

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DE BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master II
Science de nature et de vie
Option : Biotechnologie et valorisation des plantes

Thème :

**Etude de quelques activités biologiques d'huile essentielle d'une
plante médicinale d'Algérie**

Réalisées par : SAMET Meriem
BENHARKAT Abir

Devant les jurys composés de :

Mme BELGUENDOZ.R	MCA	U.S.D.B.1	Présidente.
Mme AYACHI.N	MAA	U.S.D.B.1	Promotrice.
Mme MOUMEN.S	MCA	U.S.D.B.1	Examinatrice.

ANNEE UNIVERSITAIRE 2019/2020

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

*Mes chers parents pour tout ce qu'ils ont fait pour moi
durant toutes mes années d'étude, pour leurs encouragements,
sacrifice, aide et leurs conseils.*

Mes chers frères.

Mes chers cousins et cousines.

Mes amies.

Ma chère binôme Meriem et sa famille.

*Toute la promotion Biotechnologie et valorisation des plants
appliquée 2019_2020.*



ABIR.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

*Mes chers parents pour tout ce qu'ils sont faits pour moi
durant toutes mes années d'étude, pour leurs encouragements,
sacrifice, aide et leurs conseils.*

*Mes chers frères et sœurs (Hakim, Maroine, Yassmine,
Ferial).*

*Mon fiancé Djamel Eddine, qui a su de loin m'encourager et
me soutenir.*

Mes chers cousins et cousines.

Mes amies.

Ma chère binôme Abir et sa famille.

*Toute la promotion Biotechnologie et valorisation des plants
appliquée 2019_2020.*



MERIEM.



Remercient

Toute notre gratitude, grâce et remerciements à Allah le plus puissant qui nous a donné la force, le courage et la volonté pour élaborer ce travail.

C'est avec une profonde reconnaissance et considération particulière que nous remercions notre promotrice DR. AYACHI Nabila pour sa disponibilité, sa rigueur scientifique et son sens d'écoute et d'échange. Nous lui sommes très reconnaissantes pour sa confiance.

Nous remercions les membres de jury qui nous font l'honneur de présider et d'examiner ce modeste travail. Mme BELGUENDOZ.R, Mme MOUMOUENE.S veuillez trouver ici l'expression de notre haute reconnaissance et respect. Enfin, nous tenons à remercier vivement tous ceux qui de près ou de loin, ont participé par un conseil, un geste ou une parole à l'élaboration de ce modeste travail.



Résumé

Résumé :

La recherche bibliographique a noté que : le genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea* L) est une espèce qui appartient de l'ordre Pinales, la famille des Cupressacées et de genre de *Juniperus* dont l'aire de répartition est circumméditerranéenne. Des études phytochimiques ont montré qu'il contient des biomolécules notamment on a la résine, des acides gras, des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des stérols aussi des triterpènes et des glucides, ces composants ont rendu notre espèce largement utilisée dans la médecine traditionnelle dont lesquelles on peut utiliser les feuilles et les rameaux contre les maladies de diabète, la diarrhée, le rhumatisme, l'eczéma et l'asthme... ou bien les fruits contre les abcès et l'ulcération de la peau... Les huiles essentielles de ces essences forestières sont largement dominées par l' α -pinène et peuvent constituer une source importante en se constituant bien recherché sur le marché international.

Dans le cadre de valorisation des plantes médicinales et aromatiques en Algérie, nous avons mené cette étude portant sur la valorisation d'une plante algérienne : le genévrier de Phénicie, cette dernière provient de l'est de l'Algérie (Parc national de Gouraya), au niveau de la wilaya de Bejaia. L'extraction des huiles essentielles des fruits de *Juniperus phoenicea* L par la méthode d'hydrodistillation a présenté un rendement intéressant de 1,42%.

Des études antérieures ont prouvé que l'huile de notre espèce sur l'activité antimicrobienne par chromatogramme, a montré un grand effet inhibiteur des HE de *J. phoenicea* sur les deux souches, à savoir, *Bacillus cereus* ATCC 10876 et *Candida albicans* ATCC 10231. La méthode de macrodilution en milieu liquide des HE de *J. phoenicea* a permis d'obtenir les CMI, CMB et CMF à des valeurs allant de 0.312 à 2.5 μ l/ml, 0.625 à 2.5 μ l/ml et à 10 μ l/ml respectivement, tandis que le rapport CMB/CMI ou CMF/CMI des HE de *J. phoenicea* est égale 2 et 4 respectivement, de là nous concluons que l'activité antimicrobienne des HE de *J. phoenicea* était bactéricide contre *B. cereus* ATCC 10876 et fongicide contre *C. albicans* ATCC 10231.

Des études antérieures ont prouvé que l'huile de notre espèce sur la toxicité aiguë a indiqué que les HE de *J. phoenicea* (feuille et fruits) testées étaient sans danger pour les souris *Swiss albinos*.

Mots clés : Huiles essentielles, *Juniperus phoenicea* L, Biomolécule, toxicité aiguë, l'activité antimicrobienne

Résumé

Abstract:

The literature search noted that: the Phenician juniper (*Juniperus phoenicea* L) is a species belonging to the order Pinales, the family Cupressaceae and a genus of *Juniperus* whose repair range is circummediatric. Phytochemical studies have shown that it contains biomolecules especially on resin, fatty acids, tannins, flavonoids, alkaloids, sterols also triterpenes and carbohydrates, these components have made our enlargement used in traditional medicine whose leaves and twigs can be used against diseases such as diabetes, diarrhea, rheumatism, eczema and asthma... or the fruits against abscesses and ulceration of the skin... The essential oils of these essences' forests are enlarged dominated by α -pinene and can constitute an important source by constituting themselves well sought after in the international market.

As part of the valuation of medicinal and aromatic plants in Algeria, we have conducted this important study on the valuation of an Algerian plant: the juniper of Phenicia, the latter comes from eastern Algeria (Gouraya National Park), at the level of the wilaya of Bejaia. Extraction of essential oils from the fruits of *Juniperus phoenicea* L by the hydrodistillation method showed a yield of 1.42%.

Previous studies have proved that the oil of our species on the antimicrobial activity by aromatogram, showed a great inhibitory effect of EO of *J. phoenicea* on the two strains, namely, *Bacillus cereus* ATCC 10876 and *Candida albicans* ATCC 10231. The method of macrodilution in liquid medium of the EOs of *J. phoenicea* made it possible to obtain the MIC, CMB and CMF at values ranging from 0.312 to 2.5 $\mu\text{l} / \text{ml}$, 0.625 to 2.5 $\mu\text{l} / \text{ml}$ and to 10 $\mu\text{l} / \text{ml}$ respectively, while the CMB / MIC or CMF / MIC ratio of *J. phoenicea* EOs equals 2 and 4 respectively, hence we conclude that the antimicrobial activity of *J. phoenicea* EOs was bactericidal against *B.cereus* ATTC 10876 and fungicidal against *C. albicans* ATCC 10231

Previous studies have shown that the oil from our species on acute toxicity indicated that the *E. phoenicea* (leaf and fruit) EOs tested were safe for Swiss albino mice.

Keywords: Essential oils, *Juniperus phoenicea* L, Biomolecule, acute toxicity, antimicrobial activity

Résumé

التلخيص:

اظهر بحثنا البيبليوغرافي أن العرعر الفينيقي (*Juniperus phoenicea* L) نوع ينتمي إلى رتبة Pinales عائلة Cupressaceae وإلى جنس العرعر. بحيث كشفت الدراسات الكيميائية النباتية أنها تحتوي على جزيئات حيوية بما في ذلك الراتينج والأحماض الدهنية والفلافونويد والقلويدات والستيروول أيضاً ترايثيرين والكربوهيدرات، وهذه المكونات تستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي التي نستخدم فيها الأوراق والأغصان ضد أمراض السكر والإسهال والروماتيزم والأكزيما والربو... أو الثمار ضد الخراجات وتقرح الجلد... تهيمن α -pinene للزيوت الأساسية الخاصة بهذه إلى حد كبير بحيث يمكن أن تشكل ثروة مهمة ومكوناتها مطلوبة جداً في السوق الدولية.

في إطار تثمين النباتات الطبية والعطرية في الجزائر، أجرينا هذه الدراسة حول تعزيز نبات جزائري: العرعر الفينيقي، تم جلب هذا الأخير من الشرق الجزائري (الحديقة العامة لقراية)، على مستوى ولاية بجاية، اظهر استخراج الزيوت الأساسية من ثمار العرعر الفينيقي بطريقة التقطير المائي عائداً مثيراً للاهتمام بنسبة 1,42%

أثبتت الدراسات السابقة أن الزيت الأساسي لنوعنا على النشاط المضاد للميكروبات عن طريق الاروماتوغرام، أظهر تأثيراً مثبتاً كبيراً على السلالتين، وهما *Candida albicans* ATCC 10231 و *Bacillus cereus* ATCC 10876 أتاحت طريقة التخفيف الكلي في الوسط السائل لزيت الأساسي *J. phoenicea* الحصول على CMF و CMB و MIC بقيم تتراوح من 0.312 إلى 2.5 ميكرو لتر / مل، 0.625 إلى 2.5 ميكرو لتر / مل و 10 ميكرو لتر / مل على التوالي في حين أن نسبة CMF / MIC أو CMB / MIC لزيت الأساسي، تساوي 2 و 4 على التوالي، ومن هنا نستنتج أن النشاط المضاد للميكروبات لزيت الأساسي *J. phoenicea* كان مبيد للجراثيم ضد *B.cereus* ATCC 1087 و مبيد للفطريات ض كان مبيد للجراثيم ضد *C. albicans* ATCC 10231 إضافة إلى أن الزيت الأساسي ل *J. Phoenicea* الخاصة بالأوراق والفاكهة تم اختبار سميته الحادة بحيث كانت النتيجة آمنة للفئران البيضاء السويسرية.

الكلمات المفتاحية: *Juniperus Phoenicea. L*, النشاط المضاد للميكروبات, سمية حادة, جزيئات حيوية, الزيوت الأساسية

Liste des figures

Liste des figures :

Figure 01 : Aspect du genévrier de Phénicie.

Figure 02 : Feuilles en écailles de *J. Phoenicea* (loupe x20).

Figure03 : Feuilles et fruits de *J. Phoenicea*.

Figure 04 : Fleurs et feuilles de *J. Phoenicea*.

Figure 05 : Aire de répartition des genévriers *phoenicea* en région méditerranéenne.

Figure 06 : Montage d'extraction par entraînement à la vapeur.

Figure 07 : Montage d'hydrodistillation.

Figure 08 : Dispositif de l'extraction assistée par micro-ondes.

Figure 09 : Extraction par expression à froid.

Figure 10 : Analyse par méthode de Finney, DL50= 21, 35g /kg.

Figure 11 : Taux de mortalité des souris en fonction du logarithme de la dose injecté par la méthode de Miller et Tainter.

Figure 12 : Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri.

Figure 13 : Diffusion sur milieu gélosé par la méthode des puits ou cylindre.

Figure14: Dilution en milieu liquide de Mueller-Hinton (Concentration minimale inhibitrice)

Figure 15 : Dilution en milieu gélose de Mueller-Hinton (Concentration minimale inhibitrice).

Figure 16 : Illustration de la méthode des micros atmosphères.

Figure 17 : Situation géographique de la zone d'étude : Parc National de Gouraya.

Figure 18 : Schéma de la partie expérimentale.

Figure 19 : Les fruits immatures de genévrier de Phénicie.

Figure 20 : Les coupes transversales des fruits immatures de *Juniperus Phoenicea*.

Figure 21 : Les fruits séchage de genévrier de Phénicie.

Figure 22:Les fruits broyés de genévriers de Phénicie.

Figure 23 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation.

Figure 24: Montage d'extraction de l'huile essentielle genévrier de Phénicie par hydrodistillation (dispositif Clevenger).

Figure 25 : Coupe transversale du fruit de genévrier Phénicie montrant la présence d'un canal sécréteur (Grx : 100)

Figure 26: L'huile essentielle des fruits de genévrier de Phénicie.

Figure 27 : Histogramme des pourcentages de rendement d'HE de genévrier de Phénicie.

Liste des tableaux

Liste des tableaux :

Tableau01 : Composants majoritaires de *Juniperus phoenicea* dans différents pays.

Tableau 02 : Principaux microorganismes et leur pouvoir pathogène.

Tableau 03 : activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* L.par essai de diffusion sur disque (diamètres des zones d'inhibition en mm

Tableau 04 : les valeurs des paramètres antimicrobiens ($\mu\text{l/ml}$) des HE de *Juniperus phoenicea* L

Tableau 05: Rendement d'extraction d'huile essentielle des fruits.

Liste des abréviations

Liste des abréviations :

AFNOR : Association Française de Normalisation

OECD : l'Organisation de la Coopération Economique et Développement

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

J P : Juniperus phoenicea L

HE : Huile essentielle

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMF : Concentration Minimale Fongicide

DL50 : Dose Létale 50

DL100 : Dose Létale 100

DME : La dose maximale sans effet toxique

CSST : Commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec

PNG : Parc National de Gouraya

CG : Chromatogramme en phase gazeux

FID : Détecteur par ionisation de flamme

SM : Spectromètre de masse

Grx : Grossissement

VPM : Valorisation des plantes médicinales

SNV : Science naturelle et de la vie

% : Pourcentage

PH : Potentiel Hydrogène

Sommaire

Dédicaces

Remerciement

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction1

Première Partie : synthèse bibliographique

Chapitre I : La plante médicinale

I.1. Définition des plantes médicinales :.....	3
I.2. Généralité sur la famille des Cupressacées :	3
I.3. Présentation de l'espèce étudiée : Le genévrier de Phénicie (Juniperus phoenicea L.)	3
I.3.1. Classification Phénologique :.....	3
I.3.2. Description botanique :.....	4
I.3.3. Distribution géographique :	6
I.3.4. Exigences édaphiques :.....	7
I.3.5. Exigences climatiques :	7
I.3.6. Composition chimique :.....	8
I.3.7. Toxicité de la plante :	8
I.3.8. Utilisation en médecine traditionnelle :.....	8
I.3.9. L'importance économique et écologique de l'espèce :	8

Chapitre II : Les huiles essentielles

II.1. Définition	10
II. 2. Répartition et localisation des huiles essentielles :.....	10
II.3. Caractéristiques physiques des huiles essentielles :.....	10
II.4. Les techniques d'extraction des huiles essentielles :.....	10
II.4.1. Entraînement à la vapeur d'eau 'ex-situ' ou vapo-hydro distillation:.....	10
II.4.2. Entraînement à la vapeur d'eau 'in-situ' ou hydrodistillation :.....	11
II.4.3. Extraction assistée par micro-ondes :.....	12

Sommaire

II.4.4. Expression à froid :.....	12
II.5. Rappel bibliographique sur l'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i> :.....	13
II.5.1. La composition chimique et le rendement :.....	13
II.5.2.L'action et l'utilisation :.....	14

Chapitre III : Evaluation de la toxicité aigüe et l'activité antimicrobienne.

III.1. La toxicité aiguë :.....	15
III.1.1. Définition :.....	15
III.1.2. L'étude de la toxicité aiguë :.....	15
III.1.3. La détermination de la dose létale DL100, DL50 :.....	15
III.1.4. Différentes méthodes de détermination de la DL50 :.....	16
III.1.4.1. Méthode de Dragstedt et Lang :.....	16
III.1.4.2. Méthode de Karber et Behrens :.....	17
III.1.4.3. Méthode de Miller et Tainter :.....	17
III.1.4.4. Méthode de Litchfield et Wilcoxon : (Dupont, 1970) :.....	18
III.1.5. Evaluation de la toxicité aigüe de <i>Juniperus phoenicea</i> L:.....	18
III.2. Activité antimicrobienne :.....	19
III.2.1. Les antibiotiques :.....	19
III.2.2. Principaux microorganismes et leur pouvoir pathogène :.....	19
III.2.3. Techniques d'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielle :.....	21
III.2.3.1. L'aromatogramme :.....	21
III.2.3.2. Méthode du puits ou cylindre :.....	21
III.2.3.3. Méthode de dilution :.....	22
III.2.3.4. Méthode de microatmosphère (en phase gazeuse) :.....	23
III.2.4.L'activité antimicrobienne de <i>Juniperus phoenicea</i> :.....	23
III.2.4.1.L'activité antibactérienne et antifongique :.....	23

Deuxième partie : étude expérimentale

Chapitre IV : Matériels et Méthodes

IV. Matériels :.....	27
IV.1. Matériel biologique :.....	27
IV.1.1. Matériel végétal :.....	27
IV.1.1.1. La zone d'étude :.....	27
IV.1.1.2. Caractéristiques pédoclimatiques de la zone d'étude :.....	27

Sommaire

IV.2. Matériels non biologiques :.....	28
IV. Méthodes d'étude :.....	28
IV.1.L'étude anatomique :.....	29
IV.1.1 Préparation des coupes anatomique :.....	29
IV.1 .2.La double coloration :.....	30
IV.1.3. Montage des coupes et l'observation des coupes :.....	31
IV.2. L'extraction d'huiles essentielles :.....	31
IV.2.1.Le séchage :.....	31
IV.2.2. Le broyage :.....	31
IV.2. 3. Méthode d'extraction des huiles essentielles :.....	32
IV.2.4. Calcul du rendement :.....	33

Chapitre V : Résultats et discussions

V. Résultats et discussions :.....	34
V.1. Etude anatomique :.....	34
V.1.1. Localisation des sites producteurs des huiles essentielles :.....	34
V.2.Extraction de l'huile essentielle :.....	35
V.2.1. Les caractéristiques organoleptiques :.....	35
V.2.2. Rendement en huile essentielle :.....	35
Conclusion	37
Référence bibliographique	38

Introduction

Introduction générale

Depuis la période préhistorique, les plantes ont été à la base de plusieurs thérapies. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie (**Mostafa, 2010**).

La flore Algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15 % endémiques, reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique.

La valorisation des plantes médicinales de la flore nationale sera d'un grand apport pour l'industrie pharmaceutique algérienne et aura un impact économique certain (**Touafek, 2010**). Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. L'aromathérapie, l'art de soigner par les huiles essentielles, est devenue une science méthodique depuis qu'elle repose sur une classification de ces huiles selon leur capacité à lutter contre les bactéries (**Collectif, 2001**). Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (**Collectif, 2001**). Une grande partie des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antimicrobiennes comme les vitamines, les caroténoïdes et les poly phénols (**Athamena, 2009**).

Il faut faire attention parfois une accidentelle d'huile essentielle peut générer une toxicité élevée voire un coma puis la mort (**Hilan et al., 2009**).

Dans ce contexte s'inscrit ce présent travail de recherche dont l'objectif essentiel consiste à évaluer les activités biologiques d'huile essentielle de genévrier de Phénicie partiellement la partie aérienne (les fruits).

Notre travail est structuré en deux parties. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur trois chapitres. Le premier chapitre aborde des généralités sur la plante médicinale et l'espèce végétale étudiée, le deuxième est consacré aux huiles essentielles tandis que le troisième chapitre, s'intéresse aux activités biologiques des huiles essentielles particulièrement, la toxicité aigüe et l'activité antimicrobienne.

Concernant la partie expérimentale on n'a pas pu développer vu les conditions défavorables à cause de la pandémie (Covid 19). Donc on a travaillé seulement sur l'extraction de notre huile

Introduction

essentielle ; elle subdivisée en deux chapitres, le premier (quatrième chapitre) présente le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail, à savoir :

- Extraction des huiles essentielles du genévrier par hydro distillation.
- L'anatomie des fruits de genévrier.

Le second (cinquième chapitre) est réservé à la présentation et à la discussion de l'ensemble des résultats obtenus. Enfin ; le manuscrit est achevé par une conclusion générale qui résumera l'ensemble de ces résultats.

An orange scroll graphic with rounded corners and a vertical strip on the left side, resembling a rolled-up document. The text is centered on the scroll.

***Première Partie : synthèse
bibliographique***

Chapitre I :

La plante médicinale

Chapitre I : la plante médicinale

I.1. Définition des plantes médicinales :

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (médicaments). (**Bendif, 2017**).

I.2. Généralité sur la famille des Cupressacées :

La famille des Cupressaceae est une famille de plantes Gymnospermes qui renferment les plantes ligneuses, tels que les arbres et les arbustes. Ce terme Gymnosperme provient du grec (gymnospermes) signifiant (semence nue) (**Aliouat et Boudaoud, 2018**). Les Cupressacées remplissent plusieurs rôles dans la nature, entre autres : écologiques (essence de protection et ornementale), économiques (production de bois, résines et huiles essentielles) (**Bouyahyaoui, 2017**). Les Cupressacées sont les plus répandus de toutes les familles de conifères, pouvant se trouver dans divers habitats et ce, sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique (**Sofiev et Bergmann, 2012**). Tous les genres autres que *Juniperus* montrent des distributions fortement relictuelles. La majeure partie de la diversité générique est dans l'hémisphère sud, mais le plus grand genre, *Juniperus*, est principalement nord-tempéré (**van Royen, 1979 ; Silba, 1986**).

I.3. Présentation de l'espèce étudiée : Le genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea* L.)

I.3.1. Classification Phénologique :

Juniperus phoenicea appartient à la famille des Cupressacées, tribu des Junipérées et du genre *Juniperus* (**Teibi, 1992**). Deux variétés sont connues pour cette espèce : *J. phoenicea* var. *phoenicea* (les graines des cônes sont globuleuses) et *J. phoenicea* var. *turbinata* (les graines des cônes sont turbines) (**Achak, 2006**).

La classification du genévrier de Phénicie est la suivante :

- Règne : Plantae
- Division : Pinophyta
- Classe : Pinopsida
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous- Embranchement : Gymnospermes
- Ordre : Pinales
- Famille : Cupressaceae
- Genre : *Juniperus*
- Espèce : *Juniperus phoenicea* (**Teibi, 1992 ; Adams, 2004**)

Chapitre I : la plante médicinale

Autres noms : Genévrier rouge, Genévrier de Lycie, Araâr (en Arabe), Cade endormi. Les provençaux l'appellent « morven » ou genévrier à fruits rouges. L'étiquette phoenicea vient du latin phoenicea qui signifie rouge éclatant ou rouge pourpre qui décrit la couleur des baies (Rameau et al., 2008).

I.3.2. Description botanique :

- **Allure générale :**

Juniperus phoenicea est arbuste dressé de 1 à 8 mètres, pouvant cependant atteindre 10 mètres de hauteur, monoïque, assez rarement dioïque à feuillage persistant et aromatique (Benabid, 2000 ; Huguet, 2008 ; Rameau et al., 2008). Il est de forme pyramidale et d'un port buissonnant arrondi (figure 01), possédant un tronc ordinairement grêle et court, atteignant 2 mètres de circonférence mais aussi, un système racinaire profond, une écorce d'un brun rougeâtre ou grisâtre épaisse et gerçure, des rameaux fins et arrondis portant des bourgeons nus et des ramilles cylindriques (Le Floch, 1983 ; Ait Youssef, 2006 ; Rameau et al., 2008).



Figure 01 : Aspect du genévrier de Phénicie (Achak, 2006).

- **Les feuilles :**

Les feuilles sont toutes ou presque squamiformes (de 0.7 à 1 mm), ovales ou rhomboïdales, obtuses, convexes, sillonnées sur le dos, glanduleuses et de couleur vert foncé (figure 02) (Varlet, 1992 ; JaumeSaint-Hilaire, 2010 ; Chazel, 2012). Elles sont non articulées, groupées par trois et étroitement imbriquées les unes sur les autres sur 4 ou 6 rangées faisant corps avec le rameau (Varlet, 2008).

Chapitre I : la plante médicinale



Figure 02 : Feuilles en écailles de *J. Phoenicea* (loupe x20) (Bouyahyaoui, 2017).

- **Les fruits :**

Les fruits, improprement qualifiés de baies, sont d'abord de couleur verte virant au brun rouge luisant à maturité (au bout de 2 ans), de forme globuleuse et charnue, d'un diamètre de 7 à 10 mm, à surface irrégulière (figure 03) (Brochant de Villers et al., 2008 ; Huguette, 2008 ; Varlet, 2008). Leur chair est ferme, sèche, fibreuse, jaune teinté de vert puis de brun, à odeur forte et contenant de 4 à 9 graines ovales, aux extrémités aigues avec une enveloppe dure. La période de fructaison a lieu de septembre à décembre (Seigue, 1985 ; Varlet, 2008).



Figure 03 : Feuilles et fruits de *J. phoenicea* (Nedjimi et al., 2015).

- **Les fleurs :**

Les fleurs mâles et les fleurs femelles sont souvent réunies sur les mêmes pieds (rarement sur des individus différents) (figure 04). Les premières forment de très nombreux petits chatons ovales ou arrondis, munis d'écailles pédicellées, portés sur de courts pédoncules feuillés et disposés latéralement le long des rameaux. Les fleurs femelles sont beaucoup moins nombreuses, leurs écailles sont épaisses, aigues et disposées sur 4 rangs (Brochant de Villers

Chapitre I : la plante médicinale

et al., 2008). La floraison s'étend de février à avril et finit par produire de fausses baies sphériques rouge sombre à maturité (Chazel, 2012).



Figure 04 : Fleurs et feuilles de *J. Phoenicea* (Bouilet, 2007).

I.3.3. Distribution géographique :

- **Dans le monde :**

Le genévrier de Phénicie est une espèce dont l'aire de répartition est circumméditerranéenne, il se trouve aussi bien dans certaines régions du littoral que sur les basses montagnes dont l'altitude ne dépasse pas 2000 m (Ait Youssef, 2006 ; Gandini, 2006). Au niveau mondial, il se produit en Europe méridionale (sud de la France, l'est du Portugal, Espagne), en Asie tempérée et subtropicale (Turquie, Chypre, l'ouest de l'Arabie Saoudite, Israël, Jordanie), dans l'océan atlantique (îles Canaries) et en Afrique du nord (Algérie, Maroc, Tunisie, Lybie et Egypte) (figure 05) (Seigue, 1985 ; Dakki, 2003 ; Mazur et al., 2003 ; Achak et al., 2009).

- **En Algérie :**

Le genévrier rouge occupe une superficie estimée à 227.000 ha, soit 10% de la surface forestière algérienne (Louni, 1994). Il est commun sur l'ensemble du littoral, sur les hauts plateaux et l'Atlas saharien de l'oranais, de l'algérois et du constantinois .Il est assez rare ailleurs, on le trouve surtout sur les dunes littorales, dans les collines, sur les côtes de Barbarie et il constitue au côté du cèdre, la principale couverture végétale dans les montagnes des Aurès, notamment dans le sud de ce massif (régions de Maafa, BéniFodhala) où il occupe une superficie de 1950 ha (Abdessamed, 1981 ; Dakki, 2003, Ait Youssef,2006).

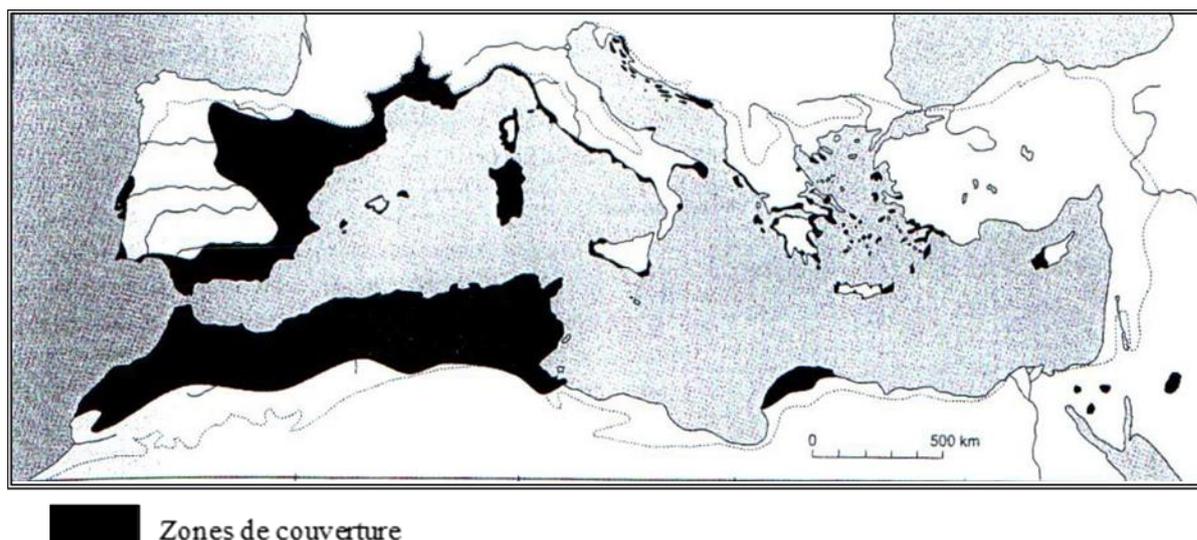


Figure 05 : Aire de répartition des genévriers phoenicea en région méditerranéenne
(Quezel et Médial, 2003).

I.3.4. Exigences édaphiques :

C'est une espèce indifférente au sol, supporte l'argile, les sables, les sols calcaires, ou dolomitiques, les marnes, les sols volcaniques et même les sols légèrement salés (**Seingue, 1985**). Il paraît se plaire principalement dans les sols meubles et siliceux, et il convient très bien pour la fixation des dunes. Il doit être considéré comme une essence de protection (**Ageste, 1960**). Cette espèce présente sur le sol calcaire, dans des stations très sèches et en plein soleil où les sols sont très rocheux et à PH élevé ; capable de se développer dans les fissures des rochers (**Berger, 2008**). Pente rocailleuse des coteaux arides, éboulis fixés à gros blocs, rochers et falaises, il est réduit (5% à 30%) pour les formations dolomiticoles des Cévennes, forte à très forte dans les éboulis et falaises calcaires.

I.3.5. Exigences climatiques :

Selon (**Rameau et al., 2008**), le *Juniperus phoenicea* s'adaptant à des contextes climatiques méridionaux variés ; héliophile, se rencontre en station sèche à l'étage thermo méditerranéen à l'étage montagnard ; xérophile. C'est elle qui résiste mieux à l'aridité au froid. Il a un tempérament robuste lui permettant de végéter dans des conditions très sévères et de supporter de graves mutilations. Il résiste moins bien aux incendies et caractérisé par sa résistance au vent (**Boudy, 1950**). Les précipitations ont un rôle très important en régions méditerranéennes, leur régularité et leur répartition sont très souvent mauvaises. *Juniperus phoenicea* croit dans l'étage bioclimatique semi -aride avec une pluviométrie moyenne annuelle de 250 mm (**Boudy, 1950**).

Chapitre I : la plante médicinale

I.3.6. Composition chimique :

Des études phytochimiques ont montré que l'espèce contient également de la résine, des acides gras, des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des stérols, triterpènes et des glucides (Abdeli, 2018).

I.3.7. Toxicité de la plante :

La revue internationale de toxicologie (2001) a publié sur l'extrait *Juniperus phoenicea*, un des nombreux extraits de genévrier utilisés comme additifs biologiques dans les produits cosmétiques (Duke, 2008). Le sabinol présent dans la plante est un irritant puissant et cause des troubles digestifs, neurologiques, cardio-respiratoires et hépatorénaux (Molino, 2005; Botineau, 2015).

I.3.8. Utilisation en médecine traditionnelle :

Cette espèce est l'une des plus importantes plantes médicinales du fait qu'elle soit largement employée en médecine traditionnelle. Les branches feuillées sont exploitées pour la production du goudron végétal pour traiter certains cas d'eczéma et en inhalation contre l'asthme, bronchite, maux de tête, étourdissements et pour contrôler l'arthrite (Abdeli, 2018). Les feuilles sont utilisées sous forme de décoction contre le diabète, la diarrhée et le rhumatisme, alors que les fruits séchés et réduits en poudre peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès (Mansouri et al., 2010). De plus, elle possède des propriétés diurétiques mises à profit pour combattre toute sorte de maladies du système urinaire (infections et inflammations, calculs, goutte, etc.) (Bouyahyaoui, 2017).

I.3.9. L'importance économique et écologique de l'espèce :

D'après (Boudy, 1950), les peuplements de genévrier de Phénicie ont jusqu'ici été un peu abandonnés à eux-mêmes, mais il faut cependant les soumettre à un traitement permettant d'assurer la permanence de la forêt dans des conditions humaines et physiques difficiles et n'en tirer que le minimum de produits nécessaires aux populations locales. 72 La composition de l'huile essentielle obtenue par la distillation à partir de rameaux.

Le bois de genévrier clair pour le houpier, jaune sombre pour le cœur, est imputrescible. Il a de grandes qualités pour la construction et l'ébénisterie. Comme bois de feu, il est excellent. Seules ses faibles dimensions limitant son emploi. (Seigue, 1985).

Les formations à *Juniperus phoenicea* s'intercalent entre les formations steppiques de basses altitudes et les formations forestières et pré forestières à chêne vert. Cette position confère au *Juniperus phoenicea* un rôle écologique considérable du fait qu'il se comporte comme un élément de forte résistance à la désertification et à la pression de l'homme et de ses troupeaux.

Chapitre I : la plante médicinale

De nos jours, en montagne et sur les dunes, il doit être considéré comme une essence de protection. (Taleb ,2007).

Chapitre II :

Les huiles essentielles

Chapitre II : les huiles essentielles

II.1. Définition :

Ce sont des substances huileuses, volatiles, d'odeur et de saveur généralement fortes, extraites à partir des différentes parties de certaines plantes aromatiques, par les méthodes de distillation, par enfleurage, par expression, par solvant ou par d'autres méthodes (**Belaiche, 1979 ; Valnet, 1984 ; Wichtel et Anthon, 1999**).

Pour Bruneton (1999), les huiles essentielles (= essences =huiles volatiles) sont « des produits de compositions généralement assez complexes renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation ».

La norme française AFNOR NF T75-006 définit l'huile essentielle comme : « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe, et qui sont séparés de la phase aqueuse par procédés physiques » (**Garnero, 1996**).

II. 2. Répartition et localisation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles peuvent être présentes dans différents organes végétaux : feuilles, fleurs, écorces, bois, racines des rhizomes, fruits et graines (**Bruneton, 1999**).

II.3. Caractéristiques physiques des huiles essentielles :

Les HE possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques (**Bardeau, 1976 ; Legrand, 1978 ; Lemberg, 1982 ; Bruneton, 1999**) :

- Elles sont solubles dans : l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques.
- La densité est généralement inférieure à celle de l'eau.
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont très altérables et sensibles à l'oxydation.
- Elles sont liquides à température ambiante.
- Elles sont incolores ou de couleur jaune pale.
- Elles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes (**Roux et Catier, 2007**).

II.4. Les techniques d'extraction des huiles essentielles :

Il existe plusieurs méthodes traditionnelles et modernes pour extraire les composants volatils à partir des plantes. Certaines techniques extraient des huiles essentielles, alors que d'autres produisent différents extraits plutôt que des huiles essentielles (**Buckle, 1997**).

II.4.1. Entraînement à la vapeur d'eau 'ex-situ' ou vapo-hydro distillation :

Dans la distillation à la vapeur d'eau, la vapeur est soufflée dans le mélange d'eau et le matériel végétal. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées.

Chapitre II : les huiles essentielles

L'injection de la vapeur se fait à la base de l'alambic (figure 06).

Cette méthode d'extraction minimise les altérations hydrolytiques de l'essence. Néanmoins, les molécules aromatiques extraites peuvent subir des modifications sous l'effet de l'oxygène (oxydation, hydrolyse, restructuration) (Duval, 2012).

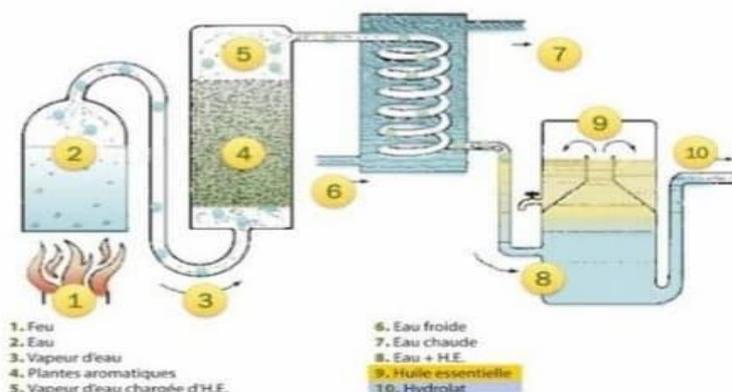


Figure 06 : Montage d'extraction par entraînement à la vapeur (Duval, 2012).

II.4.2. Entraînement à la vapeur d'eau 'in-situ' ou hydrodistillation :

Le matériel végétal est en contact direct avec l'eau bouillante (figure 07). Cependant, une telle méthode de chauffage direct peut conférer à l'huile essentielle une odeur de brûlée. La plupart des alambics de distillation ont une grille. Cela protège le matériel végétal des éléments de chauffage, et le processus est similaire à celui de la distillation à la vapeur d'eau. Les techniques de distillations ont l'avantage d'être des méthodes économiques, traitant des quantités énormes de matière végétale, ne procurant que de simples appareillages et ne nécessitant que peu de main d'œuvre. Cependant, elles ont l'inconvénient de modifier la Composition native des constituants des huiles essentielles et dépendent beaucoup du couple temps/température (Buckle, 1997).

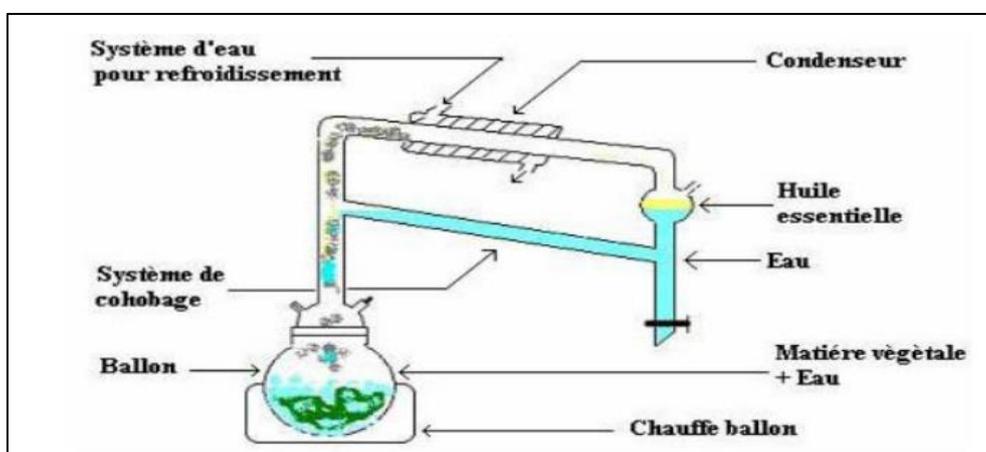


Figure 07 : Montage d'hydrodistillation (Hernandez Ochoa, 2005).

Chapitre II : les huiles essentielles

II.4.3. Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction assistée par micro-ondes consiste à introduire le réacteur contenant le matériel végétal (avec ou sans eau) dans un four à micro-ondes (figure 08).

La technologie de l'utilisation des micro-ondes représente une alternative aux techniques de distillation pour améliorer les rendements, la vitesse de l'extraction et être appliquée à de plus grands volumes (Duval, 2012).

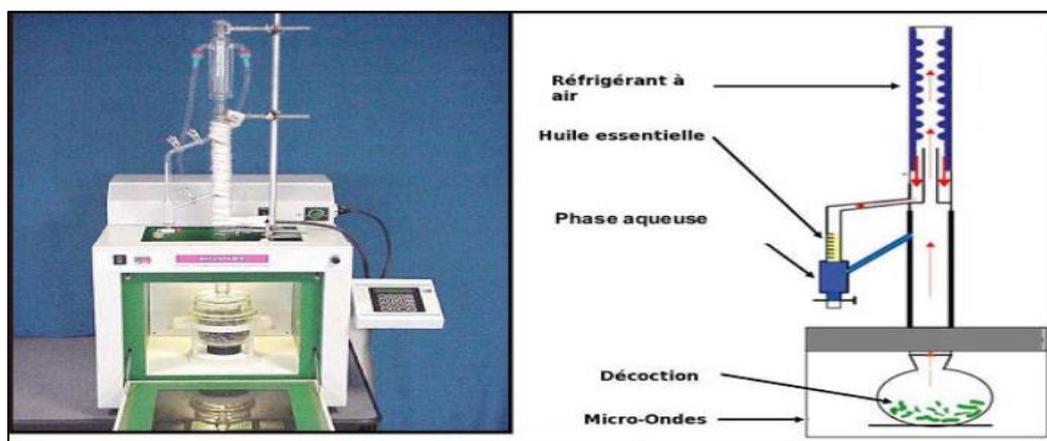


Figure 08 : Dispositif de l'extraction assistée par micro-ondes (Duval, 2012).

II.4.4. Expression à froid :

La technique d'expression à froid est destinée pour le traitement de la peau des plantes d'agrumes (figure 09). La peau du fruit est épluchée ou abrasée par des racleurs mécaniques, et l'essence est recueillie par séparateur centrifuge.

Parfois, le fruit entier est broyé avant que l'huile essentielle ne soit séparée du jus et de l'écorce. Les huiles obtenues contiennent naturellement une proportion de cires et d'autres composants non solubles qui peuvent causer la photo-toxicité (Buckle, 1997).



Figure 09 : Extraction par expression à froid (Bénéteau, 2011).

Chapitre II : les huiles essentielles

II.5. Rappel bibliographique sur l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* :

II.5.1. La composition chimique et le rendement :

Diverses études ont été apportées sur la composition chimique des HE des feuilles et des baies de *Juniperus phoenicea*. Les travaux sont montrés dans le tableau 01

Tableau01 : Composants majoritaires de *Juniperus phoenicea* dans différents pays.

Pays	L'organe utilisé	Rendement	Composants chimique majoritaire	Auteurs
Portugal	Feuille	0,41%	α -pinène (34,1%), β - phellandréne (19,2%), β -caryophyllene (0.22%,)	Robert et al (1996)
Espagne	Feuille	0,66%	α -pinène (53,5%), β -phellandréne (5,9%) β -caryophyllene (1.0%)	
Grèce	Feuille	0,58%	α -pinène (41,8%), β -phellandréne (0.5%) β - caryophyllene (3,5%)	
Egypte (Sinai)	Feuille	0.36%	α -pinène (39.30%), α -Cédrone (31.23%) Sabinéne (24.29%).	El-Sawi et al (2007)
	Fruit	1.96%		
Maroc (Tafersoust)	Feuille	1,62 %	α -pinène (49.15%), α -phelandréne (7.39%) β -pinen (3.58 %)	Derwich et al (2011)
Tunisie (Médenine)	Feuille	0,5 %	α -Pinène (59,1%), Myrcène (1,14 %) Linalool (3,34 %)	Bouzouit a et al (2008)
Algérie (Atlas saharien)	Feuille	0,9%	α -pinène (56 %), α -phellandréne (0,2% ; 1%), β -Pinène (2,0%) β -Phellandréne (1 ,5% ; 0,7%)	Bouyahy-aoui (2017)
	Fruits	2 ,5 %		
Algérie (Tébessa)	Feuille	2,32%	α - pinène (47,71 %), α - thujène (35,35%)	Beddiar (2016)
	Fruits	2,37%		
Algérie (Mostaganem)	Feuille	0,9%	α - pinène (25,1% ; 20,3%), β - Phellandréne (43,9% ; 44,9%) α - phellandréne 2,3% ; 2,5%)	Abdelli et al (2018)
	Fruits	2%		
Algérie (Tlemcen, sidisafi)	Feuille	0,52%	hydrocarburesmonoterpéniques (72,9 %) α -Pinène (34.5 %), β -Phelandréne (22.4 %) α -Terpinyl acétate 14.7%	Mazari et al (2010)

Chapitre II : les huiles essentielles

- **Discussion de tableau :**

Les HE ont été extraits par hydrodistillation et leur composition chimique a été analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CG/FID), et une Chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectroscopie de masse (CG/SM) **(Derwich et al., 2010a)**.

Le *Juniperus phoenicea* a une huile essentielle (0,5-2%. Min 0,75%) dont l'aspect qualitatif et quantitatif dépend de l'origine de la plante et de la maturité des baies qui sont constitués par : Une résine, des oligosaccharides (environ 30%), des tanins catéchiques (3-5%), des biflavonoïdes, des leucanthocyanes, des acides alcooliques et un alcool terpénique (sabinol) **(Molino, 2005)**. IL a permis d'identifier 73 des composés, les composés majoritaires sont l' α -pinène, le Δ^3 - carène, β - phellandrène, le myrcène, linalol-tetrahydroxy-, germacrène-D et β -phellandrenedrene **(Ramdani et al., 2013)**.

II.5.2.L'action et l'utilisation :

L'huile essentielle des baies et de feuilles de *J.Phoenicea* L. présentait certaines fonctions biologiques qui pourraient agir comme antioxydant. **(Abu-darwish et Ofir, 2012)**, antimicrobien **(Angioni et al., 2003)** et agents antifongicides **(Cosentino et al., 2003)**. De plus, la bibliographie mentionne des activités hypoglycémiques, diurétiques et antiseptiques pour les voies urinaires. **(Molino, 2005)**.

Les propriétés insecticides de l'huile de *Juniperus phoenicea* sont testées contre un insecte des denrées stockées *Tribolium confusum*, cette huile a manifesté un effet anti-appétant intéressant. Une étude préliminaire a montré que cette huile présente une toxicité élevée vis-à-vis de cet insecte. **(Bouzouita et al., 2008)**

Chapitre III :

Evaluation de la toxicité

aigüe et l'activité

antimicrobienne.

Dans ce chapitre nous allons présenter la toxicité aiguë et l'activité antimicrobienne qui seront étudiées dans la partie pratique pour l'huile essentielle de notre espèce.

III.1. La toxicité aiguë :

III.1.1. Définition :

Elle représente la nocivité d'un poison, et considérer comme vénéneuse toute substance qui tue violemment, se traduit par la mort rapide de l'individu ou des populations contaminées. Donc celle qui provoque la mort ou de très graves troubles physiologiques après un court délai suivant l'absorption par voie trans-tégumentaire, pulmonaire ou buccale, en une fois ou en plusieurs répétitions d'une dose unique assez importante d'un composé nocif (**Ramade, 1979**).

III.1.2. L'étude de la toxicité aiguë :

L'étude se faire sur les animaux de laboratoire doit porter sur un nombre égal de mâles et de femelles (Pour les rongeurs, chaque groupe doit comprendre au moins cinq animaux par sexe. Pour les autres espèces, chaque groupe doit comprendre au moins deux mâles et deux femelles). La durée de l'observation des animaux est fixée par l'expérimentateur. En général, elle n'est pas inférieure à une semaine. [**Ruckebusch, 1981 ; OMS, 2000**].

C'est l'étude qualitative et quantitative des phénomènes toxiques qu'il est possible de rencontrer après administration de la ou les substances actives. Cette étude décrit les symptômes observés, et aussi les phénomènes locaux. Elle permet :

- L'indication de la dose maximale sans effet toxique (DME), c'est à dire la dose la plus élevée pour laquelle aucun effet toxique n'est relevé par rapport au lot témoin.
- La notation de la dose minimale pour laquelle la mort survient à tous les animaux de l'expérimentation.
- La détermination de la DL50 avec ses limites de confiance 95% (**Ruckebusch, 1981**).

III .1.3. La détermination de la dose létale DL100, DL50 :

A. La dose létale DL100 :

C'est la dose qui entraîne la mort de la population des animaux d'essais. Cette dose est l'indice de létalité qui mène à mentionner le degré de toxicité d'un produit chimique donné [**Bonvalot, 2002**].

B. La dose létale DL50 :

C'est la dose médiane et la valeur statistique de la dose d'une substance chimique qui provoque la mort de 50% des organismes d'une population donnée dans des conditions expérimentales définies [**Laigneau, 2000**].

Cette dose sert souvent de point de départ des études de toxicité, car elle fournit un minimum de connaissances [CSST, 2004].

III.1.4. Différentes méthodes de détermination de la DL50 :

On peut déterminer la DL50 par deux méthodes de calcul, la Méthode de Dragstedt et Lang 1957 et la méthode de Karber et Behrens 1935. Ainsi qu'on peut la déterminer par deux méthodes graphiques qui sont la méthode de Miller et Tainter 1944 et la méthode de Litchfield et Wilcoxon 1949

III.1.4.1. Méthode de Dragstedt et Lang :

Elle permet de calculer le pourcentage de mortalité à chaque dose en utilisant un plus grand nombre d'animaux. La courbe représentant les pourcentages de mortalité en fonction de la dose est une droite, on détermine la DL50 en utilisant la formule suivante :

$$DL50 = 50 \frac{(X_2 - X_1) + X_1 Y_2 - Y_1 X_2}{Y_2 - Y_1}$$

X2 : dose supérieure encadrant la DL50

X1 : dose inférieure encadrant la DL50

Y1 : pourcentage de mortalité correspondant à X1

Y2 : pourcentage de mortalité correspondant à X2

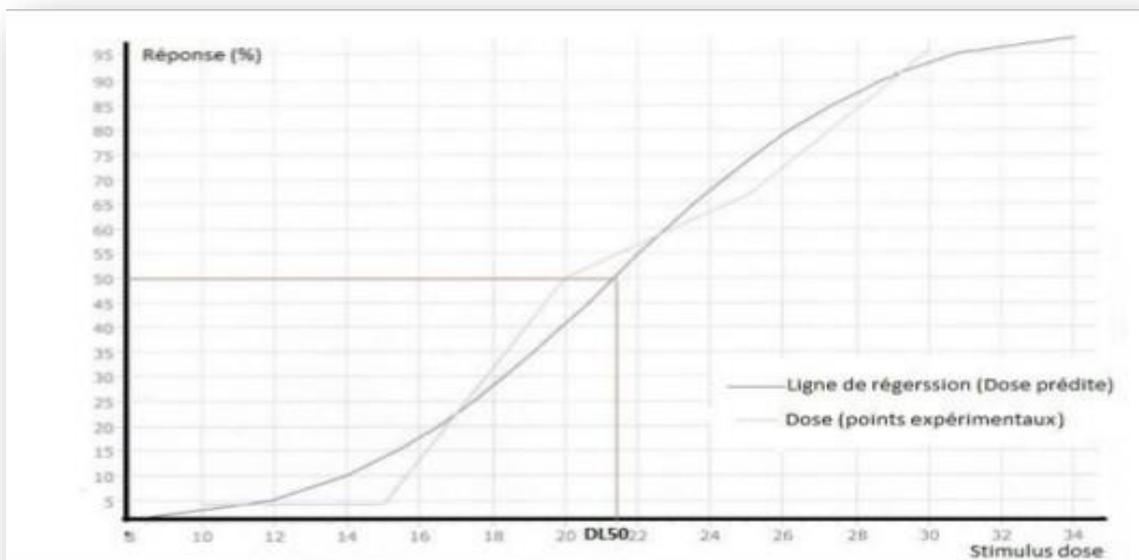


Figure 10 : Analyse par méthode de finney, DL50= 21, 35g /kg (Abdallah et al., 2011)

III.1.4.2. Méthode de Karber et Behrens :

On administre des doses croissantes exprimées en mg / kg ou ml / kg de masse corporelle de substance à des lots de souris de masses uniformes. La différence entre les doses voisines doit être constante. Pour chaque lot, on note le pourcentage de mortalité. La DL50 est déterminée par l'équation : $DL50 = DL100 - (axb)/n$

DL100 : plus petite dose tuant tous les animaux

a = moyenne de la somme des morts à deux doses consécutives,

b = différence entre deux doses successives,

n = nombre d'animaux utilisés par lot.

Le comportement des animaux est suivi, les symptômes observés sont notés, et le nombre de morts est relevé.

III.1.4.3. Méthode de Miller et Tainter :

C'est une méthode simple permettant de déterminer graphiquement et directement la DL50 en traçant sur du papier log-probit le pourcentage de mortalité par rapport au logarithme de la dose. L'écart-type de la DL50 peut être ensuite calculé aisément à partir des paramètres de la droite, ce qui permet de calculer ensuite l'écart à la moyenne de la DL50 et les limites de confiance.

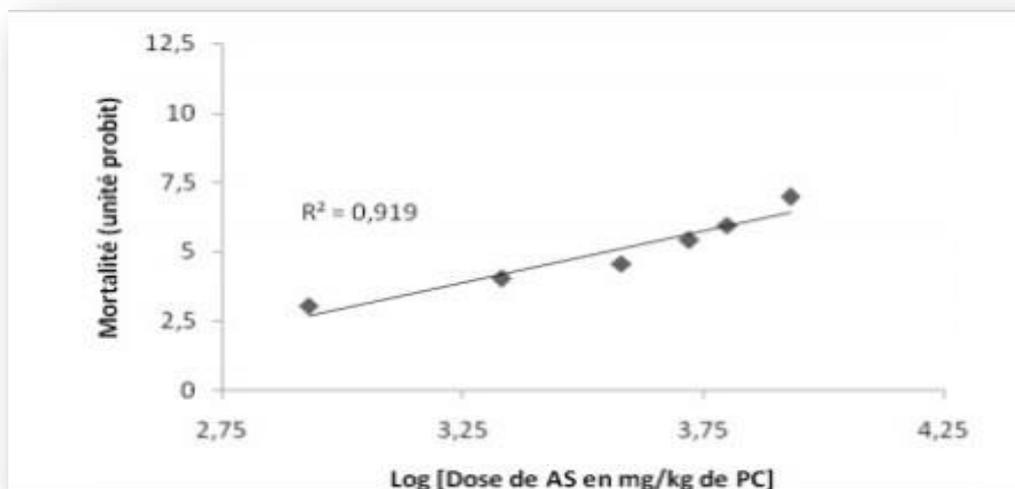


Figure 11: Taux de mortalité des souris en fonction du logarithme de la dose injecté par la méthode de Miller et Tainter (Farida et al., 2015).

III.1.4.4. Méthode de Litchfield et Wilcoxon : (Dupont, 1970)

La méthode de Litchfield et Wilcoxon permet, grâce à l'utilisation d'un test de signification statistique, appelé test X² (ki deux) de Pearson, de tracer la droite dose- mortalité la plus probable et de déterminer d'une façon simple, les deux valeurs : DL50 et l'intervalle de confiance. La détermination de la DL50 consiste à utiliser des lots de 10 animaux de chaque sexe, auxquels on administre par la voie choisie une seule dose de substance à étudier par lot, l'éventail des doses devant couvrir des pourcentages de mortalité de 0 à 100%. Il est hautement souhaitable d'avoir une dose sans mortalité, afin de mieux cerner la dose maximale ne provoquant aucune mortalité, en comparaison avec celle (DL50) obtenue par le tracé de la droite log-probit.

III.1.5. Evaluation de la toxicité aiguë de *Juniperus phoenicea* L

Le test de toxicité aiguë a été effectué conformément à la ligne directrice de(OECD) code 423 (OECD, 2002). Les souris, ont été mises à jeun 16 H avant l'expérimentation avec accès libre à l'eau. L'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* L étudiée a été administrée par voie orale à des groupes de souris (n = 3), à des doses de 50, 300 et 2000 mg/kg, respectivement. Le groupe témoin n'a reçu que le véhicule (10 ml/kg de Tween 80 à 1%). Après traitement, l'observation des animaux a été faite continuellement pendant 2 H avant de leur donner à manger et à boire afin de déceler des changements dans leurs réponses autonomiques ou comportementales en comparaison avec le groupe témoin (mort, agitation, respiration, asthénie). La surveillance pour toute mortalité a été poursuivie pendant 48 H et ensuite pendant 7 jours. Si aucune mort n'a été enregistrée dans les groupes traités, le test est alors répété avec de nouveaux lots d'animaux (n = 3), à des doses d'huile essentielle plus élevées, allant jusqu'à 5000 mg/kg. (Abdelli et al., 2018)

- L'étude de la toxicité aiguë des HE de *Juniperus phoenicea* L chez les souris, à des doses allant de 50 à 5000mg/kg, pas de mortalité ou des changements dans les réponses autonomes ou comportementales ont été remarqués 24 heures après le test et pendant les 7 jours d'observation. (Abdelli et al., 2018)
- Selon à la ligne directrice (OECD, 2002), nous concluons que les trois HE de *Juniperus phoenicea* L (fruits, feuille fraîche, feuille sèche) sont fortement sûr et non toxique pour les souris. (Abdelli et al., 2018)

III.2. Activité antimicrobienne :

Les remèdes à base de plantes constituent une alternative dans les systèmes de soins primaires et donc, une voie prometteuse pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés. Récemment, beaucoup de chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales pour leur richesse en antioxydants naturels à savoir les poly phénols, les flavonoïdes, les tanins, ... etc. qui possèdent des activités antimicrobiennes (**Daglia, 2012**).

III.2.1. Les antibiotiques :

Le terme « antibiotique » a été restreint aux molécules antibactériennes qui agissent soit en bloquant la prolifération des bactéries (molécules bactériostatiques), soit en les détruisant (molécules bactéricides ou bactériolytiques) (**Clos, 2012**).

III. 2 .2. Principaux microorganismes et leur pouvoir pathogène :

Certaines espèces des champignons et des bactéries qui peuplent à notre environnement, sont hautement pathogènes pour l'homme et représentent un véritable danger pour la santé publique. (Tableau 02)

Tableau 02 : Principaux microorganismes et leur pouvoir pathogène

Type de microorganisme	Espèces	Pouvoir pathogène	Références
Bactérie gram négatif	Escherichia coli ATCC 25922	Elle représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires.	Percival (2004).
	Pseudomona aeruginosa ATCC 27853	Est responsable de 16% des cas de pneumonie nosocomiale, des infections urinaires et des infections suites aux blessures chirurgicales).	
	Salmoneltyphimum ATCC 13311	Les salmonelles sont des bactéries pathogènes responsables de gastro-entérites, de toxi-infections alimentaires et de fièvres typhoïdes.	Sandhar et al., (2011).
Bactérie gram positif	Staphylococcus aureus ATCC 25923	S. aureus est la cause de méningite, ostéomyélite, les infections postopératoires de blessures, endocardite aiguë et l'intoxication alimentaire	Dworkin et Falkow (2006)
	Bacillus cereus ATCC 10876	Bacillus cereus cause des intoxications alimentaires chez les sujets fragiles, des septicémies, méningites, infections respiratoires et des myonécroses.	
Champignons levuriformes	Candida albi-cans ATCC 1024	Ils sont responsables de la candidose superficielle, des infections vaginales et des infections fongiques disséminées chez les individus immunodéprimés, les diabétiques, les nouveau-nés et les patients ayant subi une chirurgie.	Sandharet al., (2011).
Moisissures	Aspergillus niger MNHN 566	Production de l'ochratoxine A, présente une toxicité rénale et une immunotoxicité.	Bossche et al., (2003).
	Fusarium oxysporium MNHN96391	Responsables de manifestations allergiques, toxiques et infectieuses locales ou généralisées.	

III.2.3. Techniques d'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles :

Les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne *in vitro* des huiles essentielles sont nombreuses et donnent parfois des résultats différents selon les conditions expérimentales adoptées par chaque manipulateur (Suhr et Nielsen 2003).

III.2. 3.1. L'aromatogramme :

L'aromatogramme est une méthode qui se réalise *in vitro*, basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Le contact se fait par l'intermédiaire du disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée des extraits de plante. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (Fauchère et Avril, 2002). L'aromatogramme se réalise aussi sur un milieu liquide par la méthode des disques (Belaiche, 1979).

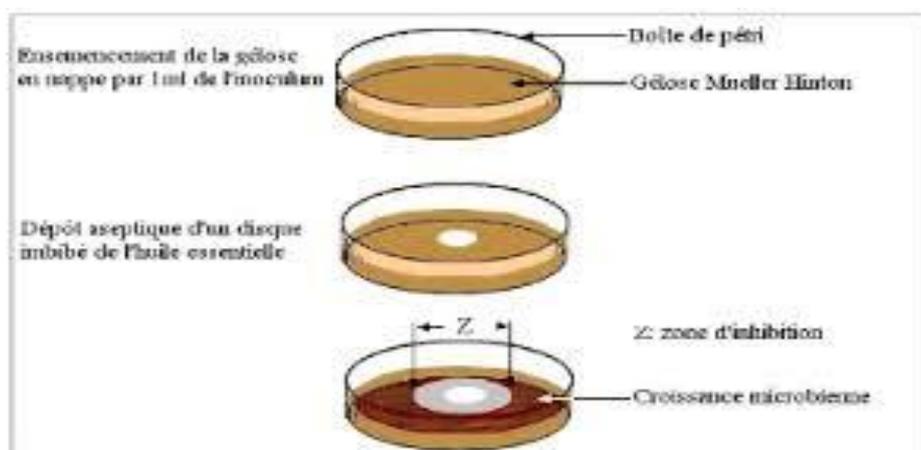


Figure 12 : Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de Pétri (Boukhatem et al., 2014).

III.2.3.2. Méthode du puits ou cylindre :

Proposée par Cooper et Woodman en 1946, reprise par Shroder et Messing (1949), elle mesure une diffusion radiale de l'HE à partir d'un puits donnant une zone d'inhibition claire et facilement mesurable. Elle consiste à découper un tronc circulaire vertical dans la gélose et d'y verser une solution d'HE de concentration connue. L'HE diffusant radialement créant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne ou fongique (figure 13). (Bousbia, 2004)

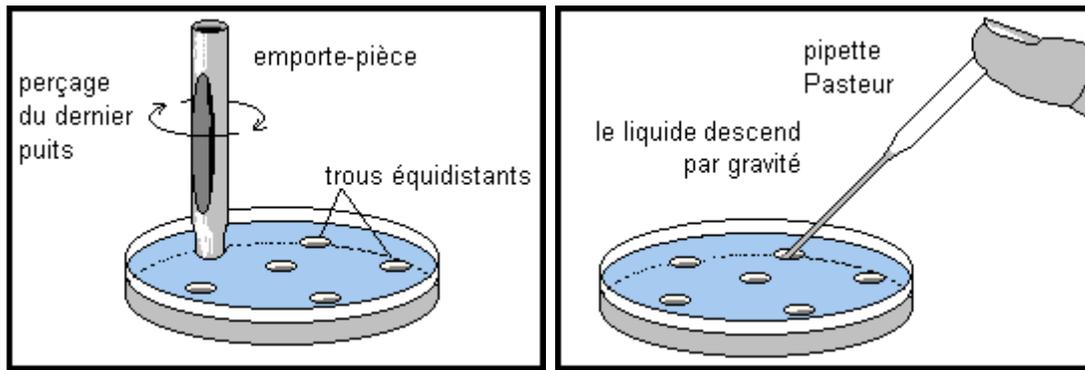


Figure 13 : Diffusion sur milieu gélosé par la méthode des puits ou cylindre (Bousbia, 2004).

III.2.3.3. Méthode de dilution :

Les HE à tester peuvent également être directement mélangées en concentration connue au milieu de culture, qu'il soit solide (figure 15) ou liquide (figure 14) sans oublier que les techniques de dilution s'exigent une dispersion homogène. Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de microorganismes et après incubation on note la présence ou l'absence de culture ; la lecture peut être visuelle ou spectrophotométrique car le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu (Ferhat, 2009)

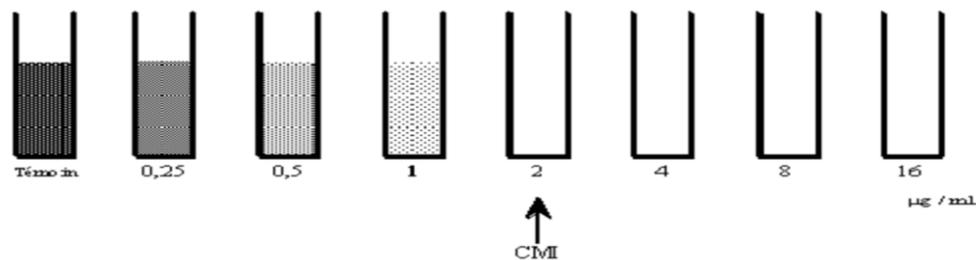


Figure 14 : Dilution en milieu liquide de Mueller-Hinton Concentration minimale inhibitrice (Carryn, 2013)

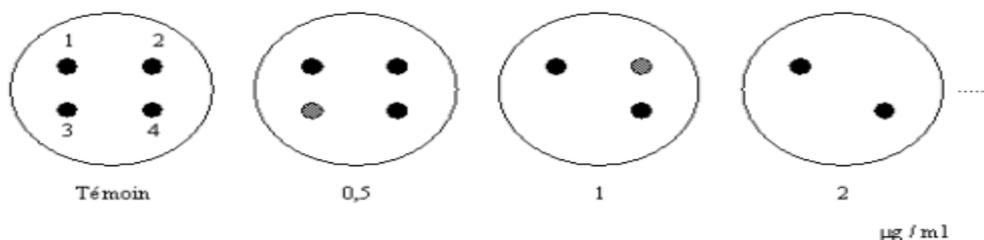


Figure 15: Dilution en milieu gélose de Mueller-Hinton (Concentration minimale inhibitrice) (Carryn, 2013)

II.2.3. 4. Méthode de micro atmosphère (en phase gazeuse)

Dérivée de la méthode précédente le procédé est techniquement proche de celui des aromagrammes. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné. Dans cette technique, le disque est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri (Figure 16), renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé (Pibiri, 2006).

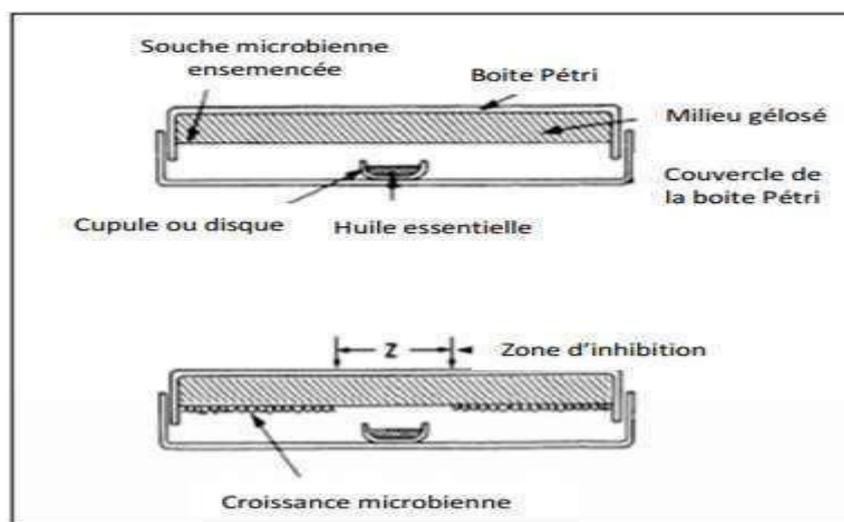


Figure 16 : Illustration de la méthode des micros atmosphères (Boukhatemet al., 2014).

III. 2.4. l'activité antimicrobienne de *Juniperus phoenicea*

Divers études ont été menées sur le pouvoir antimicrobien de *Juniperus phoenicea*.

III.2.4.1. L'activité antibactérienne et antifongique

Des études se sont intéressées aux propriétés antibactérienne et antifongique des baies et des feuilles de genièvre. Celles-ci contiennent des polyphénols, des flavonoïdes (acide gallique, rutine). L'huile essentielle de genévrier apporte aussi d'autres molécules intéressantes : pinène, myrcène, sabinène et limonène. Cette huile essentielle, évaluée in vitro, présente un puissant pouvoir antimicrobien (Mazari et al., 2010).

Les travaux sont montrés dans le tableau 03 :

Tableau 03 : activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* L. par essai de diffusion sur disque (diamètres des zones d'inhibition en mm), (Abdelli et al., 2018)

Région	L'organe utilisé	diamètres des zones d'inhibition en (mm) des huiles essentielles de <i>Juniperus phoenicea</i> L					
		B .cereus	E .coli	P .aeruginosa	P .mirabilis	P .vulgaris	C .albicans
Algérie (Mostaganem)	Feuilles fraîches J.P	34,67 ± 0,58	0	0	0	0	11
	Feuilles séchées J.P	31,67 ± 0,58	0	0	0	0	10,5 ± 0,71
	Fruits J.P	16,67 ± 0,57	0	0	0	6,33 ± 0,58	9,67 ± 0,57

Toutes les valeurs (zone d'inhibition comportant un diamètre de disque de 6 mm) sont exprimées sous forme de moyenne de lectures en triple ± écart type ; ATCC : American type culture collection

• **Discussion de tableau 03 :**

Les HE de *Juniperus phoenicea* L ont montré une croissance modérée à bonne inhibitions contre les souches gram-positives(La plus grande zone d'inhibition a été obtenue contre *B. cereus* par l'huile des feuilles fraîches (34.67 mm),suivi de très près par celle des feuilles sèches (31.67 mm) puis par celle des baies (16.67 mm).) mais aucune activité contre les souches gram-négative.ces derniers étaient généralement moins sensibles aux les HE que les bactéries gram-positives en raison de la structure différences des parois cellulaires (Trombetta et al., 2005). En effet les bactéries gram-négative avoir une membrane externe qui possède hydrophile chaines lipopolysaccharidiques agissant comme une barrière contre les composés tels que ceux trouvés dans les HE (Nikaido, 2003). Cela pourrait expliquer les résultats obtenus dans la présente étude (Abdelli et al., 2018).

Chapitre III : Evaluation de la toxicité aiguë et l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des HE de *Juniperus phoenicea* L pourrait, en partie être attribuée à leur les principaux composants, y compris le β – phellandrène et α –pinène. Celles-ci les derniers ont montré des effets antimicrobiens (Cosentino et al., 1999)

Tableau 04 : les valeurs des paramètres antimicrobiens ($\mu\text{l/ml}$) des HE de *Juniperus phoenicea* L (Abdelli et al., 2018)

huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i> L		Microorganisme							
Région	L'organe utilise	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876				<i>Candida albicans</i> ATCC 10231			
		CMI	CMB	CMB/CMI	Activité	CMI	CMF	CMF/CMI	Activité
Algérie Mostaganem	Feuilles fraîches	1,25	2,5	2	Bactéricide	>10	>10	ND	ND
	Feuilles séchées	0,31	0,62	2	Bactéricide	>10	>10	ND	ND
	Fruits	1,25	2,5	2	Bactéricide	2,5	10	4	Fongicide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMF : Concentration Minimale Fongicide ; ND : Non Déterminer

• **Discussion :**

Les résultats du tableau 04 montrent que les huiles essentielles de *J. phoenicea* ont été beaucoup plus actives contre *B. cereus* que contre *C. albicans*. Le plus grand effet antimicrobien a été exercé par l'huile des feuilles sèches ; les valeurs de CMI et de CMB ayant été les plus faibles (0.312 et 0.625 $\mu\text{l/ml}$, respectivement), tandis que pour les huiles des feuilles fraîches et des baies, la CMI et la CMB ont été obtenues respectivement à 1.25 et 2.5 $\mu\text{l/ml}$. D'autre part, *C. albicans* n'a été sensible qu'envers l'huile essentielle des baies, la CMI et la CMF ont été notées respectivement à 2.5 et 10 $\mu\text{l/ml}$. (Abdelli et al., 2018)

Selon (Marmonie, 1990), un rapport CMB/CMI ou CMF/CMI d'une substance antimicrobienne inférieure ou égale à 4, peut être considérée comme bactéricide ou fongicide, mais si le rapport est supérieur à 4, il est bactériostatique ou fongistatique.

Chapitre III : Evaluation de la toxicité aiguë et l'activité antimicrobienne

Sur la base des résultats du tableau4, nous notons que l'activité était bactéricide contre *B .cereus* ATTC 10876 pour les trios HE et fongicide contre *C. albicans* ATCC 10231 concernant les HE de fruits (**Abdelli et al., 2018**).

An orange scroll graphic with a white background, featuring a vertical strip on the left side and a horizontal strip on the top right side, both with rounded ends. The text is centered on the white background.

*Deuxième partie : étude
expérimentale*

Chapitre IV :

Matériels et Méthodes

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

IV. Matériels :

IV.1. Matériel biologique :

IV.1.1. Matériel végétal :

La récolte a été effectuée sur la partie aérienne (fruits) au mois de décembre 2019, pour l'extraction des essences aromatiques de genévrier de Phénicie (rouge) de la région de Bejaia, au niveau du Parc National de Gouraya (PNG).

IV.1.1.1. La zone d'étude :

La zone d'étude est localisée dans le Parc National de Gouraya. Cette dernière située sur la côte Est de l'Algérie dans la Wilaya de Bejaia à 230 km de la capitale, cette situation met le parc en relation avec d'autres villes : au sud la ville de Sétif (111 km), à l'ouest la ville de Tizi-Ouzou (127 km) et à l'Est la ville de Jijel (96 km).

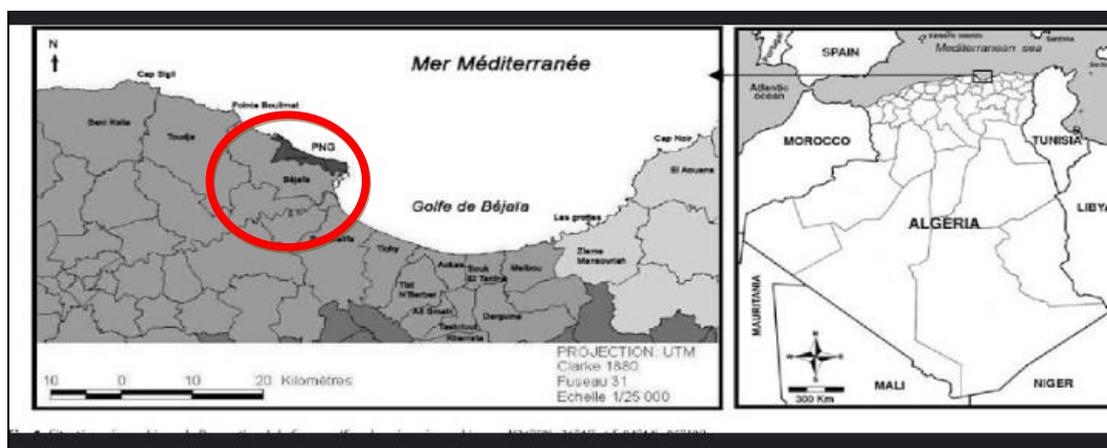


Figure 17 : Situation géographique de la zone d'étude : Parc National de Gouraya (**REBBAS, 2002**).

IV.1.1.2. Caractéristiques pédoclimatiques de La zone d'étude :

Les caractérisations pédoclimatiques du parc national de Gouraya sont :

- **Le sol** : il est constitué de calcaire liasique, grès et argiles de Numidie, de calcaire plus ou moins dolomitiques, conglomérats, marnes gréseuses (**REBBAS, 2002**).
- **Les pluies** : Selon la carte pluviométrique de l'Algérie du Nord (**ANRH, 1993**), la zone du parc reçoit entre 700 et 800 mm de pluie par année.
- **La température** : La moyenne des températures minimales du mois le plus froid (m) est de 7,5°C et celle des températures maximales du mois le plus chaud (M) s'élève à 29,7°C. Selon le système d'émerger (**EMBERGER, 1955**).

Le PNG se situe dans un étage bioclimatique sub-humide (**Office National Météorologique Algérien, 2005**).

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

IV.2. Matériels non biologiques :

L'anatomie des fruits de genévrier de Phénicie, nécessite les matériels et ensemble des solutions chimiques suivant :

- Pour le rinçage (eau de javel et eau distillée)
- Réactifs (bleu de méthyle et rouge de méthyle)
- Fixateur (Acide acétique)
- Verres de montre et boites de pétri ;
- Des lames (porte objets) ;
- Des lamelles (couvre objets) ;
- Des lames de rasoir neuves ;
- Pipette ;
- Un microscope optique à grossissement multiple (OPTIKA B-180)
- Appareil photo (Téléphone Huawei Y7 pro 2019).

IV. Méthodes d'étude :

Dans notre expérimentation, nous avons procédé à l'extraction de l'huile essentielle à partir des parties aériennes (fruits) séché et conservé, l'extraction des huiles essentielle est effectuée par hydro distillation, ensuite nous avons déterminé le rendement en utilisant le rapport entre le poids d'huile essentielle et le poids de la partie de la plante a trait, et aussi on a l'anatomie des fruits. Le schéma directeur ci- après résume la démarche suivie :

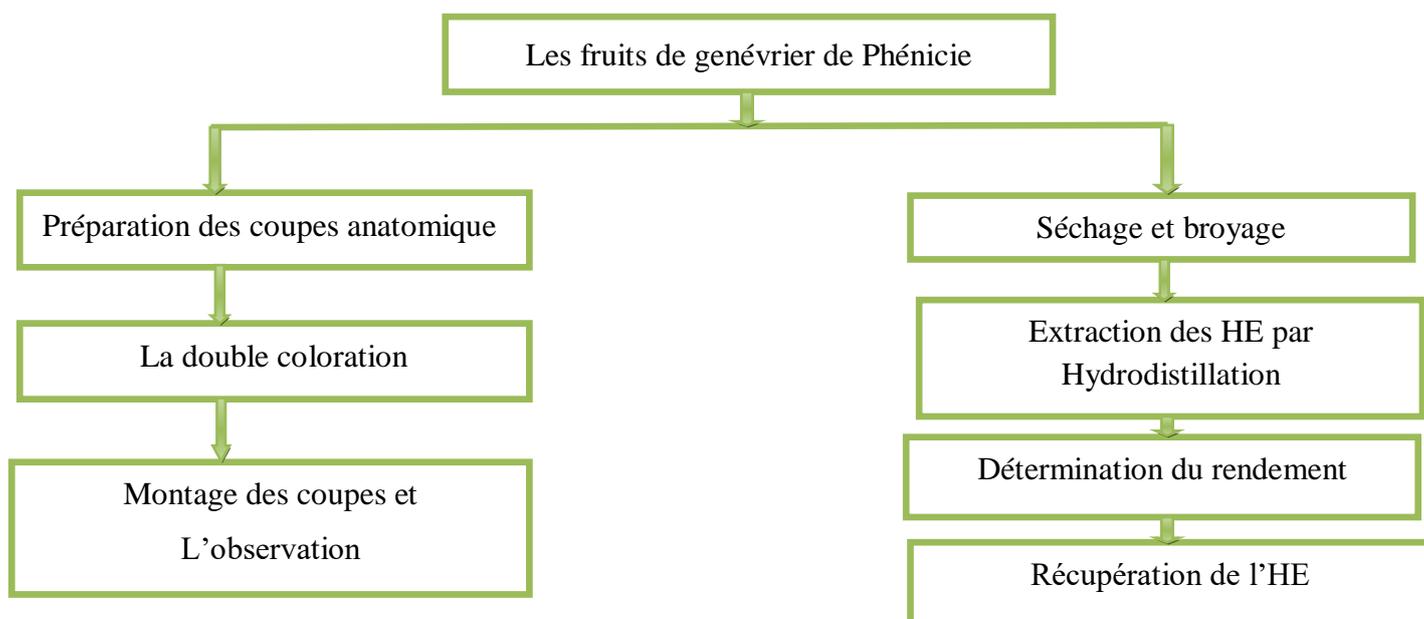


Figure 18 : Schéma du travail expérimental.

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

IV.1. L'étude anatomique :

Le mot « Anatomie » désigne l'acte de « couper » pour connaître les caractéristiques des structures internes examen qui a lieu généralement au niveau microscopique. Lorsque l'histologie décrit la qualité des tissus, l'anatomie étudie leur place dans l'organisme ce qui permet de comprendre leur relation de développement et d'association à des niveaux hiérarchiques de plus en plus élevés jusqu'à celui de l'organe. **(Speranza et Lorenzo ; 2005).**

Pour une meilleure compréhension de phénomène d'extraction et afin de localiser les organes sécréteurs des huiles essentielles de partie aérienne (fruit) de l'espèce étudiée, une observation de la structure anatomique des organes est nécessaire.

Pour pouvoir étudier la structure anatomique des organes végétaux, il est nécessaire de savoir effectuer des coupes minces et parfaitement orientées et de pratiquer différentes colorations. **(Deyson ,1956).**

IV.1.1. Préparation des coupes anatomique :

La préparation de ces coupes a eu lieu au niveau du laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatique (VPM) de faculté de SNV. Notre choix a porté sur des fruits immatures.



Figure 19 : Les fruits immature de genévrier de Phénicie **(ORIGINALE, 2020).**

Faire des coupes transversales des fruits immatures de *Juniperus Phoenicea* L (mince) avec une lame de rasoir neuve. Déposer les coupes sur les boîtes de pétries rempli d'eau distillée, les coupes les plus fines sont sélectionnées afin de pouvoir les colorer par la suite.

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

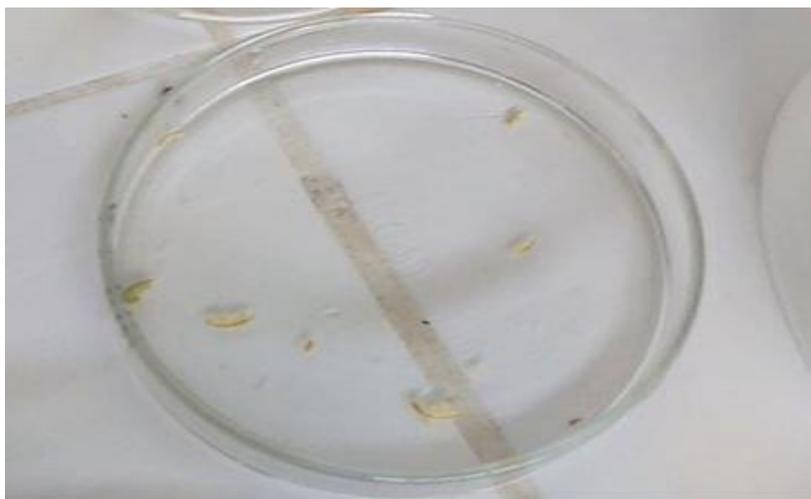


Figure 20 : les coupes transversales des fruits immature de *Juniperus Phoenicea* L
(ORIGINALE, 2020).

IV.1.2. La double coloration :

Les différentes étapes que nous avons suivies sont à partir de (Boulezazen, 2017).

Les coupes obtenues sont placées successivement dans :

- Hypochlorite de sodium (eau de javel) pendant 20 min afin d'éliminer le contenu cellulaire et blanchir les membranes ;
- Laver soigneusement les échantillons à l'eau distillée pour enlever l'excès d'hypochlorite ;
- A l'aide d'une pipette mettre quelques gouttes de l'acide acétique et laisser pendant 1min pour bien fixer les colorants
- Lavage les coupes par l'eau distillée une seule fois pour éliminer les traces de l'acide acétique.
- Mettre dans le Vert de méthyle pendant 10 à 15 min qui colore les parois lignifiées en vert
- Lavage et placer les coupes dans la solution de rouge du Congo (8 à 10 min) pour colorer les tissus celluloseux en rose ;
- Dernier lavage avec l'eau distillée.

Remarque :

La solution de rouge du Congo a été remplacée par le rouge de méthyle. (Ils ont le même effet)

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

IV.1.3 Montage des coupes et l'observation des coupes :

Nous avons choisi les coupes les plus fines, on a pris chacune délicatement, les mettre sur une lame, et on a déposé dessus une goutte d'eau ensuite on a couvert avec une lamelle pour enfin les observer au microscope optique avec grossissements (Grx : 100)

IV.2. L'extraction d'huile essentielle :

IV.2.1. Le séchage :

Le séchage de la plante (fruits) a été effectué sur un papier blanc, naturellement au courant d'air, durant 25 jours.



Figure 21 : Les fruits séchés de genévrier de Phénicie. (Originale, 2020).

IV.2.2 Le broyage :

Les fruits ont été broyés à l'aide d'un moulin à café pour l'obtention des petits morceaux. Ces derniers sont conservés dans un flacon en verre ombrés, bien fermé et conservés jusqu'à l'utilisation.



Figure 22 : Les fruits broyés des baies genévriers de Phénicie. (Originale, 2020).

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

IV.2.3. La méthode d'extraction :

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par la technique d'hydrodistillation sur un appareil de type Clevenger (CLEVINGER, 1928).

➤ Description de l'appareillage :

Le montage de l'hydrodistillation comprend essentiellement deux parties :

- Le ballon : sert à contenir la matière végétale émergée dans l'eau distillée.
- Le réfrigérant : c'est un échangeur de la chaleur servant à convertir toute vapeur en liquide provenant du ballon.

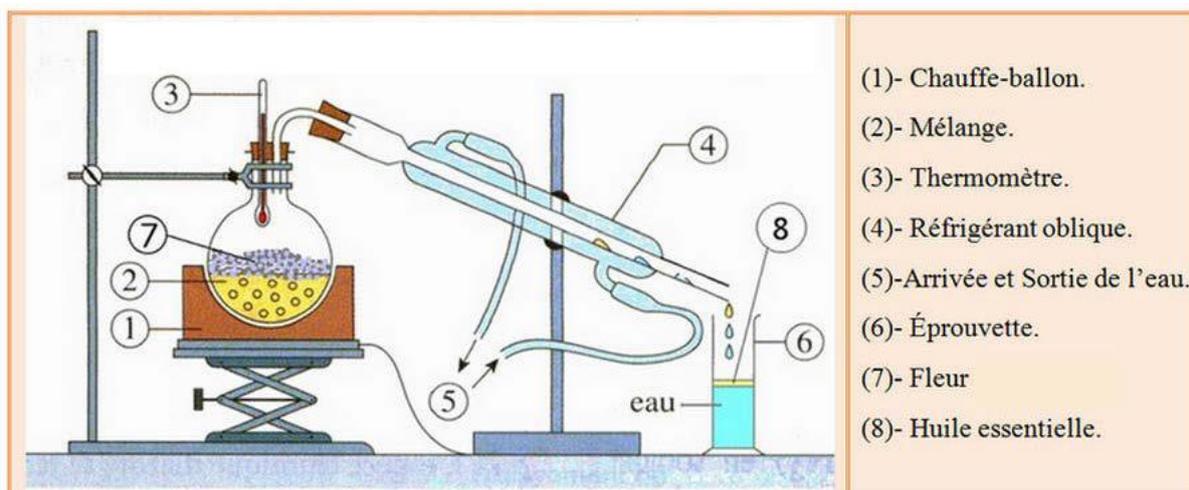


Figure 23 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (LAURENT, 2017)

• Mode opératoire

Au cours de chaque essai, la matière végétale (30 g) est immergée dans 100ml d'eau distillée dans un ballon de 1 litre. On fait adapter au ballon l'appareil de condensation. L'eau de ballon est portée à l'ébullition par une chauffe ballon électrique. Les vapeurs chargées d'huiles essentielles se condensent et se liquéfient à leur arrivée au niveau du réfrigérant. Le distillat (huile essentielle au-dessus, et l'eau aromatique au-dessous) est recueilli dans le tube gradué qui se termine par une ampoule, cette dernière est munie, à sa base, d'un robinet à partir duquel on pourra récupérer notre fraction d'huile essentielle, en ouvrant le robinet pour récupérer notre fraction d'huile essentielle. On récupère l'eau aromatique (l'hydrolat) dans un erlenmeyer et l'HE dans un Eppendorf, L'extraction dure environ 2 heures.

Trois répétitions ont été réalisées afin de déterminer le rendement en huile essentielle (volume en g).

L'huile essentielle a été stockée à une température ambiante et à l'obscurité, et elle a été couverte par un papier d'aluminium pour la préserver.

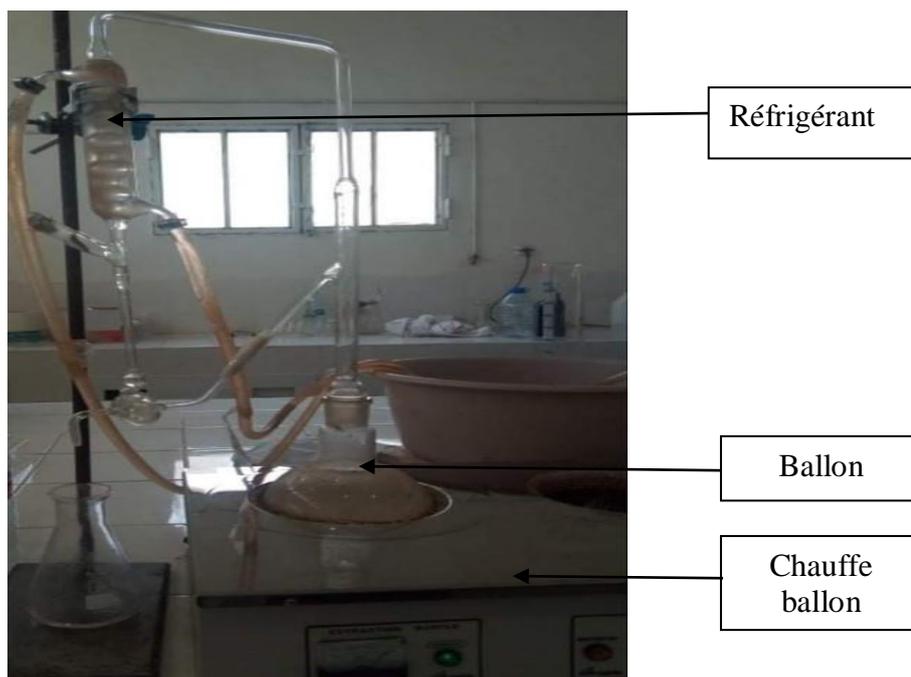


Figure 24 : Montage d'extraction de l'huile essentielle genévrier de Phénicie par hydrodistillation (dispositif Clevenger) (Original, 2020).

IV.2.4. Calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile essentielle et le poids de la partie de la plante à traiter. Le rendement exprimé en pourcentage a été calculé par la formule suivante (Carré, 1953) :

$$R = (PB / PA) \times 100$$

PB : Poids de l'huile en g.

PA : Poids des fruits séchés en g.

R : Rendement de l'huile essentielle en pourcentage.

Chapitre V :

Résultats et discussions

V. Résultats et discussions :

V.1. Etude anatomique :

V.1.1. Localisation des sites producteurs des huiles essentielles :

La structure des éléments anatomiques dans lesquels les huiles essentielles sont élaborées se rapporte à deux types : soit que la substance sécrétée demeure à l'intérieur de l'élément qui l'a élaborée (cellules à essence), ou bien les substances élaborées par les cellules qui les bordent s'accumulent dans des méats (certaines poches ou canaux sécréteurs) (**Deysson, 1978**).

Notre coupe microscopique de la plante étudiée met en évidence la structure responsable de la synthèse du stockage et de la sécrétion de ces substances.

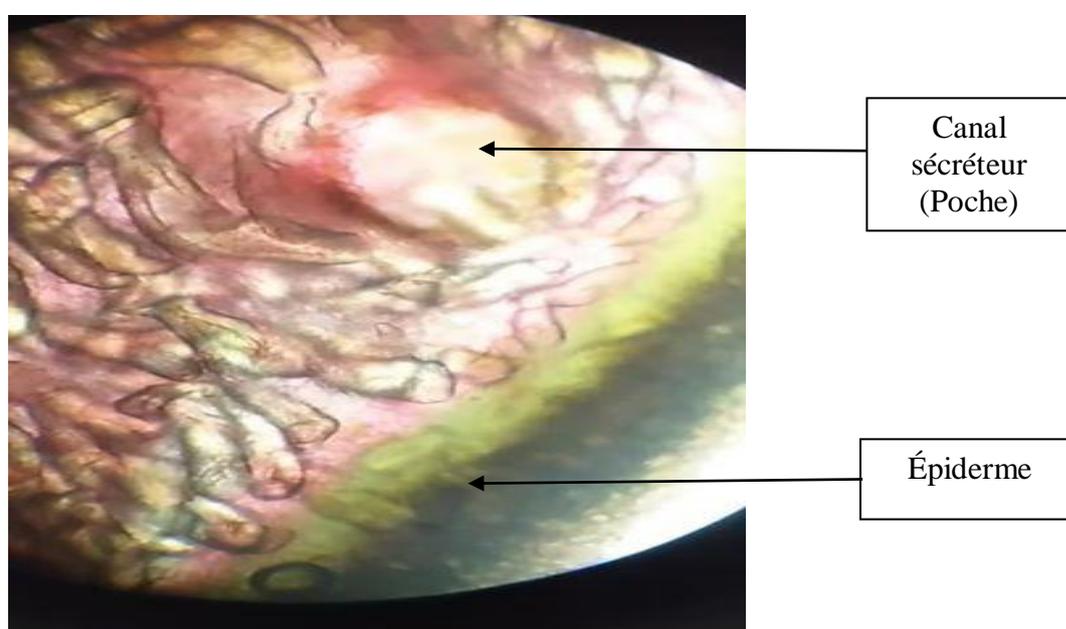


Figure 25 : Coupe transversale du fruit de genévrier Phénicie montrant la présence d'un canal sécréteur (Grx : 100) (**Original, 2020**).

La photo de la coupe transversale du fruit de *Juniperus phoenicea* révèle la présence des canaux sécréteurs qui apparaissent comme un canal de faible diamètre (figure 26). Ces observations sont en accord avec celles établies par (**Deysson, 1978**).

Pour identifier les tissus sous-jacents de façon précise, il faut disposer d'un instrument fin pour faire des coupes très fine facile à observer, que nous ne possédant malheureusement pas à notre niveau.

V.2.Extraction de l'huile essentielle :

V.2.1. Les caractéristiques organoleptiques :

Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de fruits genévrier du Phénicie (obtenue par hydro distillation) sont les suivants :

- **Aspect** : liquide, limpide et visqueux.
- **Odeur** : forte caractéristique du genévrier.
- **Couleur** : transparent.



Figure 26 : L'huile essentielle des fruits de genévrier de Phénicie (**Original, 2020**).

Les résultats obtenus par rapport les caractéristiques organoleptiques de nôtres huiles sont identiques aux résultats obtenus par (**Beddiar, 2016**).

V.2.2. Rendement en huile essentielle :

Le rendement en huile essentielle est calculé par rapport à la masse sèche de matière végétale de la partie aérienne (fruits) de J.P, les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 05.

Tableau 05 : Rendement d'extraction d'huile essentielle des fruits.

La plante	Quantité de matière végétale (g)	Quantité de l'eau distillée (L)	Rendement
J.P (Fruits)	30	100	$(0,43/30) \times 100=1,43\%$

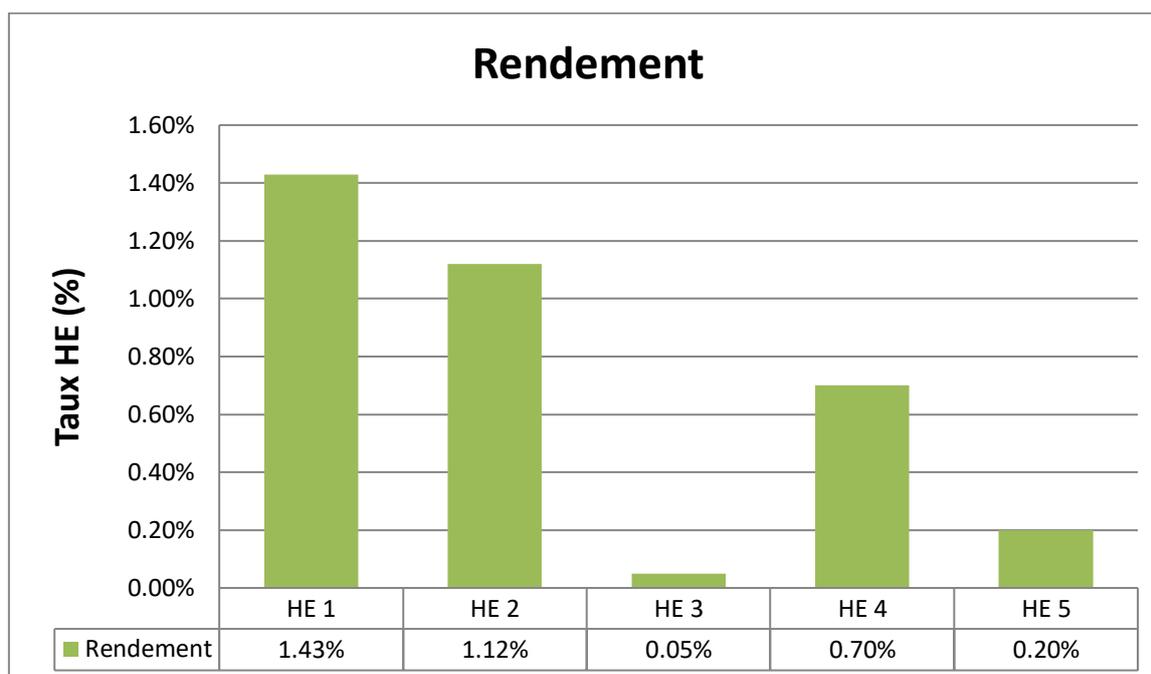


Figure 27 : Histogramme des pourcentages de rendement d'HE de genévrier de Phénicie.

- **HE 1** : Huile essentielle extraite de fruits dans notre étude (1,43%) ;
- **HE 2** : Huile essentielle extraite de fruits dans Algérie (1,12%) ;
- **HE 3** : Huile essentielle extraite de feuilles dans Dalmatie (0,05%) ;
- **HE 4** : Huile essentielle extraite de feuilles dans Maroc (0,70%) ;
- **HE 5** : Huile essentielle extraite de feuilles dans Italie (0,20%).

Aux vues de ces résultats nous constatons que le rendement d'extraction de notre HE est très important comparé aux autres études, il est égal à 1,43%. Ce résultat est plus élevé que les résultats trouvés par **Milos et Radonic (2000)** qui de l'ordre (0,05%), **Barrero et al., (2006)** de l'ordre (0,7%), **Valentini et al., (2003)** de l'ordre (0,2%), et **Benttia et Hallali (2019)** de l'ordre (1,12%), vu que le résultat de ce dernier est plus proche que notre expérimentation, la différence entre eux explique par différents facteurs.

Les facteurs qui influencent sur le rendement d'huile essentielle sont : la zone géographique de collecte, le climat, la génétique de la plante, l'organe utilisé, le stade de développement, le degré de fraîcheur, la période de séchage, la méthode ainsi que le matériel d'extraction utilisés.

Conclusion

Conclusion

Conclusion générale :

Les plantes sont de véritables usines chimiques, elles ne cessent de nous épater encore et encore par la richesse des constituants qu'elles synthétisent, elles représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs.

Les résultats obtenus dans notre étude effectuée sur les fruits de la plante genévrier Phénicie comme les huiles essentielles.

L'extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation, a montré que la partie aérienne (fruits) de la plante genévrier de Phénicie ce qui a été récolté dans la région de parc national de Yemma Gouraya (wilayat Bejaia), a donné un rendement très intéressant de l'ordre de (1,43%) comparé à d'autres travaux de la région méditerranéenne ce qui confirme la qualité phytothérapeutique de cette espèce dans notre pays. Néanmoins des études sur la qualité des huiles essentielles sont conseillées. Il faudrait d'autre part étudier la composition chimique afin d'identifier les composants chimiques par des techniques chromatographiques comme la CPG ou la GCMS ou il serait intéressant de faire des essais d'application (in vivo) d'un traitement (comme les crèmes et les sirops) à base des extraits de *Juniperus phoenicea* L contre les maladies respiratoires comme la maladie de (Covid 19) et aussi tester les extraits de fruits et les feuilles de cette espèce sur d'autres agents pathogènes.

La coupe histologique a mis en évidence la présence des canaux sécréteurs à faible diamètre responsable de la sécrétion d'huile essentielle.

Malheureusement et pour des raisons sanitaires (Covid-19), nous n'avons pas réalisé les activités biologiques à savoir l'étude de l'activité anti-microbienne et le test de toxicité aiguë.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

Références Bibliographiques :

-A-

Abdellah.A., Fouzia R., Bouchra O. et Jamal I, (2011). Evaluation de la toxicité aigüe du colorant (Rhodamine B) utilisé dans la fabrication des saucisses traditionnelles dans la ville de Meknès au Maroc. Science Lib Editions Mersenne : Volume 3, N ° 111116 ISSN 2111-4706, p : 1-8

Abdelli W., Bahria F., Höferlb M., Wannerc J, Schmidtb.,EetJirovetzb L, (2018).Chemical Composition, Antimicrobial and Anti-inflammatory Activity of Algerian Juniperus phoenicea Essential Oils.Natural Product Communications Vol. 13 (2)

Abdelli.W, (2018). Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de Juniperus phoenicea et de Thymus vulgaris. Doctorat en microbiologie appliquée, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Alger, 125p

Abdessamed. K, (1981). Le cèdre de l'Atlas (Cedrusatlantica M.) dans les massifs de l'Aurès et de Belezma : Etude phytosociologique et problèmes de conservation et d'aménagement. Thèse de docteur-ingénieur, Université de Marseille, France, 149p

Abu-darwish.M et Ofir.V,(2012).HEAVY METALS CONTENT AND ESSENTIAL OIL YIELD OF Juniperus phoenicea L. IN DIFFERENT ORIGINS IN JORDAN, Al-Balqa Applied University, Ash-Shoubak University College, Department of Basic and Applied Sciences, Al-Shouback, 71911, Jordan

Achak. N, (2006). Contribution à la valorisation des substances naturelles : Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région Tensift Al Haouz-Marrakech. Thèse III° cycle, Université de Marrakech, Maroc, 304p

Achak. N., Romane A., Alifriquie M., Adams R.P, (2009).Chemical studies of leaf essential oil of three species of Juniperus from Tensift Al-Haouz- Marrakech region (Morocco). Journal of Essent Oil Res, 21, 337-341p

Adams P, (2004). Juniperus of the world: The genus Juniperus. Trafford Publishing Co, Vancouver

Références bibliographiques

Adams RP., Rumeu B., Nogales M., Fontinha SS., (2009). Geographic variation and systematic of *Juniperus phoenicea* L. from Madeira and the Canary Islands: Analyses of leaf volatile oils. *Phytologia*. 91(1):40-53.

Ageste. M. (1960). La flore forestière "les végétaux ligneux qui croissent spontanément en France et des essences importants de l'Algérie. IIème édition ancienne maison Griblot et Cie, N, Grosjean, Successeur. 353p.

Ait Youssef. M, (2006). Plantes médicinales de Kabylie. Edition Ibis Press, Paris, 349p

Akrout A., (1999). Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). Institut des régions arides, 4119 Médenine- Tunisie

Aliouat, K et Boudaoud, N, (2018). Polyphénols de quelques plantes médicinales de la famille Thymelaeaceae et Cupressaceae et l'étude de leur activité antioxydante. Doctorat en biochimie appliquée université aklimohandoulhadj, Bouira 53p

Angioni A., Barra A., T. Russo M., Coroneo V., Dessì S., Cabras P., (2003), Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 3073–3078

ANRH (Agence National des Ressources Hydrauliques), (1993). Carte pluviométrique de l'Algérie du Nord au 1/500 000. Notice explicative. Alger.

Athamena. S, (2009). Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminumcyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique ; mémoire de magistère ; université d'El hadj Lakhdar de Batna

-B-

Bardeau, (1976). La médecine par les fleurs. Ed. Robert Laffont.

Barrero, A. F., Herrador, M. M., Arteaga, P., Quflez Del Moral, J. F., Sanchez Fernandez, E. (2006). Chemical Composition of the Essential Oil from the Leaves of *Juniperus phoenicea* L. from North Africa. *J. of Essent. Oil Res.*, 18, 168-169.

Beddiar H, (2016). Etudes de *Juniperus Phoenicea* L de la région de Tébessa : compositions chimiques, activité antioxydante et activité microbiologiques, Université Larbi Tébessi-Tébessa, p 66

Références bibliographiques

- Belaiche. P. (1979).** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme. éd. Maloine. Paris.
- Bellaiche P. (1979).** Aromatogramme. In Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Edition Maloine-S-A, tome I. pp. 9-20.
- Benabid A, (2000).** Flore et écosystèmes du Maroc. Evaluation et préservation de la biodiversité. Ibis Press, Paris, 360p
- Bendif, (2017).**Caractérisation photochimiques et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et *Rosmarinus sericeocalyx* Jord & Fourr. Doctorat en biotechnologie végétale, l'école normale supérieure de Kouba. Alger 154p
- Beneteaud E., (2011).** Les techniques d'extraction. Comité français du parfum, pp. 1-7.
- Bentia Z, Hallali A (2019).** Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des différents extraits de la plante *Juniperus phoenicea* L. Université Mohamed Boudlaf M'sila
- Bonvalot N, (2002).** Méthode d'élaboration : 14.
- Bosio K, Avanzini C, D'Avolio A, Ozimo O, Savoia D (2000).** In vitro activity of propolis against *Streptococcus pyogenes*. *Lett Appl Microbiol* 31: 174-177.
- Bossche V.H., Engelen M., and Rochette F. (2003).** Antifungal agents of use in animal health-chemical, biochemical and pharmacological aspects. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 26(1), 5-29.
- Botineau, M. (2015).** Guide des plantes à fruits charnus comestibles et toxiques. Ed Lavoisier. France., 128-129
- Boudy P. (1950)** –guide du forestier en Afrique du nord. Tome IV, Paris ,274-278.
- Bouilet L, (2007),** Notes sur la technique traditionnelle d'extraction du goudron végétal. Projet Machrek & Maghreb III, Algérie.
- Boukhatem, M.N., Ferhat, M.A., Kameli, A., Saidi, F., Taibi, H., Djamel, T., (2014).** Valorisation de l'essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris* L.) en aromathérapie anti-infectieuse [Potential application of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential Oil as

Références bibliographiques

antibacterial drug in aromatherapy]. International Journal of Innovation and Applied Studies 8,1418.

Boulezazen, A. (2017). Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne d'une plante aromatique (*Rosmarinus Officinalis* L.) de la forêt Béni Melloul –Khenchela, Mémoire de fin d'étude dans la valorisation des plantes, Université El chahid Hamma Lakhder EL-oued 64p.

Bouyahyaoui, A. (2017). Contribution à la valorisation des substances naturelles Étude des huiles essentielles des cupressacées de la région de l'Atlas algérien. Doctorat en biochimie, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Alger, 115P

Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M., Chaabouni MM. (2008). Composition chimique et activité antioxydant, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. Société Chimique de Tunisie. 10 : 119 – 125

Bouzouita.N; Kachouri.F; Ben Halima.M; Chaabouni. M. (2008) COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITÉS ANTIOXYDANTE, ANTIMICROBIENNE ET INSECTICIDE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE *Juniperus phœnicea*, Ecole Supérieure des Industries Alimentaires de Chott Meriem, Tunisie

Brochant de Villers A.J.F.M., Brongniart A., Turpin P.J.F., Cuvier F.G., Cloquet H., Dumériel A.M.C., Ducrotay de Blainville H.M., Desmarest A.-G, (2008). Dictionnaire des sciences naturelles. Volume 18, Edition Levrault, Paris, 594p

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie-Phytochimie, Plantes médicinales, Tec et Doc, Paris, 1119.

Bruneton J., (2009). Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 4e éd, Lavoisier, Paris, p 1269.

Buckle J., (1997). Clinical aromatherapy. Essential oils in practice 2nd ed. United States of America, 424 p

-C-

Carré P., (1953). Précis de technologie et de chimie industrielle. T3. Ed. Ballière JB. Et fils.432 P.

Carryn, (2013).Résistance aux antibiotiques Rôle du laboratoire de bactériologie. P : 5.

Références bibliographiques

Chazel M., Chazel L, (2012), Découverte naturaliste des garrigues. Quae édition, 208p

Clos J, (2012).Immunité chez les animaux et les végétaux : Aspects fondamentaux et physiopathologiques. Lavoisier, Paris, 432p

Collectif ; (2001) « Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins »; Edition Larousse

Cosentino S., Barra A., Pisano B., Cabizza M, Pirisi F.M., Palmas F., (2003), Composition and antimicrobial properties of Sardinian Juniperus essential oils against food borne pathogens and spoilage microorganisms, Journal of Food Protection, 66, 1288-1291.

Cosentino S., Tuberoso CIG., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E., Palmas F. (1999) In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. Letters in Applied Microbiology, 29, 130-135.

CSST (Commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec), (2004). Notions de toxicologie. Bibliothèque nationale du Québec ; 2ème édition, ISBN.

-D-

Daglia M. (2011).Polyphenols as antimicrobial agents. Current Opinion in Biotechnology. 23(2), 1-8.

Dakki M, (2003), Embouchure de la Moulouya. Rapport de synthèse, projet MedW et Woast, Ministère de l'Aménagement du Territoire, de l'Eau et de l'Environnement, Maroc, 114p

Dambolena J. S., Zunino M. P., López A. G., Rubinstein H. R., Zygadlo J. A., Mwangi J. W., Thoithi G. N., Kibwage I. O., Mwalukumbi J. M., &Kariuki S. T., (2010).Essential oils composition of Ocimumbasilicum L. and Ocimumgratissimum L. from Kenya and their inhibitory effects on growth and fumonisin production by Fusarium verticillioides. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 11, 410–414.

Debazac E.-F, (1991). Manuel des conifères. E.N.G.R.E.F, 2ème édition, Nancy, 172p

Derwich E., Benziane Z. and Chabir R. (2011). Aromatic And Medicinal Plants Of Morocco: Chemical Composition of Essential Oils of Rosmarinus Officinalis And Juniperus phoenicea. IJABPT . 2(1):145-153.

Références bibliographiques

Derwich, E., Z. Benziane, Taouil R., Senhadji O., and Touzani M., (2010a). A Comparative Study of The Chemical Composition of The Leaves Volatil Oil of Juniperus phoenicea and Juniperus oxycedrus .Middl-East J.Res . 5(5): 416-424

Derwich, E.,Benziane Z. and Boukir A., (2010b). Chemical composition of leaf essential oil of Juniperus phoenicea and evaluation of its antibacterial activity. Int. J. Agric. Biol., 12: 199-204.

Dragsted, A., Lang, B., (1957).Etude de la toxicité par administration unique d'un nouveau médicament. Annales pharmaceutiques Française, p.11.

Dupont CH. (1970). Détermination de la DL50 chez la souris (méthode de Litchfield et Wilcoxon). J.Pharmacol. Paris, 1, 407-412.

Duval L., (2012). Les Huiles Essentielles à l'officine. Thèse de doctorat. UFR DE médecine et de pharmacie de Rouen. France. 153p.

Dworkin M.M. and Falkow S. (2006). Proteobacteria: Gamma subclass. Ed. Springer, New York, NY, p. 1248.

-E-

El-Sawi, S.A., Motawae, H.M. and Amal, M.A. (2007). Chemical Composition, Cytotoxic Activity and Antimicrobial Activity of Essential oils of leaves and berries of Juniperus phoenicea. Grown in Egypt. African J.of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 4(4) : 417-426

Emberger, I. (1955). Une classification biogéographique des climats. Nat. Monspl., Série Bot., 7 : 3-42

-F-

Farida A., Mina M., Abdel Aziz A., Chdi B., Hassane M., Nourdinne B.et Mohammed L., (2015). Etude chimique de l'extrait aqueux d'Allium subvillosum (L.) (Alliaceae) et l'évolution de sa toxicité chez les souris. International Journal of Biological and Chemical Sciences. 9(1) : p 534-541.

Références bibliographiques

Fauchère, J.-L. et J.-L. Avril (2002). "Bactériologie générale et médicale" Ellipses Editions Paris. P 365.

Ferhat M. (2009). Recherche de substances bio actives de Centaure amicrocarpacoss et dur. Diplôme étude supérieur de biochimie Université de M'sila.

-G-

Gandini J, (2006). Pistes du Maroc à travers l'histoire : Haut et moyen Atlas, Volume 1, Edition SERRE, 524p

Garnero J. (1996). Huiles essentielles. Dossier : K345. Base documentaire : Constantes physico-chimiques. Vol. Papier n°: K2.

-H-

Hernandez Ochoa L.R., (2005). Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combiné "solvant/actif" d'origine végétale. Thèse de doctorat, Université de Toulouse, France, 225p.

Hilan C, Bouaoun D, Aoun J, Sfeir R et Garabeth F, (2009). Propriétés antimicrobiennes et toxicité' par détermination de la DL50 de l'huile essentielle de Prangos asperula Boissier, Institut National pour la Recherche Agronomique, Fanar, Liban, 13p

Huguette M, (2008). La route des épices, aromatisants, condiments et mélange d'épices. Edition Sang de la terre, Paris, 190p

-I-

Institut National de la Recherche Forestière (INRF), (2012). Etat actuel des ressources génétiques forestières en Algérie. Disponible sur : [http : // www.fao.org/documents..](http://www.fao.org/documents..)

-J-

Jaume Saint-Hilaire J.H, (2010). Plantes de la France : décrites et peintes d'après nature. Volume 7, Edition Chez l'auteur, Paris, 360p

Références bibliographiques

-K-

Karber, C., Behrens, B., (1935). Wie Sind Reihenversuche fur biologische Auswertungen am Zweckmässigsten Anzuordnen. Arch. Exp. Path. Pharm 177, 379-388.

-L-

Lahlou M. (2004). Methods to study the photochemistry and bioactivity of the essential oils phytotherapy research. 18 : 435-448.

Laigneau Jaques ;(2000). Mort annoncée du pire des tests.

LAURENT J, (2017). Conseils et utilisations des Huiles essentielles les plus Courantes en officine. Université Paul Sabatier Toulouse, thèse 2017 tou3 2090. P : 110

Le Floc'h E, (1983). Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Publ. Sc. Tunisiennes. Programme « Flore et végétation tunisienne ». Imprimerie officielle de la république Tunisienne, 402p

Legrand. (1978). Manuel préparatoire en pharmacie. 8ème éd. Masson.

Lemberg. (1982). « Armoise » Artémisia herba Alba. Perfumer flavorist, 7, p58-63.

Litchfield, J.T., Wilcoxon, F.A., (1949). A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. Exp. Ther 96, 99-113.

Louni D, (1994). Les forêts algériennes. Forêt Méditerranéenne, 1, 59-63p

-M-

Mansouri N., Satrani, B., Ghanmi, M., ELghadraoui, L., Guedira, A et Aafi, A., (2010). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydant de l'huile essentielle de

Références bibliographiques

Juniperus communis du Maroc. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 80, 2011, p. 791 – 805.

Mao K., Hao G., Liu J., Adams R.P., Milne R.I, (2010). Diversification and biogeography of Juniperus (Cupressaceae): variable diversification rates and multiple intercontinental dispersals. *New Phytol*, 188(1), 254-272p

Marmonier AA. (1990) Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques. *Bactériologie Médicale, techniques usuelles*, DOIN, Paris, France, 227-236.

Mazari K., Bendinerad N., Benkhechi Ch. et Fernandez X. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of essential Oil isolated from Algerian Juniperus phoenicea L and Cupressus sempervirens. *Medicinal Plants Research*. 4(10) : 959-964

Mazur M., Boratynska K., Marcysiak K., Gomez D., Tomaszewski D., Didukh J., Boratynski A, (2003). Morphological variability of Juniperus phoenicea (Cupressaceae) from three distant localities on Iberian Peninsula. *Acta Asocietatis Botanicorum Poloniae*, 72(1), 71-78p

Miller, L.C., Tainter, M.L., (1944). Estimation of ED50 and its error by means of logarithmic. *Probit paper. Proc Soc Exp Biol Med* 57, 261-4.

Milos, M., Radonic, A. (2000). Gas chromatography mass spectral analysis of free and glycosidically bound volatile compounds from Juniperus oxycedrus L. growing wild in Croatia. *Food Chemistry*, 68, 333-338

Molino, P. (2005), A guide to medicinal plants in North Africa, Ed IUCN, Espagne., 141.
Nikolova M., & Dzhurmanski, A. (2009). Evaluation of Free Radical Scavenging Capacity Of Extracts From Cultivated Plants. *Biotechnology. EQ*, 23.

Mostafa., S. (2011). « Extraction et caractérisation de l'huile essentielle et de quelques métabolites secondaires actifs d'une plante à caractères thérapeutiques, Thymus vulgaris L., et étude de quelques activités pharmacologiques » ; thèse de magistère ; Blida.

Références bibliographiques

-N-

Nedjimi, B., Beladel, B et Guit, B., (2015). Multielement determination in medicinal juniper tree (*Juniperus phoenicea*) by instrumental neutron activation analysis. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 8, 243-246p

Nikaido H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67, 593-656.

-O-

OECD. (2002) Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris. <http://www.oecd-ilibrary.org/content/book/9789264071001-en>

Office National Météorologique Algérien. (2005). Données climatiques de la station météorologique de Bejaïa (documents interne).

OMS (Organisation Mondiale de la Santé), (2000). Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle ; 1 : 1-79.

-P-

Percival S.L. (2004). *Microbiology of waterborne diseases*. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston, p. 480.

Pibiri M-C. (2006). Assainissement microbiologique de l'aire et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse doctorat. 36-44

PROTA, (2008). Ressources végétales de l'Afrique tropicale. Vol 11(1). Plantes médicinales, tome 1, G.H. Schmelzer & A. Gurib-Fakim. Wageningen, Fondation PROTA – Backhuys CTA, 869p

Références bibliographiques

-Q-

Quézel P., (1979). La région méditerranéenne française et ses essences forestières. Signification écologique dans le contexte circumméditerranéen. Forêt médit, pp. 7-18.

Quézel P., Medail F, (2003). Ecologie et biogéographie de la forêt du bassin méditerranéen. Edition Elsevier, Collection Environnement, Paris, 573p

Quézel P., Santa S, (1963). Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, tome 2, Paris, 1170p

-R-

Ramade, F., (1979). Ecotoxicologie, Ed Masson, Paris, pp. 5. Repris par : Mlle BOUSSAHEL Soulef dans son mémoire de Magister Spécialité : Biologie et Physiologie végétale Option : Valorisation des ressources végétales Thème « Étude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plantes toxiques dans la région de Sétif »

Rameau J.C., Mansion d., Dume G. (2008). Flore forestière française .Volume 3.Paris, 2421 p

Rebbas, k. (2002). Contribution à l'étude de la végétation du parc national Gouraya (Bejaia, Algérie) étude phy-tosociologique. Mémoire de Magistère, Université de Sétif, Algérie.

Robert, P.A., Barrero A.F and Lara A., (1996). Comparisons of the Leaf Essential Oils of Juniperus phoenicea. J. Essent. OilRes., 8: 367-371

Roux D.et Catier O. (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie : Wolters Kluwer France, 146.

Ruckebusch Yves, (1981). Physiologie, pharmacologie, thérapeutique animale. 2e Edit., Repris par : Mlle BENSALAH Fouzia dans son mémoire En vue de l'obtention du diplôme de Master en biologie Option biochimie appliquée Thème « Contribution à l'étude phytochimiques et l'effet hémolytique de l'extrait brut hydroalcoolique de la partie aérienne de Marrubiumvulgare L. ».

Références bibliographiques

-S-

Sandhar H.K., Kumar B., Prasher S., Tiwari P., Salhan M. and Sharma P. (2011). A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. International PharmaceuticaScientia. 1 (1), 25-41.

Seigue A, (1985). La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes. Edition Maisonneuve et Larose, Paris, 502p

Silba J, (1986). An international census of the Coniferae. Phytologia Memoir, 8, 1-217p

Sofiev M., Bergmann K.-C, (2012). Allergenic pollen: A review of the production, release, distribution and health impacts. Springer Science & Business Media, 252p

Speranza, A et Calzoni, C. (2005). Atlas de structure des plantes. Biologie. Livre 223p.

Suhr K.I. et Nielson P.V. (2003). Antifungal activity of essential oil evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. Journal of Applied Microbiology. 94 : 665-674.

-T-

Talab SM., (2008)-Biodiversité et dynamique des formations à *Juniperus thurifera*, *Juniperus phoenicea* et *Juniperus commun* au Maroc, Centre de recherche forestière , 13^{ème} journées nationales de biodiversité, Maroc 2007

Teibi M, (1992). Contribution à l'étude de l'estimation de biomasse aérienne d'un taillis de chêne vert (*Quercus ilex*) et de deux Genévriers : Genévrier oxycèdre, Genévrier de Phénicie dans la région de Kasserou. Mémoire d'ingénieur en agroalimentaire, Université de Batna, Algérie, 80p

Touafek O, (2010). « Etude phytochimique des plantes médicinales du Nord et du Sud Algérien » ; thèse de doctorat en phytochimie ; université de Mentouri ; Constantine ; 259p

Trombetta D., Castelli F., Sarpietro MG., Venuti V., Cristani M., Daniele C, Saija A, Mazzanti G., Bisignano G., (2005) Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 49, 2474-2478.

Références bibliographiques

-V-

Valentini, G., Bellomaria, B., Maggi, F., Manzi, A. (2003). The Leaf and Female Cone Oils of *Juniperus oxycedrus* L. ssp. *Oxycedrus* and *J. oxycedrus* ssp. *macrocarpa* (Sibth. et Sm.) Bali. *FromAbruzzo. J. Essent. OilRes.*, 15, 418-421.

Valnet J. (1984). Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes. Maloine S.A. éditeur. Paris p 544

Van Royen P, (1979). The alpine flora of New Guinea: Taxonomic part Cupressaceae to Poaceae. Cramer J. volume 2. Germany, 1232p

Varlet E, (1992). Découvrez les fruits sauvages, Edition Ellébore, Paris, 104p

Varlet E, (2008). Découvrez les fruits sauvages. Edition Ellébore, Paris, 254p

-W-

Wichtel M. et Anton R. (1999). Plantes thérapeutiques : tradition, pratiques officinales, science et thérapeutiques. Ed. Tec et Doc.