



**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Mohamed KHEIDER Biskra**  
**Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magistère en Biologie**

**Option: Biotechnologie**

**Thème**

**Etude morphologique des feuilles et des fruits  
du pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica* Desf. )  
et valorisation des huiles essentielles des feuilles  
et de l'oléorésine**

**Présenté par: M<sup>elle</sup> BENABDALLAH Fatima Zohra**

**Devant le jury composé de:**

|   |  |                   |
|---|--|-------------------|
| <b>Mr. BELHAMRA Mohamed</b>             | Professeur à l'université de Mohamed Kheider Biskra                      | <b>Président</b>  |
| <b>Mr. BENTCHIKOU Mohamed El Moncef</b> | Professeur à l'université de Mentouri Constantine                        | <b>Rapporteur</b> |
| <b>Mr. YAHIA Abdelwahab</b>             | Professeur au centre universitaire de Mila                               | <b>Examineur</b>  |
| <b>Mr. ZELLAGUI Amar</b>                | Maître de conférence à l'université de Larbi Ben Mhidi<br>Oum El Bouaghi | <b>Examineur</b>  |
| <b>Mr. LAIADI Ziane</b>                 | Maître de conférence à l'université de Mohamed Kheider<br>Biskra         | <b>Invité</b>     |

**Année universitaire: 2011/2012**

# Remerciement

Je tiens à exprimer mes remerciements en premier lieu à Mr **Bentchiko Mohamed Elmoncef** , professeur à l'université de Constantine qui a accepté de m'encadrer, avec le témoignage de mon profond respect.

Je remercie Mr **Belhamra Mohamed**, professeur à l'université de Biskra, Mr **Yahia Abdelwaheb** professeur au centre universitaire de Mila et Mr **Zellagui Amar**. maître conférant à l'université d'Oum El Bouagui, qui ont voulu examiner ce manuscrit et juger ce travail.

Je remercie également Mr **Meraghni Djamel** , Professeur à l'université de Biskra et Mr **Oussou Kourané Raphael** de l'université de Abidjan pour leur précieuse collaboration.

Je remercie vivement Mr **Ghalem Bachir Rahou** de l'université de Sidi Bel Abbès, pour son aide, ses conseils et sa modesté.

Je n'oublierai jamais l'aide précieuse de ma grande sœur **Bacha Saliha** , ingénieur de laboratoire de Biologie Animale de l'université de Biskra, je la remercie infiniment puisqu'elle a toujours cru en moi.

J'exprime mes vifs remerciements à Mr **Layadi Zyane** , Mr **Zerraib Azzedinne** et Mr **Melkmi Nadjib** de l'université de Biskra.

Je remercie mes parents, que dieu les protège, en témoignage de ma profonde affection. Qu'ils sachent que ce travail est en partie le fruit de leur soutien ; je leur suis très reconnaissante.

J'exprime ma reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à accomplir ce modeste travail.

تتميز السهوب الموجودة بالجنوب الشرقي الجزائري بغناها بالأشجار الأصلية و محدودية الدراسات عنها. ( ) لم يتم ذكره في المراجع، لذلك يركز هذا العمل على المقارنة بين أشجار الفستق الأطلسي ( )، عين وسارة و مسعد ( ) على أساس قياسات بيومترية جريت على الأوراق و الثمار. المتحصل عليها اختلافات معتبرة قد يعود سببها إلى العوامل المناخية. الزيوت الأساسية المستخلصة من أوراق و نضد مكوناتها الكيميائية ثم تجربتها على خمسة أنواع من البكتيريا :

*Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Escherichia coli ATCC 25922, Klebsiella pneumoniae, pseudomonas aeruginosa* دود يعادل 25% من الزيت الأساسي للنضج مع توفره على كمية مرتفعة من  $\alpha$ -pinène *Candida albicans* لإظهار فعاليتها ضد هذه الميكروبات. بينما الزيت الأساسي للأوراق أعطى مردود يساوي 0,24% مع احتواءه على كمية معتبرة من *terpinèn-4-ol* كما بينت النتائج التجريبية فعالية الزيوت الأساسية على معظم الميكروبات.

: الفستق الأطلسي، الزيوت الأساسية، الأوراق، الثمار، النضج، البكتيريا، فعالية ضد الميكروبات.

### Résumé :

La région steppique du sud-est algérien est riche en arbres endémiques et peu étudiés. Le pistachier de l'atlas natif de la région d'Ouled Djellel (Biskra) n'a pas été mentionné dans la littérature. Des mesures biométriques de feuilles et de fruits de trois provenances, Ouled Djellel (Biskra), Ain Oussara et Messaad (Djelfa), ont été réalisées et comparées. Les résultats ont montré des différences significatives entre les variétés distinctes qui peuvent être dues aux facteurs climatiques.

Les huiles essentielles des feuilles et des exsudats (oléorésine) de l'arbre provenant d'Ouled Djellel ont été extraites et analysés puis testés sur cinq souches bactériennes d'origine clinique (*Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Escherichia coli ATCC 25922, Klebsiella pneumoniae et pseudomonas aeruginosa*) et un champignon (*Candida albicans*) en vue d'apprécier leur activité antimicrobienne. Un rendement en huile essentielle qui égale à 25% et riche en  $\alpha$ -pinène est obtenu à partir de l'oléorésine tan disque les feuilles ont présenté un rendement de 0,24% où le composant majoritaire était le *terpinèn-4-ol*, les deux huiles essentielles se sont caractérisées par un effet antimicrobien sur la plupart des souches.

**Mots clés :** *Pistacia atlantica* Desf. , huiles essentielles, feuilles, fruits, oléorésine, activité antimicrobienne, souches bactériennes.

### Abstract:

The steppic region of southeastern Algeria is rich in endemic trees that are little studied. The native of the Atlas pistachio tree in the region of Ouled Djellel (Biskra) was not mentioned in literature. Biometric measurements of leaves and fruits from the three provenances: Ouled Djellel (Biskra) Ain Oussara and Messaad (Djelfa), were realized and compared.

The results show significant differences between distinguish varieties this may be due to climatic factors.

Essential oils of the leaves and the oleoresin from Ouled Djellel were extracted and analyzed then their antimicrobial activity was tested on five bacterial stems of clinical origin (*Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Escherichia coli ATCC 25922, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa*) and a yeast stem (*Candida albicans*).

The oleoresin has provided an essential oil yield of 25% and rich on  $\alpha$ -pinèn, leaves have presented a yield of 0,24% when the *terpinèn-4-ol* was in high percentage, both essential oils were characterized of an antimicrobial effect on the most microbial stems.

**Key words:** *Pistacia atlantica* Desf. , essential oils, leaves, fruits, oleoresin, antimicrobial activity, bacterial stems.

# Sommaire

## Introduction

### Partie 1: Synthèse bibliographique

|           |   |    |
|-----------|---|----|
| I-        | Pistachier .....  | 4  |
| I- 1-     | Taxonomie .....   | 4  |
| I- 2-     | Répartition du pistachier en Algérie.....                                 | 5  |
| I- 3-     | Description du pistachier de l'atlas.....                                 | 5  |
| II-       | Les huiles essentielles .....   | 10 |
| II- 1-    | Définition.....   | 10 |
| II- 2-    | Méthodes d'extraction .....   | 10 |
| II- 3-    | Composition chimique .....  | 12 |
| II- 4-    | Biosynthèse et localisation .....   | 12 |
| II- 5-    | Activités biologiques .....   | 14 |
| II- 6-    | Action antimicrobienne des huiles essentielles .....                      | 16 |
| II-6-1-   | Techniques d'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles ..... | 17 |
| II-6-1-1- | Techniques en milieu liquide .....  | 17 |
|           | a) Méthode des disques de Sarbach .....                                   | 17 |
|           | b) Méthode de Marzuella .....   | 18 |
| II-6-1-2- | Techniques en milieu solide .....   | 18 |
|           | a) Méthode de Vincent .....   | 18 |
|           | b) Méthode de Morel et Rochaix .....                                      | 19 |
|           | c) Méthode de microatmosphère .....                                       | 20 |
| II-6-2-   | Détermination de la concentration minimale inhibitrice .....              | 20 |

### Partie 2: Partie expérimentale

#### Chapitre I: Matériels et Méthodes

|        |  |    |
|--------|--|----|
| I- 1-  | Etude morphologique des feuilles .....   | 24 |
| I-1-1- | Lieu et climat de régions de la collecte des échantillons .....                | 24 |
| I-1-2- | Echantillonnage et mesures biométriques .....                                  | 25 |
| I-1-3- | Etude statistique .....  | 26 |
| I-2-   | Extraction des huiles essentielles à partir des feuilles et d'oléorésine ..... | 26 |
| I-2-1- | La méthode d'hydrodistillation.....  | 26 |

|   |   |           |
|---|---|-----------|
| I-2-2-                                      | Calcul du rendement.....  | 28        |
| I-3-  | Analyse de la composition chimique des huiles essentielles par la chromatographie en phase gazeuse et résonance magnétique nucléaire du carbone 13..... | 29        |
| I-4-  | Etude de l'effet antimicrobien .....  | 30        |
| I-4-1-                                      | Technique de l'antibiogramme .....  | 32        |
|   | a) L'ensemencement .....  | 32        |
|   | b) Application des disques.....   | 32        |
|   | c) Incubation.....  | 33        |
|   | d) Lecture.....   | 33        |
| I-4-2-                                      | Nature de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles .....  | 33        |
| I-4-3-                                      | Détermination de la concentration minimale inhibitrice.....   | 34        |
| <b>Chapitre II: Résultats et Discussion</b> |   |           |
| II-1-                                       | L'étude morphologique.....  | 36        |
| II-1-1-                                     | Les caractères descriptifs .....  | 36        |
| II-1-2-                                     | Les caractères biométriques .....   | 36        |
| II-1-2-1-                                   | Les feuilles .....  | 36        |
| II-1-2-2-                                   | Les fruits.....   | 38        |
| II-2-                                       | Les huiles essentielles .....   | 42        |
| II-2-1-                                     | Le rendement en huiles essentielles.....  | 42        |
| II-2-2-                                     | L'analyse chimique .....  | 43        |
| II-2-3-                                     | L'étude de l'activité antimicrobienne.....  | 45        |
| II-2-3-1-                                   | Huile foliaire .....  | 45        |
| II-2-3-2-                                   | Huile d'oléorésine .....  | 46        |
| II-2-4-                                     | Nature de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles .....  | 48        |
| II-2-5-                                     | Evaluation de la CMI .....  | 49        |
| II-2-5-1-                                   | L'huile essentielle des feuilles.....   | 49        |
| II-2-5-2-                                   | L'huile essentielle de l'oléorésine .....   | 50        |
| <b>Conclusion .....</b>                     |   | <b>54</b> |
| <b>Références Bibliographiques .....</b>    |   | <b>56</b> |
| <b>Annexes</b>                              |   |           |

# *Introduction*

Ces dernières décennies, l'usage des plantes médicinales connaît un regain d'intérêt. Selon les estimations de l'OMS (2002), plus de 80 % de la population en Afrique utilisent encore la médecine traditionnelle pour répondre à leurs besoins de soins et de santé. Ceci est lié à la toxicité des produits chimiques, au coût élevé des médicaments chimiques, à l'éloignement et /ou l'insuffisance des centres de santé surtout en milieu rural, qui limitent une prise en charge véritable des problèmes de santé publique.

Par ailleurs, la maîtrise des infections bactériennes et fongiques devient complexe du fait de l'émergence de bactéries et de champignons résistants à de nombreux antibiotiques conventionnels. (DRAMANE *et al.* , 2010).

Depuis l'antiquité, plusieurs plantes sont utilisées pour leurs vertus, de nos jours l'être humain veut retourner à ses origines naturelles et explorer les bienfaits de la nature mais dans un cadre scientifique. Pour cet objet, plusieurs études contemporaines se sont orientées vers l'évaluation des différents composés végétaux, pour extraire de nouveaux agents antimicrobiens, antioxydants, hypoglycémifiants.....etc.

Le pistachier constitue un genre de biodiversité morphologique et génétique remarquable, l'absence d'études mentionnant *Pistacia atlantica* Desf. dans la région de Biskra nous a incité à l'étudier, le comparer avec celles déjà réalisées et le répertorier dans la littérature.

Nous nous sommes attelée à réaliser une étude comparative morphologique du pistachier de l'atlas de trois régions : Ouled Djellel (wilaya de Biskra), Ain Oussara et Messaad (wilaya de Djelfa) et une extraction des huiles essentielles des feuilles et de l'oléorésine provenant d'Ouled Djellel. Nous avons essayé par la suite de valoriser l'effet thérapeutique de ces huiles essentielles par l'appréciation de leur activité antimicrobienne.

Partie 1:

# Synthèse bibliographique



## I- Pistachier

Le pistachier est originaire d'Asie Centrale. Présent en Turquie depuis 7000 ans avant J. C. , il a été introduit en Italie dès le premier siècle avant J. C. et par la suite, sa culture s'est étendue aux autres pays méditerranéens et aux USA en 1854 (MOGHTADER, 2010).

### I-1- Taxonomie

La classification admise actuellement est rapportée par JUDD *et al.* (2002), LIEUTAGHI (2004) et YAAQOBI *et al.* (2009).

Règne: *Plantae*

Classe: *Magnoliopsida*

Ordre: *Sapindales*

Famille: *Anacardiaceae*

Genre: *Pistacia*

Une étude monographique du pistachier a été réalisée par ZOHARY (1954) in KHELIL et KELLAL (1980) montrant que le genre *Pistacia* comprend 11 espèces à savoir:

*Pistacia atlantica* Desf. ou pistachier de l'Atlas.

*Pistacia lentiscus* L. ou lentisque : fruits non comestibles

*Pistacia terebinthus* L. ou thérébinthe: fruits aigrelets comestibles

*Pistacia vera* ou pistachier cultivé.

*Pistacia afghanistania*, *P. chinensis*, *P. khinjuk*, *P. mexicana*,

*P. palestina*, *P. wienmannifolia*, *P. intergerrima*.

Le pistachier de l'atlas peut être classé en 4 sous-espèces, à savoir *mutica*, *calibula* qui se trouve au Pakistan, Afghanistan et au sud de l'Iran, *kurdica* qui se répartit dans la région de Zagros (Ouest de l'Iran), au sud de la

Turquie, en Syrie et en Palestine et enfin *atlantica* native du maghreb (BELHADJ et al, 2008 et YAAQOBI *et al.* , 2009). Ces sous-espèces présentent la même formule chromosomique de  $2n=28$  (GHAFFARI *et al.* , 2003).

## **I- 2- Répartition du pistachier en Algérie**

L'étude de la biodiversité intra et interpopulations devra être conduite en évaluant la variabilité des espèces locales traditionnelles et des sous-espèces spontanées en Algérie par l'étude des marqueurs morphologiques qualitatifs et quantitatifs. Les écotypes spontanés sont soumis à une érosion génétique causée par les incendies, déforestation, désertification, pollution, changement du climat, l'action du cheptel et enfin l'action de l'homme. Une enquête préliminaire a montré que plusieurs espèces endémiques se trouvent réparties comme suit sur le territoire :

(i) *Pistacia lentiscus*, dans le bassin de la Soumam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège.

(ii) *Pistacia terebinthus*, dans le bassin de la Soumam, le versant Nord du Djurdjura et dans le bassin d'El Kseur, en association avec le pin d'Alep et le chêne vert.

(iii) *Pistacia atlantica*, dans les hauts plateaux et l'Atlas saharien en association avec le *Ziziphus lotus* et le pin d'Alep (BELHADJ, 2003 et CHOAKI, 2006).

## **I-3- Description du pistachier de l'atlas**

Le pistachier de l'atlas est une espèce dioïque, ligneuse et spontanée pouvant atteindre 10 à 20 mètres de haut, à tronc bien individualisé et à

frondaison hémisphérique, le port est arrondi et à ramifications étalées. Le rameau jeune est rougeâtre à feuillage caduc, composé, imparipenné (7 à 9 folioles ovales acuminées, tomenteuses puis coriaces à l'âge adulte).

Les fleurs sont apétales et rougeâtres, en grappes lâches, terminales pour les mâles et axillaires pour les femelles, la pollinisation est effectuée par le vent (anémophile).

Les fruits gros comme un pois sont appelés *ELkhodiri* par les populations locales en raison de la prédominance de la couleur verte foncée à la maturité, ce sont des drupes (ne dépassant pas le centimètre) légèrement ovales quelque fois allongés à épiderme qui se ride en séchant sur un endocarpe induré mais très mince abritant deux cotylédons, riches en huile dense très énergétique (MONJAUSE, 1980 et BELHADJ *et al.*, 2008).

L'écorce est d'abord rougeâtre, puis grisâtre assez claire avant de devenir craquelée et crevassée (rhytidome), se détachant du tronc.

Le pistachier de l'atlas est appelé en arabe local betoum, betouma, botma ou encore boutmaia (en Afrique du nord) et boutmela au proche-orient, iggh en berbère. Cet arbre est également appelé pistache sauvage ou faux pistachier (MONJAUSE, 1980 et HADJAISSA, 2004).

Le pistachier de l'atlas est l'une des rares espèces arborescentes présentes dans les régions semi arides, arides et voir même sahariennes (SMAIL SAADOUN, 2005). Il colonise de façon diffuse un territoire considérable centré sur les pays méditerranéens à saison sèche et chaude bien marquée, il est le plus ubiquiste des arbres du nord de l'Afrique et du proche orient, cependant MONJAUSE (1980) le qualifie d'endémique en Afrique. En Algérie, il existe à l'état disséminé dans la région de Djelfa (Senalba, Ain Oussara, Messaad), Laghouat (partie sud) et Ghardaia (dans l'ouest m'zab), sa limite extrême se trouve en plein cœur du Hoggar où il existe à l'état de relique. (MONJAUSE, 1980).

Le pistachier de l'atlas se régénère et pousse toujours à proximité du jujubier (*Ziziphus lotus*) qui constituerait une bonne protection aux jeunes pousses contre les vents et le pâturage.

En raison de sa rusticité, le pistachier de l'atlas pourrait être employé comme essence de reboisement dans les stations difficiles, incultes. Il développe d'une part un système racinaire très puissant qui participe à la fixation des sols et d'autre part très étendu et très profond permettant à l'arbre de demeurer vert même en années de sécheresse (OUKABLI, 1994 et HADJAISSA, 2004). Il s'accommode d'une faible pluviométrie de l'ordre de 150 mm et parfois moins et résiste au calcaire et à la salinité (4 – 6 g de NaCl / litre d'eau).

D'après SMAIL SAADOUN (2005) il se pourrait que l'adaptation de cette espèce au manque d'eau soit due par : une absence totale de stomates au niveau de la face supérieure des feuilles ainsi que de la présence de stomates de type paracytique mésopérigène au niveau de la face inférieure de la feuille.

Le pistachier de l'atlas est très utile comme porte-greffe de *Pistacia vera*, les arbres greffés sont d'une grande vigueur et d'une longévité remarquable (MONASTRA *et al.* , 2000).

Les graines de pistachier de l'atlas sont riches en lipides (**Tableau 1 et 2**) notamment en acides gras insaturés (oléique et linoléique) et en phytostérols, présentant des intérêts diététiques et nutritionnels.

**Tableau 1: Composition des acides gras (en mg par 100g de matière sèche) des graines du pistachier de l'atlas.**

| <b>Acide gras</b>                  | <b>Mg/100 g MS</b> | <b>%</b>     |
|------------------------------------|--------------------|--------------|
| <b>Acide laurique (12: 0)</b>      | <b>40</b>          | <b>0.07</b>  |
| <b>Acide myristique (14: 0)</b>    | <b>50</b>          | <b>0.09</b>  |
| <b>Acide palmitique (16:0)</b>     | <b>6900</b>        | <b>12.21</b> |
| <b>Acide palmitoléique (16:1)</b>  | <b>1000</b>        | <b>1.77</b>  |
| <b>Acide stéarique (18:0)</b>      | <b>1350</b>        | <b>2.39</b>  |
| <b>Acide oléique (18:1)</b>        | <b>30600</b>       | <b>54.15</b> |
| <b>Acide linoléique (18: 2)</b>    | <b>16300</b>       | <b>28.84</b> |
| <b>Acide linoléinique (18:3)</b>   | <b>240</b>         | <b>0.42</b>  |
| <b>Acide arachidonique (20: 0)</b> | <b>30</b>          | <b>0.05</b>  |
| <b>Total des acides gras</b>       | <b>56510</b>       | <b>100</b>   |
| <b>Acides gras saturés</b>         | <b>8370</b>        | <b>14.81</b> |
| <b>Acides gras mono insaturés</b>  | <b>31600</b>       | <b>55.92</b> |
| <b>Acides gras poly insaturés</b>  | <b>16540</b>       | <b>29.27</b> |

(Source: GHALEM et BENHASSAINI, 2007).

**Tableau 2 : Composition des phytostérols (en mg par 100g de matière sèche) des graines de pistachier de l'atlas.**

| <b>Stérols</b>           | <b>mg/100 g MS</b> | <b>%</b>   |
|--------------------------|--------------------|------------|
| <b>β-sitostérol</b>      | <b>95.55</b>       | <b>91</b>  |
| <b>Campestérol</b>       | <b>5.25</b>        | <b>5</b>   |
| <b>Stigmastérol</b>      | <b>4.20</b>        | <b>4</b>   |
| <b>Total des sterols</b> | <b>105</b>         | <b>100</b> |

(Source: GHALEM et BENHASSAINI, 2007).

Du point de vue médical, les huiles essentielles de l'oléorésine sont utiles dans les maladies abdominales, comme antiseptique et hypoglycémiant (GOURINE *et al.* , 2010).

Du point de vue comestible une huile de table peut être obtenue à partir des graines.

En Algérie la culture reste faible malgré son potentiel d'adaptation aux conditions arides du milieu. Les conditions climatiques de la plupart des régions steppiques, semi-arides et arides de notre pays sont favorables à son extension. Au contraire c'est l'inverse qui est en train de se produire, l'aire du pistachier ne cesse de décliner en raison d'une part, du peu d'intérêt des décideurs à cette espèce (budgets très limités pour l'entretien et la régénération des pistacheraies naturelles des dayas) et d'autre part, aggravé par une exploitation anarchique des arbres (bois de chauffage, pâturage) et le mauvais état sanitaire.

Très peu d'études biologiques ont été réalisées sur le pistachier de l'atlas en Algérie (SMAIL SAADOUN, 2005 et BELHADJ *et al.* 2008 et 2011).

Par ailleurs l'analyse phytochimique des différentes parties de l'arbre du pistachier de l'atlas a fait l'objet de quelques travaux sur la composition des fruits en acides gras, acides aminés et des phytostérols (GHALEM et BENHASSAINI, 2007) et sur la composition chimique des huiles essentielles des feuilles, des fruits et de l'oléorésine (DELAZAR *et al.* , 2004; BARRERO *et al.* , 2005; GOURINE *et al.* ,2009 et GOURINE *et al.* , 2010).

Des études se sont intéressées à l'activité antioxydante des extraits phénoliques de l'arbre (BENHAMOU *et al.* , 2008 et MAAMRI, 2008), ainsi qu'à l'activité antimicrobienne et antileishmanienne (MAAMRI ,2008; GHALEM et MOHAMED, 2009 et BENABDERRAHMANE *et al.* , 2009).

## **II- Les huiles essentielles**

### **II-1- Définition**

L'huile essentielle est un extrait végétal provenant des plantes dites: aromatiques qui contiennent donc dans leurs feuilles, fruits, graines, écorces, ou racines, un grand nombre de molécules aromatiques, qui constituent le ou les principes essentielles des plantes. Les huiles essentielles sont des substances de consistance huileuse, plus au moins fluides, voire résinoïde très odorantes, volatiles, souvent colorées : du jaune pâle au rouge foncé voir brun, en passant par le vert émeraude ou encore le bleu. Elles sont plus légères que l'eau (densité de l'ordre de : 0,750 à 0,990).

Ces essences sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, mais insolubles dans l'eau (BARDEAU, 2009).

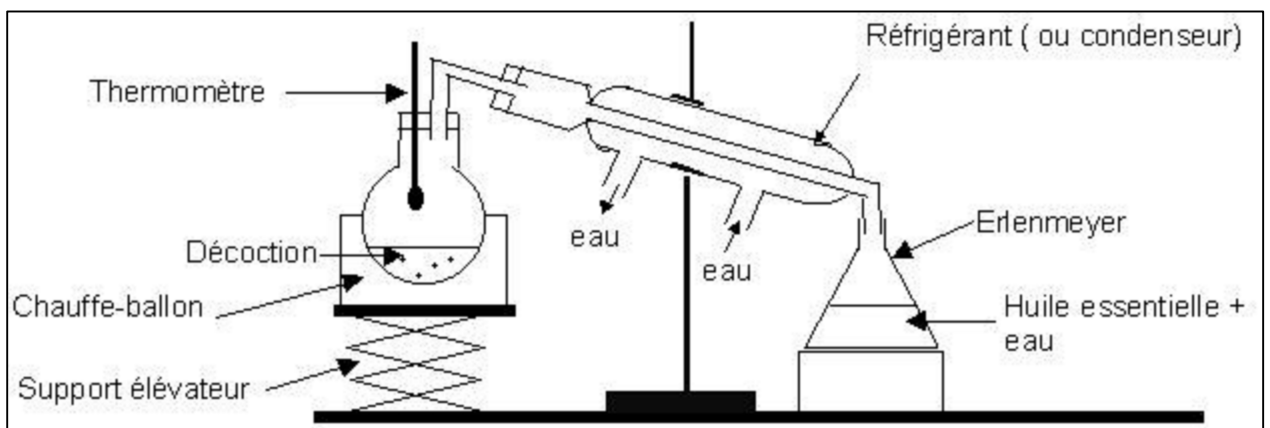
Ce sont des métabolites secondaires, la plante utilise l'huile pour favoriser la pollinisation, comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques et conservant l'humidité des plantes dans les climats désertiques (MOHAMMEDI, 2006).

### **II- 2- Méthodes d'extraction**

Le procédé le plus ancien consiste à briser les cellules productrices des huiles, avec des pierres ou instruments en bois à la température ambiante, pour libérer leurs contenus (BASTER et BUCHBAUER, 2009). Les méthodes utilisées actuellement sont les suivantes:

**-Hydrodistillation** Qui consiste à séparer d'un mélange complexe, un ou plusieurs composés insolubles dans l'eau, on ajoute de l'eau dans ce mélange et on porte l'ensemble à l'ébullition.

Lorsque la vapeur ou l'eau à ébullition vient en contact avec les cellules, qui contiennent les huiles essentielles, elles se réchauffent et se brisent, permettant la libération des huiles essentielles à l'état gazeux, ces dernières passent dans l'équipement de distillation avec la vapeur d'eau. Les vapeurs se condensent dans le réfrigérant qui se refroidit par la circulation continue d'eau (**Figure 1**), pour donner à la fin un mélange qui contient l'eau et les huiles essentielles (ROSE et EARLE, 1996 et MESPLEDE, 2004).



**Figure 1 : Montage d'hydrodistillation.**

**-Extraction par les solvants volatils** qui supplante de plus en plus l'hydrodistillation. Les solvants généralement utilisés sont l'hexane, le cyclohexane, ou le pentane. Les plantes sont immergées totalement dans le solvant à froid, le temps de contact est de 3 minutes (REVUZ, 2009).

**-Distillation par entraînement à la vapeur** où les plantes entières ou broyées, lorsqu'il s'agit d'organes durs (racines, écorce), sont disposés dans un alambic traversé par un courant de vapeur d'eau, sous l'effet de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur, qui sous basse pression, traverse alors la cuve



remplis de plante aromatiques. La vapeur d'eau qui a volatilisé et entraîné l'huile essentielle, se condense ensuite dans le serpentin du réfrigérant. Dans la méthode de distillation, le rendement en huiles essentielles est faible, de l'ordre de 0,1 à 3 % (ROUX, 2008).

**-L'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique** qui est le procédé le plus récent, les matières premières obtenues sont proches du produit naturel d'origine sans trace résiduelle de solvant (MOHAMMEDI, 2006).

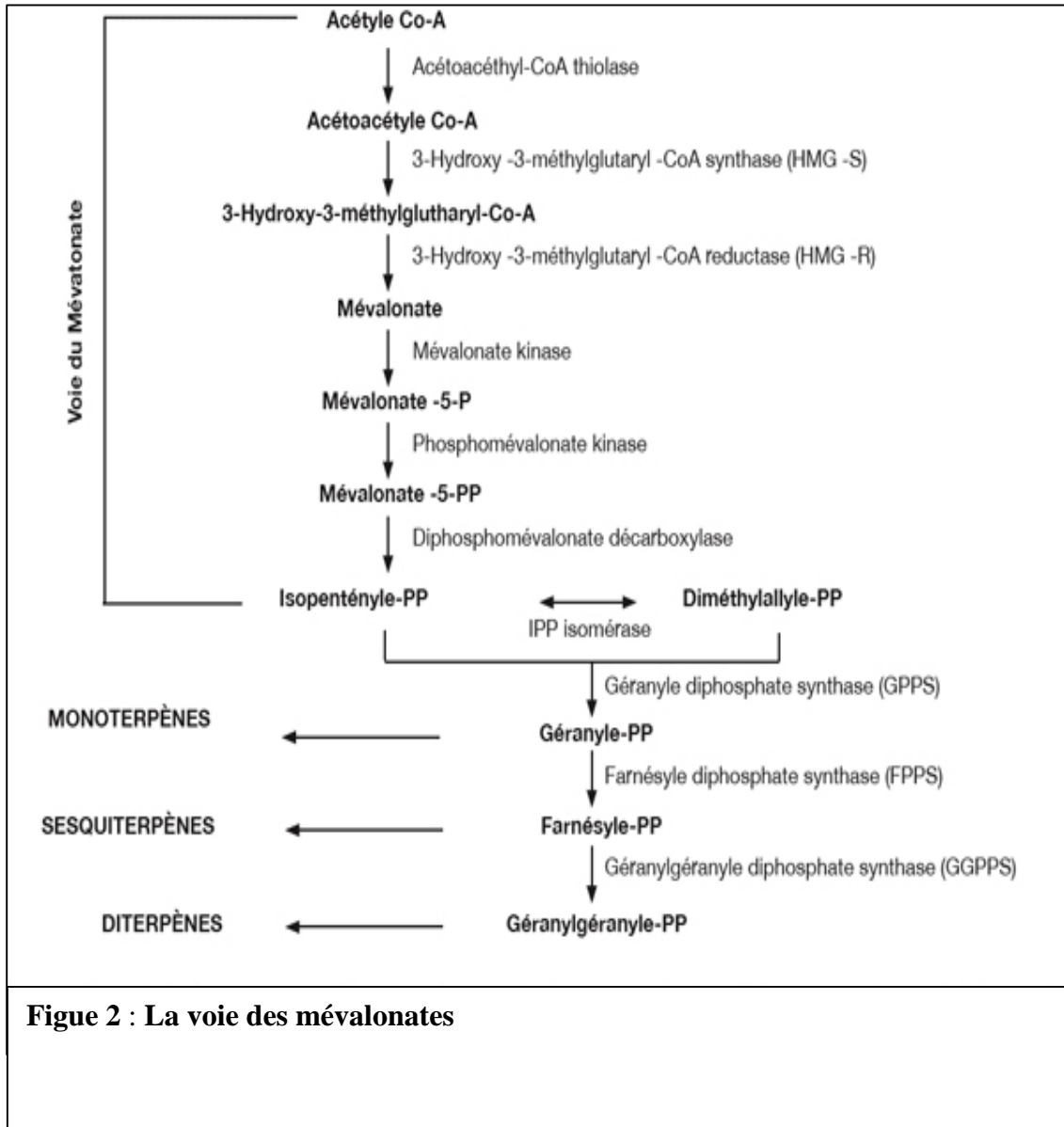
**-Méthode d'extraction par micro-onde** qui est une méthode encore récente, elle consiste à exposer le matériel végétal (avec l'eau) à des radiations de micro-onde (SAWAMURA, 2011).

### **II-3- Composition chimique**

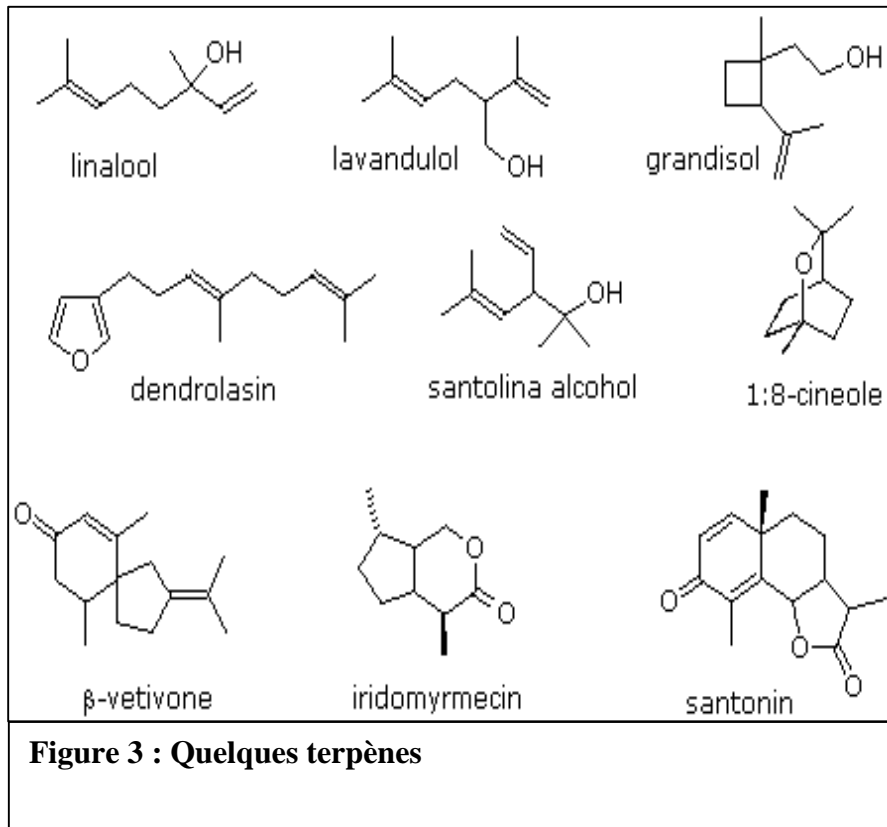
Les principaux constituants des huiles essentielles sont des terpènes (aliphatiques, acycliques, aromatiques...), des substances grasses, (intimement associées aux fonctions biologiques des organismes vivants) et plusieurs corps oxygénés aux propriétés chimiques diverses (alcools, aldéhydes, cétones, phénols, esters, acides organiques, coumarines, etc.). La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant plusieurs conditions: l'environnement, le génotype, origine géographique, la période de récolte, le séchage, l'état sanitaire, la flore adventice..... (BARDEAU, 2009 et MOHAMMEDI, 2006).

### **II-4- Biosynthèse et localisation**

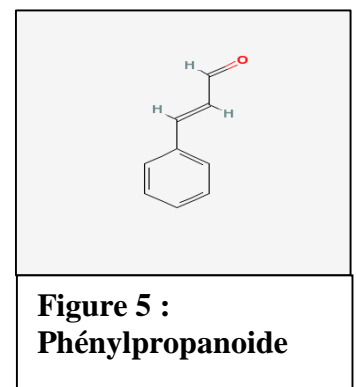
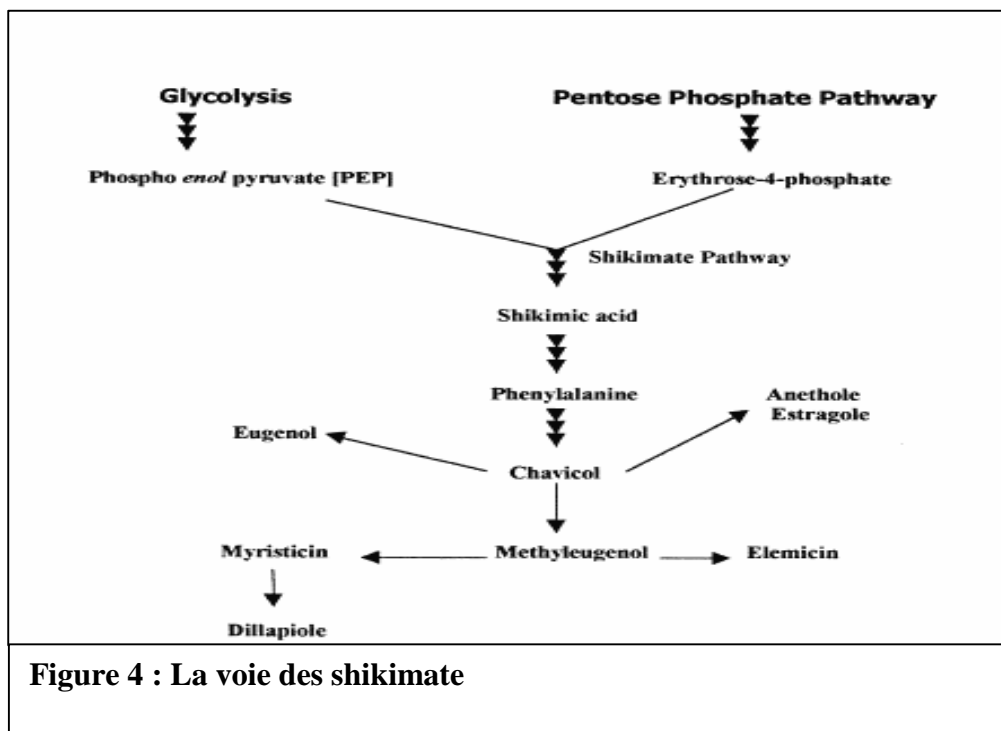
Les huiles synthétisées par les cellules se trouvent dans différentes parties de la plante et elles proviennent de deux grandes voies métaboliques: la voie des mévalonates (**Figure 2**) et la voie des shikimates (**Figure 4**).



La première voie comprend les matériaux volatils synthétisés via le précurseur isopentenyl pyrophosphate (IPP), se composent de mono-sesquiterpènes (**Figure 3**) et des matériaux oxygénés dérivés d'eux.



La voie de l'acide shikimique, qui donne naissance à des composés phénoliques, polyphénols, ou dérivés phénylpropanoïdes (**Figure 5**) (HOPKINS, 2003).



La synthèse des huiles essentielles est un indice de fertilité de la plante, elles se trouvent à l'intérieur des cellules spéciales (dans le cytoplasme ou les plastes) ou dans des espaces intercellulaires (exemple : les canaux à résine) (GUMBEL, 1993).

## II-5- Activités biologiques

L'action des huiles essentielles est le résultat de l'effet combiné de leurs composés actifs et inactifs, leur efficacité est largement augmentée lorsqu'elles sont diluées (BARDEAU, 2009 et MOHAMMEDI, 2006).

Quelques activités biologiques des huiles essentielles sont mentionnées dans le **Tableau 3**.

**Tableau 3 : Principaux composés des huiles essentielles et leurs activités biologiques.**

| Nom de l'élément biochimique | Activités biologiques   |
|------------------------------|---|
| <b>Les acides</b>            | Anti-inflammatoires très puissants, agissent en calmants le système nerveux.  |
| <b>Les aldéhydes</b>         | Anti- inflammatoires, Calmants du système nerveux, anti- infectieux, peuvent irriter les muqueuses et la peau.  |
| <b>Les cétones</b>           | Anti-inflammatoires, anti-infectieux, stimulent le système immunitaire à faibles doses, cicatrisantes, calmantes, à forte dose peuvent être neurotoxiques.<br>Les huiles essentielles riches en cétones ne doivent pas être employées seules.             |
| <b>Les coumarines</b>        | Anti-coagulantes.   |
| <b>Les éthers</b>            | Effets antalgiques, rééquilibrants nerveux (antidépresseur psychique).<br>Inversion des effets si les doses sont trop élevées.  |
| <b>Les esters</b>            | Rééquilibrants nerveux.   |
| <b>Les monoterpènes</b>      | Stimulants du système immunitaire, ont des propriétés antiseptiques, antalgiques.<br>Peuvent occasionner des brûlures importantes sur la peau donc leur action doit être limitée dans le temps.   |
| <b>Les phénols</b>           | Anti-infectieux, action contre les microbes, les champignons, les virus et les bactéries, irritants pour la peau et muqueuses (peuvent entraîner des brûlures).<br>Peuvent (en grande quantité) endommager le foie en détruisant les cellules hépatiques. |
| <b>Les sesquiterpènes</b>    | Anti-inflammatoires, anti-allergiques, emploi important en cosmétologie car ont une bonne tolérance avec la peau et ont des propriétés thérapeutiques   |

(Source: WILLEM, 2004).

## II-6- Action antimicrobienne des huiles essentielles

La valorisation des plantes médicinales et aromatiques passe essentiellement par l'extraction de leurs huiles essentielles. Ces dernières sont des produits à forte valeur ajoutées, utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires. L'étude des activités biologiques et biotechnologiques des extraits des plantes sont d'un grand intérêt. Les activités antimicrobiennes des huiles essentielles ont été rapportées dans plusieurs travaux expérimentaux (d'après BOUZOUITA *et al.*, 2008).

RHAYOUR (2002) a observé que le traitement des Mycobactéries par les huiles essentielles, engendre la turgescence des cellules bactériennes suite à l'entrée massive du milieu, qui ne peut être réalisée qu'à travers des ouvertures localisées au niveau de l'enveloppe cellulaire, alors que ce phénomène n'est pas observé en utilisant des antibacillaires.

SATRANI *et al.* (2007) ont relevé que l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus* est active contre les bactéries *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Micrococcus luteus*.

BOURKHISS *et al.* (2007) ont révélé que *S. aureus* et *Micrococcus luteus* sont sensibles aux huiles essentielles extraites de *Tetraclinis articulata*.

GHALEM et BENALI (2008) ont montré que les huiles essentielles des feuilles d' *Eucalyptus camaldulensis* et *Eucalyptus globulus* ont une activité antiseptique sur *E. coli* et *S.aureus*.

BOUZOUITA *et al.* (2008) ont rapporté l'effet antimicrobien de l'huile de *Juniperus phoenicea* qui se traduit par un effet inhibiteur sur quatre microorganismes (*Klebsiella oxytoca*, *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Geotrichum candidum*).

TARAN *et al.* (2010) ont montré que les huiles essentielles de *Pistacia khinjuk* ont une activité antibactérienne sur *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*.

GHALEM et MOHAMED (2009) et BENABDERRAHMANE *et al.* (2009) ont observé que les huiles essentielles extraites à partir de la résine du pistachier de l'atlas se caractérisent par une activité antimicrobienne sur *S. aureus*, *E. coli*, *Streptococcus pyogenes* et *Enterococcus faecalis*.

### **II-6-1- Techniques d'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles**

Elle se résume principalement à deux méthodes: liquide et solide.

#### **II-6-1-1- Techniques en milieu liquide**

##### **a) Méthode des disques de Sarbach**

L'essence est déposée à différentes concentrations sur des disques en papier filtre de 10 mm de diamètre, l'ensemble est placé dans des tubes à essai. Dans chaque tube est réparti un certain volume de bouillon nutritif ensemencé. Une agitation mécanique est assurée pendant toute la durée de l'incubation.

L'action bactéricide totale est confirmée par repiquage en milieu liquide d'une anse prélevée sur le milieu liquide de subculture. Le pouvoir bactéricide partiel est apprécié par l'évaluation du pourcentage de survivants par repiquage en milieu solide.

### **b) Méthode de Maruzuella**

Elle permet l'étude du pouvoir bactéricide en bouillon après solubilisation de l'huile essentielle dans l'éthanol.

Les solutions mères sont préparées dans l'éthanol à 95%, la solution alcoolique est ensuite répartie à différentes doses dans le milieu liquide préalablementensemencé. Après la durée d'incubation, on effectue des subcultures qui permettent d'évaluer les concentrations minimales inhibitrices (RHAYOUR, 2002).

## **II-6-1-2- Techniques en milieu solide**

### **a) Méthode de Vincent**

Elle est appelée aussi technique de l'antibioaromatogramme. Cette technique inspirée de celle des antibiogrammes, a été généralisée aux huiles essentielles.

Dans cette méthode, une culture bactérienne est effectuée à la surface d'une gélose spécialement étudiée, la gélose de Mueller-Hinton. Des disques pré imprégnés d'une dose connue d'huile essentielle sont déposés à la surface de la gélose. L'huile diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne seront possibles. La diffusion d'huile peut être théoriquement séparée en deux temps :

- ◆ Diffusion verticale: La diffusion de l'antibiotique (huile) donne dans un premier temps, une concentration initiale ( $C_i$ ) dans un cylindre délimité par le disque.

$$C_i = \frac{m}{(\text{Volume du cylindre})}, \quad C_i = \frac{m}{\pi R^2 h},$$

Soit  $m$  la masse d'antibiotique contenu dans le disque,  $R$  son diamètre et  $h$  la hauteur de la plaque de gélose.  $C_i$  dépend donc de la charge du disque et de la hauteur de la plaque de gélose.

- ◆ Diffusion horizontale: une diffusion horizontale donne un gradient de concentration dont le maximum se situe au niveau du disque (JOFFIN et LEYRAL, 2001).

La dilution des huiles essentielles se fait toujours dans un solvant tel que l'éthylène glycol, l'acétone ou l'éthanol à 95%.

Une variante de cette technique consiste en l'aménagement de cavité à l'emporte pièce, dans la gélose coulée et solidifiée en boîte. On remplit cette cavité d'un volume donné d'huile essentielle qui va diffuser dans la gélose, et on procède, après incubation, à la mesure du diamètre d'inhibition comme dans la technique précédente.

### **b) Méthode de Morel et Rochaix**

Elle permet d'évaluer le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles par solubilisation dans l'alcool à différentes concentrations et incorporation de chacune des concentrations dans un milieu gélosé,ensemencé, puis coulé



en boîtes de Pétri. L'alcool faciliterait la diffusion de l'essence dans le milieu.

### **c) Méthode de microatmosphère**

C'est une technique d'étude en phase vapeur. Son principe est d'ensemencer une boîte de Pétri avec les germes tests, tandis que l'on dépose quelques gouttes d'huile essentielle sur un papier filtre au fond et au centre du couvercle. La boîte est incubée couvercle en bas. Il se produit une évaporation des substances volatiles et on lit après incubation, la croissance des germes ou l'inhibition de leur croissance.

## **II-6-2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est enregistrée comme la plus petite dilution dans laquelle aucune croissance macroscopique n'est observée (KUETE *et al.* , 2004).

- *CMI en milieu liquide:*

On répartit dans une série de tubes à hémolyse un volume constant de bouillon nutritif, qu'on ensemence avec un inoculum fixe de bactéries, puis on ajoute à ces tubes des quantités croissantes d'huile à étudier (0,25-0,5-1-2-4-8-16-32 µg/ml) . Un tube témoin est laissé sans antibiotique. Après une nuit d'incubation à 37°C, les tubes sont soigneusement examinés.

Le tube témoin sans huile est uniformément trouble. Le premier tube de la série demeuré limpide indique précisément la CMI.

- *CMI en milieu solide:*

On répartit aux mêmes doses croissantes d'huile dans des tubes de gélose en fusion et ramené à 40°C environ. Puis chaque tube, avec sa propre dose d'antibiotique, est coulé dans une boîte de Pétri où la gélose va se solidifier.

La CMI sera donnée par la première des concentrations d'huile qui supprime sur la gélose toute culture apparente (AMHIS *et al.* , 2001).

La technique de la CMI, pose un problème de diffusion et d'homogénéité de dispersion avec les huiles essentielles qui ont une très faible solubilité dans les milieux de culture aqueux.

Ce problème a été résolu en partie par l'utilisation d'émulsions des huiles essentielles dans des solutions de différents détergents comme le Tween 20 et le Tween 80 ou de solvant comme l'éthanol.

Les CMI obtenues en absence de détergents ou de solvants sont nettement inférieures à celles obtenues en leur présence. Ceci démontre que le Tween et l'éthanol, couramment utilisés dans ce type d'étude, exercent une inhibition sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles (RHAYOUR, 2002).

Partie 2 :

Partie Expérimentale

# Chapitre I :

## *Matériels et Méthodes*

Le présent travail a été réalisé en quatre phases :

## **I-1- Etude morphologique des feuilles**

### **I-1-1- Lieu et climat des régions de la collecte des échantillons**

L'étude a été effectuée sur des feuilles qui proviennent de deux sites en Algérie (**Tableau 4**):

-La région d'Ouled Djellel de la wilaya de Biskra (100 km au sud du Biskra) qui est caractérisée par un climat : sec et chaud en été (température entre 35 et 45 °C le jour, et entre 25 et 35 °C la nuit), il est sec et froid en hiver (température entre 10 et 20 °C le jour, et entre -2 et 5 °C la nuit).

-La région de Ain Oussara de la wilaya de Djelfa (100 km au nord du Djelfa) caractérisée par un climat aride frais.

Il est a signalé que la région de Messaad (60 Km de la wilaya de Djelfa) a été utilisée comme référence (BELHADJ *et al.* , 2008).

**Tableau 4 : Principales données climatiques des stations étudiées.**

| <b>Station</b>       | <b>Latitude</b> | <b>Longitude</b> | <b>Altitude (m)</b> | <b>Etage<br/>bioclimatique</b> |
|----------------------|-----------------|------------------|---------------------|--------------------------------|
| <b>Ouled Djellel</b> | 34°48' N        | 05°44' E         | 189(aéroport)       | Arde frais                     |
| <b>Ain Oussara</b>   | 35°25' N        | 02°50' E         | 820                 | Arde frais                     |
| <b>Messaad</b>       | 34°11' N        | 03°36' E         | 780                 | Arde frais                     |

### I-1-2- Echantillonnage et mesures biométriques

Les feuilles et les fruits ont été récoltés aléatoirement sur une dizaine d'arbres (15 feuilles et 5 fruits par arbre) sur une période de deux mois (juin et juillet 2010).

Une caractérisation par des mesures biométriques a été réalisée : longueur et largeur de la feuille, longueur et largeur du foliole terminale, longueur et largeur du fruit ont été fait à l'aide d'une règle graduée et papier millimétrique, une balance a été utilisée pour la mesure du poids de fruit.



**Figure 6 : Arbre de *Pistacia atlantica* Desf. de la région d'Ouled Djellel (Biskra)**

D'autres caractères ont été analysés comme le nombre de folioles par feuille, la forme de la foliole terminale, la couleur et l'odeur de la feuille, la forme de la base et la forme de l'apex et le bord de la foliole terminale ainsi qu'une description de l'épaisseur de la feuille.

### **I-1-3- Etude statistique**

Les données quantitatives obtenues nous ont permis de faire une étude statistique (calcul des moyennes, variances, écart type) par le programme EXCEL (**Annexes 3 et 4**). On a utilisé le tableau des moyennes des huit caractéristiques quantitatives de chaque site pour une analyse en composantes principales (**ACP**) et une classification hiérarchique par **la méthode de Ward**.

Pour plus de précision, les cinq caractéristiques quantitatives : longueur, largeur de la feuille, nombre de folioles, longueur et largeur du foliole terminale des deux sites (Ouled Djellel et Ain Oussara), sont utilisées pour tester si les deux échantillons proviennent de la même population par le test de **Kolmogorov-Smirnov**.

### **I-2- Extraction des huiles essentielles à partir des feuilles et d'oléorésine**

Une quantité considérable de feuilles récoltées au cours des mois d'avril, juin et juillet du site d' Ouled Djellel ont été séchées à l'air libre et à l'ombre, pour être utilisées ultérieurement lors de l'hydrodistillation, ainsi que de l'oléorésine qui exsude naturellement de l'arbre collecté durant le mois de juin et juillet 2011.

#### **I-2-1- La méthode d'hydrodistillation**

Selon le protocole décrit par MESPLEDE (2004), et GOURINE *et al.* (2009), on introduit 150 g de feuilles sèches de *Pistacia atlantica* et 500 ml d'eau en présence de pierres ponce dans un ballon bicolis muni d'une ampoule

de coulée, surmonté d'une tête de distillation comportant un thermomètre et raccordée à un réfrigérant, on porte le tout à l'ébullition pendant 8 h.

On ajoute peu à peu de l'eau par l'ampoule de coulée afin de maintenir le volume d'eau constant dans le ballon.

La distillation est poursuivie jusqu'à l'obtention de 100 ml de distillat. Le distillat est transvasé dans une ampoule à décanter et l'extraction est réalisée par trois fois avec 10 ml d'hexane.

Le séchage des phases organiques est effectué par le sulfate de sodium anhydre.

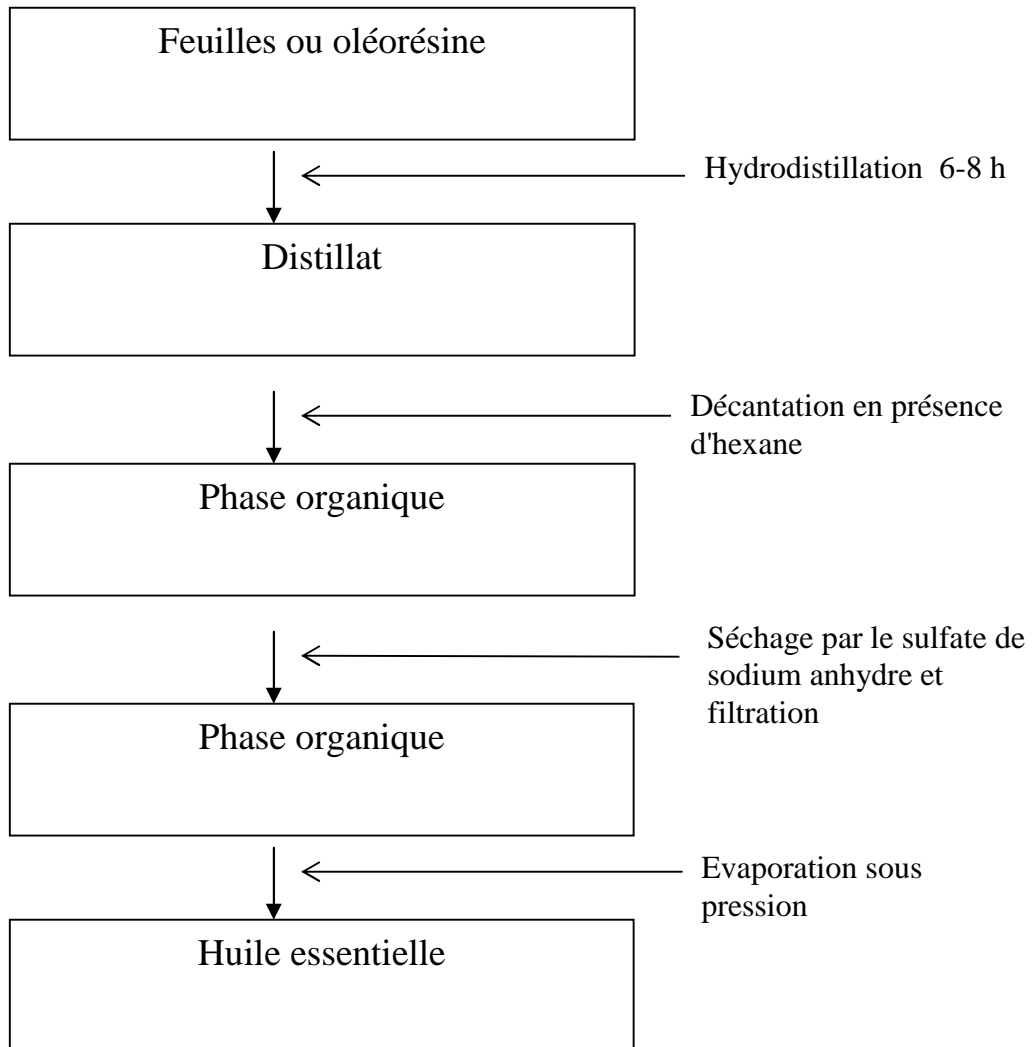
Après filtration et évaporation du solvant sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif, on récupère les huiles essentielles.

L'extraction de l'huile essentielle d'oléorésine (**Figure 7**), a été faite selon les mêmes étapes décrites, sauf que le poids de la matière sèche a été de 10 g et la durée de distillation a été de 6 heures (**Figure 8**).



**Figure 7 : L'oléorésine de *Pistacia atlantica* Desf.**





**Figure 8 : Schéma récapitulatif des étapes de l'extraction des huiles essentielles**

### I-2-2- Calcul du rendement

Le rendement en huiles essentielles est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante traitée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

$$\frac{P_h}{P_p} \times 100$$

$P_h$ : poids de l'huile essentielle

$P_p$ : poids de la plante traitée

### **I-3- Analyse de la composition chimique des huiles essentielles par la chromatographie en phase gazeuse et résonance magnétique nucléaire du carbone 13**

La détermination de la composition chimique de nos huiles essentielles a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire du carbone 13 (RMN-13C), au niveau du laboratoire du centre de recherche de Vignola en France.

#### ***-Principe :***

En CPG, l'échantillon est vaporisé à l'entrée d'une colonne qui renferme une substance active solide ou liquide appelé phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz vecteur. Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne en fonction de l'affinité de la phase stationnaire.

La RMN du proton du carbone permet une analyse structurale des composés organiques (GOUSOU *et al.* , 1999).

#### ***-Conditions opératoires :***

Les analyses en CPG ont été réalisées à l'aide d'un appareil Perkin Elmer autosystem, équipé d'un injecteur diviseur, de deux colonnes (50 x 0,22 mm d.i.; épaisseur du film: 0,25 µm) apolaire (BP-1, polyméthylsiloxane), polaire (BP-20, polyéthylène glycol) et de deux détecteurs à ionisation de flamme. Les conditions opératoires sont les suivantes: gaz vecteur: hélium pression en tête de colonne: 20psi; température de l'injecteur: 250°C; température des détecteurs: 250°C, programmation de température: de 60 à 220°C (80 mn) à 2°C/mn, avec un palier de 20 mn à 220°C; injection: mode split 1/60.

Les spectres de RMN ont été enregistrés sur deux différents appareils Bruker dans le chloroforme deutéré et les déplacements chimiques ( ) sont

donnés en ppm par rapport au tétraméthyl silane (TMS) pris comme référence interne. Ces spectres du carbone-13 ont été enregistrés avec les paramètres suivants: Sonde de 10 mm ou (5 mm): durée de l'impulsion 5 ms ou (2,8 ms) (angle d'impulsion 45°); temps d'acquisition = 1,3 s correspondant à une acquisition de 32 K avec une largeur spectrale (SW) de 12500 Hz (250 ppm); résolution digitale de 0,763 Hz/pt; temps de répétition entre deux expériences = 3,3 s. Pour l'enregistrement des spectres des huiles essentielles, 200 mg ou (70 mg) d'huile essentielle sont dissous dans 2 ml ou (5ml) de chloroforme deutéré (CDCl<sub>3</sub>). Le nombre d'accumulation est compris entre 2000 et 10000 pour chaque enregistrement. Découplage pulsé («Composite Phase Decoupling »). Les données du signal de précession libre (FID) sont multipliées avant la transformée de Fourier par une fonction exponentielle (LB = 1,0 Hz).

### *Identification des composés*

L'identification des composés dans chaque huile essentielle est basée:

- Sur la comparaison de leur indice de rétention (Ir) sur les colonnes apolaires et polaires, déterminées par rapport aux indices de rétention des composés de référence.
- Sur la comparaison des déplacements chimiques RMN-13C de l'huile essentielle avec ceux des composés de référence connus dans les bibliothèques de spectres à l'aide de logiciel.

### **I-4- Etude de l'effet antimicrobien**

Les souches utilisées sont présentées dans le **Tableau 5**, elles sont toutes issues de prélèvements hospitaliers à l'Hôpital de Sétif et sont conservées à 5°C dans des boîtes de Pétri stériles contenant de la gélose nutritive.

Tableau 5 : Les souches microbiennes testées.

| <b>Souche microbienne</b>                                       | <b>Gram, morphologie, autres caractéristiques</b> | <b>Habitat et mode de contamination</b>  | <b>Maladie type</b>   |
|---|---|--|---|
| <i>Staphylococcus aureus</i>                                    | Gram positif, cocci en grappes de raisin          | Nez, peau (porteurs), pénètre par les lésions de la peau et des muqueuses, ingestion de la nourriture contenant de la toxine | Infections pyogènes abcès de nombreux organes, septicémie, intoxication alimentaire |
| <i>Escherichia coli</i><br><i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) | Gram négatif , bacilles, anaérobies               | Contamination fécale de l'eau, de la nourriture  | Diarrhée sécrétoire (tourista), septicémie, méningite                               |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>                                    | Gram négatif, bacilles                            | Le plus souvent par inhalation   | Pneumonie, maladies inflammatoires  |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                                   | Gram négatif, bacilles                            | Eau, sol, nourriture, inhalation, ingestion, pénétration à travers des lésions de l'épithélium                               | Infections pyogènes chez les brûlés, les diabétiques; infection pulmonaire          |
| <i>Candida albicans</i>   | Champignon lévuriforme                            | endosaprophyte du tube digestif et des muqueuses génitales   | Candidoses buccales et digestives, Candidoses génitales, Candidoses des phanères    |

(Source: SCHAECHTER *et al.* , 1999 et VENEREOL, 2003).

Les milieux de culture employés pour notre étude sont: la gélose nutritive et bouillon, la gélose Mueller Hinton (c'est une gélose riche) et la gélose Sabouraud pour *Candida albicans*. .

A partir d'un isolement des souches obtenu après 24 heures, 1 à 10 colonies sont prélevées pour faire une suspension équivalente à un bouillon de 18 heures, quelques millilitres de cette culture sont ajoutés dans 5 à 10 ml d'eau physiologique, soit au final  $10^8$  bactéries par ml (JOFFIN et LAYRAL, 2001).

#### **I-4-1- Technique de l'antibiogramme**

##### **a) L'ensemencement**

**-Technique par inondation:** 3 à 5 ml de la suspension bactérienne prélevée à la pipette sont versés dans la boîte, il faut bien répartir la suspension en inclinant la boîte dans toutes les directions, l'excès de la suspension est aspiré par la pipette et les boîtes sont séchées à 37°C durant 15 minutes.

**-Technique d'écouvillonnage:** l'écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne et essoré dans les bords, la boîte est ensemencée en frottant délicatement l'écouvillon sur la gélose. Pour obtenir des stries croisées, la boîte est tournée, le séchage est inutile.

##### **b) Application des disques**

Des disques de papier buvard de 6 mm de diamètre, chargés d'un volume connu d'huile essentielle (15, 20 et 30  $\mu$ l), sont déposés à la surface en les appuyant légèrement à l'aide de la pince stérilisée.

Pour un volume de 50  $\mu$ l, une cavité à l'emporte pièce, dans la gélose coulée et solidifiée en boîte, est remplie. Chaque test est répété trois fois.

Des disques de gentamicine sont pris comme antibiotique de référence (pour les souches bactériennes).

### **c) Incubation**

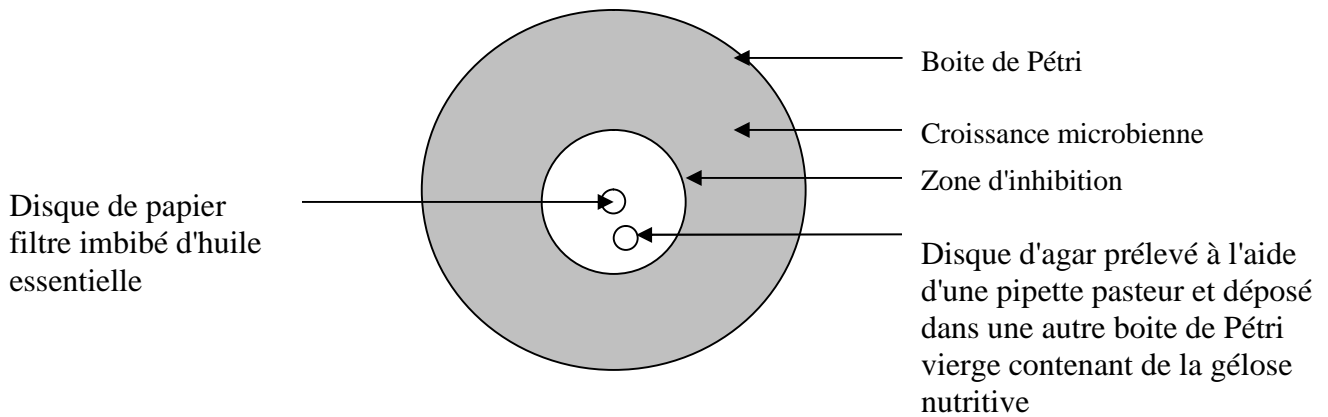
Les boîtes sont placées dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

### **d) Lecture**

L'activité antimicrobienne se manifeste par la formation d'un halo autour du disque, où la culture est absente, ce qu'on appelle diamètre d'inhibition qui sera mesuré en millimètre et comparé avec des diamètres de référence.

## **I-4-2- Nature de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles**

Pour déterminer la nature de l'activité antimicrobienne (bactéricide ou bactériostatique) nous nous sommes inspiré de la technique de HADDOUCHI et BENMANSOUR (2008) qui consiste en un prélèvement de disque d'agar de 6 mm (prélevé à partir de la zone d'inhibition sur la surface de la gélose nutritive) a été effectué (**Figure 9**).



**Figure 9 : Prélèvement d'un disque d'agar de la zone d'inhibition.**

#### **I-4-3- Détermination de la concentration minimale inhibitrice**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la concentration de l'agent antimicrobien la plus faible, pour laquelle la croissance microbienne n'est plus visible. La mesure de la CMI permet de déterminer si une souche est sensible ou résistante à l'agent antimicrobien testé (JOFFIN et LAYRAL, 2001).

Selon le protocole décrit par GHALEM et MOHAMED (2009), les souches sont ensemencées dans des boîtes de Pétri contenant la gélose de Mueller Hinton pour *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* et la gélose Sabouraud pour *C. albicans*, les dilutions suivantes : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, soit des concentrations de : 771,2, 257, 106, 52,06, 28,28 mg/ml d'huiles essentielles des feuilles sont placées dans les cavités. Une cavité remplie de 50  $\mu$ l d'éthanol est considérée comme contrôle. Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

Les mêmes étapes précédemment citées sont suivies avec l'huile essentielle d'oléorésine, soit des concentrations de : (510, 172,66, 60, 57, 18,05 mg/ml).

## **Chapitre II:**

### *Résultats et Discussion*



## II-1- L'étude morphologique

### II-1-1- Les caractères descriptifs

- *La région d'Ouled Djellel:*

Les feuilles sont composées, ovales, d'une couleur verte, épaisse et entière et d'une odeur intermédiaire. La forme de la base de la foliole terminale est atténuée avec quelques feuilles de forme obtuse, l'apex de la foliole terminale est acuminé.

- *La région de Ain Oussara:*

Les feuilles sont composées, ovales avec quelques feuilles de forme elliptique, d'une couleur verte, épaisse et entière et d'une odeur intermédiaire. La forme de la base de la foliole terminale est atténuée, quelques feuilles sont obliques, l'apex de la foliole terminale est acuminé.

### II-1-2- Les caractères biométriques

Les résultats des différents paramètres obtenus au niveau de nos deux stations ainsi que les valeurs prises comme références de la station de Messaad (BELHADJ *et al.* , 2008) sont représentés dans le **Tableau 6**.

#### II-1-2-1- Les feuilles

Il est à remarquer que les mensurations des paramètres de la station de Messaad prises comme référence, se caractérisent par les valeurs les plus basses.

Par contre, la station de Ain Oussara a enregistré les valeurs les plus élevées à l'exception du nombre des folioles où la station d'Ouled Djellel se démarque nettement vis-à-vis de ce paramètre.

**Tableau 6 : Résultats moyens des paramètres biométriques des feuilles et des fruits de pistachier de l'atlas des trois régions.**

|               | Longueur de la feuille (cm) | Largeur de la feuille (cm) | Nombre de folioles     | Longueur de la foliole terminale (cm) | Largeur de la foliole terminale (cm) | Longueur du fruit (mm) | Largeur du fruit (mm) | Poids du fruit (mg)      |
|---------------|-----------------------------|----------------------------|------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------|
| Ouled Djellel | 9,61 ± 1,75<br>CV: 18%      | 7,03 ± 1,22<br>CV: 17%     | 9,27 ± 1,56<br>CV: 17% | 3,41 ± 0,72<br>CV: 21%                | 1,06 ± 0,24<br>CV: 23%               | 6,90 ± 0,51<br>CV: 7%  | 5,12 ± 0,33<br>CV: 6% | 56,12 ± 10,17<br>CV: 18% |
| Ain Oussara   | 10,90 ± 1,88<br>CV: 17%     | 8,88 ± 1,42<br>CV: 16%     | 7,71 ± 1,75<br>CV: 23% | 4,42 ± 0,81<br>CV: 18%                | 1,31 ± 0,27<br>CV: 21%               | 6,62 ± 0,7<br>CV: 10%  | 5,06 ± 0,5<br>CV: 10% | 53,64 ± 13,5<br>CV: 25%  |
| Messaad       | 9,27 ± 1,9<br>CV: 20%       | 7,06 ± 1,3<br>CV: 18%      | 4,40 ± 0,8<br>CV: 18%  | 3,23 ± 1,3<br>CV: 40%                 | 0,91 ± 0,4<br>CV: 44%                | 6,65 ± 0,7<br>CV: 10%  | 5,34 ± 0,6<br>CV: 11% | 48,99 ± 11,5<br>CV: 23%  |

**Note:** moyenne ± écart type, CV: coefficient de variation (%).

La station de Ain Oussara se caractérise par la longueur et la largeur des feuilles les plus élevées. L'augmentation de la longueur est près de 18% par rapport à Messaad et insignifiante pour Ouled Djellel, alors que pour la largeur elle est de plus de 26% par rapport à Messaad.

La station d'Ouled Djellel se caractérise par le nombre de folioles le plus élevé. Les différences sont spectaculaires par rapport aux deux autres stations: elle est de plus du double (+110) par rapport à Messaad et plus de 75% pour Ain Oussara par rapport à Messaad.

L'augmentation de la longueur de la foliole est de près de plus de 37% pour Ain Oussara par rapport à celle de Messaad et elle est négligeable pour Ouled Djellel.

En ce qui concerne la largeur de la foliole, elle est de près de plus de 44% par rapport à celle de Messaad et seulement de près de 16% pour Ouled Djellel.

### II-1-2-2- Les fruits

Pour ce qui est mesures des fruits seule la station d'Ouled Djellel a été réalisée. Les deux autres stations ont été prise comme références.

Comparativement aux deux autres stations prises comme références, celle d'Ouled Djellel s'est démarquée nettement en ce qui concerne le poids des fruits où l'augmentation a été de plus de 14% par rapport à Messaad et assez négligeable par rapport à Ain Oussara (moins de 5%). Cette hausse du poids a été de +9% pour Ain Oussara par rapport à Messaad.

Les différences sont insignifiantes en ce qui concerne la largeur et la longueur du fruit.

Les coefficients de variation mettent en exergue l'existence d'une grande variabilité au niveau de la plupart des paramètres foliaires et pomologiques (poids des fruits) dénotant de l'hétérogénéité de nos mesures, à l'exception de la largeur et la longueur des fruits.

L'interprétation statistique à partir de la matrice de corrélation (obtenue par l'ACP) a montré que plusieurs caractères sont fortement corrélés entre eux (**Tableau 7**). La longueur de la feuille est fortement corrélée avec sa largeur ( $r= 0,98$ ), la longueur du foliole terminale ( $r= 1$ ), la largeur du foliole terminale ( $r= 0,98$ ) et négativement corrélée avec la largeur du fruit ( $r= -0,80$ ).

Des corrélations très étroites sont aussi enregistrées entre la largeur de la feuille et la longueur et la largeur du foliole terminale ( $r= 0,99$  et  $r= 0,92$  respectivement), ainsi qu'entre le nombre de folioles et le poids du fruit ( $r= 1$ ), la longueur du foliole terminale avec sa largeur ( $r= 0,97$ ).

La largeur du fruit est négativement corrélée avec son poids ( $r= -0,85$ ), avec la largeur du foliole terminale ( $r= -0,90$ ) et avec le nombre de folioles ( $r= -0,87$ ).

L'analyse des moyennes par l'ACP des différents caractères étudiés nous permet de considérer que les pistachiers de l'atlas des trois sites sont des variétés différentes avec un taux d'information de 66% sur le premier axe et de 34% sur le second axe (**Annexe 1**), soit au total 100% d'information conservée (**Figure 10**).

**Tableau 7: Matrice des corrélations par l' ACP.**

|              | <b>LonFe</b> | <b>LarFe</b> | <b>NbFo</b> | <b>LonFo</b> | <b>LarFo</b> | <b>LonFr</b> | <b>LarFr</b> | <b>PoiFr</b> |
|--------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>LonFe</b> | 1.00         | 0.98         | 0.39        | 1.00         | 0.98         | -0.41        | -0.80        | 0.36         |
| <b>LarFe</b> |              | 1.00         | 0.19        | 0.99         | 0.92         | -0.59        | -0.66        | 0.16         |
| <b>NbFo</b>  |              |              | 1.00        | 0.34         | 0.55         | 0.68         | -0.87        | 1.00         |
| <b>LonFo</b> |              |              |             | 1.00         | 0.97         | -0.46        | -0.76        | 0.31         |
| <b>LarFo</b> |              |              |             |              | 1.00         | -0.24        | -0.90        | 0.53         |
| <b>LonFr</b> |              |              |             |              |              | 1.00         | -0.22        | 0.70         |
| <b>LarFr</b> |              |              |             |              |              |              | 1.00         | -0.85        |
| <b>PoiFr</b> |              |              |             |              |              |              |              | 1.00         |

**LonFe** : Longueur de la feuille.

**LarFe** : Largeur de la feuille.

**NbFo** : Nombre du foliole.

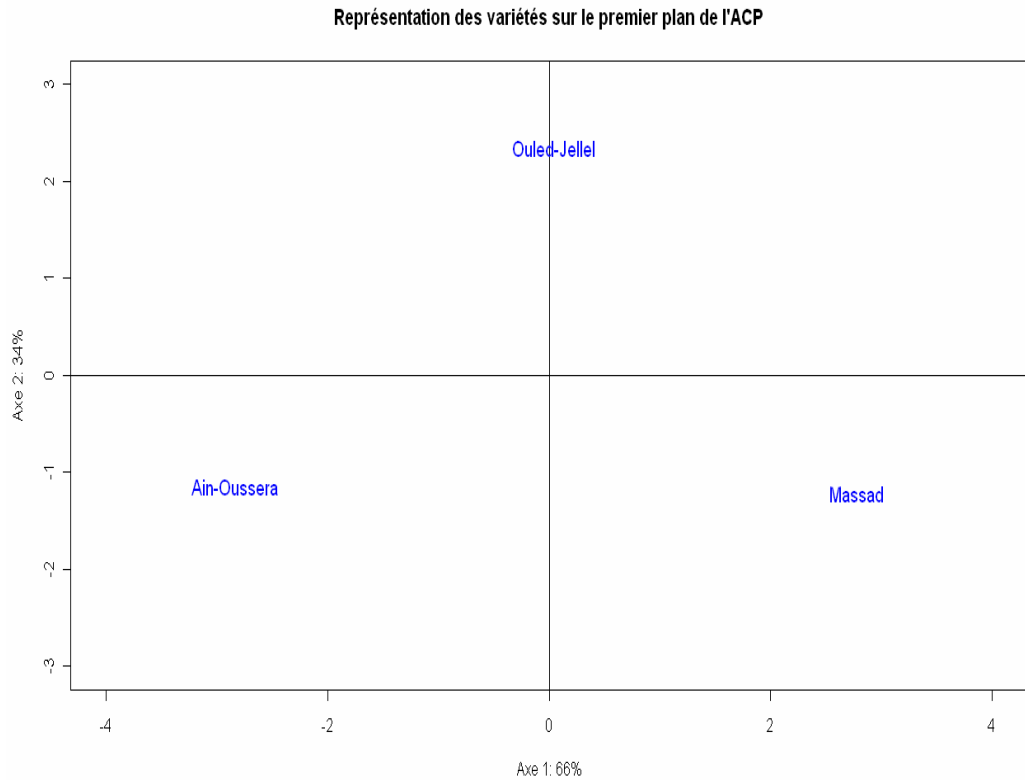
**LonFo** : Longueur de la foliole terminale.

**LarFo** : Largeur de la foliole terminale.

**LonFr** : Longueur du fruit.

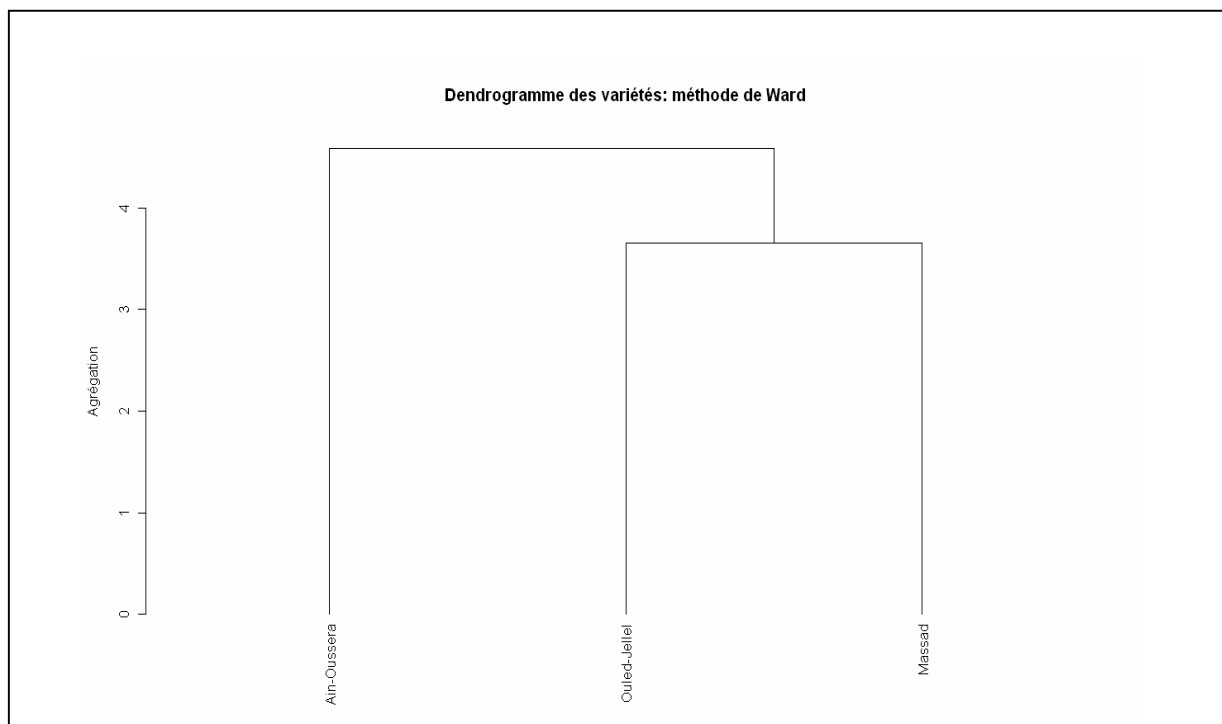
**LarFr** : Largeur du fruit.

**PoiFr** : Poids du fruit.



**Figure 10 : Représentation des variétés par l'ACP.**

La méthode de Ward a confirmé ce résultat en mesurant la distance entre les caractéristiques des trois échantillons pour donner naissance aux trois groupes différents. Ain Oussara est plus distante d'Ouled Djellel par rapport à Messaad, mais une distance de 3,66 (**Annexe 2**) entre Ouled Djellel et Messaad ne peut être traduite que comme significative (**Figure 11**).



**Figure 11 : Dendrogramme des variétés par la méthode de ward.**

La comparaison des valeurs des cinq caractères quantitatifs (largeur et longueur de la feuille, nombre de folioles, largeur et longueur de la foliole terminale) des deux provenances (Ouled Djellel et Ain Oussara) par le test de **Kolomogorov-Smirnov** a donné des p-valeurs négligeables. L'hypothèse nulle qui suggère que les deux échantillons proviennent de la même population est à rejeter avec n'importe quel niveau de signification (en particulier 5%).

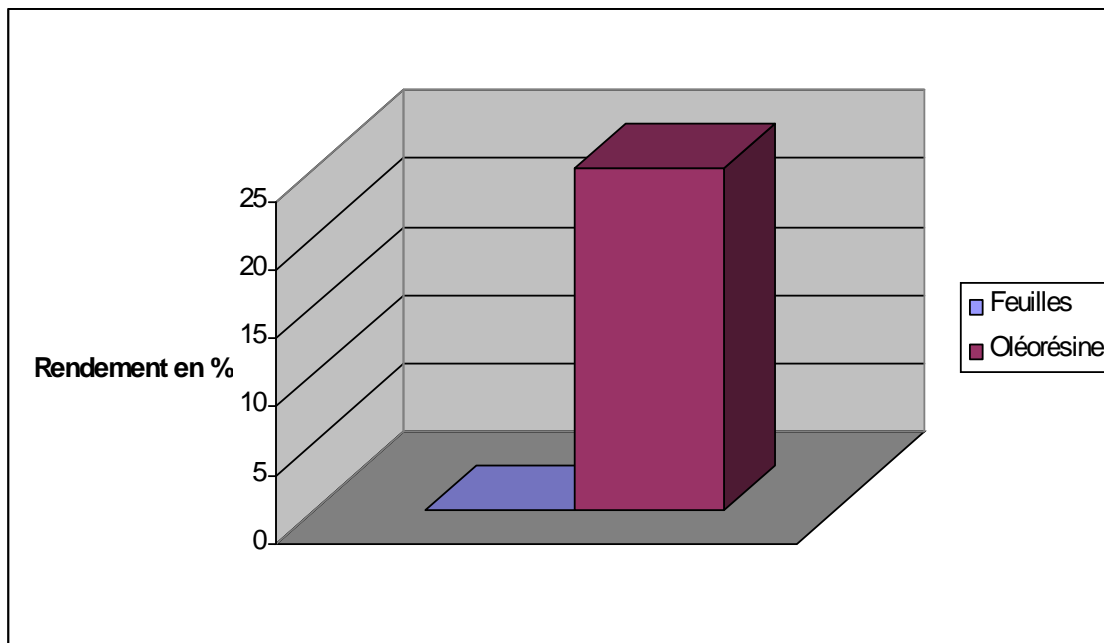
Les différences obtenues sur les trois sites, peuvent être dues à l'âge des individus ou aux facteurs écologiques (BELHADJ *et al.* , 2008). Une étude de ROYER *et al.* (2008) a montré que les dimensions et la morphologie des feuilles sont affectées par le climat qui entraîne des variations au sein d'une même espèce (polymorphisme foliaire).

## II-2- Les huiles essentielles

### II-2-1- Le rendement en huiles essentielles

Nous avons obtenu un rendement de 0,24% à partir des feuilles et de 25% à partir de l'oléorésine (**Figure 12**). A titre de comparaison BARRERO *et al.* (2005) ont trouvé un rendement en huiles essentielles à partir des feuilles égal à 0,2% et de 32,6% à partir de l'oléorésine.

Un rendement très faible et qui tends vers 0, est obtenu à partir des feuilles recueillies en mois d'avril.



**Figure 12 : Rendement en huiles essentielles des feuilles et de l'oléorésine de *P. atatica* Desf.**

## II-2-2- L'analyse chimique

L'analyse chimique de l'huile essentielle de l'oléorésine a mis en évidence seulement 8 composés représentant 86,6% des composants élués. Le profil chromatographique a montré que le monoterpène hydrocarboné  $\alpha$ -pinène est le composant majoritaire (63%) suivi du  $\beta$ -pinène (6,8%) et du trans-verbénol (6,6%) (**Tableau 8**). Nos résultats sont en accord avec ceux indiqués par BARRERO *et al.* (2005).

**Tableau 8:** Composition chimique de l'huile essentielle de l'oléorésine de *P. atlantica*  
L'ordre d'éluion est donné sur colonne apolaire. Ira et Irp: indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire (BP-20). %a: pourcentages mesurés sur colonne apolaire.

| Composés               | Ira  | Irp  | %a          | Mode d'identification        |
|------------------------|------|------|-------------|------------------------------|
| $\alpha$ -pinène       | 933  | 1028 | 63,0        | CPG(Ir), RMN <sup>13</sup> C |
| $\beta$ -pinène        | 972  | 1115 | 6,8         | " "                          |
| <i>p</i> -cymène       | 1013 | 1273 | 0,4         | " "                          |
| Limonene               | 1023 | 1204 | 0,8         | " "                          |
| <i>Cis</i> -verbénol   | 1124 | 1652 | 4,6         | " "                          |
| <i>Trans</i> -verbénol | 1129 | 1674 | 6,6         | " "                          |
| Myrténol               | 1170 | 1787 | 0,9         | " "                          |
| Verbénone              | 1181 | 1701 | 3,5         | " "                          |
| <b>TOTAL</b>           |      |      | <b>86,6</b> |                              |

Par contre 31 constituants ont été identifiés à partir de l'huile essentielle des feuilles, représentant 75,5 % de la composition totale de cette huile (**Tableau 9**). Des monoterpènes comme le terpinèn-4-ol (15,3%) et le  $\alpha$ -terpinéol (9,9%) sont majoritaires. On note aussi la présence, à un degré moindre, de globulol (7%), spathuléol (5,5%) rosifoliol (4,9%) et le lédène (3,9%). Les autres composés sont représentés en faibles quantités. Il a été signalé par GOURINE *et al.* (2009) que le  $\alpha$ -pinène et le  $\alpha$ -thujène sont les composés majeurs des pieds mâles et le  $\delta$ -3-carene chez les pieds femelles (le  $\alpha$ -thujène et le  $\delta$ -3-carene n'ont pas été détectés dans nos échantillons).



Ces variations peuvent être attribuées aux facteurs écologiques et environnementaux ainsi qu'au stade végétatif de la plante.

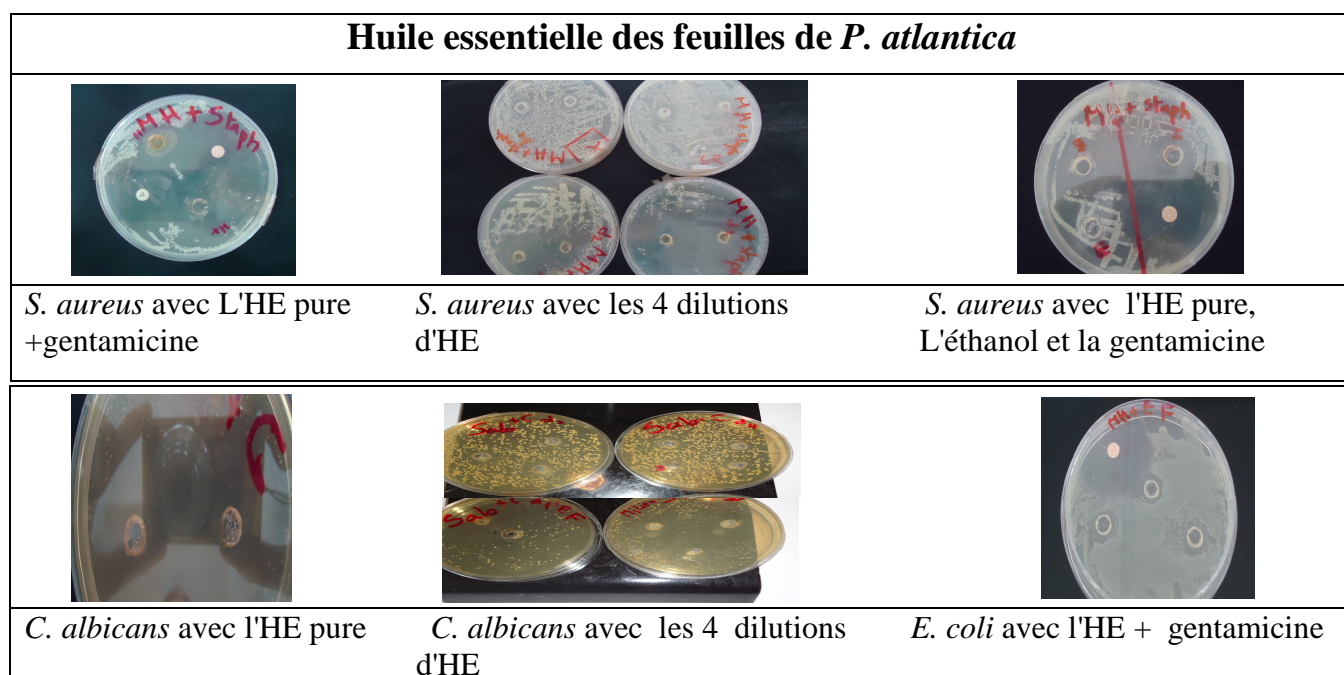
**Tableau 9:** Composition chimique d'huile essentielle des feuilles de *P. atlantica*  
L'ordre d'éluion est donné sur colonne apolaire. Ira et Irp: indices de rétention mesurés respectivement sur colonne apolaire (BP-1) et polaire (BP-20). %a: pourcentages mesurés sur colonne apolaire, excepté les composés suivis d'un astérisque (colonne polaire)

| Composés             | Ira  | Irp  | %a          | Mode d'identification        |
|----------------------|------|------|-------------|------------------------------|
| Hex-2-éнал           | 824  | 1221 | 1,1         | CPG(Ir), RMN <sup>13</sup> C |
| $\alpha$ -pinène     | 932  | 1026 | 2,3         | " "                          |
| Camphene             | 945  | 1071 | 1,1         | " "                          |
| Sabinène             | 966  | 1124 | 0,4         | " "                          |
| $\beta$ -pinène      | 972  | 1114 | 0,9         | " "                          |
| <i>p</i> -cymène     | 1013 | 1273 | 1,3         | " "                          |
| Limonene             | 1022 | 1203 | 0,6         | " "                          |
| Linalool             | 1084 | 1543 | 0,8         | " "                          |
| Terpinén-4-ol        | 1163 | 1599 | 15,3        | " "                          |
| $\alpha$ -terpinéol  | 1173 | 1692 | 9,9         | " "                          |
| Acétate de bornyle   | 1269 | 1578 | 1,3         | " "                          |
| (E)- -caryophyllène  | 1418 | 1592 | 2,5         | " "                          |
| Aromadendrène        | 1451 | 1606 | 1,0         | " "                          |
| Ishwarane            | 1458 | 1644 | 1,0         | " "                          |
| $\alpha$ -amorphène  | 1474 | 1687 | 0,4         | " "                          |
| Germacrène D         | 1476 | 1707 | 1,4         | " "                          |
| Tridécanal           | 1486 | 1824 | 0,5         | " "                          |
| Lédène*              | 1492 | 1694 | 3,9         | " "                          |
| Bicyclo-germacrène * | 1492 | 1731 | 2,7         | " "                          |
| $\delta$ -cadinène   | 1514 | 1754 | 0,8         | " "                          |
| Epi-globulo          | 1551 | 2005 | 1,2         | " "                          |
| Palustrol            | 1561 | 1921 | 1,3         | " "                          |
| Spathuléanol         | 1564 | 2119 | 5,5         | " "                          |
| Globulol             | 1575 | 2067 | 7,0         | " "                          |
| Viridiflorol         | 1582 | 2076 | 2,2         | " "                          |
| Rosifoliol           | 1584 | 2098 | 4,9         | " "                          |
| $\gamma$ -eudesmol   | 1618 | 2175 | 1,2         | " "                          |
| t-muurolol           | 1626 | 2198 | 0,8         | " "                          |
| $\beta$ -eudesmol b  | 1635 | 2241 | 0,5         | " "                          |
| $\alpha$ -cadinol    | 1638 | 2244 | 1,3         | " "                          |
| $\alpha$ -eudesmol   | 1640 | 2232 | 0,4         | " "                          |
| <b>TOTAL</b>         |      |      | <b>75,5</b> |                              |

## II-2-3- L'étude de l'activité antimicrobienne

### II-2-3-1- Huile foliaire

Les cinq souches: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* n'ont présenté aucune sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle extraite des feuilles aux trois doses: 15, 20 et 30  $\mu$ l. Tandis qu'à 50  $\mu$ l, *S. aureus*, *C. albicans* et *E. coli* ATCC 25922 ont montré une sensibilité révélée par la formation d'un halo d'inhibition (**Figure 13**).



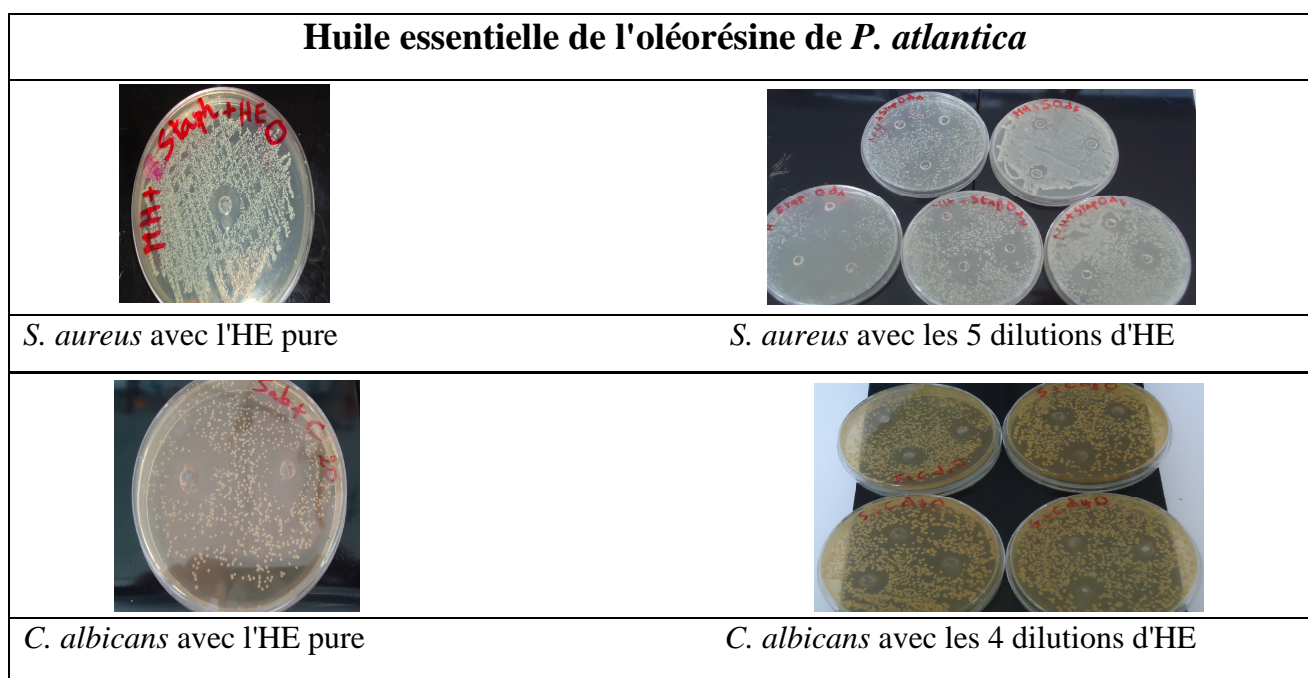
**Figure 13: Aromatogramme effectué sur *S. aureus*, *C. albicans*, *E. coli* ATCC 25922 et zones d'inhibitions obtenues avec les dilutions d'huile essentielle (HE) des feuilles de *P. atlantica*.**

La résistance des bactéries envers un agent antibactérien peut être expliquée par deux événements génétiques : soit mutation (le génome se modifie lors des répliquations au cours de la multiplication bactérienne) ou soit

par acquisition de matériel génétique supplémentaire. Ces modifications génétiques peuvent conférer des propriétés nouvelles aux bactéries (mécanismes de résistance aux agents antibactériens). La diversité des moyens protecteurs mise en place est remarquable : production d'enzymes qui détruisent les molécules antibactériennes, modification de la structure de la paroi, modification du site cible de l'agent antibactérien. Il est utile de rappeler que tous les antibiotiques dont nous disposons, à l'exception des quinolones, sont initialement des molécules produites par des champignons, ce qui signifie que les bactéries étaient en contact avec les antibiotiques depuis l'origine de la vie (TENOVER, 2006; BRU, 2009).

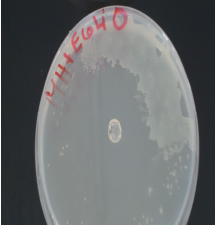
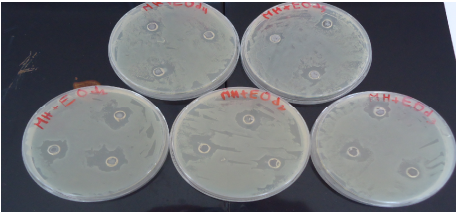
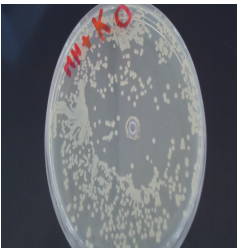
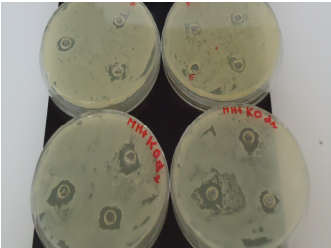
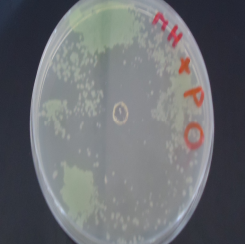
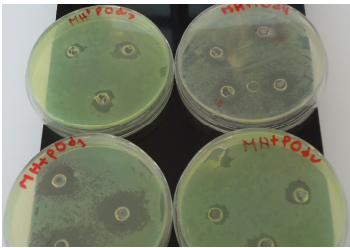
### II-2-3-2- Huile d'oléorésine

A un volume de 20  $\mu$ l, *S. aureus* et *C. albicans* (**Figure 14**) sont les seuls qui s'avèrent sensibles au huile essentielle d'oléorésine.



**Figure 14 : Aromatogramme effectué sur *S. aureus*, *C. albicans* et zones d'inhibitions obtenues avec les dilutions d'huile essentielle (HE) de l'oléorésine de *P. atlantica*.**

*E. coli* (ATCC 25922), *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* sont sensibles à un volume de 50  $\mu$ l (**Figure 15**), tandis qu' *E. coli* du prélèvement hospitalier reste insensible au même volume. Cette différence de résistance des bactéries envers les deux huiles essentielles peut être attribuée à la composition chimique très marquée du  $\alpha$ -pinène qui est le composant majoritaire de l'oléorésine (63%) et qui ne représente que de 2,3% dans les feuilles.

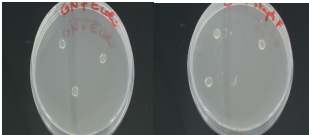
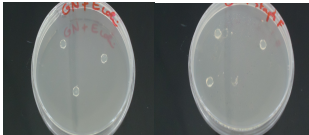
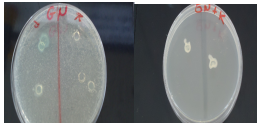
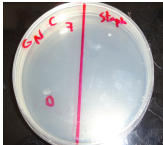
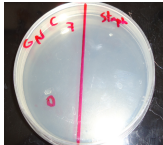
| <b>Huile essentielle de l'oléorésine de <i>P. atlantica</i></b>                     |   |  |   |
|---|---|--|---|
|    |   |    |   |
| <i>E. coli</i> avec l'HE pure   |   | <i>E. coli</i> avec les 5 dilutions d'HE   |   |
|  |  |  |  |
| <i>K. pneumoniae</i><br>Avec l'HE pure  | <i>K. pneumoniae</i> avec<br>les 4 dilutions d'HE                                   | <i>P. aeruginosa</i><br>avec l'HE pure   | <i>P. aeruginosa</i> avec<br>les 4 dilutions d'HE                                     |

**Figure 15:** Aromatogramme effectué sur *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* et zones d'inhibitions obtenues avec les dilutions d'huile essentielle (HE) de l'oléorésine de *P. atlantica*.

## II-2-4- Nature de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

Les résultats de la nature de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles sont résumés dans le tableau suivant (**Tableau 10**).

**Tableau 10 : Nature de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *P. atlantica* sur *S. aureus*, *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* et *C. albicans*.**

| Souches                              | Huile essentielle des feuilles  | Huile essentielle de l'oléorésine   |
|--------------------------------------|---|---|
| <i>Staphylococcus aureus</i>         | <b>Bactéricide</b><br> | <b>Bactéricide</b><br>             |
| <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) |   |   |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>         | -   | <b>Bactériostatique (8 mm)</b><br> |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>        | -   |   |
| <i>Candida albicans</i>              | <b>Germicide</b><br>   | <b>Germicide</b><br>               |

## II-2-5- Evaluation de la CMI

### II-2-5-1- L'huile essentielle des feuilles

Pour évaluer la CMI, la méthode de diffusion par disques est appliquée avec les souches qui ont présenté une sensibilité, le diamètre d'inhibition diminue en augmentant la dilution. Le diamètre d'inhibition pour *S. aureus* varient de 13-26 mm avec l'absence d'un halo à la 5<sup>ème</sup> dilution (1/32), ce qui révèle que la CMI de *S. aureus* est égale à une dilution de 1/16 soit une concentration de 51,06 mg/ml.

*C. albicans* a présenté des diamètres d'inhibitions entre 12 et 14 mm et on a noté l'absence d'une activité aux 3<sup>ème</sup>, 4<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> dilutions (1/8, 1/16, 1/32), la CMI peut être déterminée à une dilution de 1/4 (**Tableau 11**) soit une concentration de 257 mg/ml ce qui signifie que *C. albicans* nécessite des doses plus élevées d'huile essentielle pour être inhibé par rapport à *S. aureus*.

En comparant le diamètre d'inhibition obtenu par l'huile pure et celui obtenu par la 1<sup>ère</sup> dilution on constate que l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle augmente en ajoutant un solvant comme l'éthanol, dans le cas de *S. aureus* le diamètre d'inhibition de l'huile pure est de 20 mm, tandis qu'à la 1<sup>ère</sup> dilution on a eu un diamètre de 26 mm; similaire pour celui de *C. albicans*, le diamètre obtenu par l'huile pure (12 mm) est inférieur à celui obtenu à la 1<sup>ère</sup> dilution (14 mm), ce qui prouve que l'éthanol a bien participé dans la diffusion de l'huile essentielle dans la gélose.

**Tableau 11 : Evaluation de la CMI de l'huile essentielle des feuilles de *P. atlantica* sur *S. aureus* et *C. albicans*.**

| Souche                       | <i>S. aureus</i>   |     |     |     |      |      | Control     |
|------------------------------|--------------------|-----|-----|-----|------|------|-------------|
| Doses                        | Huile pure         | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 | 1/32 | Gentamicine |
| Diamètres d'inhibitions (mm) | 20                 | 26  | 15  | 13  | 11   | -    | 40          |
| Souche                       | <i>C. albicans</i> |     |     |     |      |      |             |
| Doses                        | Huile pure         | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 | 1/32 | /           |
| Diamètres d'inhibitions (mm) | 12                 | 14  | 12  | -   | -    | -    |             |

#### II-2-5-2- L'huile essentielle de l'oléorésine

*E. coli* (ATCC 25922) s'est révélée la souche la plus sensible (**Figure 15**). La dose de 50  $\mu$ l d'huile essentielle a présenté un halo d'inhibition égale à 30 mm de moyenne (**Tableau 12**), suivi par *S. aureus* avec une zone de 15 mm au moyenne (**Figure 14**) ce qui est en accord avec les résultats de GHALEM et MOHAMED (2009).

Tableau 12 : Evaluation de la CMI de l'huile essentielle de l'oléorésine de *P. atlantica* sur *S. aureus*, *E. coli* (ATCC 25922), *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* et *C. albicans*.

|                                     |                                    |            |            |            |             |             |                    |
|-------------------------------------|------------------------------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|--------------------|
| <b>Souche</b>                       | <b><i>S. aureus</i></b>            |            |            |            |             |             | <b>Control</b>     |
| <b>Doses</b>                        | <b>Huile pure</b>                  | <b>1/2</b> | <b>1/4</b> | <b>1/8</b> | <b>1/16</b> | <b>1/32</b> | <b>Gentamicine</b> |
| <b>Diamètres d'inhibitions (mm)</b> | <b>15</b>                          | <b>15</b>  | <b>13</b>  | <b>12</b>  | <b>11</b>   | <b>-</b>    | <b>40</b>          |
| <b>Souche</b>                       | <b><i>E. coli</i> (ATCC 25922)</b> |            |            |            |             |             | <b>Control</b>     |
| <b>Doses</b>                        | <b>Huile pure</b>                  | <b>1/2</b> | <b>1/4</b> | <b>1/8</b> | <b>1/16</b> | <b>1/32</b> | <b>Gentamicine</b> |
| <b>Diamètres d'inhibitions (mm)</b> | <b>30</b>                          | <b>10</b>  | <b>9</b>   | <b>8</b>   | <b>7</b>    | <b>-</b>    | <b>34</b>          |
| <b>Souche</b>                       | <b><i>K. pneumoniae</i></b>        |            |            |            |             |             | <b>Control</b>     |
| <b>Doses</b>                        | <b>Huile pure</b>                  | <b>1/2</b> | <b>1/4</b> | <b>1/8</b> | <b>1/16</b> | <b>1/32</b> | <b>Gentamicine</b> |
| <b>Diamètres d'inhibitions (mm)</b> | <b>15</b>                          | <b>11</b>  | <b>8</b>   | <b>-</b>   | <b>-</b>    | <b>-</b>    | <b>15</b>          |
| <b>Souche</b>                       | <b><i>P. aeruginosa</i></b>        |            |            |            |             |             | <b>Control</b>     |
| <b>Doses</b>                        | <b>Huile pure</b>                  | <b>1/2</b> | <b>1/4</b> | <b>1/8</b> | <b>1/16</b> | <b>1/32</b> | <b>Gentamicine</b> |
| <b>Diamètres d'inhibitions (mm)</b> | <b>11</b>                          | <b>13</b>  | <b>9</b>   | <b>-</b>   | <b>-</b>    | <b>-</b>    | <b>37</b>          |
| <b>Souche</b>                       | <b><i>C. albicans</i></b>          |            |            |            |             |             |                    |
| <b>Doses</b>                        | <b>Huile pure</b>                  | <b>1/2</b> | <b>1/4</b> | <b>1/8</b> | <b>1/16</b> | <b>1/32</b> |                    |
| <b>Diamètres d'inhibitions (mm)</b> | <b>11</b>                          | <b>13</b>  | <b>11</b>  | <b>10</b>  | <b>-</b>    | <b>-</b>    |                    |

*S. aureus* a des diamètres d'inhibition entre 11 et 15 mm, la dilution 1/32 a permis une croissance bactérienne (**Tableau 12**), ce qui limite la CMI a une dilution de 1/16. GHALEM et MOHAMED (2009) ont obtenu une CMI de 0,5  $\mu$ g/ml pour *S. aureus* et *E. coli*.



*C. albicans* a présenté des valeurs de diamètres d'inhibition variant de 10 à 13 mm, la CMI est égale à la dilution 1/8 (60,57 mg/ml). L'huile essentielle de l'oléorésine a une activité inhibitrice plus élevée vis-à-vis de *C. albicans* que celle des feuilles de *P. atlantica* (**Tableau 12** et **Figure 14**).

Les diamètres d'inhibition pour *E. coli* ATCC 25922 varient de 7 à 10 mm avec l'absence d'un halo à la 5<sup>ème</sup> dilution, la CMI peut être déduite à une concentration de 18,05 mg/ml.

Les zones d'inhibitions ont enregistré des valeurs de 8 à 15 mm pour *K. pneumoniae* et de 9 à 11 mm pour *P. aeruginosa* (**Tableau 12** et **Figure 15**). La croissance bactérienne de ces deux souches a été inhibée à partir de la 2<sup>ème</sup> dilution (1/4) soit une CMI égale à 172,66 mg/ml. BENABDERRAHMANE *et al.* (2009) ont montré que *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae*, sont sensibles aux huiles essentielles de la résine de *P. atlantica*, récoltée dans l'ouest et sud ouest algérien, à des concentrations voisines de 100 mg/ml.

La CMI devient plus élevée pour les bactéries gram négatif, ceci peut être expliqué par la présence de pompes "multi drug" qui traversent les deux membranes cellulaires externe et interne, ce qui contribuent à la résistance des bactéries gram négatif. Ces pompes peuvent expulsées divers produits (détergents, colorants et antibiotiques). La présence de ces pompes permet l'augmentation de la CMI à des niveaux très élevés. On peut citer l'exemple de *Pseudomonas aeruginosa* résistante à la carbenicilline qui a une CMI supérieure de 2000 fois à celle déficiente vis-à-vis de ces pompes.

La membrane externe participe aussi à la résistance des bactéries gram négatif, elle constitue une barrière de perméabilité par la présence des porines qui limitent la perméabilité des molécules hydrophiles d'une part et d'autre part, la couche lipopolysaccharidique diminue la diffusion des particules lipophiles (NIKAIDO, 1998).

On a remarqué une grande différence entre *E. coli* du prélèvement hospitalier et *E. coli* ATCC 25922, la première a montré une résistance aux huiles essentielles des feuilles et d'oléorésine même à un volume de 50  $\mu$ l par contre *E. coli* ATCC 25922 était sensible aux deux huiles essentielles et son inhibition a nécessité la CMI la plus basse par rapport aux autres bactéries gram négatif. VAARA (1993) a trouvé que 90% des agents antimicrobiens d'origine naturelle ne présentent pas d'activité inhibitrice contre *E. coli*.

Il existe un parallélisme entre la résistance et la consommation des antibiotiques (BRU, 2009) : plus on consomme des antibiotiques plus la bactérie s'adapte à ces doses plus élevées, c'est ce qui peut expliquer les différences constatées entre *E. coli* prélevée d'une personne ayant consommée des antibiotiques et *E. coli* ATCC 25922. Il se peut que la bactérie ait acquis des gènes de résistances (TENOVER, 2006).

# *Conclusion*

## *Conclusion*

Au terme de cette étude comparative morphologique et phytochimique préliminaire réalisée sur le pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica* Desf. ) d'Ouled Djellel (Biskra), Ain Oussara et Messaad (Djelfa) nous a permis de faire les constatations suivantes:

Du point de vue foliaire, les mensurations des feuilles sur les trois sites ont montré des différences remarquables pour ce qui est de la largeur et de la longueur des feuilles de Ain Oussara par rapport à Messaad. Elles sont spectaculaires en ce qui concerne le nombre de folioles d'Ouled Djellel et Ain Oussara par rapport à Messaad.

Du point de vue pomologique, les différences sont assez appréciables en ce qui concerne le poids des fruits d'Ouled Djellel et Ain Oussara par rapport à ceux de Messaad.

L'extrême variabilité observée à travers nos résultats ne nous permet pas de tirer des conclusions définitives, mais il est certain que les différences constatées sur les sites sont pour une grande part dues aux conditions pédoclimatiques de ces régions.

Du point de vue phytochimique, l'oléorésine s'est caractérisé par un rendement en huile essentielle nettement supérieur à celui des feuilles avec sa grande teneur en  $\alpha$ -pinène. Néanmoins, les deux huiles se sont caractérisées par un effet bactéricide d'où la possibilité de leur utilisation thérapeutique dans le domaine médicale et pharmaceutique.

Il n'en demeure pas moins que cette étude doit être reconduite sur plusieurs années afin de vérifier les caractères phénotypiques des différentes populations du pistachier de l'atlas d'une part et d'autre part, confirmer les propriétés de l'activité antimicrobienne de ces huiles.

## *Références bibliographiques*

- 1- AMHIS W. , BENSLIMANE A. , TIOUT D. et NAIM M. (2001) Tests de sensibilité utiles au traitement antibiotique. Médecine de Maghreb. N° 91, 022-025.
- 2- BARDEAU F. (2009) Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Edit. Fermand Lanore, 315p.
- 3- BARRERO A. F. , HERRADOR M.M. , ARTEAGA J. F. and AKSSIRA M. (2005) Chemical composition of the essential oils of *Pistacia atlantica* Desf. Journal of essential oil research : JEOR
- 4- BASTER H. C. and BUCHBAUER G. (2009) Handbook of essential oils: Science, Technologie, and application. Edit. CRC. Press, 975p.
- 5- BELHADJ S. (2003) Les pistacheraies Algériennes : Etat actuel et dégradation. Centre universitaire de Djelfa, 107-108.
- 6- BELHADJ S. , DERRIDJ A. , AUDA Y. , GERS C. et GAUQUELIN T. (2008) Analyse de la variabilité morphologique chez huit populations spontanées de *Pistacia atlantica* en Algérie. Presse scientifique du CNRC Canada, 86, 520-532.
- 7- BELHADJ S. , DERRIDJ A. , MORIANA A. , DEL CARMEN GIJON M. et MEVY J.P. and GAUQUELIN T. (2011) Comparative analysis of stomatal characters in eight wild atlas pistachio populations (*Pistacia atlantica* Desf.; Anacardiaceae). International research journal of plant science, Vol. 2, N°3, 060-069.
- 8- BENABDERRAHMANE M. , BENALI M. , AOUISSAT H. , et JORDAN BUESO M. J. (2009) Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. de l'Algérie. Phytothérapie, Vol. 7, N°6, 304-308.
- 9- BENHAMOU N. , ATIK BEKKARA F. and KADIFKOVA PANOVSKA T. (2008) Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. African journal of pharmacy and pharmacology, Vol. 2, N°2, 022-028.
- 10- BOURKHISS B. , OUHSSINE M. , HNACH M. , BOURKHISS M. , SATRANI B. et FARAH A. (2007) Composition chimique et bioactivité de l'huile essentielle des rameaux de *Tetraclinis articulata*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 146, 75-84.
- 11- BOUZOUTA N. , KACHOURI F. , BENHALIMA M. et CHAABOUNI M.M. (2008) Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. Journal de la société chimique de Tunisie, 10, 119-125.
- 12- BRU J. P. (2009) Antibiothérapie probabiliste aux urgences. Urgences-pratique. Valable en : [www. Urgence-pratique.com](http://www.Urgence-pratique.com)

- 13- CHOAKI S. (2006) Deuxième Rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques. Institut national de la recherche agronomique d'Algérie.
- 14- DELAZAR A. , REID R. G. and SARKER S. D. (2004) GC-MS Analysis of the essential oil from the oleoresin of *Pistacia atlantica* var. *mutica*. Chemistry of natural compounds, Vol. 40, N° 1, 24-27.
- 15- DRAMANE S. , WITABOUNA K. M. et KAGOYIRE K. (2010) Evaluation des activités antimicrobiennes et anti-radicaux libres de quelques taxons bioactifs de Côte d'ivoire. European journal of scientific research, Vol. 40, N°2, 307-317.
- 16- GHAFFARI S. M. , SHABAZAZ M. and BEHBOOD B. S. (2003) Chromosome variation in *Pistacia* genus. 13ème réunion de GREMPA sur l'amandier et le pistachier. Portugal. Options méditerranéennes, Série A, Séminaire méditerranéen 63.
- 17- GHALEM B. R. et BENHASSAINI H. (2007) Etude des Phytostérols et des acides gras de *Pistacia atlantica* .Afrique science, Vol. 3, N°3, 405-412.
- 18- GHALEM B. R. and BENALI M. (2008) Contribution to the antiseptic effect study of two *Eucalyptus* Species. Advanced in natural and applied science, Vol. 2, N°3, 170-177.
- 19- GHALEM B. R. and MOHAMED B. (2009) Essential oil from gum of *Pistacia atlantica* Desf.: Screening of antimicrobial activity. African journal of pharmacy and pharmacology Vol. 3, N°3, 087-091.
- 20- GOURINE N. , BOMBARDA I. , YOUSFI M. , GAYDOU E. M. and NADJEMI B. (2009) Seasonal variation of chemical composition and antioxidant activity of essential oil from *Pistacia atlantica* Desf. leaves. J. Am. Oil Chem. Soc. , 87,157–166.
- 21- GOURINE N. , BOMBARDA I. , YOUSFI M. and GAYDOU E. M. (2010) Chemotypes of *Pistacia atlantica* leaf essential oils from Algeria. Natural product of communication, vol. 5, N°1, 115-120 .
- 22- GOUSOU I. , MAGER S. et DARABANTU M. (1999) Résonance magnétique nucléaire appliqué à l'analyse structurale de composés organiques. Publication Univ Roen Harve. 256 p.
- 23- GUMBEL D. (1993) Principales of holistic therapy with herbal essences. Edit. Haug international, 268 p.
- 24- HADJAISSA F. Z. (2004) Etude de l'évolution de l'activité antioxydante de feuilles et de fruits du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*). Mémoire de magistère, Univ. Laghouat, 108 p.
- 25- HADDOUCHI F. et BENMANSOUR A. (2008) Huiles essentielles, utilisations et activité biologique, application à deux plantes aromatiques. Les technologies du laboratoire, N°8, 20-27.
- 26- HOPKINS W. G. (2003) Physiologie végétale. Biologie végétale. Edit. De Boeck, 532p.

- 27- JOFFIN J. N. et LAYRAL G. (2001) Microbiologie technique: 1- Dictionnaire de technique, 3<sup>e</sup> ed. Bordeaux: CRDP d'Aquitaine, 320 p.
- 28- JUDD W. S. , CAMPBELL C. S. , KELLOG E. A. et STEVENS P. (2002) Botanique systématique. Edit. De Boeck, 467 p.
- 29- KHELIL A. et KELLAL A. (1980) Possibilité de culture et délimitation des zones à vocation pistachier en Algérie. Fruits, Vol. 35,177-185.
- 30- KUETE V. , PENLAP BENG V. , ETOA F-X. , MODJO S. L. , BOGNE P. , ASSOUB J. C. et LONTSI D. (2004) Activité antimicrobienne de l'extrait total et des fractions de jus de fruits de *Citrus medical* in (Rutaceae). Pharm. Méd. Trad. Afr. Vol. 13, 91-101.
- 31- LIEUTAGHI P. (2004) Le livre des arbres, arbustes et arbrisseaux. Edit. Actes Sud, 1305 p.
- 32- MAAMRI S. (2008) Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire de magistère, Univ. Boumerdès, 98 p.
- 33- MESPLEDE J. (2004) Chimie MP-PT. Edit. Bréal, 223p.
- 34- MOGHTADER M. (2010) Comparative survey on the essential oil composition from the leaves and fruits of *Pistacia mutica* Fischer Kerman Province. Meadle east journal of scientific research, Vol.5, N°4, 291-297.
- 35- MOHAMMEDI Z. (2006) Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magistère, Univ. Tlemcen, 105 p.
- 36- MONASTRA F. , ROVIRA M. , VARGAS F. G. , ROMERO M. A. , BATTLE I. , ROUSKAS D. et MENDES GASPAR A. (2000) Caractérisation isoenzymatique de divers espèces du genre *Pistacia* et leurs hybrides : Etude de leur comportement comme porte greffe du pistachier *Pistacia vera* L. CIHEAM-Options méditerranéennes, 135 p.
- 37- MONJAUSE A. (1980) Connaissance du bétoum *Pistacia atlantica* Desf. Biologie et foret. Revue forestière française, 4, 357-363.
- 38- NIKAIDO H. (1998) Antibiotic resistance caused by gram-negative multidrug efflux pumps. Oxford journal, medicine, clinical infectious diseases, Vol. 27, Suppl. 1, 32-41.
- 39- Organisation mondiale de la santé (OMS). (2002) Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. WHO/EDM/TRM/2002, Genève, 65 p.

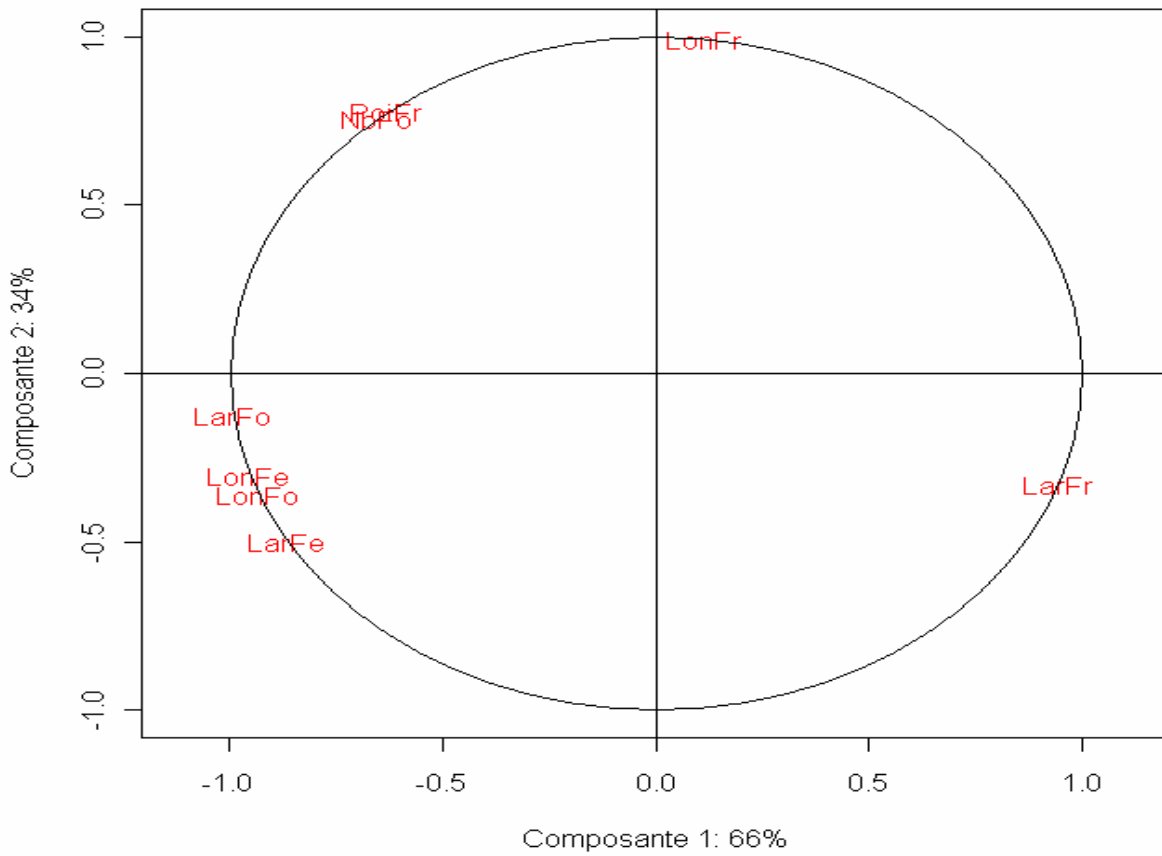


- 40- OUKABLI A. (1994) Influence de la nature de 6 types de pollen sur les caractéristiques pomologiques des fruits du Pistachier cv. Mateur. Rev. Amélior. Prod. Milieu aride, 6, 241-249.
- 41- REVUZ J. E. R. (2009) Traité EMC : cosmétologie et dermatologie. Edit. Elsevier Masson, 500p.
- 42- RHAYOUR K. (2002) Etude de mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat, Univ. Fès, 158 p.
- 43- ROSE J. and EARLE S. (1996) The word of aromatherapy. Edit. Frog Books, 368p.
- 44- ROUX D. (2008) Conseil en aromathérapie. Edit. Pro-officina, 187p.
- 45- ROYER D. L. , MCELWAIN J. C. , ADAMS J. M. and WILF P. (2008) Sensitivity of leaf size and shape to climate within *Acer rubrum* and *Quercus kelloggii*. New phytologist, 179, 808–817.
- 46- SATRANI B. , GHANMI M. , FARAH A. , AAFI A. , FOUGRACH H. , BOURKHISS B. , BOUSTA D. et TALBI M. (2007) Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Clandanthus mixitus*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 146, 85-96.
- 47- SAWAMURA M. (2011) Citrus essential oils: flavor and fragrance. Edit. John Wiley and Sons, 398 p.
- 48- SCHAECHTER M. , MEDOFF G. et EISENSTEIN B. I. (1999) Microbiologie et pathologie infectieuse. Edit. Williams et Wikins, 1000 p.
- 49- SMAIL SAADOUN N. (2005) Types stomatiques du genre *Pistacia*: *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* et *Pistacia lentiscus* L. Options méditerranéennes, série A, N°63, 369-371.
- 50- TARAN M. , SHARIFI M. , AZIZI E. and KHANAHMADI M. (2010) Antimicrobial activity of the leaves of *Pistacia khinjuk*. Journal of medical plants, Vol. 9, N° 6, 81-85.
- 51- TENOVER F. C. (2006) Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. The American journal of medicine, Vol. 119, N°6A, 3–10.
- 52- VAARA M. (1993) Antibiotic-supersusceptible mutants of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. Antimicrobial agents and chemotherapy, p. 2255-2260.
- 53- VENEREOL D. A. (2003) Infections cutanéomuqueuses à *Candida albicans*. Module transdisciplinaire 7: Santé et environnement, maladies transmissibles, 30:3S53-3S58.
- 54- WILLEM J. P. (2004) Les huiles essentielles, médecine d'avenir. Edit. du Dauphin, 318p.
- 55- YAAQOBI A. , EL HAFID L. et HALOUI B. (2009) Etude biologique de *Pistacia atlantica* Desf. de la région orientale du Maroc. Biomatec ECHO, Vol. 3, N° 6, 39-49.



*Annexes:*

### Les caractéristiques



### Annexe 1: Cercle de corrélation (ACP)

### Annexe 2: Matrice des distances (classification)

|              | Ouled-Jellel | Ain-Oussera | Messaad |
|--------------|--------------|-------------|---------|
| Ouled-Jellel | 0.00         | 3.70        | 3.66    |
| Ain-Oussera  | 3.70         | 0.00        | 4.58    |
| Messaad      | 3.66         | 4.58        | 0.00    |

**Annexe 3: Tableau des mesures biométriques de la station d'Ouled Djellel.**

| <b>longueur de la feuille (cm)</b> | <b>largeur de la feuille (cm)</b> | <b>nombre de folioles</b> | <b>longueur de la foliole terminale (cm)</b> | <b>Largeur de la foliole terminale (cm)</b> | <b>poids du fruit (mg)</b> | <b>longueur du fruit (mm)</b> | <b>largeur du fruit (mm)</b> |
|------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|--|---|----------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| 12,50                              | 8,00                              | 11,00                     | 4,30   | 1,50  | 60,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 12,50                              | 8,30                              | 12,00                     | 3,30   | 1,20  | 70,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 11,30                              | 8,10                              | 13,00                     | 2,80   | 0,60  | 50,00                      | 6,00                          | 5,00                         |
| 10,00                              | 6,50                              | 13,00                     | 2,00   | 0,50  | 60,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 10,80                              | 7,70                              | 11,00                     | 4,00   | 1,10  | 60,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 10,50                              | 6,30                              | 12,00                     | 2,20   | 0,50  | 40,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 11,80                              | 7,90                              | 13,00                     | 2,30   | 1,10  | 80,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 11,10                              | 6,30                              | 13,00                     | 2,50   | 0,70  | 60,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 9,00                               | 6,00                              | 9,00                      | 3,50   | 1,10  | 40,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 10,30                              | 7,50                              | 13,00                     | 3,00   | 0,90  | 50,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 8,40                               | 6,70                              | 11,00                     | 2,70   | 0,70  | 50,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 9,00                               | 6,00                              | 9,00                      | 3,60   | 1,30  | 50,00                      | 8,00                          | 5,00                         |
| 7,20                               | 5,70                              | 10,00                     | 2,50   | 0,90  | 60,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 12,00                              | 8,30                              | 13,00                     | 3,00   | 1,00  | 60,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 10,60                              | 6,50                              | 11,00                     | 3,30   | 1,00  | 60,00                      | 6,00                          | 6,00                         |
| 10,90                              | 8,00                              | 9,00                      | 4,20   | 1,50  | 40,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 8,50                               | 6,10                              | 11,00                     | 2,50   | 0,90  | 60,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 7,50                               | 5,90                              | 10,00                     | 1,90   | 0,60  | 60,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 8,00                               | 5,50                              | 11,00                     | 1,70   | 0,60  | 70,00                      | 7,00                          | 6,00                         |
| 10,00                              | 6,70                              | 11,00                     | 3,40   | 0,90  | 70,00                      | 7,00                          | 6,00                         |
| 7,00                               | 6,50                              | 9,00                      | 2,70   | 0,90  | 50,00                      | 7,00                          | 6,00                         |
| 8,80                               | 7,40                              | 7,00                      | 4,00   | 1,20  | 80,00                      | 7,00                          | 6,00                         |
| 8,80                               | 7,20                              | 9,00                      | 4,20   | 1,30  | 50,00                      | 6,00                          | 5,00                         |
| 8,70                               | 6,70                              | 7,00                      | 4,00   | 1,30  | 50,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 8,50                               | 7,00                              | 9,00                      | 3,50   | 1,30  | 50,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 6,70                               | 7,50                              | 6,00                      | 3,70   | 1,30  | 50,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 9,00                               | 6,40                              | 9,00                      | 4,10   | 1,40  | 50,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 8,90                               | 7,00                              | 9,00                      | 3,00   | 1,10  | 60,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 10,00                              | 6,00                              | 11,00                     | 4,00   | 1,20  | 60,00                      | 6,00                          | 5,00                         |
| 7,70                               | 6,10                              | 7,00                      | 3,50   | 1,10  | 50,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 9,30                               | 8,50                              | 9,00                      | 4,00   | 1,40  | 50,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 8,80                               | 6,50                              | 9,00                      | 3,00   | 1,20  | 50,00                      | 8,00                          | 5,00                         |
| 8,40                               | 8,00                              | 7,00                      | 4,20   | 1,50  | 40,00                      | 6,00                          | 5,00                         |
| 8,20                               | 7,00                              | 9,00                      | 3,50   | 1,00  | 50,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 8,50                               | 7,00                              | 7,00                      | 4,00   | 1,40  | 60,00                      | 6,00                          | 5,00                         |
| 8,40                               | 6,90                              | 7,00                      | 4,10   | 1,30  | 60,00                      | 6,00                          | 5,00                         |
| 9,00                               | 7,00                              | 7,00                      | 5,00   | 1,40  | 70,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 9,30                               | 6,70                              | 7,00                      | 4,20   | 1,40  | 50,00                      | 6,00                          | 5,00                         |
| 8,00                               | 7,00                              | 7,00                      | 4,00   | 1,20  | 60,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 7,50                               | 6,00                              | 9,00                      | 2,10   | 0,90  | 80,00                      | 7,00                          | 5,00                         |
| 11,60                              | 7,10                              | 11,00                     | 3,90   | 0,80  | 40,00                      | 7,00                          | 6,00                         |
| 11,80                              | 8,10                              | 9,00                      | 4,40   | 1,10  | 60,00                      | 6,00                          | 5,00                         |
| 11,40                              | 6,70                              | 11,00                     | 3,60   | 0,80  | 60,00                      | 7,00                          | 5,00                         |

|       |       |       |      |      |               |             |             |          |
|-------|-------|-------|------|------|---------------|-------------|-------------|----------|
| 11,50 | 8,40  | 7,00  | 3,60 | 0,90 | 40,00         | 8,00        | 5,00        |          |
| 11,40 | 8,40  | 10,00 | 3,40 | 0,90 | 50,00         | 7,00        | 5,00        |          |
| 11,00 | 7,70  | 9,00  | 3,50 | 0,90 | 60,00         | 8,00        | 5,00        |          |
| 11,80 | 8,80  | 7,00  | 3,80 | 1,80 | 60,00         | 7,00        | 5,00        |          |
| 10,50 | 7,50  | 9,00  | 3,20 | 0,90 | 60,00         | 7,00        | 5,00        |          |
| 12,50 | 8,40  | 9,00  | 4,10 | 1,00 | 50,00         | 7,00        | 5,00        |          |
| 11,80 | 7,90  | 11,00 | 3,60 | 0,90 | <b>56,12</b>  | <b>6,90</b> | <b>5,12</b> | MOYENNE  |
| 11,50 | 7,90  | 9,00  | 4,20 | 1,00 | <b>10,17</b>  | <b>0,51</b> | <b>0,33</b> | ECART    |
| 11,30 | 8,10  | 9,00  | 4,90 | 1,10 | <b>103,40</b> | <b>0,26</b> | <b>0,11</b> | TYPE     |
| 10,30 | 7,00  | 7,00  | 4,70 | 0,90 |               |             |             | VARIANCE |
| 9,50  | 7,20  | 9,00  | 4,30 | 1,00 |               |             |             |          |
| 10,80 | 6,00  | 9,00  | 4,00 | 0,80 |               |             |             |          |
| 10,70 | 7,50  | 9,00  | 3,70 | 0,90 |               |             |             |          |
| 10,70 | 7,60  | 10,00 | 3,30 | 1,00 |               |             |             |          |
| 8,70  | 6,00  | 9,00  | 3,40 | 1,50 |               |             |             |          |
| 12,90 | 8,20  | 11,00 | 4,00 | 1,00 |               |             |             |          |
| 11,40 | 7,00  | 9,00  | 3,40 | 1,10 |               |             |             |          |
| 10,40 | 7,40  | 7,00  | 4,00 | 1,60 |               |             |             |          |
| 9,50  | 7,00  | 7,00  | 3,90 | 1,40 |               |             |             |          |
| 11,70 | 7,00  | 11,00 | 3,70 | 1,30 |               |             |             |          |
| 11,10 | 7,50  | 9,00  | 4,20 | 1,20 |               |             |             |          |
| 9,80  | 7,90  | 9,00  | 3,50 | 1,30 |               |             |             |          |
| 10,50 | 8,40  | 9,00  | 4,40 | 1,20 |               |             |             |          |
| 10,70 | 8,50  | 7,00  | 4,30 | 1,60 |               |             |             |          |
| 11,70 | 7,00  | 9,00  | 3,70 | 1,00 |               |             |             |          |
| 10,40 | 7,00  | 9,00  | 3,20 | 1,10 |               |             |             |          |
| 10,00 | 7,40  | 9,00  | 4,00 | 1,30 |               |             |             |          |
| 8,70  | 6,40  | 11,00 | 3,00 | 1,00 |               |             |             |          |
| 10,70 | 7,90  | 11,00 | 3,50 | 1,10 |               |             |             |          |
| 9,70  | 6,50  | 9,00  | 3,50 | 1,10 |               |             |             |          |
| 8,80  | 6,40  | 11,00 | 3,30 | 1,00 |               |             |             |          |
| 10,00 | 7,80  | 9,00  | 4,00 | 1,20 |               |             |             |          |
| 10,60 | 7,80  | 11,00 | 3,50 | 1,00 |               |             |             |          |
| 7,70  | 5,80  | 9,00  | 2,70 | 1,00 |               |             |             |          |
| 10,50 | 6,90  | 11,00 | 3,80 | 1,30 |               |             |             |          |
| 10,00 | 7,00  | 9,00  | 3,40 | 1,00 |               |             |             |          |
| 10,70 | 7,30  | 11,00 | 3,20 | 0,90 |               |             |             |          |
| 12,90 | 9,60  | 9,00  | 5,00 | 1,50 |               |             |             |          |
| 11,50 | 8,50  | 9,00  | 4,10 | 1,30 |               |             |             |          |
| 13,50 | 8,30  | 11,00 | 3,80 | 1,10 |               |             |             |          |
| 10,70 | 10,90 | 7,00  | 5,00 | 1,40 |               |             |             |          |
| 12,20 | 8,20  | 9,00  | 4,50 | 1,40 |               |             |             |          |
| 11,50 | 8,20  | 9,00  | 4,50 | 1,30 |               |             |             |          |
| 11,20 | 9,00  | 9,00  | 4,20 | 1,30 |               |             |             |          |
| 10,20 | 8,40  | 7,00  | 3,90 | 1,10 |               |             |             |          |
| 12,40 | 8,50  | 8,00  | 3,90 | 1,10 |               |             |             |          |
| 12,00 | 8,40  | 9,00  | 4,00 | 1,20 |               |             |             |          |
| 10,60 | 7,90  | 11,00 | 3,60 | 1,30 |               |             |             |          |
| 12,20 | 8,50  | 11,00 | 3,80 | 1,20 |               |             |             |          |

|       |       |       |      |      |
|-------|-------|-------|------|------|
| 9,30  | 5,70  | 10,00 | 3,50 | 1,00 |
| 11,50 | 8,70  | 11,00 | 3,30 | 1,10 |
| 13,00 | 10,40 | 9,00  | 4,30 | 1,40 |
| 10,50 | 7,40  | 9,00  | 4,20 | 1,40 |
| 11,30 | 8,10  | 11,00 | 3,90 | 1,30 |
| 9,50  | 6,90  | 11,00 | 3,50 | 1,10 |
| 9,70  | 7,40  | 10,00 | 3,60 | 1,10 |
| 11,60 | 8,50  | 11,00 | 3,70 | 1,20 |
| 9,40  | 7,20  | 9,00  | 3,10 | 0,90 |
| 10,00 | 6,80  | 11,00 | 3,00 | 0,80 |
| 10,00 | 7,40  | 7,00  | 3,50 | 1,00 |
| 9,50  | 7,00  | 9,00  | 3,80 | 1,20 |
| 9,50  | 6,00  | 9,00  | 2,50 | 0,70 |
| 9,00  | 6,20  | 9,00  | 3,50 | 0,90 |
| 7,80  | 5,00  | 9,00  | 3,20 | 0,80 |
| 9,30  | 7,00  | 11,00 | 3,00 | 0,90 |
| 9,80  | 6,80  | 7,00  | 3,20 | 1,10 |
| 12,00 | 8,30  | 9,00  | 3,80 | 1,10 |
| 10,00 | 7,10  | 9,00  | 3,70 | 1,00 |
| 8,90  | 6,90  | 11,00 | 2,80 | 0,80 |
| 8,80  | 7,70  | 9,00  | 2,80 | 1,30 |
| 9,00  | 7,50  | 7,00  | 4,00 | 1,30 |
| 9,00  | 6,50  | 9,00  | 2,90 | 0,80 |
| 8,90  | 7,70  | 9,00  | 3,70 | 1,10 |
| 10,50 | 7,50  | 7,00  | 3,20 | 0,90 |
| 10,30 | 7,50  | 7,00  | 3,70 | 1,00 |
| 9,50  | 6,20  | 9,00  | 2,40 | 0,60 |
| 10,00 | 6,10  | 11,00 | 3,00 | 0,90 |
| 7,10  | 5,80  | 9,00  | 2,80 | 0,80 |
| 8,00  | 6,40  | 7,00  | 3,30 | 1,00 |
| 9,80  | 7,40  | 9,00  | 3,60 | 1,00 |
| 8,50  | 6,30  | 7,00  | 3,00 | 1,00 |
| 8,30  | 6,80  | 8,00  | 3,50 | 1,00 |
| 9,10  | 8,20  | 7,00  | 4,00 | 1,30 |
| 9,80  | 6,90  | 9,00  | 3,80 | 1,00 |
| 7,90  | 6,70  | 7,00  | 3,50 | 1,00 |
| 7,50  | 6,30  | 9,00  | 2,90 | 0,90 |
| 9,80  | 7,00  | 9,00  | 3,00 | 0,80 |
| 9,90  | 7,20  | 9,00  | 3,30 | 0,90 |
| 12,50 | 9,20  | 9,00  | 4,70 | 1,30 |
| 8,70  | 8,40  | 8,00  | 3,30 | 1,00 |
| 9,50  | 7,60  | 9,00  | 3,70 | 0,90 |
| 7,20  | 5,80  | 8,00  | 2,80 | 0,80 |
| 9,50  | 7,20  | 9,00  | 3,70 | 1,00 |
| 11,50 | 8,70  | 8,00  | 4,50 | 1,30 |
| 11,00 | 9,00  | 9,00  | 4,20 | 1,30 |
| 10,50 | 8,40  | 9,00  | 3,50 | 1,00 |
| 8,50  | 5,80  | 9,00  | 2,50 | 0,80 |
| 6,50  | 4,50  | 11,00 | 2,40 | 0,90 |
| 6,40  | 4,60  | 7,00  | 1,90 | 1,00 |

|       |       |       |      |      |                   |
|-------|-------|-------|------|------|-------------------|
| 7,80  | 6,10  | 9,00  | 3,00 | 0,90 |                   |
| 7,50  | 5,00  | 9,00  | 2,10 | 0,60 |                   |
| 6,50  | 4,90  | 10,00 | 2,10 | 0,80 |                   |
| 6,50  | 5,50  | 9,00  | 2,70 | 1,00 |                   |
| 7,50  | 5,20  | 11,00 | 2,90 | 0,90 |                   |
| 6,50  | 4,60  | 9,00  | 2,20 | 0,80 |                   |
| 7,70  | 5,40  | 11,00 | 2,90 | 0,80 |                   |
| 7,00  | 5,50  | 10,00 | 2,60 | 1,00 |                   |
| 6,50  | 4,80  | 9,00  | 2,20 | 0,70 |                   |
| 6,20  | 4,30  | 7,00  | 2,50 | 1,10 |                   |
| 6,50  | 4,00  | 9,00  | 2,00 | 0,90 |                   |
| 7,00  | 4,70  | 9,00  | 3,00 | 1,00 |                   |
| 5,60  | 4,40  | 7,00  | 2,20 | 0,90 |                   |
| 7,50  | 5,60  | 10,00 | 2,50 | 1,10 |                   |
| 6,60  | 4,90  | 11,00 | 1,60 | 0,70 |                   |
| 6,50  | 4,80  | 9,00  | 2,50 | 1,00 |                   |
| 6,20  | 5,30  | 7,00  | 2,50 | 0,90 |                   |
| 7,20  | 5,50  | 11,00 | 2,40 | 0,70 |                   |
| 10,50 | 7,80  | 11,00 | 3,50 | 1,00 |                   |
| 9,61  | 7,03  | 9,27  | 3,41 | 1,06 | <b>Moyenne</b>    |
| 1,75  | 1,22  | 1,56  | 0,72 | 0,24 | <b>ecart type</b> |
| 3,07  | 1,48  | 2,43  | 0,52 | 0,06 | <b>Var</b>        |
| 5,60  | 4,00  | 6,00  | 1,60 | 0,50 | <b>Min</b>        |
| 13,50 | 10,90 | 13,00 | 5,00 | 1,80 | <b>Max</b>        |
|       |       |       |      |      |                   |

**Annexe 4: Tableau des mesures biométriques de la station de Ain Oussara.**

| longueur de la feuille (cm) | Largeur de la feuille (cm) | Nombre de foliole | Longueur du foliole terminale (cm) | Largeur du foliole terminale (cm) | poid du fruit(mg)     | longueur du fruit(mm) | largeur de fruit(mm)  |
|-----------------------------|----------------------------|-------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 13,00                       | 9,30                       | 10,00             | 5,50                               | 1,50                              | <b>moyenne:53,64</b>  | <b>moyenne:6,62</b>   | <b>moyenne:5,06</b>   |
| 10,50                       | 7,90                       | 11,00             | 4,00                               | 1,30                              | <b>ecat type:13,5</b> | <b>ecart type:0,7</b> | <b>ecart type:0;5</b> |
| 14,00                       | 11,30                      | 11,00             | 5,00                               | 1,50                              |                       |                       |                       |
| 13,00                       | 10,40                      | 11,00             | 5,00                               | 1,50                              |                       |                       |                       |
| 11,70                       | 6,50                       | 11,00             | 4,00                               | 0,90                              |                       |                       |                       |
| 11,20                       | 8,00                       | 9,00              | 4,50                               | 1,10                              |                       |                       |                       |
| 11,30                       | 9,20                       | 10,00             | 4,30                               | 1,40                              |                       |                       |                       |
| 11,70                       | 9,00                       | 9,00              | 4,00                               | 1,20                              |                       |                       |                       |
| 12,00                       | 8,00                       | 9,00              | 4,50                               | 1,30                              |                       |                       |                       |
| 11,00                       | 9,20                       | 10,00             | 4,10                               | 1,10                              |                       |                       |                       |
| 7,30                        | 6,70                       | 5,00              | 3,50                               | 1,00                              |                       |                       |                       |
| 10,00                       | 9,30                       | 10,00             | 4,20                               | 1,00                              |                       |                       |                       |
| 7,00                        | 7,00                       | 5,00              | 2,80                               | 1,00                              |                       |                       |                       |
| 9,50                        | 7,00                       | 11,00             | 4,30                               | 1,20                              |                       |                       |                       |
| 10,70                       | 8,40                       | 9,00              | 4,20                               | 1,10                              |                       |                       |                       |
| 9,50                        | 10,20                      | 4,00              | 5,30                               | 1,60                              |                       |                       |                       |



|       |       |       |      |      |
|-------|-------|-------|------|------|
| 9,50  | 9,20  | 5,00  | 4,50 | 1,50 |
| 8,00  | 7,90  | 5,00  | 4,00 | 1,20 |
| 11,00 | 9,00  | 11,00 | 4,00 | 1,40 |
| 10,50 | 8,80  | 11,00 | 3,50 | 1,10 |
| 12,00 | 8,50  | 9,00  | 4,00 | 1,40 |
| 11,50 | 8,70  | 7,00  | 4,50 | 1,40 |
| 9,50  | 9,00  | 5,00  | 4,00 | 1,20 |
| 9,00  | 8,50  | 7,00  | 3,00 | 0,90 |
| 7,30  | 7,00  | 5,00  | 2,90 | 1,30 |
| 10,50 | 8,10  | 7,00  | 4,00 | 1,10 |
| 11,30 | 9,20  | 7,00  | 4,70 | 1,50 |
| 9,50  | 8,30  | 9,00  | 3,50 | 1,30 |
| 11,60 | 8,00  | 9,00  | 4,50 | 1,40 |
| 9,00  | 7,40  | 8,00  | 3,40 | 1,00 |
| 13,00 | 9,80  | 9,00  | 5,00 | 1,50 |
| 9,20  | 7,60  | 7,00  | 3,60 | 1,00 |
| 11,00 | 9,30  | 8,00  | 4,20 | 1,30 |
| 11,00 | 8,50  | 9,00  | 4,00 | 1,00 |
| 8,50  | 8,00  | 5,00  | 4,20 | 1,10 |
| 12,20 | 9,20  | 9,00  | 4,50 | 1,30 |
| 10,50 | 7,80  | 9,00  | 4,20 | 1,00 |
| 10,20 | 7,00  | 9,00  | 4,10 | 0,90 |
| 7,50  | 6,50  | 7,00  | 3,00 | 0,80 |
| 9,20  | 7,40  | 7,00  | 3,90 | 1,20 |
| 11,50 | 3,00  | 9,00  | 6,50 | 1,70 |
| 12,50 | 10,50 | 8,00  | 5,20 | 1,60 |
| 12,20 | 10,00 | 7,00  | 5,60 | 1,60 |
| 13,30 | 7,20  | 9,00  | 6,00 | 1,60 |
| 14,50 | 12,20 | 9,00  | 5,80 | 1,80 |
| 12,50 | 9,50  | 7,00  | 5,00 | 1,50 |
| 12,50 | 8,50  | 9,00  | 4,50 | 1,30 |
| 14,80 | 10,20 | 11,00 | 5,50 | 1,50 |
| 11,50 | 9,50  | 7,00  | 5,00 | 1,50 |
| 11,50 | 9,40  | 7,00  | 5,00 | 1,30 |
| 11,00 | 8,90  | 7,00  | 4,80 | 1,50 |
| 10,00 | 8,70  | 7,00  | 4,50 | 1,30 |
| 9,30  | 8,00  | 7,00  | 4,00 | 1,30 |
| 9,70  | 8,50  | 5,00  | 4,90 | 1,40 |
| 10,50 | 8,00  | 7,00  | 4,90 | 1,50 |
| 11,50 | 9,10  | 7,00  | 5,00 | 1,60 |
| 5,90  | 5,60  | 5,00  | 2,50 | 0,80 |
| 8,50  | 7,20  | 7,00  | 3,10 | 1,00 |
| 11,20 | 9,50  | 9,00  | 4,50 | 1,20 |
| 13,30 | 10,50 | 9,00  | 5,60 | 1,60 |
| 14,50 | 11,80 | 9,00  | 6,20 | 1,60 |
| 11,80 | 10,30 | 7,00  | 4,50 | 1,50 |
| 14,50 | 8,80  | 9,00  | 5,60 | 1,90 |
| 12,80 | 10,90 | 9,00  | 4,90 | 1,20 |
| 11,00 | 9,40  | 7,00  | 4,90 | 1,40 |
| 11,50 | 8,00  | 8,00  | 5,20 | 1,30 |

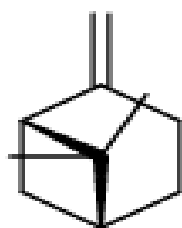
|       |       |       |      |      |
|-------|-------|-------|------|------|
| 10,20 | 9,20  | 8,00  | 3,90 | 1,20 |
| 9,40  | 7,20  | 7,00  | 3,30 | 1,00 |
| 12,00 | 10,50 | 9,00  | 5,30 | 1,50 |
| 14,20 | 10,00 | 9,00  | 5,60 | 1,70 |
| 9,80  | 9,30  | 5,00  | 4,70 | 1,60 |
| 10,50 | 9,80  | 9,00  | 4,30 | 1,40 |
| 12,00 | 11,30 | 10,00 | 4,80 | 1,50 |
| 10,30 | 9,00  | 9,00  | 4,00 | 1,30 |
| 8,20  | 5,00  | 9,00  | 3,70 | 0,90 |
| 10,20 | 9,50  | 11,00 | 4,00 | 1,10 |
| 9,30  | 8,90  | 9,00  | 3,30 | 1,00 |
| 11,00 | 9,50  | 7,00  | 4,70 | 1,40 |
| 11,90 | 9,40  | 7,00  | 5,10 | 1,30 |
| 7,70  | 7,10  | 5,00  | 3,50 | 1,00 |
| 9,50  | 8,50  | 7,00  | 4,10 | 1,00 |
| 8,10  | 6,30  | 5,00  | 3,30 | 1,00 |
| 10,50 | 8,70  | 7,00  | 3,90 | 1,50 |
| 10,50 | 9,30  | 7,00  | 3,80 | 1,30 |
| 8,80  | 8,90  | 5,00  | 4,40 | 1,50 |
| 9,30  | 9,00  | 5,00  | 4,00 | 1,40 |
| 7,30  | 6,90  | 5,00  | 3,30 | 1,00 |
| 9,30  | 8,50  | 5,00  | 4,50 | 1,40 |
| 10,00 | 8,50  | 7,00  | 4,00 | 1,30 |
| 8,50  | 6,50  | 5,00  | 4,00 | 0,90 |
| 7,00  | 6,30  | 4,00  | 3,20 | 1,10 |
| 8,20  | 7,70  | 6,00  | 3,50 | 1,00 |
| 8,50  | 7,50  | 7,00  | 3,20 | 1,00 |
| 11,30 | 8,50  | 7,00  | 4,70 | 1,90 |
| 10,90 | 10,00 | 7,00  | 4,20 | 1,40 |
| 13,80 | 11,00 | 7,00  | 5,70 | 1,80 |
| 13,30 | 9,30  | 7,00  | 5,00 | 1,50 |
| 8,50  | 8,40  | 5,00  | 4,20 | 1,30 |
| 9,00  | 8,20  | 5,00  | 4,30 | 1,30 |
| 9,00  | 8,50  | 5,00  | 4,00 | 1,30 |
| 10,00 | 9,00  | 6,00  | 4,30 | 1,40 |
| 10,00 | 9,80  | 7,00  | 4,20 | 1,40 |
| 10,30 | 10,30 | 5,00  | 5,00 | 1,70 |
| 10,50 | 7,70  | 6,00  | 5,00 | 1,10 |
| 8,50  | 8,10  | 7,00  | 3,00 | 1,00 |
| 13,00 | 9,60  | 9,00  | 5,00 | 1,30 |
| 11,00 | 9,90  | 7,00  | 4,50 | 1,20 |
| 9,70  | 8,50  | 7,00  | 3,50 | 1,10 |
| 10,00 | 8,70  | 7,00  | 3,50 | 1,00 |
| 13,40 | 10,00 | 9,00  | 5,30 | 1,40 |
| 14,40 | 9,40  | 9,00  | 6,00 | 1,60 |
| 11,00 | 7,70  | 8,00  | 5,00 | 1,20 |
| 12,00 | 8,80  | 9,00  | 4,50 | 1,20 |
| 12,00 | 9,20  | 10,00 | 4,90 | 1,30 |
| 13,50 | 12,70 | 8,00  | 5,50 | 1,60 |
| 10,50 | 8,80  | 9,00  | 4,00 | 1,30 |

|       |       |       |      |      |
|-------|-------|-------|------|------|
| 9,50  | 8,70  | 5,00  | 5,00 | 1,10 |
| 10,20 | 9,10  | 5,00  | 4,50 | 1,00 |
| 10,20 | 10,20 | 9,00  | 2,70 | 0,80 |
| 9,70  | 8,60  | 7,00  | 4,00 | 1,00 |
| 13,50 | 11,50 | 7,00  | 5,50 | 2,00 |
| 9,00  | 7,50  | 7,00  | 3,50 | 1,10 |
| 10,00 | 9,60  | 7,00  | 4,10 | 1,40 |
| 9,80  | 10,00 | 7,00  | 3,50 | 1,50 |
| 11,80 | 9,50  | 7,00  | 4,90 | 1,50 |
| 14,00 | 11,00 | 9,00  | 5,50 | 1,30 |
| 8,20  | 7,00  | 6,00  | 3,40 | 1,00 |
| 9,60  | 7,80  | 7,00  | 4,00 | 1,20 |
| 13,00 | 8,40  | 9,00  | 4,50 | 1,10 |
| 12,00 | 9,00  | 9,00  | 4,00 | 1,00 |
| 11,20 | 7,90  | 7,00  | 4,20 | 1,20 |
| 13,20 | 10,00 | 11,00 | 4,10 | 1,10 |
| 13,30 | 10,50 | 11,00 | 4,90 | 1,40 |
| 12,50 | 7,50  | 10,00 | 4,60 | 1,30 |
| 13,30 | 10,00 | 9,00  | 4,90 | 1,30 |
| 12,70 | 10,20 | 9,00  | 4,70 | 1,40 |
| 11,00 | 12,20 | 7,00  | 4,00 | 1,80 |
| 12,80 | 10,50 | 9,00  | 5,30 | 1,40 |
| 13,50 | 9,50  | 9,00  | 5,50 | 1,50 |
| 9,50  | 8,60  | 7,00  | 3,50 | 0,90 |
| 11,50 | 9,00  | 9,00  | 4,10 | 1,40 |
| 11,50 | 10,00 | 7,00  | 5,00 | 1,70 |
| 13,00 | 11,50 | 7,00  | 5,50 | 2,00 |
| 12,50 | 9,50  | 11,00 | 5,40 | 1,20 |
| 13,50 | 8,60  | 9,00  | 4,60 | 1,40 |
| 7,50  | 6,50  | 6,00  | 2,80 | 1,00 |
| 12,00 | 10,60 | 7,00  | 5,50 | 1,60 |
| 12,20 | 10,00 | 7,00  | 5,00 | 1,60 |
| 9,30  | 8,80  | 7,00  | 3,60 | 1,40 |
| 13,40 | 10,80 | 9,00  | 5,20 | 2,00 |
| 12,00 | 9,70  | 7,00  | 4,70 | 1,80 |
| 7,40  | 7,00  | 7,00  | 2,50 | 0,70 |
| 9,70  | 7,90  | 7,00  | 3,50 | 1,00 |
| 12,00 | 8,00  | 9,00  | 4,90 | 1,40 |
| 12,20 | 10,80 | 7,00  | 5,50 | 1,80 |
| 12,70 | 8,80  | 9,00  | 5,20 | 1,40 |
| 12,80 | 9,30  | 9,00  | 4,50 | 1,30 |
| 12,20 | 9,80  | 9,00  | 4,90 | 1,40 |
| 12,00 | 8,90  | 7,00  | 6,00 | 1,50 |
| 13,30 | 11,10 | 7,00  | 5,70 | 1,80 |
| 10,90 | 8,88  | 7,71  | 4,42 | 1,31 |
| 1,88  | 1,42  | 1,75  | 0,81 | 0,27 |
| 3,54  | 2,01  | 3,05  | 0,66 | 0,07 |
| 5,90  | 3,00  | 4,00  | 2,50 | 0,70 |
| 14,80 | 12,70 | 11,00 | 6,50 | 2,00 |
|       |       |       |      |      |

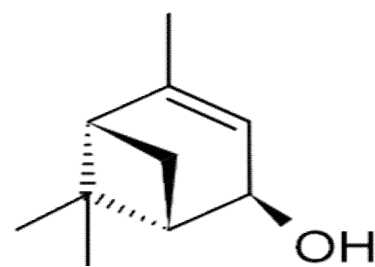
**moyenne**  
**ecart type**  
**variance**  
**min**  
**max**



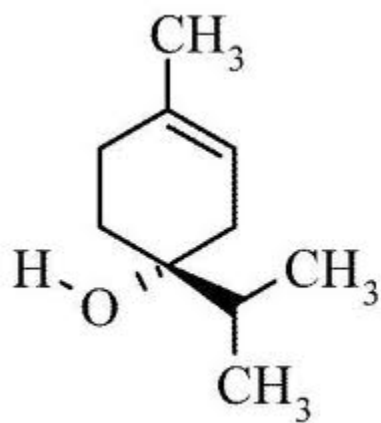
(-)- $\alpha$ -Pinene



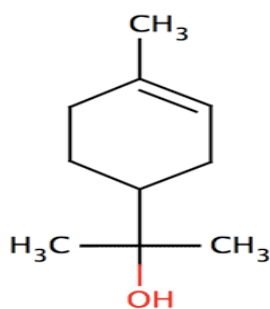
$\beta$ -pinène



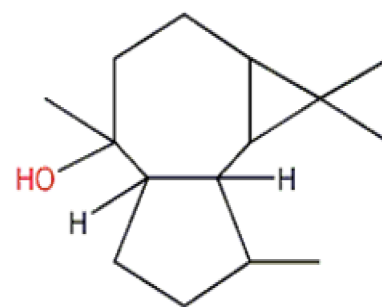
Trans -verbénol



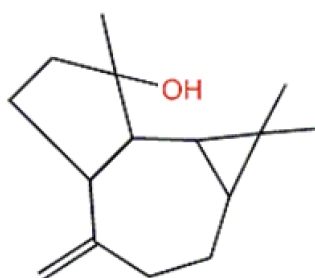
Terpinèn-4-ol



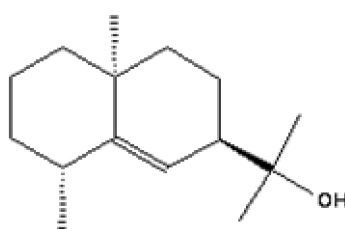
$\alpha$ -terpinéol



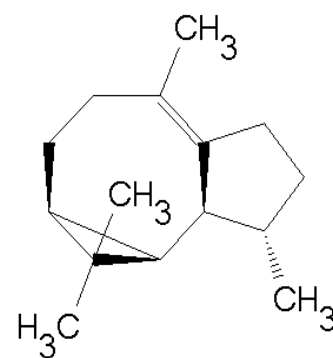
Globulol



Spathuléol



Rosifoliol



Lédène

**Annexe 5:** Structure chimique de quelque terpènes et sesquiterpènes révélés dans les huiles essentielles de *P. atlantica*.