone sur la position nord avec (40 ± 5) , quant au reste position sud, est et l'ouest leur diamètre varie entre $(32,6 \pm 6,80)$ et $(39,3 \pm 9,45)$.

Les résultats obtenus pour *Staphylococcus aureus* nous confirment l'efficacité des huiles essentielles de *T.a* par rapport à l'activité bactérienne, puisqu'une convergence a été enregistrée par rapport au diamètre d'inhibition obtenu dans l'échantillon étudié.

*Discussion générale sur l'activité antibactérienne

A travers les résultats obtenus pour une étude de l'activité bactérienne de deux types de bactéries (*S. aureus*/*E. coli*) sur les huiles essentielles de la plante précitée, nous les comparons avec d'autres résultats de nombreux chercheurs.

Comme indiqué fréquemment dans la littérature, une huile essentielle est considérée comme ayant une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition dépasse 15 mm (Rossi, 2003).

Nos résultats corroborent ceux de Chikhouné et al. (2013), qui ont constaté une faible activité des huiles essentielles des feuilles de thuya contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, avec des zones d'inhibition variant de 7 à 11 mm. En revanche, ils ont observé une sensibilité notable de *Staphylococcus aureus*, avec des zones d'inhibition allant de 18 à 22 mm. Ces huiles essentielles présentent une teneur élevée en acétate de bornyle, avec des pourcentages de 40,2 % et 59,2 % dans deux échantillons provenant de stations différentes.

- **Extrait avec *E-coli* et *S-aureus***

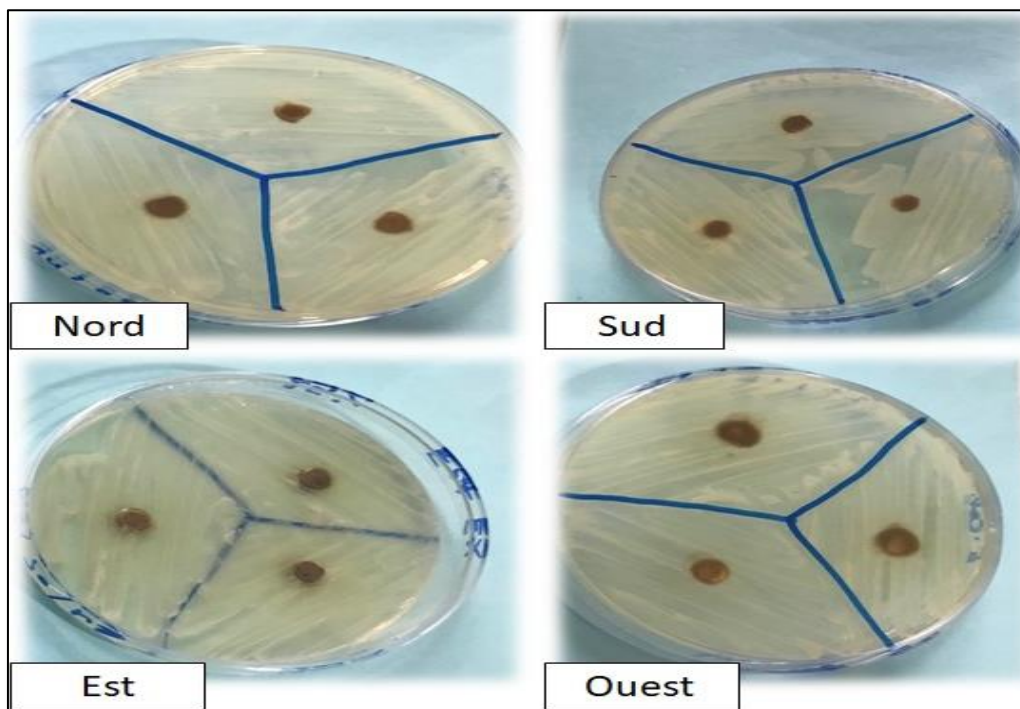


Figure 23: Résultats de l'activité antifongique de l'extrait éthanolique

4.2.3 Évaluation de l'activité antioxydant

La mesure de l'absorbance (densité optique DO) a été réalisée à l'aide d'une spectrophotométrie à une longueur d'onde de 517 nm. À partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant une formule préalablement fournie.

Les données obtenues ont été utilisées pour générer des courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits de la plante. Par le biais d'une analyse de régression linéaire appliquée à la courbe, nous avons déterminé la concentration correspondant à une inhibition de 50 % (IC50). Cette concentration est un indicateur de l'activité anti-oxydante des extraits éthanoliques et aqueux des feuilles de *Tetraclinis articulata* étudiés.

- **antioxydant d'extrait éthanolique**

Les résultats obtenus sont illustrés sur la courbe ci dessous.

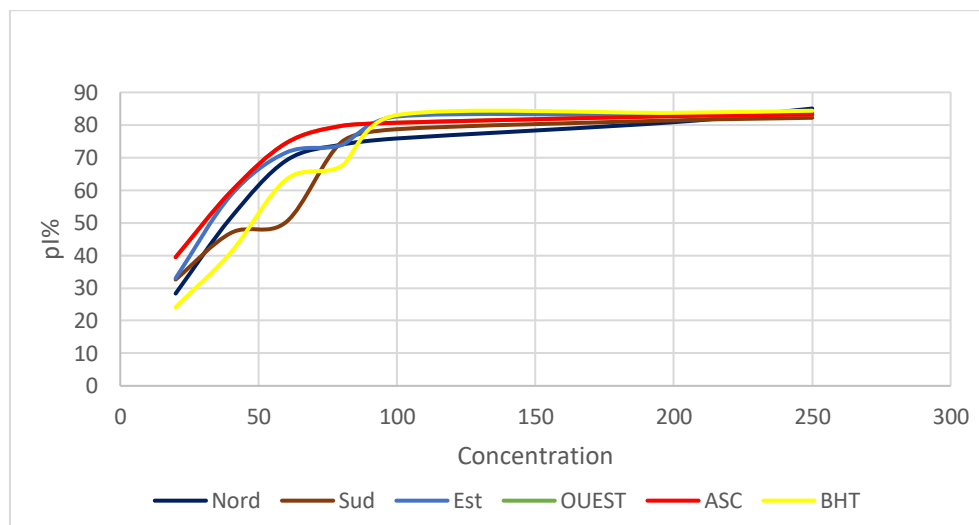


Figure 24: Pourcentage d'inhibition d'extrait éthanolique de *Tetraclinis articulata*

L'absorbance de l'acide ascorbique et de BHT, ainsi des extraits éthanoliques présente un effet similaire en appliquant l'ensemble des doses. Elle est faible dans les doses 20 et 40 puis commence à augmenter aux doses 60 et 80 pour stabiliser pour les doses 100, 200 et 250 avec une légère différence entre les extraits et les composés de référence.

L'extrait éthanolique des quatre échantillons précédemment étudiés présente une bonne efficacité à différentes concentrations par rapport aux acides ascorbique et BHT.

- **Activité antioxydant de l'huile essentielle:**

Les résultats obtenus sont présentés sur la figure qui suit.

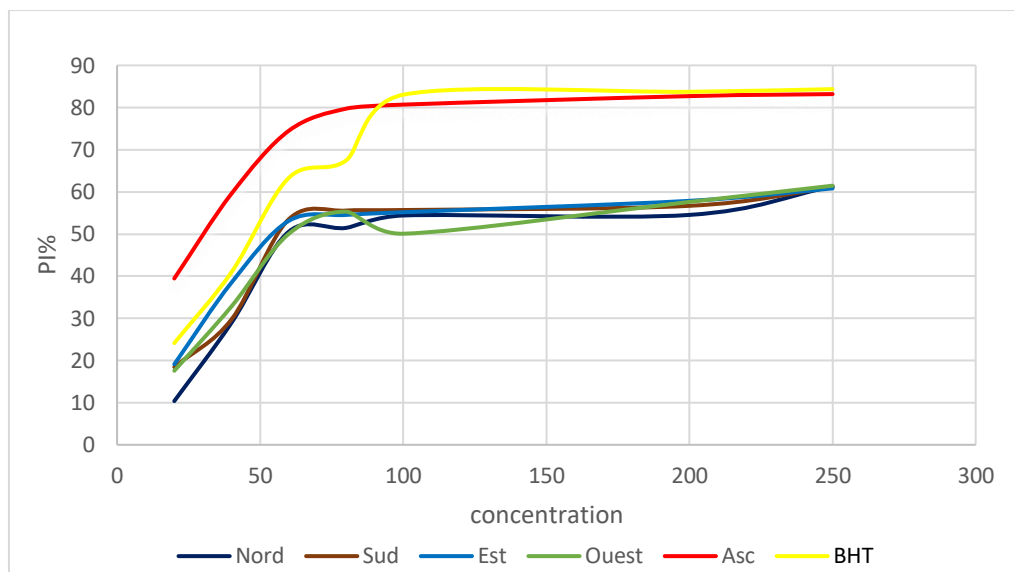


Figure 25: pourcentage d'inhibition HE de *Tetraclinis articulata*

Les résultats obtenus avec l'huile essentielle ont montré que l'acide ascorbique a une activité anti oxydante modérée et une activité élevée au sud (0.7%), (0.6%) à l'est et (0.5%) à l'ouest. On constate que le nord est le moins actif (0.2%). Dans l'étude ci-dessus, c'est l'acide ascorbique qui a montré une activité antioxydant très élevée en raison du temps de réaction.

Nous avons observé que les huiles essentielles extraites des parties aériennes (les feuilles) de *Tetraclinis articulata* présentent une activité anti oxydante très faible en comparaison avec les antioxydants standards.

Selon la littérature, l'activité anti oxydante de *Tetraclinis articulata* a été étudiée par plusieurs auteurs, dont les travaux confirment en grande partie nos résultats.

En 2012, Ben Jemia et *al.* ont étudié l'activité anti oxydante de l'huile essentielle des feuilles de thuya provenant de Tunisie. Les résultats du test DPPH ont montré une faible activité, avec une CI50 de $25,50 \pm 0,57 \mu\text{g/mL}$, soit deux fois moins importante que celle du contrôle positif BHT (CI50 = $12,0 \pm 0,13 \mu\text{g/mL}$). Les principaux constituants de cette huile essentielle sont l'acétate de bornyle (31,4 %), l' α -pinène (24,5 %) et le camphre (20,3 %).

En 2013, Djouahri et *al.* ont évalué les activités anti oxydantes des huiles essentielles des feuilles de thuya d'Algérie obtenues par hydro distillation conventionnelle (HD) et par hydro distillation assistée par micro-ondes (MAHD). L'huile essentielle obtenue par MAHD a montré des activités anti oxydantes plus élevées (DPPH, CI50 : $191,72 \pm 1,22$ contre $517,65 \pm$

1,21), bien que cette activité soit très faible comparée à celle du composé de référence (Acide ascorbique, $CI_{50} = 31,64 \pm 0,13$; α -tocophérol, $CI_{50} = 33,51 \pm 0,15$). Ces huiles sont caractérisées par la prédominance de l'acétate de bornyle (24,4 % ; 32,4 %), de l' α -pinène (23,6 % ; 12,5 %) et du camphre (18,3 % ; 21,4 %), suivis par le limonène (7,0 % ; 4,3 %), le myrcène (5,5 % ; 0,0 %) et l'acétate d' α -terpinéol (1,0 % ; 6,8 %).

En 2015, ces mêmes auteurs Djouahri *et al.* Rapportent également une très faible activité anti oxydante des huiles des feuilles de thuya d'Algérie récolté dans quatre régions différentes (Zeddine, Aïn Defla ; Mansoura, Bordj-Bou-Argeridj ; Zekkar, Djelfa et Tazoult, Batna). Les CI_{50} de ces huiles varient entre $113,47 \pm 4,19$ et $252,49 \pm 6,14$ $\mu\text{g/mL}$, bien inférieures à celles des antioxydants standards (BHA : $CI_{50} = 24,73 \pm 0,11$ $\mu\text{g/mL}$; BHT : $CI_{50} = 33,89 \pm 0,16$ $\mu\text{g/mL}$). Ces huiles sont dominées par l' α -pinène (16,3-25,3 %), le camphre (17,2-21,4 %) et l'acétate de bornyle (17,6-20,6 %).

En 2013, Chikhounne *et al.* Ont également rapporté de très faibles activités anti oxydantes des huiles essentielles des feuilles et des cônes de thuya prélevés dans deux stations en Algérie (Hammam Melouane et Tipaza). Les pourcentages d'inhibition obtenus par le test DPPH varient entre $0,7 \pm 0,0$ et $11,6 \pm 1,0$ % contre $91,1 \pm 0,1$ % pour BHT et $93,5 \pm 0,1$ % pour BHA. Les principaux composés de ces huiles sont l' α -pinène (24,9 % ; 19,8 %) et l'acétate de bornyle (40,2 % ; 59,2 %).

- **Évaluation de IC_{50} pour l'EXT et l'HE**

Les extraits éthanoliques des feuilles de *Tetraclinis articulata* sont utilisés pour évaluer l'activité anti-oxydante, Les valeurs de IC_{50} , qui représentent la concentration à laquelle 50% d'inhibition est atteinte, sont déterminées pour cet extrait. Les résultats obtenus permettent de comparer l'efficacité des extraits éthanoliques de 4 positions en termes d'activité anti-oxydante .Ils sont présentés sous forme d'histogrammes ci dessous.

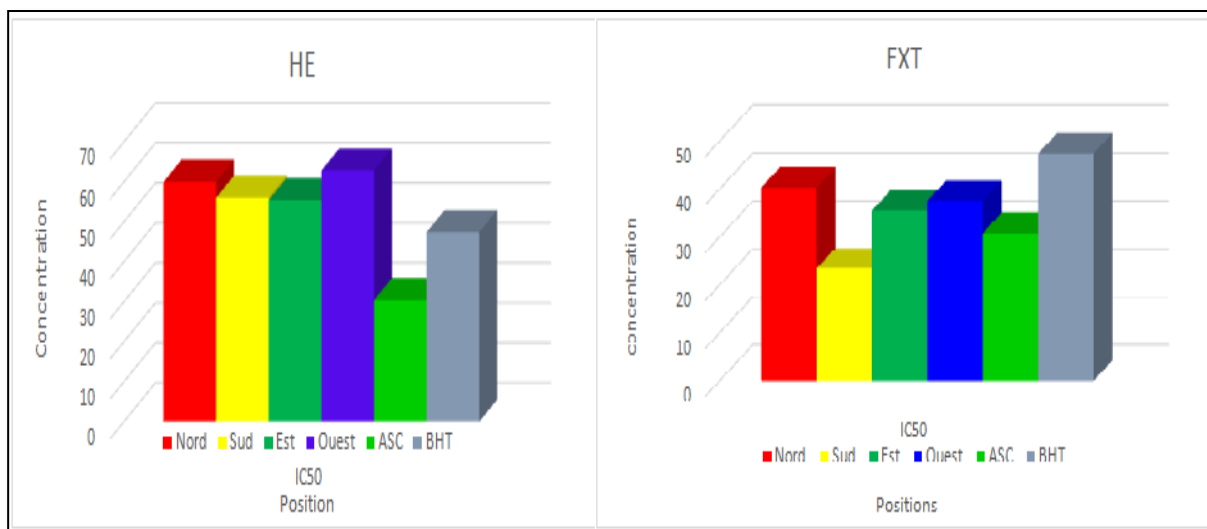


Figure 26: IC50 de HE, EXT de 4 positions, ASC et de BHT

Les résultats de l'IC50 obtenus à l'aide de l'activité antioxydante qui sont fait après extraction des feuilles de thuya de la région de Sidi-Sbaa wilaya de Ain Defla (extraction HE, extraction d'extrait éthanolique) comparés avec deux standards: Acide ascorbique et le BHT, on observe que:IC50 de l'h.e des quatre positions plus importante que celui des composés de référence :ASC avec(30.38mg/ml) et BHT(47.37mg/ml)

IC50 enregistré dans la position ouest est la plus importante valeur (62.8mg/ml),ensuit le nord(59.95mg/ml) puis le sud et l'est (56mg/ml, 55.39mg/ml respectivement).

Concernant l'extrait éthanolique La Valeur de IC50 la plus intéressante en comparaison avec les Valeur de ASC a été trouvé dans la partie Nord (40.31mg/ml), à l'ouest (37.51mg/ml) alors qu'à l'est on note une valeur de (35.48mg/ml) et en fin la Valeur (23.41mg/ml) au Sud. Par contre le BHT indique une forte activité avec un IC50 (47.37mg/ml).

Nous avons constaté que les huiles essentielles des feuilles de *Tetraclinis articulata* possèdent une très faible activité anti oxydante en comparaison avec les antioxydants standards (ASC et BHT). Cependant, l'extrait éthanolique a une forte activité avec des valeurs d'IC50 dans les 4point cardinaux (34,17±7,4mg/ml)

A travers les résultats obtenus pour une étude de l'activité antioxydante sur les huiles essentielles et sur l'extrait éthanolique de la plante précitée, nous les comparons avec des recherches ultérieures :

Šarac et al. (2014) ont montré que les huiles essentielles de trois sous-espèces de *Pinus nigra* possèdent un faible pouvoir d'inhibition des radicaux libres DPPH, avec des valeurs de CI50 variant entre 25,080 et 28,677 mg/mL. Ces valeurs sont nettement plus élevées par rapport aux antioxydants synthétiques comme le BHA et la vitamine C, dont les CI50 sont respectivement de 0,093 mg/mL et 0,054 mg/mL. Les huiles essentielles de *Pinus nigra* se caractérisent par une prédominance d'hydrocarbures mono terpéniques et sesquiterpéniques : α -pinène (42,3-50,8%), germacrène D (23,7-30,6%), (E)-caryophyllène (7,3-8,1%) et β -pinène (3,1-6,9%).

En outre, Herzi et al. (2013) ont évalué l'activité anti oxydante des huiles essentielles des feuilles de thuya extraites par différentes méthodes : hydro distillation (HD) et extraction par fluide supercritique (SFE) à différentes pressions (90, 280 et 1 000 bar). L'huile essentielle obtenue par extraction par fluide supercritique à 1 000 bar a montré le pouvoir antioxydant le plus élevé, avec un CI50 de $108,16 \pm 3,07$ μ g/mL. Cette huile est également la plus riche en composés phénoliques (267,90 mg EAG/g). En revanche, l'huile essentielle obtenue par hydro distillation, très pauvre en composés phénoliques (8,89 mg EAG/g), présente la plus faible activité anti oxydante, avec une valeur de CI50 de $3681,49 \pm 69,33$ μ g/mL. Les polyphénols sont connus pour leur capacité élevée à piéger les radicaux libres en raison de la présence de substituant hydroxyle dans leur structure aromatique (Villaño et al., 2007).

CONCLUSION

Conclusion

La présente étude sur les activités biologiques des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) récoltées des quatre points cardinaux de la forêt domaniale de Sidi-Sbaa a permis de déterminer et de comparer dans un premier temps, les rendements de leurs extraits éthanoliques et de leur huile essentielle.

Les meilleurs rendements moyens en extrait et en huile essentielle ont été enregistrés au sud avec respectivement (64%) et (7%).

L'activité antibactérienne in vitro de l'HE extraite par hydro-distillation des feuilles séchées a été évaluée. Elle a révélé un effet notable contre des bactéries du type *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* avec un diamètre d'inhibition de 40 mm avec prédominance de l'exposition sud. Nos résultats corroborent avec ceux de (Abi-Ayad et al., 2011 ; Zahir et al., 2020).

Ainsi, il a été mis en évidence que cette essence forestière est dotée d'une activité antifongique contre une gamme de phyto pathogènes suggérant que les HE du thuya seraient des bio pesticides alternatifs des pesticides chimiques.

L'activité anti oxydante de l'huile essentielle ainsi que celle de l'extrait éthanolique non volatile réalisée a mis en évidence la forte activité de l'extrait par rapport à l'huile du fait de sa richesse en polyphénols. Cependant c'est l'exposition est qui a donné une meilleure activité antioxydant par rapport aux autres expositions concernant l'extrait.

Ces résultats indiquent par ailleurs que cette plante peut fournir des composés à activité biologique élevée qui pourraient être utilisées comme conservateurs dans les aliments.

Cependant, d'autres études sont nécessaires pour explorer les groupes polyphénoliques individuels ou majeurs bioactifs dans les extraits de *Tetraclinis articulata* et leur contribution majeure.

Dans un cadre d'objectifs et de contraintes socio-économiques et dans la perspective d'une agriculture contribuant au développement durable des territoires ruraux, Il est nécessaire de former des praticiens hautement spécialisés dans les Sciences du Végétal et leurs applications agronomiques.

Pour mieux connaître, préserver, valoriser et utiliser cette ressource phytogénétique spontanées *Tetraclinis articulata* de la forêt de la wilaya d'AinDefla, les perspectives d'avenir sont :

CONCLUSION

- Évaluer l'importance quantitative et qualitative des différents composés de l'espèce de la région de la forêt de Sidi-Sbaa dans le domaine de santé en particulier par chromatographie ; pour suivre les travaux de prospection sur le terrain afin de mieux connaître plus de détails sur les facteurs qui influent sur la composition des feuilles telle que l'étude du sol des quatre points cardinaux de la forêt de Sidi-Sbaa.
- Définir des stratégies de préservation de cette ressource en la collectant et en les domestiquant dans une pépinière.
- La création de banque de graines pour la conservation de l'espèce de la région de Sidi-Sbaa sous forme de graines.

REFERENCES

Références bibliographiques

Abi-Ayad F.Z., Abi-Ayad M., Lazzounia H.A., Rebiahib S.A., Bessierec. 2011. - Antibacterial activity of essential oil extracted from leaves of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters from Algeria flora. - Scholars Research Library, 1-6 p.

Ali-Basma S.M, Abdelaleim-I. ElSayed-Mahmoud A., Doheem-Ahmed M., Abo-Eita et Ahmad _A- Omar 2020.-Effect of milk thistle (*Silybum-Marianum*; L gaertn) seed extract on bacterial activities and growth of human liver cancer cells, *Journal of Biotechnology Research*, 65, pp. 27–33.

Amarti F, Satrani B, Ghanmi M, Aafi A, Farah A, Aarab L, El Ajjouri M, Guedira A, Chaouch A. (2011) Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc. *Acta Botanica Gallica : Botany Letters*, 158 (4), 513-523.

APGIII,2009, Zetili-A. Henaoui,H. ,2020. -Mimoire thème Contribution à l'étude de l'effet antioxydant de l'extrai taqueux de quelque splantes médicinales de la région de Tlemcen - Synthèse des travaux, 27p

Aouinty B, Oufara S, Mellouki F, Mahari S. (2006) -Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 10, 67-71.

Barrero AF, Quilez-del Moral JF,lucasR ,Paya M,AkssiraM, AkaadS,Mellouki F. 2003. - Diterpenoides from *tetraclinisarticulata* that inhibit various human l euckocyte functions. s.l. :*J.Nat.Prod*, 2003-. 60, pp. 844-850p

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.

Belkhadar J., Claisse R., Fleurentin J. et Yaunos C., 1991. - Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoeia. - *Journal of Ethnopharmacology*. 35, 123-143p.

REFERENCES

Bellakhdar et al., 1982; AitIgri, 1990; Bellakhdar et al., 1991; Ziyat et al., 1997; Farjon, 1998 - (caractéristique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata*).

Benalia, H., Naili, D. 2020. Evaluation de l'activité antioxydant de l'extrait des feuilles d'olivier, -Thèses de magister, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, B.B.A, PP 26-27.

BENJELLOUN W., 1997 -Phytotherapy of hypertension and diabets in oriental of Morroco. J. Ethnopharmacology. Vol. 58 : 45-54p.

Benyamina A., 2019. – Etude ethno pharma cologique et caractérisation des composes phénoliques des organes aériens du *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters de l'ouest algérien. – Thèse de Doctorat. Université Djillali Liabes, Sidi-Belabbès. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Département des sciences de l'environnement. 108p.

Boachon B., Buell CR., Crisovan E., Dudareva N., Garcia N., Godden G., Henry L., Kamileen M.O., Kates H.R., Lichman B.R., Kilgore M.B., Mavrodiev E.V., Newton L., Rodriguez-Lopez C., O'Connor S.E., Soltis D., Soltis P., Vaillancourt B., Wiegert-Rininger K., Zhao D., 2018. - Phylogenomic Mining of the Mints Reveals Multiple Mechanisms Contributing to the Evolution of Chemical Diversity in Lamiaceae. - Molecular plant, 11: 1084-1096.p

Bonin G., Garzino S., Roche P., Cretin F. et Sauvan F., 1994. -Relation entre la production d'huiles essentielles et les facteurs du milieu. - 1ème Journées Internationales Huiles essentielles, 1-3 Septembre, Digne-les bains, France, RIVISTA IT ALI ANA, EPPOS, Numéro Spéciale, Gennaio 95, 710-715.p

Boudy, P. 1952.- Guide du forestieren Afrique du Nord. Paris, La maison rustique.

Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M. et Chaouch A., 2007 - Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc. - Afrique Science 3, 232 – 242.

Bourkhiss M., Hnach M., Paolini J., Costa J., Farah A. et Satrani B., 2010- Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. - Bulletin de la Société Royale de Liège. Vol. 79, 141 – 154p.

REFERENCES

Brahimi L. et **Bellali A**, 2020. – Etude de la diversité floristique de l'arboretum de Hakou Feraoun (parc national de Chr a): mise en évidence de quelques plantes   usage aromatique et médicinal. -Mémoire de Master. Sciences agronomiques. Université Blida 1.53 p.

Ben Jemia M, **Chaabane S**, **Senatore F**, **Bruno M**, **Kchouk ME**. (2012) Studies on the antioxidant activity of the essential oil and extract of Tunisian *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. (Cupressaceae). *Natural Product Research*, 27, 1419-1430.

Bornowski N., **Hamilton John P.**, **Liao P**, **Wood Joshua C.**, **Duda -reva N.**, **Robin Buell C.**, 2020. - Genome sequencing of four cu-linary herbs reveals terpenoid genes underlying chemodiversity in the Nepetoideae. - *DNA Research*, 27: dsaa016.

Bruneton J., 1993. -Huiles essentielles, dans *Pharmacologie: phytochimie, plantes médicinales*. - 2   d. ,Ed. Lavoisier, Paris, 406-466.

Car e P. (1953)- *Précis de technologie et de chimie industrielle*. T3. Edition de Ballière JB et fils.

Chabane,Sari Daoudi,M ,(2017).-Caractérisation des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata*(Vahl) Masters (Thuya de Barbarie) de la région de Tlemcen et étude de leurs activit sbiologiques.(page 6)

Chemat, F. (2009)- *Essential oils and aromas, -Green extractions and Applications*. HKB Publishers, Dehradun, 311.

Chikhoune A, **Hazzit M**, **Kerbouche L**, **Baaliouamer A**, **Aissat K.** (2013) *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters essential oils: Chemical composition and biological activities. *Journal of Essential Oil Research*, 25, 300-307.

Dorman HJD, **Deans SG.** (2000) -Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oils. -*Journal of Applied Microbiology*, 88, 308-316.

Djouahri A, **Boualem S**, **Boudarene L**, **Baaliouamer A.** (2015) Geographic's variation impact on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils from wood and leaves of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Industrial Crops and Products* 63, 138–146

REFERENCES

Djouahri A, Boudarene L, Meklati BY. (2013a) Effect of extraction method on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oil from the leaves of Algerian *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Industrial Crops and Products*, 44, 32-36.

El Moussaouiti, M., 2010. -Chemical composition and bactericidal evaluation of essential oil of *Tetraclinis articulata* burl wood from Morocco. - *J Indian Acad Wood Sci*, 7(1–2): 14–18. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s13196-010-0003-2>

El Jemli M., Kamal R., Marmouzi I., Doukkali Boudida EH, Touati D, et al., (2016) a. Chemical composition, acute toxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of Moroccan *Tetraclinis articulata* L. *J Tradit Complement Med* ; 7(3): 281-287.

Faid M., Charai M. and Mosaddak M., 1996. - Chemical composition and antimicrobial activities of two aromatic plants: *Origanum majorana* L. and *Origanum compactum* Benth. –*J. Essent Oil Res* 8:657–64. p

Fouzia- Benali-Toumi, .Mohamed -Benyahia .,Laid -Hamel.,Halima -Mohamedi.,ET Lynda Boudaghen P 93-100 voulime article 158 | Received 04 Jan 2010, Accepted 30 Mar 2010, Published online: 26 Apr 2013.

Farah, A., Satrani, B., Fechtal, M., Chaouch, A. & Talbi, M.- Composition chimique et bio activité de l'huile essentielle des rameaux de *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. (2007). Vol. 146: 75-84p.

Fralish. 2002. -taxonomy and ecology of woody plants in north american forests:(Excluding Mexico and Subtropical Florida)., -New York: John Wiley & Sons,ed, 2002.

Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh S.A., Rasooli, I. (2007) - Chemical and biological characteristics of *cuminumcyminum* and *rosmarinus officinalis* essential oils, *Food Chemistry*, 102(3), pp. 898–904.

Gao B, Chen Y, Zhang M, Xu Y, Pan S. (2011) Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of *Pericarpium Citri Reticulatae* essential oil. *Molecules*, 16, 40824096.

Guerra j.A.1990., - biogéographie, écologie, menace et conservation (68)p

REFERENCES

Hadjadj, Aoual, (2009) Kurita N. and Koike S., 1982. - Synergetic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils components. - *Agric Biol Chem* 46:159–65p

Hadjadj-Aoual S. (1995). Les peuplements du thuya de berbérie (*Tetraclini sarticulata*, Vahl, Master) en Algérie ;photoecology, Syntaxonomie et potentialités sylvicoles. Thèse Doc. D'Etat: Université Aix-Marseille III. 159 p. + Annexes

Hajib S., Sbay H., Aafi A., Saidi S., 2013 - Etat des Ressources Génétiques Forestières : le royaume du Maroc. - Rapport National.95 p.

Herzi N, Camy S, Bouajila J, Destrac P, Romdhane M, Condoret JS. (2013) Supercritical CO₂ extraction of *Tetraclinis articulata*: Chemical composition, antioxidant activity and mathematical modeling. *The Journal of Supercritical Fluids*, 82, 72-82.

INRF., 2012 - Etatactuel des ressources génétiques forestières enAlgérie. 58 p.

Lapie G. et Maige A. (1914). -Flore forestière del'Algérie.Ed. ORLMAC.Paris 357 p.

LA Houma, A Aouiche, N Bouras, C Verheecke , H-P Klenk , N Sabaou et F Mathieu (2016). -Antifungal activity of a Saharan strain of *Actinomadura* sp. ACD1 against toxigenic fungi and other pathogenic microorganisms, *Journal de MycologieMédicale*,- MYCMED-605, 1- 8.

Larabi, F; Benhassaini H, Bennaoum Z. (2015). -Essentiel oil composition of *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters.leaves from Algeria. 2 s.l. - *International Journal of Herbal Medicine*, 2015. 6, pp. 31-33.

Laurent, julia. 2017. -Conseils et utilisation des huiles essentielles les plus courant en officine. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. 15 Décembre 2017.

Li Y, Fabiano-Tixier AS, Chemat F. (2014) *Essential Oils as Reagents in Green Chemistry*. Springer Briefs in Molecular Science (1ère édition), Springer International Publishing, 71.

Masango, P. 2005- Cleaner production of essential oils by steam distillation. *J Clean Prod*, 13, 833-839.p

REFERENCES

Mhirit, O., Benchekroun, F., 2006.- Les écosystèmes forestiers et péri-forestiers : situation, enjeux et perspectives pour 2025,- Contribution au Rapport sur le Développement Humain (RDH50) Maroc, GT8-7, 397-483.

Montassir L., Berrebaan I., Mellouki F., Zkhiri F., Boughribil S., Bessi H. 2017.- Acute toxicity and reprotoxicity of aqueous extract of a Moroccan plant (*Tetraclinis articulata*) on freshwater cladoceran *Daphnia magna*. Journal of Materials and Environmental Sciences. 8(2) : 770-776

Popovici C., Saykova I., &Tylkowskib., 2009 - Évaluation de l'activité antioxydant des composee phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de GénieIndustriel,

Quézel P, Médail F. 2003 -Écologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen. Éditions Technique et Documentation. Lavoisier, 125.

Quézel P, Santa S. 1962- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Edition CNRS, Tome I, Paris, 1091.

Quézel P. et Santa S., 1962. - Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. - Edition CNRS, Tome II, Paris, pp34.

Qadir M, Shah WA. 2014-GC-MS analysis, antibacterial, antioxidant and anticancer activity of essential oil of *Pinus roxburghii* from Kashmir. India International journal of research in pharmacy and chemistry, 4, 228-232p.

Rached,W., Zeghadab ;F., Bennaceurb; M., Barrosa L., Calhelhaa R., Helenoa S., Alvesa M., Carvalhoa A., Maroufe A., Ferreiraa I. 2018. - Phytochemical analysis and assessment of antioxidant, antimicrobial, anti inflammatory and cytotoxic properties of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters leaves.- Industrial corps & product. 112 : 460-466.

Rebahi A., 2015. -Répertoire des noms des plantes du Maghreb. Alger-Livres.

Rossi PG. (2003) Caractérisation et valorisation des produits issus de la biomasse : activité biologique des huiles essentielles. Université de Corse, 2.

REFERENCES

- Sadiki, F., El Idrissi, M., Cioanca, O., Trifan, A., Hancianu, M., Hritcu L., Postu PA. 2018. - *Tetraclinis articulata* essential oil mitigates cognitive deficits and brain oxidative stress in an Alzheimer's disease amyloidosis model. - *Phytomedicine*, 1-15.
- Šarac Z, Matejić JS, Stojanović-Radić ZZ, Veselinović JB, Džamić AM, Bojović S, Marin PD. (2014) Biological activity of *Pinus nigra* terpenes-Evaluation of FtsZ inhibition by selected compounds as contribution to their antimicrobial activity. *Computers in Biology and Medicine*, 54, 72-78.
- Skaltsa HD, Demetzos C, Lazari D, Sokovic M. (2003) -Essential oil analysis and antimicrobial activity of eight *Stachys* species from Greece. *Phytochemistry*, 64, 743-752
- Salminen, J.P., (2003) ,Effects of sample drying and storage? and choice of extraction solvent and analysis method on the yield of birch leaf hydrolysable tannins. *Journal of chemical ecology* , 29, 6, 1289-1305.
- Tabanca N, Kirimer N, Demirci F, Baser KH. (2001) -Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeria cristana* subsp. *phrygia* and the enantiomeric distribution of borneol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4300-4303p
- Tekaya, Karoui A, 2011.- Chemical composition and antifungal activity of volatile components from woody terminal branches and roots of *Tetraclinis* 2011.- Chemical composition and antifungal activity of volatile components from woody terminal branches and roots of *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters growing in Tunisia. *African Journal of Plant Science*. 5(2) : 115-122. (Vahl.) Masters growing in Tunisia. *African Journal of Plant Science*. 5(2) : 115-122.
- Toumi F, Benyahia M., Haml, L., 2011- études comparative de la composition chimique des huiles essentielles de *tetraclinis articulata* (Vahl) Mast originaire d'Alger Act
- UICN 2011. -Le thuya de berbèrie (Découvre la biodiversité du parc national d'AlHoceima)- .s.l., Gland, Suisse et Malaga, Espagne : UICN, 2011 .pp16
- Vincent, J.-M. 1991 -Abstract labour : A Critique [Preprint].
- Villaño D, Fernández-Pachón MS, Moyá ML, Troncoso AM, Garcia-Parrilla MC. 2007, Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71, 230-235.

REFERENCES

Yakhlef ,G. (2010).- Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* l. et *laurusnobilis* l. ;-Mémoire de Magister : (Biochimie appliquée ; Université EL Had j Lakhdar Batna) ;110p.

Zahir I., 2018 b.- Effet des micro organismes isolés à partir des biotopes marocains sur les phyto pathogènes : revue bibliographique. Revue Agro biologia. 971-983.

Zahir , I., Houari A., Iraqui M., Ibnsouda S. 2018 a- Valorisation de l'activité antibactérienne des micro organismes isolés à partir des biotopes marocains et caractérisation partielle de leurs principes actifs. Proceedings BIOSUNE'1 – 2018. 80-95. ISBN : 978-9920-37-054-7.

Zahir I., Errahmany A., Essadouny R. et El Hadri I., 2020. - Activités biologiques de *Tetraclinis articulata* : revue de synthèse. - Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 89, articles, 2020, p. 91 – 114.

Ziyyat A., Legssyer A., Mekhfi H., Dassouli A., Serhrouchni M., and Benjelloun W., 1997. - Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco.- J. Ethnopharmacol., 58, 45-54.

Site web1 : (<https://fr.puresessentiel.com/blogs/conseils/huile-essentielle-definition>)

Site web 2 : (<https://www.tutiempo.net/amp-fr/climat/ws-604300.html>)

ANNEXES

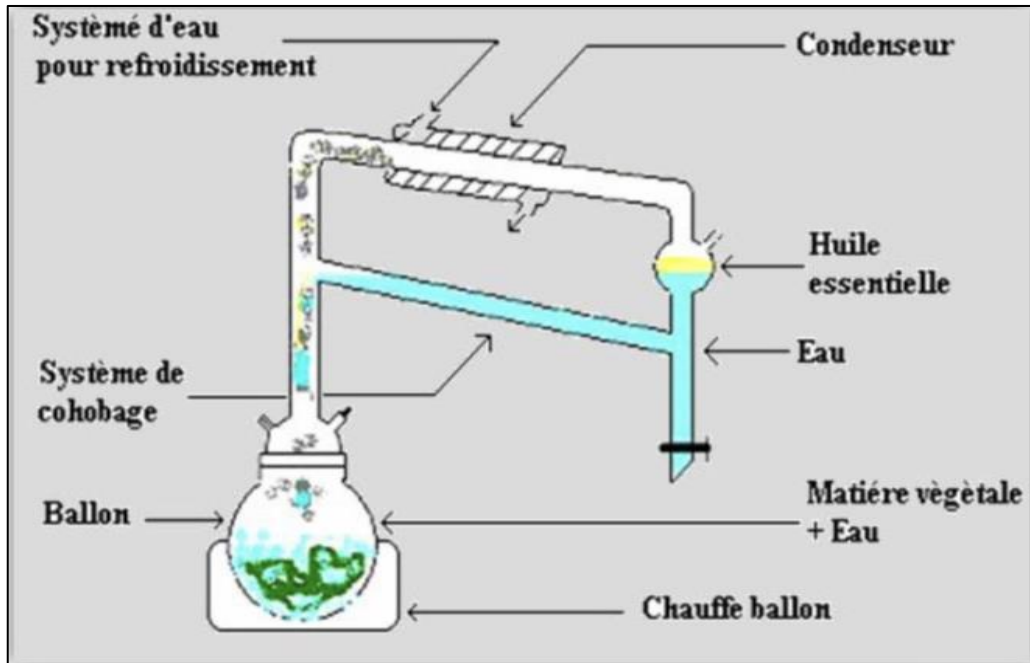
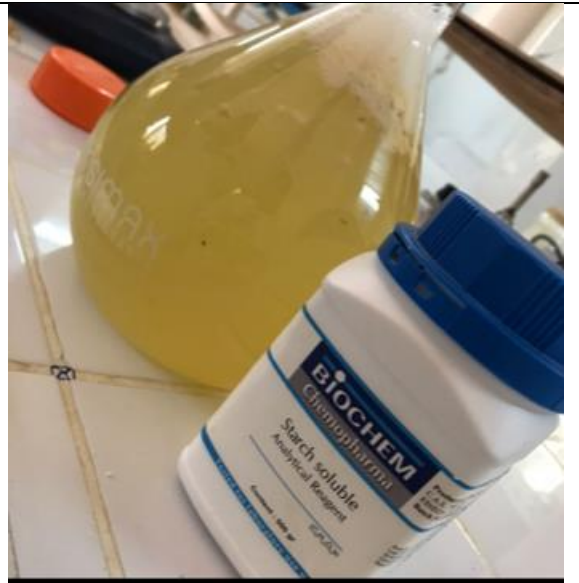
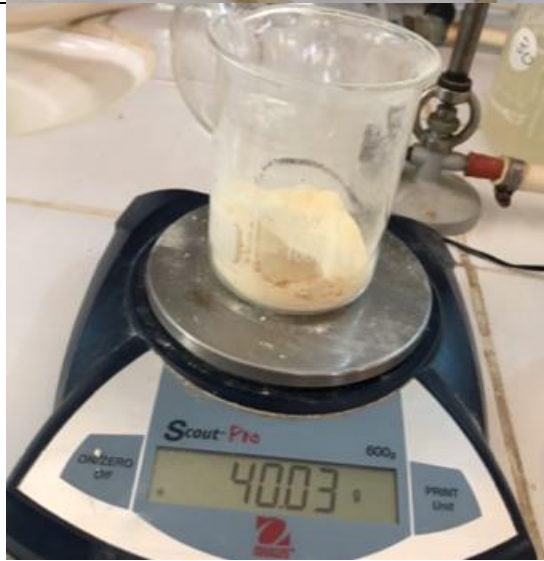


Schéma représentant le montage d'une hydro distillation



Description schématique de système de extraction par l'entraînement à la vapeur

ANNEXES



préparation de milieu PDA