

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA- BEJAIA



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques de l'Environnement

Mémoire

Présenté par

M^{me} BOUADAM Née FARHI Baya
Pour l'obtention du diplôme de Magister

Filière : Biologie
Option : Ecologie et Environnement

Thème

**Caractérisation morphologique et biochimique de l'espèce
Juniperus sabina L. au niveau du Parc National de Djurdjura,
Algérie.**

Soutenu publiquement le 20/11/2013

Devant le Jury composé de :

M ^f ATMANI. DJ	Professeur	Université de Béjaia	Président
M ^f BEKDOUCHE. F	MCA	Université de Béjaia	Rapporteur
M ^{me} ZBOUDJ. A	MCA	Université de Béjaia	Examinatrice
M ^{me} BENABDESSELAM. F	Professeur	Université de Béjaia	Examinatrice
M ^f BOUADAM. S	MAA	Université de Béjaia	Invité

Année Universitaire : 2013-2014

A mon très cher et regretté père, qui m'a toujours été un ami, un protecteur, un père immortel.

A la mémoire de mon beau père, qui était un pilier solide pour mon mari et qui a transmis à
ses enfants une bonne éducation charnue du respect.

Que leurs âmes reposent en paix du Dieu, amen.

Remerciements

Tout d'abord, je remercie sincèrement le directeur de mon mémoire Monsieur **BEKDOUCHE. F**, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour m'avoir proposé ce sujet de recherche, pour sa présence, son dévouement, ses précieux conseils et ses encouragements et surtout sa grande gentillesse.

Je remercie également mon Co- encadreur Monsieur **BOUADAM. S**, pour son savoir, sa droiture et son sérieux, il a su me communiquer le sens de l'indépendance et de la responsabilité. C'est lui qui a été le premier à m'expliquer le monde compliqué des métabolites secondaires.

Je les remercie également de m'avoir accordé leur confiance tout en me laissant la liberté dans le choix des méthodes adoptées pour la réalisation de ce modeste mémoire ainsi que dans la manière d'exprimer les résultats. Merci à vous de m'avoir encouragé afin de prendre des décisions et merci à vous d'avoir cru en moi et de m'avoir suivi en dépit de vos nombreuses obligations administratives. Ce travail n'aurait pas été le même sans votre encadrement.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur **ATMANI. DJ**, Professeur à l'Université de Béjaia, pour l'honneur qu'il m'a fait de m'accorder de son temps, malgré ses charges et ses responsabilités en tant que Doyen de notre faculté, en acceptant de présider le jury de soutenance.

J'adresse mes remerciements à Mesdame **BENABDESSELAM. F** et **ZEBOUDJ. A**, Professeur et Maître de conférence à l'Université de Béjaia, qui m'ont fait l'honneur d'accepter de participer au jury en examinant mon travail.

Je salue tout particulièrement l'incroyable soutien que j'ai eu de la part de Melle **TOUATI. N** qui m'a beaucoup aidé au laboratoire, notamment dans le dosage des composés phénoliques. Sans oublier ma chère amie **Djaouida** qui m'a beaucoup soutenu.

Merci également aux personnels techniques du laboratoire d'Ecologie et celui de technologie Alimentaire, pour leur disponibilité.

Je tiens à remercier encore les doctorants Mr **CHIKHOUNE**, Mr **BACHIR BEY**, Mr **CHAALLAL** et **Yacine** qui m'ont accordé leur soutien, leur aide technique durant les manipulations au laboratoire.

Un grand merci à Mr **BELBACHIR. F**, Enseignant à l'Université de Béjaia, pour ses conseils avisés et sa disponibilité à me fournir quelques articles à partir de la base de données dont il a accès. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Merci à mes enseignants de graduation et de post-graduation, aux camarades de promotion en Ecologie et Environnement. Bon courage pour la suite.

Un merci spécial à mes proches notamment ma famille et ma belle famille pour leur soutien et leur amour.

Je ne sais pas comment exprimer ma reconnaissance à ma **chère Mère** qui m'a soutenue et encouragé durant toutes les étapes de ma vie, qu'elle sache que ce travail est en partie le fruit de ses sacrifices. Qu'elle trouve ici l'expression de mon profond amour et mes chaleureux remerciements.

Enfin, mes remerciements sont particulièrement adressés à **Said, mon époux**, qui est la personne la plus importante à mon cœur, de m'avoir soutenu et patiemment réconforté et encouragé durant cette année de pratique. Merci d'avoir été si gentil et compréhensif, merci et bravo d'avoir supporté mes crises de stress.

Introduction générale	01
Synthèse bibliographiques	
1. Métabolites secondaires.....	04
1.1. Classification des métabolites secondaires.....	04
1.1.1. Composés phénoliques.....	04
1.1.1.1. Flavonoïdes.....	07
1.1.1.2. Tanins.....	09
1.1.1.2.1. Tanins hydrolysables.....	09
1.1.1.2.2. Tanins condensés.....	10
1.1.2. Terpènes.....	10
1.2. Rôles des métabolites secondaires.....	12
1.3. Facteurs de variation des métabolites secondaires.....	13
2. Présentation du genre <i>Juniperus</i>	14
2.1. Classification.....	14
2.1.1. Section <i>Caryocedrus</i>	14
2.1.2. Section <i>Oxycedrus</i> (ou Section <i>Juniperus</i>).....	15
2.1.3. Section <i>Sabina</i>	15
2.2. Ecologie du genre <i>Juniperus</i>	15
2.3. Reproduction et dispersion.....	15
2.4. Aires de répartition.....	16
2.5. Le genévrier en Algérie.....	17
2.6. Description de l'espèce <i>Juniperus sabina</i>	18
2.6.1. Description générale.....	18
2.6.2. Systématique.....	19
2.6.3. Aire de répartition.....	20
2.7. Métabolites secondaires de <i>Juniperus sabina</i>	21
2.7.1. Composés phénoliques de <i>Juniperus sabina</i>	21
2.7.2. Huiles essentielles de <i>Juniperus sabina</i>	23
3. Chimiotaxonomie.....	25
3.1. Les métabolites secondaires dans la classification.....	25
3.2. Chimiotypes.....	26
Méthodologie	
1. Présentation de la région d'étude.....	28

1.1. Choix des stations d'étude.....	29
1.2. Description des stations d'étude.....	30
1.2.1. Station d'Assoual.....	30
1.2.2. Station d'Issig.Issig.....	30
1.3.2. Station d'Azrou ougougam.....	31
2. Période et méthode d'échantillonnage.....	32
3. Matériel végétal.....	33
3.1. Etude morphologique.....	33
3.2. Etude biochimique.....	33
3.2.1. Extraction des composés phénoliques.....	33
3.2.2. Dosage des composés phénoliques.....	34
3.2.2.1. Dosage des phénols totaux.....	34
3.2.2.1.1. Principe.....	34
3.2.2.1.2. Protocole.....	34
3.2.2.1.3. Expression des résultats.....	35
3.2.2.2. Dosage des flavonoides.....	35
3.2.2.2.1. Principe.....	35
3.2.2.2.2. Protocole.....	35
3.2.2.2.3. Expression des résultats.....	36
3.2.2.3. Dosage des tanins condensés.....	36
3.2.2.3.1. Principe.....	36
3.2.2.3.2. Protocole.....	36
3.2.2.3.2. Expression des résultats.....	37
3.3. Extraction des huiles essentielles.....	37
3.4. Caractérisation des huiles essentielles.....	38
Résultats et discussions	
1. Analyses morphologiques.....	39
1.1. Morphologie des Cônes femelles.....	39
1.2. Morphologie des Graines.....	40
1.3. L'Analyse en Composantes principales (ACP) des paramètres morphologiques.....	42
2. Analyses biochimiques.....	49
2.1. Composés phénoliques.....	49
2.1.1. Polyphénols totaux.....	49

2.1.2. Flavonoïdes	50
2.1.3. Tanins condensés	51
2.2. Huiles essentielles	52
2.2.1. Rendement en huiles essentielles	52
2.2.2. Caractérisation des huiles essentielles	54
2.3. L'Analyse en Composantes principales (ACP) des paramètres biochimiques	60
Conclusion générale	65
Références bibliographiques	68
Annexes	

Liste des figures

Figure n°.01: Structure d'un composé phénolique simple.....	04
Figure n°.02: Voie de shikimate.....	05
Figure n°.03: Structure de base des Flavonoïdes.....	07
Figure n°.04: Formation de 4, 2',4',6'- tétrahydroxychalcone.....	07
Figure n°.05: Synthèse de différentes classes de flavonoides à partir de 4, 2',4',6'- tétrahydroxychalcone= naringénine-chalcone.....	08
Figure n°.06: Structure fondamentale des tanins hydrolysable.....	09
Figure n°.07: La molécule d'isoprène.....	10
Figure n°.08: Formation de l'isoprène actif (IPP) de l'acide mévalonique et isomérisation en DMAPP.....	11
Figure n°.09: Voie métabolique globale de la synthèse de différentes classes de terpènes	11
Figure n° .10: Interactions plante- environnement et la synthèse de composés phénoliques.....	12
Figure n°.11: Répartition du genre <i>Juniperus</i> dans le monde.....	16
Figure n°.12: Localisation des quatre espèces dans le monde et en Algérie.....	17
Figure n°.13: Classification botanique de <i>Juniperus sabina</i> L.....	19
Figure n°.14: Distribution mondiale de <i>Juniperus sabina</i> L. et ses variétés.....	20
Figure n°.15: Localisation du Parc National de Djurdjura par rapport aux wilayas de Bouira et de Tizi ousou.....	28
Figure n°.16: Localisation des trois stations de <i>J. sabina</i> L. au niveau de Djurdjura sur photographie satellitaire	29
Figure n°.17: Localisation des pieds de <i>Juniperus sabina</i> dans la station d'Assoual...	30
Figure n°.18: Localisation des pieds de <i>Juniperus sabina</i> dans la station d'Issig issig	31
Figure n°.19: Localisation des pieds de <i>Juniperus sabina</i> dans la station d'Azrou ougougam.....	31
Figure n°.20: Feuillage avec cônes (Assoual).....	32
Figure n°.21: Feuillage sans cônes (Azrou ougougam).....	32
Figure n°.22: Cônes de la station Issig-issig.....	32
Figure n°.23: Cônes de la station Assoual.....	32
Figure n°.24: Extraits éthanoliques de <i>Juniperus sabina</i>	34
Figure n°.25: Photographie de l'appareil utilisé pour l'hydrodistillation des huiles essentielles.....	38
Figure n°.26: Longueur, largeur et poids des cônes de <i>Juniperus sabina</i> dans les deux stations analysées.....	40
Figure n°.27: Longueur, largeur et poids des graines de <i>Juniperus sabina</i> dans les deux stations étudiées.....	41
Figure n°.28: Position des variables mesurées sur le plan factoriel de l'ACP.....	43
Figure n°.29: Position des individus sur le plan factoriel de l'ACP.....	44
Figure n°.30: Comparaison entre les individus 01 et 02	45
Figure n°.31: Comparaison entre les individus 01 et 04	45
Figure n°.32: Comparaison entre les individus 01 et 05	46
Figure n°.33: Comparaison entre les individus 02 et 05	46
Figure n°.34: Comparaison entre les individus 04 et 05	47
Figure n°.35: Regroupement des individus de <i>Juniperus sabina</i> des stations Assoual et	

Issig issig	48
Figure n°.36: Teneurs en Polyphénols totaux des échantillons de <i>Juniperus sabina</i> récoltés dans les trois stations d'étude.....	50
Figure n°.37: Teneurs en flavonoïdes des échantillons de <i>Juniperus sabina</i> prélevés dans les trois stations d'étude.....	51
Figure n°.38: Teneurs en tanins condensés des échantillons de <i>Juniperus sabina</i> issus des trois stations d'étude.....	52
Figure n°.39: Rendement moyen en huiles essentielles des échantillons de <i>Juniperus sabina</i> prélevés dans les trois stations d'étude.....	53
Figure n°.40: Composés caractéristiques des huiles essentielles des individus de <i>Juniperus sabina</i> de chaque station.....	57
Figure n°.41: Répartition des trente neuf variables biochimiques dans le plan factoriel de l'ACP.....	61
Figure n°.42: Position des quinze individus de <i>Juniperus sabina</i> provenant des trois stations d'étude dans le plan factoriel de l'ACP.....	62

Liste des tableaux

Tableau I: Noms et structures chimiques des principales classes de composés phénoliques.....	06
Tableau II: Analyse de la Variance. (ANOVA) des paramètres morphologiques.....	41
Tableau III: Matrice de corrélation des variables.....	42
Tableau IV: Analyse de la Variance (ANOVA) des paramètres biochimiques (composés phénoliques et rendement en huiles essentielles).....	54
Tableau V: Composition chimique en pourcentage des huiles essentielles des individus de <i>Juniperus sabina</i> issus des trois stations.....	55
Tableau VI: Analyse de la Variance (ANOVA) des paramètres biochimiques (composés issus de la caractérisation des huiles essentielles).....	58

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives dites métabolites secondaires (**Ferrari, 2002**). Ces derniers peuvent avoir un rôle déterminant en servant de moyens de communication entre les végétaux qui sont immobiles pour la plupart de leur cycle de vie (**Knudsen et al., 2006**). En effet, ils interviennent dans des rôles de défense contre les herbivores et les pathogènes, l'attraction des pollinisateurs et la dispersion des fruits, la compétition avec des plantes voisines.

Ces métabolites secondaires sont synthétisés en quantités souvent faibles par les plantes, mais avec une variabilité très importante, par ailleurs exploitée en chimiotaxonomie (**Gallet et Pellissier, 2002**).

L'analyse systématique et phylogénétique des plantes était traditionnellement basée sur les caractères morphologiques macroscopique et microscopique (**Adams et al., 2003**). Depuis que les métabolites secondaires sont trouvés similaires dans les membres d'un clade, leur apparition ou leur absence pourrait être interprétée comme une indication d'une origine commune et donc de lien de parenté (**Harborne, 1977**). Leur application pratique dans la taxonomie a été mis en évidence au 20ème siècle, et surtout au cours des dernières quarantaines d'années par plusieurs auteurs tels que: Hegnauer; Harborne et Turner ; Waterman et Gray (**Setyawan, 2002**). La Chimiotaxonomie a eu un impact considérable sur la systématique des plantes et de nouveaux systèmes de classification, qui tiennent compte de la répartition de ces métabolites, ont été élaborés (**Thorne 1976**). Il est d'ailleurs intéressant de constater que les systèmes de classification morphologiques sont souvent confirmés par l'étude chimiotaxonomique. Cependant, lorsque la classification par des critères macroscopiques fait défaut, il arrive qu'une étude du métabolisme secondaire participe à apporter des éclaircissements afin de vérifier l'existence d'une cohérence chimique au sein d'un taxon (**Ferrari, 2002**).

D'origine américaine, asiatique, africaine et européenne, le genre *Juniperus* (Cupressacées) comprend un grand nombre d'espèces (68 espèces) avec des variétés rigides aux aiguilles piquantes et des variétés souples aux feuillages en écailles (**Adams, 2011**). Il est considéré l'un des genres les plus diversifiés de la famille des Cupressacées dont la systématique a été élucidée par les travaux de **Rudloff (1975)**, **Rudloff et al. (1980)**, **Adams (1983)**, **Adams et al. (1978, 1981 et 1984)**. En utilisant des huiles essentielles, **Vasek et**

Scora (1967) ont pu identifier des sous espèces reconnues avant comme espèces différentes, citons le cas de *Juniperus occidentalis* et *Juniperus australis* qui sont devenues des sous espèces de *Juniperus occidentalis* (*J. occidentalis* ssp *occidentalis* dans le Nord de la Californie et *J. occidentalis* ssp *australis* dans le Sud de la Californie).

En utilisant les caractères morpho-métriques comme la taille des cônes et le nombre de graines par cône, **Gauquelin et al. (1988)** ont pu identifier deux entités de *Juniperus thurifera* comme des sous-espèce: *J. thurifera* subsp *africana* en Afrique du Nord, et *J. thurifera* subsp *thurifera* dans la gamme européenne de l'espèce. En se basant sur les paramètres biochimiques (taux de la prodelphinidine foliaire), **Lebreton et Rivera (1988)** et **Lebreton et al. (1991)** ont caractérisé respectivement les sous espèces nord africaines suivantes: *Juniperus phoenicea* ssp *turbinata* et *Juniperus oxycedrus* ssp *macrocarpa*.

En Algérie, il existe cinq espèces de genévrier: *Juniperus communis* ssp *hemispherica*, *Juniperus oxycedrus* ssp *macrocarpa*, *Juniperus phoenicea* ssp *turbinata*, *Juniperus thurifera* ssp *africana* et *Juniperus sabina* connue sous le nom vernaculaire de genévrier sabine. Cette dernière est très rare en Afrique du Nord (**Vela et Benhouhou, 2007**), elle existe exclusivement au niveau du Parc National de Djurdjura.

Dans le monde, la composition chimique de *Juniperus sabina* a fait l'objet de quelques études, nous citons principalement les travaux de **Rudloff (1963)** qui ont analysé les huiles essentielles de *Juniperus sabina* de Canada, le profil chimique de *Juniperus sabina* d'Angleterre a été étudié par **Banthorpe et al. (1973)**, celui d'USA est étudié par **Fretz et al. (1976)**, les échantillons d'Asie ont été étudiés par **Akimov et al. (1977)**. Les huiles essentielles de *Juniperus sabina* d'Espagne ont été analysés par **Hernandez et al. (1987)**, **Koedam et Looman (1980)** ont caractérisé les huiles de genévrier sabine de Norvège, **Adams et al. (1998)**, **Adams et al. (2006)** ont analysés les profils chimiques des huiles de *Juniperus sabina* de Pyrénées, d'Espagne, de Mongolie et de Kazakhstan, enfin, les huiles essentielles de *Juniperus sabina* d'Iran ont été étudiées par **Emami et al. (2007)**, **Hassanzadah et al. (2009)**, **Asili et al. (2010)** et **Asgary et al. (2013)** qui ont analysé les profils chimiques de *Juniperus sabina* provenant de différents pays. La composition qualitative des composés phénoliques du genévrier sabine d'Espagne a été étudiée par **De Pascual et al. (1981)**, **San Feliciano et al. (1989, 1990, 1991)** et **Castro et al. (1996)**. **Orhan et al. (2011)** ont quantifié les polyphénols totaux et les flavonoïdes des extraits de *Juniperus*

sabina de Turquie. Les paramètres morpho-métriques de *Juniperus sabina* ont été mis en évidence uniquement par **José et Herrera (1994) et Adams (2011)**.

En Afrique du Nord notamment en Algérie, mis à part le mémoire de fin d'étude réalisé par **Toumi (2010)** portant sur l'inventaire et la cartographie de *Juniperus sabina* L. au niveau du Parc National du Djurdjura (PND), aucune étude n'est disponible ni sur la composition chimique (huiles essentielles et composés phénolique), ni sur les paramètres morphologiques de l'espèce.

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la caractérisation de genévrier sabine de l'Afrique du Nord, nous nous proposons d'apporter une contribution à la connaissance de cette espèce méconnue grâce aux analyses morphologiques (dimensions et poids des cônes et des graines) et biochimiques (dosage des composés phénoliques et caractérisation des huiles essentielles). Parallèlement, nous compléterons notre travail par des analyses statistiques afin de mettre en évidence une éventuelle variabilité morphologique et biochimique qui existerait entre les trois stations (Assoual, Issig issig, Azrou ougougam) qui sont les seuls endroits à abriter *Juniperus sabina* en Algérie.

Nous débuterons notre travail par une synthèse bibliographique dans laquelle nous présenterons les principaux métabolites secondaires, nous décrirons le genre *Juniperus* et l'espèce *Juniperus sabina*, nous passerons en revue les études antérieures concernant les métabolites secondaires de genévrier sabine et leur utilisation en chimiotaxonomie.

La deuxième partie, qui est matériels et méthodes, sera consacrée à la description de la région ainsi que les stations d'étude. Nous développerons aussi, dans cette partie, la méthodologie suivie pour effectuer nos analyses morphologiques et biochimiques.

Dans la troisième partie seront présentés et discutés les résultats de notre travail. En fin, nous terminerons par une conclusion générale et quelques perspectives.

1. Métabolites secondaires

Les végétaux produisent des métabolites primaires qui entrent dans le fonctionnement vital de la cellule tels que: protéines, acides nucléiques, polysaccharides et lipides (**Bruneton, 1999**). En outre, pour maintenir leur survie et leur reproduction, les végétaux ont développé au cours de leur évolution différentes stratégies adaptatives face aux facteurs de stress, en synthétisant un grand nombre de substances chimiques, appelées métabolites secondaires (**Ferrari, 2002**). Ces métabolites secondaires sont inutile à l'échelle cellulaire, mais impliqués à l'échelle de l'organisme dans la communication avec l'environnement, sont synthétisés en quantités souvent faibles par la plante, mais avec une variabilité très importante (**Gallet et Pellissier, 2002**).

1.1. Classification des métabolites secondaires

Il existe plus de 200.000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique et l'origine biosynthétique comme les alcaloïdes, les terpènes, et les composés phénoliques (**Vermerris, 2006**).

1.1.1. Composés phénoliques

Ces composés constituent le groupe de métabolites secondaires le plus large et le plus répandu dans le règne végétal (**Lugasi et al., 2003**). Ils ont tous en commun la présence d'au moins un noyau benzéniques auquel est directement lié un ou plusieurs hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction: éther, ester, hétéroside (Fig.01) (**Bruneton, 1999; Urquiaga et Leighton, 2000**). La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) jusqu'aux molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (**Urquiaga et Leighton, 2000**).

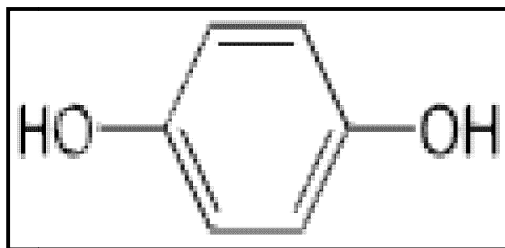


Figure n° 01: Structure d'un composé phénolique simple (**Bruneton, 1999**).

Les cycles aromatiques ne sont pas exclusivement rencontrés dans les composés phénoliques, on les trouve aussi dans d'autres métabolites secondaires tel que les alcaloïdes (exp: morphine) et les huiles essentielles (exp: thymol). Pour mieux définir les composés phénoliques, il est nécessaire de faire intervenir aussi le critère biosynthétique. Ainsi, la biosynthèse des composés phénoliques se fait par le biais de la voie de shikimate et celle d'acétate (**Bruneton, 1999**). Selon le même auteur, la voie de l'acide shikimique, qui est la plus utilisée par les plantes, conduit des oses aux acides aminés aromatiques puis, par désamination des ces derniers, aux acides cinnamiques et leurs dérivés (acides benzoïques, coumarines, lignanes et lignines, etc). La voie acétate conduit à des polyacétates qui engendrent, par cyclisation ou condensation aldolique, des composés souvent polycycliques (chromones, quinones, isocoumarines, etc.) (Fig.02).

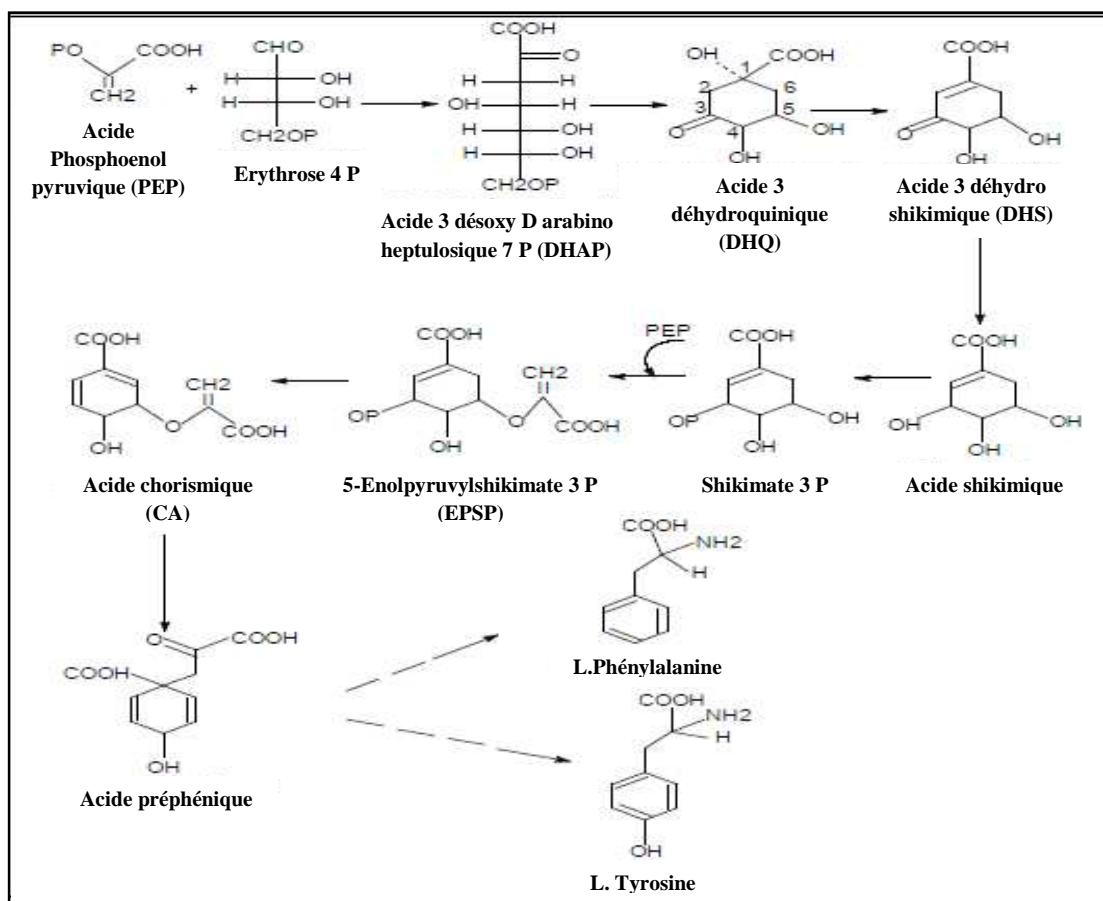
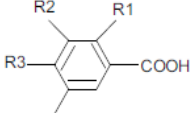
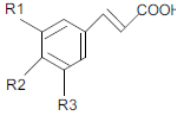
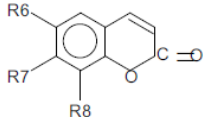
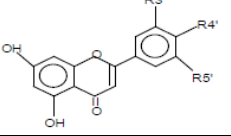
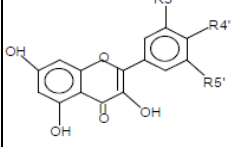
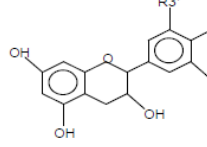
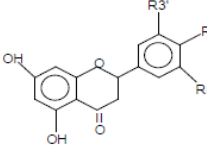
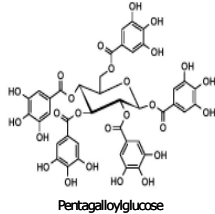
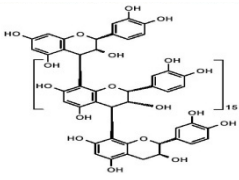


Figure n° 02. Voie de shikimate (Floss, 1997)

D'après **Harborne (1999)**, les composés phénoliques (polyphénols) peuvent être divisés en, au moins, 10 classes différentes selon leur structure chimique de base. Les principales classes sont mentionnées dans le Tab. 01.

Tableau I. Noms et structures chimiques des principales classes de composés phénoliques (Narayana et al., 2001).

Classe	Sous classe	Structure chimique	Exemples
Acides phénoliques simples	Acide hydroxybenzoïque		Acide gallique Acide salicylique
	Acide hydroxycinnamique		Acide caféique Acide cinnamique
	Coumarine		Umbelliférone Daphnétole
Flavonoïdes	Flavone		Apéginine Lutéoline
	Flavonol		Quercétine Myrecétine
	Flavanol		Catéchine
	Flavanone		Naringénine Eriodictyol
Tanins	Tanins hydrolysables	 Pentagalloylglucose	Tanins gallique Tanins éllagique
	Tanins condensés (Proanthocyanidines)		Flucofururekol Phlobaphène

1.1.1.1. Flavonoïdes

Ce sont des composés phénoliques presque toujours hydrosolubles dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné, cycle C (Middleton, 2000). Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles assurant ainsi la protection des tissus contre les agressions des ultraviolets (Rajnerayanama et al., 2001). Ils sont synthétisés au niveau du chloroplaste et participent à la phase lumineuse de la photosynthèse comme transporteurs d'électrons. Certains quittent le chloroplaste et s'accumulent dans les vacuoles (Middleton, 2000). Les composés du départ de la biosynthèse des flavonoïdes sont le malonyl CoA et le cinnamoyl CoA qui sont formés par deux voies biosynthétiques complémentaires, la voie acétate malonate qui synthétise le noyau A et la voie shikimate qui conduit à la synthèse de l'acide cinnamique et donc le cycle B et la chaîne à trois atomes de carbones qui formera le cycle oxygéné C (Hollman et al., 1999) (Fig.03).

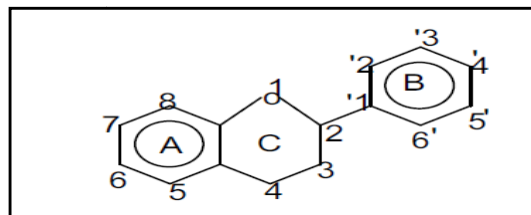


Figure n° 03. Structure de base des Flavonoïdes (Bruneton, 1999)

Le malonyl CoA et le cinamoyl CoA se combinent pour engendrer un précurseur commun de couleur jaune «le 4, 2',4',6'- tétrahydroxychalcone = naringénine-chalcone», cette réaction est catalysée par la chalcone synthase (Fig. 04) (Middleton, 2000). Ce pigment jaune est métabolisé en différentes classes des flavonoïdes sous l'action d'enzymes spécifiques (Fig. 05).

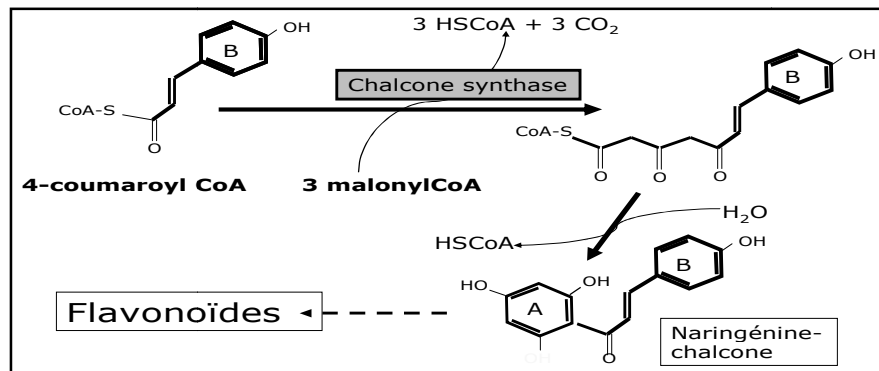


Figure n° 04. Formation de 4, 2',4',6'- tétrahydroxychalcone (Middleton, 2000)

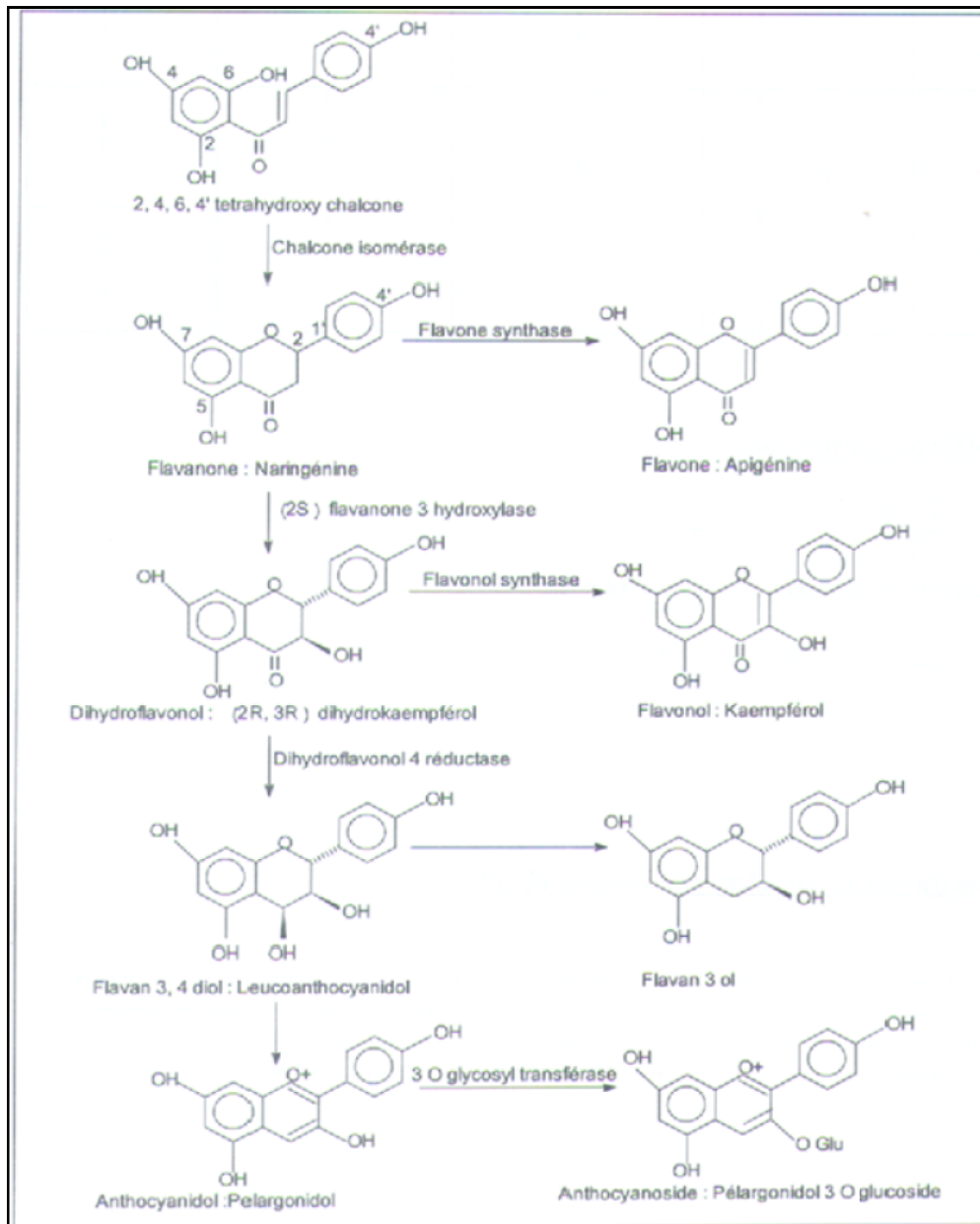


Figure n° 05. Synthèse de différentes classes de flavonoïdes à partir de 4, 2',4',6'-tétrahydroxychalcone= naringénine-chalcone (Middleton, 2000)

D'après **Harborne et Williams (2000)**, les flavonoïdes se répartissent en quinze familles, dont les plus importantes sont les suivantes : *flavones*, *flavonols*, *flavanones*, *flavanonols*, *isoflavones*, *isoflavanones*, *chalcones*, *aurones* et *anthocyanes*. Elles se distinguent par: la présence ou l'absence d'une double liaison entre les carbones 2 et 3 du cycle C ainsi que la présence et la position des fonctions cétones, alcools et méthoxy sur les deux cycles aromatiques A et B (Fig 5) (**Julies et Christin, 2002**).

1.1.1.2. Tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques dont les masses molaires se situent entre 500 et 3000 DA, ils sont capables de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines. Cette réactivité avec les protéines est à l'origine des propriétés tannantes qu'ils exercent sur le collagène au cours de la transformation de la peau en cuir, la rendant imputrescible et moins perméable à l'eau. Ils sont très répandus dans le monde végétal, leur teneur et leur nature varient d'une espèce à l'autre (**Romani et al., 2006**). Selon **Bruneton (1999)**, les tanins constituent un groupe chimique hétérogène avec des structures moléculaires variées. En général, ils sont subdivisés en deux groupes distincts par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique.

1.1.1.2.1. Tanins hydrolysables

Bruneton (1999) les a définis comme étant des oligo- ou des polyesters d'un sucre qui est très généralement le glucose et d'un nombre variable de molécules d'acide- phénol. Ce dernier il est soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) dans le cas tanins ellagiques (**Olatunji, 2000; Maiga, 2005; Brandao, 1992**). Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et alcaline, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude (**Conrad et al., 1998**). Ils sont caractéristiques des Dicotylédones sauf des Asterideae chez lesquelles sont généralement absents (**Bruneton, 1999**). D'après ce même auteur, biogénétiquement l'acide gallique est issu du métabolisme de l'acide shikimique soit par déshydrogénation directe de l'acide 3- déhydroshikimique, soit par oxydation de l'acide protocatéchique (Fig.06).

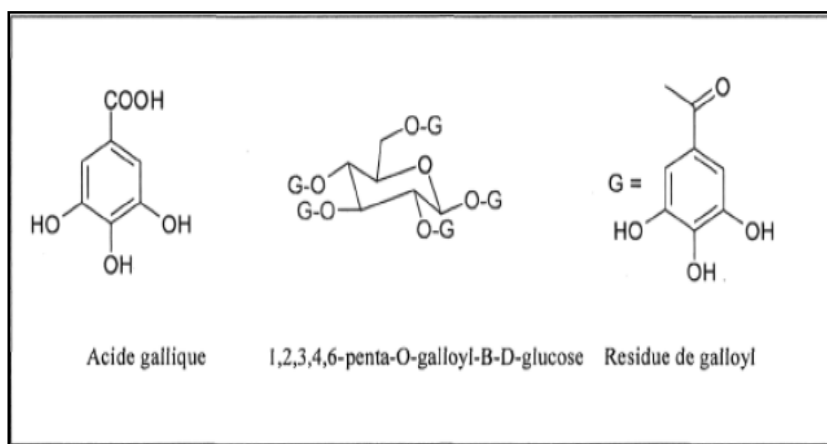


Figure n° 06. Structure fondamentale des tanins hydrolysable (**Bruneton, 1999**).

1.1.1.2.2. Tanins condensés

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines, ils se caractérisent par une masse moléculaire élevée (Bruneton, 1999; Wollgast et Anklam, 2000). Ils sont des polymères flavaniques, constitués d'unités de Flavan-3-ol liées entre elles par des liaisons carbone-carbone le plus souvent il s'agit du carbone n°4 d'un flavan-3,4-diols avec un carbone n°8 d'un flavan-3-ol (Bruneton, 1999). Les proanthocyanidols ont été identifiés dans tous les groupes végétaux y compris les Gymnospermes et les Pteridophytes. Biogénétiquement ces flavon-3-ols sont issus du métabolisme des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

1.1.2. Terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte, la molécule de base est l'isoprène de formule C₅H₈ (Fig. 07.) (Knudsen et al., 2006)

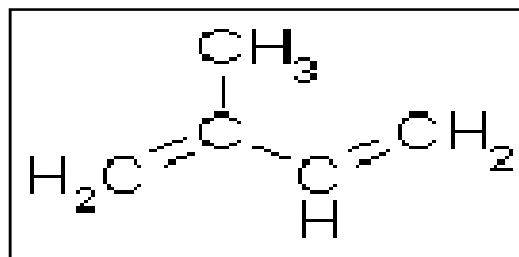


Figure n° 07. La molécule d'isoprène (Knudsen et al., 2006)

Les terpènes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires, leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène (Fig 07): hémiterpènes (C₅), monoterpènes (C₁₀), sesquiterpènes (C₁₅), diterpènes (C₂₀), sesterpènes (C₂₅), triterpènes (C₃₀), tetraterpènes (C₄₀) et polyterpènes (Allen et al., 1977).

Biogénétiquement, la biosynthèse des terpènes suit la voie de l'acide mévalonique (MVA). Ce dernier subit une phosphorylation ensuite une décarboxylation et une déshydrogénation et on obtient alors de l'isopentenylpyrophosphate (IPP) ou isoprène actif. Celui-ci constitue l'unité isoprénique d'enchaînement, et il s'isomérisé en diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP) grâce à une enzyme, l'IPP isomérase (Lamarti et al., 1994) (Fig.08).

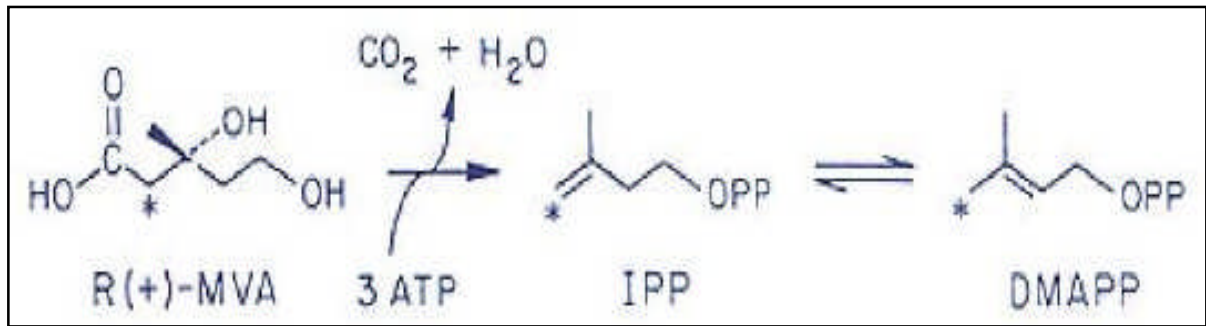


Figure n° 08. Formation de l'isoprène actif (IPP) de l'acide mévalonique et isomérisation en DMAPP (Lamarti et al., 1994)

La condensation du diphosphate d'isopentényle (IPP) sur le diphosphate de diméthylallyle (DMAPP) mène au diphosphate de géranyle (GPP, C₁₀), précurseur des monoterpènes (Fig.09) (Lamarti et al., 1994).

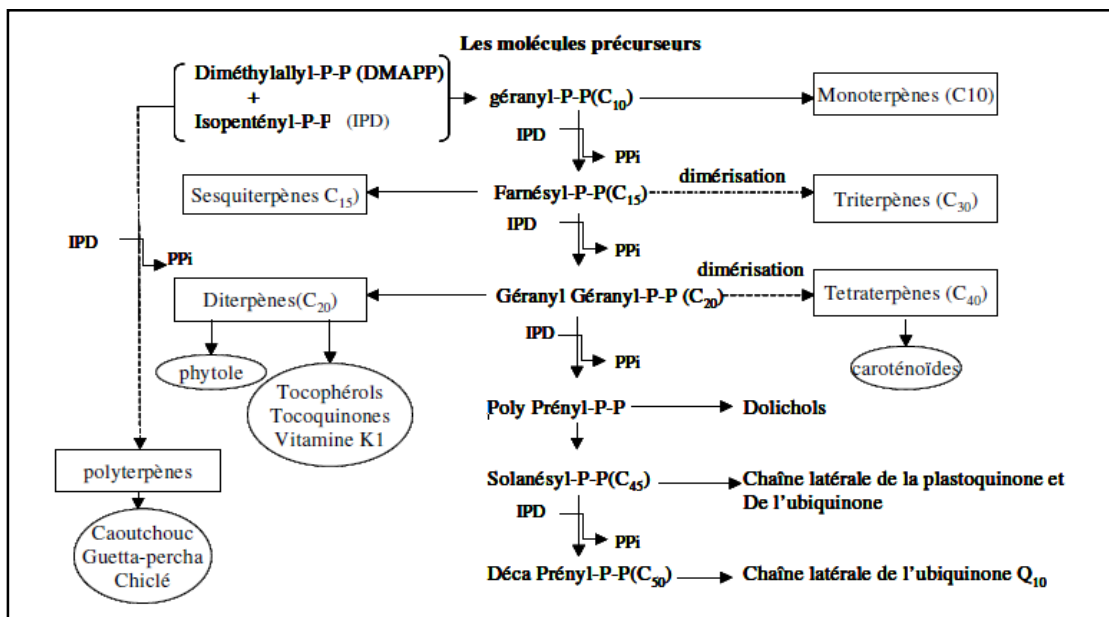


Figure n° 09. Voie métabolique globale de la synthèse de différentes classes de terpènes (Lamarti et al., 1994)

Depuis l'antiquité, certaines caractéristiques et fonctions biologiques de terpènes étaient connues pour l'homme et celles-ci ont été utilisées indirectement par l'exploitation des épices en tant que parfums et conservateurs. Plus tard, la recherche sur les composés actifs a abouti à l'extraction des terpènes notamment volatils à partir des plantes (Knudsen et al., 2006). Ces extraits végétaux dont les composants majeurs sont les mono- et sesquiterpènes s'appellent les huiles essentielles (HES) (Calsamiglia et al., 2007).

Les huiles essentielles sont des terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, elles sont composées majoritairement soit des monoterpènes (myrcène, β -pinène, α -terpinène, etc.) ou des sesquiterpènes (β -caryophyllène, α -humulène, β -bisabolène... etc.) (Vila et al., 2002). Elles ont un aspect huileux, solubles dans les lipides et les solvants organiques et possèdent une densité inférieure à celle de l'eau (Bakkali et al., 2008).

1.2. Rôles des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires assurent à la plante une protection contre les herbivores, les pathogènes et les trop fortes chaleurs. Ils favorisent la reproduction en attirant les pollinisateurs et les animaux qui disperseront les graines ainsi que la colonisation des milieux en limitant la croissance d'autres plantes par des mécanismes d'allélopathie (Wink, 2003). Ainsi, les composés phénoliques permettent à la plante de résister aux diverses agressions provoquées par des organismes pathogènes (Dixon et Paiva, 1995; Floss, 1997). Quelques exemples de l'implication des composés phénoliques dans le développement de la plante en interaction avec son environnement abiotique et biotique sont présentés dans la Fig.10.

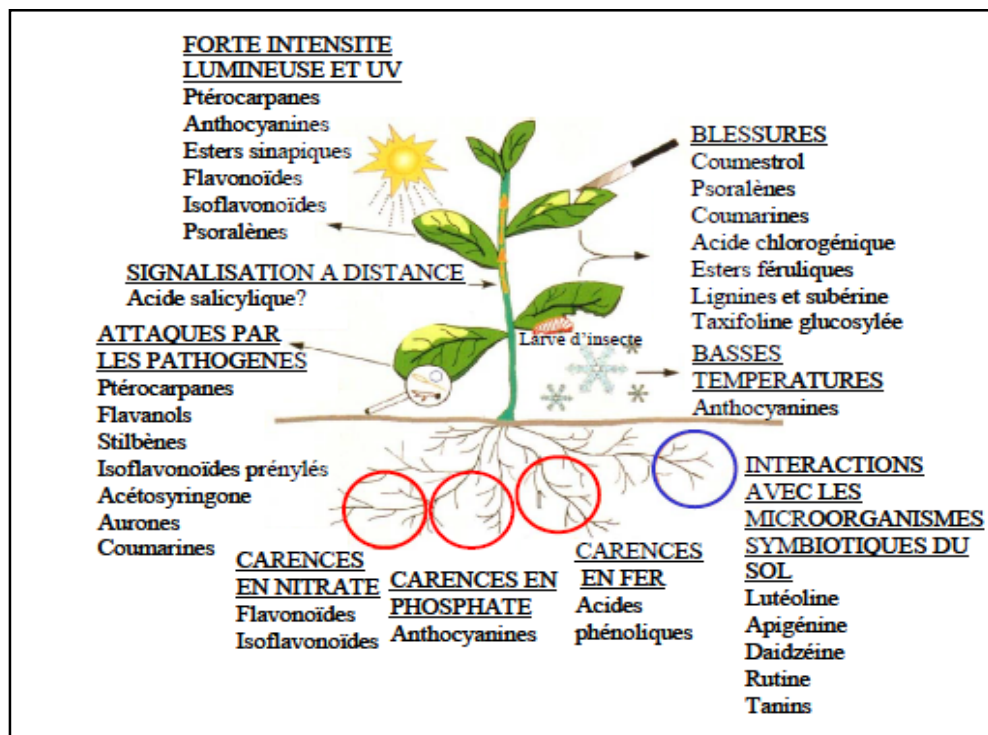


Figure n° 10. Les interactions plante- environnement et la synthèse de composés phénoliques (Dixon et Paiva, 1995).

Les flavonoïdes sont en effet des phytoalexines, qui contribuent à limiter l'extension des infections bactériennes et fongiques dans les plantes, tels que la génistéine et la glycéolline, qui interviennent dans la lutte contre les infections (**Park et al., 2002**). Ils jouent aussi un rôle très important dans la défense contre les stress abiotiques, tels que l'exposition aux UV (**Graham et Graham, 1991**). Les terpènes sont particulièrement impliqués dans les interactions des plantes avec l'environnement et jouent un rôle important dans la croissance et le développement des plantes (**Guillon, 2010**).

1.3. Les facteurs de variation des métabolites secondaires

La composition quantitative et qualitative des métabolites secondaires varient d'une espèce à l'autre (**Connan et al., 2004**), en fonction de stade de développement de la plante et même d'un organe à l'autre de la même plante (**Wink, 2003**). Leurs teneurs sont aussi influencées par les facteurs abiotiques (climatiques et édaphiques) (**Naghdi Badi et al., 2004; Stiger et al., 2004**).

2. Présentation du genre *Juniperus*

La famille des Cupressacées appartient à l'embranchement des Spermatophytes, sous-embranchement des Gymnospermes (**Ozenda, 2000**). Ce sont des arbres et des arbustes résinifères à feuilles persistantes, elle se compose de 17 genres, avec environ 113 espèces distribuées dans l'hémisphère nordique et méridional (**Belmonte, 1999**).

Le Genévrier (*Juniperus*) est un Cupressacée avec des cônes charnus en forme de baies (**Gauquelin et al, 1999**). Les écailles des cônes deviennent charnues à maturité et forment les baies de genévrier bleu-noir ou rouge suivant les espèces (**Ozenda, 2000**). Grâce à sa grande tolérance aux conditions climatiques extrêmes comme la sécheresse, sa croissance lente et la zoochorie, le genre *Juniperus* est le conifère le plus répandu dans le monde. La distribution de *Juniperus* dans l'hémisphère Nord a augmenté probablement avec l'augmentation de l'aridité et la diminution des températures depuis le Miocène avec la zoochorie facilitant l'occupation de nouvelles zones adaptatives en ayant ainsi l'avantage d'être un des premiers colonisateurs de nouveaux habitats devenus accessibles après un changement climatique (**Thorne, 1972; Adams, 2011; Farjon, 2001**) D'après **Adams (2011)** et **Little (2006)** *Juniperus*, est un genre monophylétique contenant approximativement 68 espèces et 36 variétés, se développe dans l'étendu Eurasiatique (Hémisphère Nord) mis a part quelques espèces qui se trouvent aussi dans l'Hémisphère Sud comme par exemple: *Juniperus procera*. Hochst qui se trouve uniquement le long des montagnes de Rift en Afrique de l'Est (**Adams et al., 1993**) et les espèces Méditerranéennes comme *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus phoenicea* L. et *Juniperus thurifera* L. qui poussent dans les montagnes de l'Afrique du Nord (**Adams et al., 2003**).

2.1. Classification

Debazac (1991), Farjon (2001) et Adams (2011), subdivisent le genre *Juniperus* L. (1753) en trois sections du point de vue morphologique:

2-1-1- Section *Caryocedrus*

Elle est représentée par une seule espèce s'agit de *J. drupacea* qui est une espèce dioïque. Cette section se développe en Grèce et au Proche-Orient (**Adams et Demeke, 2003**).

2.1.2. Section *Oxycedrus* (ou Section *Juniperus*)

Représentée par 11 espèces toutes dioïques. Selon **Adams (2011)**, cette section peut être divisée en deux groupes: le groupe du nord et de l'extrême orient qui est associé au *J. communis*, le deuxième groupe, allié à la région méditerranéenne, est représenté par *J. oxycedrus*. Les espèces du premier groupe sont originaires de l'extrême orient de l'hémisphère Est ou pan-arctique, quant à celles du deuxième groupe sont d'origine Méditerranéenne (**Adams, 2011**).

2.1.3. Section *Sabina*

Elle est considérée comme la section la plus diversifiée, elle regroupe cinquante-cinq espèces (**Adams, 2011**). Ce même auteur considère que les espèces qui appartiennent à cette section sont dioïques et rarement monoïques. **Adams (2011)** a partagé cette section en deux sous sections: la sous section *sabina* à feuilles dentelées qui se trouve seulement dans l'hémisphère Ouest et la sous section *sabina* à feuilles lisses qui se trouve dans l'hémisphère Ouest et Est.

2.2. Ecologie du genre *Juniperus*

Le genévrier est un genre à caractère héliophile, il a une prédilection pour les milieux ouverts où il constitue des formations qu'on peut qualifier de pré-steppiques, la majorité de ses taxa a une préférence pour les milieux d'altitude qui dépassent les 2500 m (**Gauquelin et al, 1999**). **Quezel et Barbéro (1989)**, considèrent que les genévriers sont des espèces pionnières jouant un rôle très important dans la dynamique des groupements forestiers, et qui se développent dans des situations extrêmes. Certaines espèces abritent les jeunes pousses des autres espèces forestières jouant un rôle important dans la succession végétale pour avoir des peuplements boisés « plantes nurses » (**Gauquelin et al, 1999**).

2.3. Reproduction et dispersion

Les galbules (cônes charnues) des genévriers attirent des oiseaux frugivores du type grives ou merles (*Turdus* sp) ainsi que des rongeurs. L'ingestion des galbules par ces animaux favoriserait après défécation ou régurgitation l'assouplissement de la pulpe autour des graines. Cette association permettrait à la fois la dispersion des graines et leur préparation à la germination. L'enfouissement des cônes par les rongeurs assurerait aux plantules des sites

favorables à la germination (Gilbert 1980; El Alaoui El Fels et Roques, 2006), ceci a été aussi évoqué par García et al. (2000); García (2001); García et al., (2002). D'après Santos et Telleria (1999) et Adams (2011), la majorité des espèces sont exclusivement dioïques, seules 4 espèces sont monoïques d'origine chinoise et Indienne. 20 pouvant être soit monoïques ou dioïques selon les individus, parmi lesquelles *J. sabina* mais elle est préférentiellement dioïque. Chez le genre *Juniperus* le nombre de graines contenu dans le cône charnu ou galbule varie selon l'espèce (Gauquelin et al, 1999).

2.4. Aires de répartition

Le genre *Juniperus* se localise en grande majorité dans l'hémisphère Nord. Quoique *J. procera* de la Section *sabina* se développe au sud le long des montagnes de Rift dans l'Afrique de l'Est (Adams, 2011). La répartition Mondiale du *Juniperus* est illustrée dans la Fig.11.

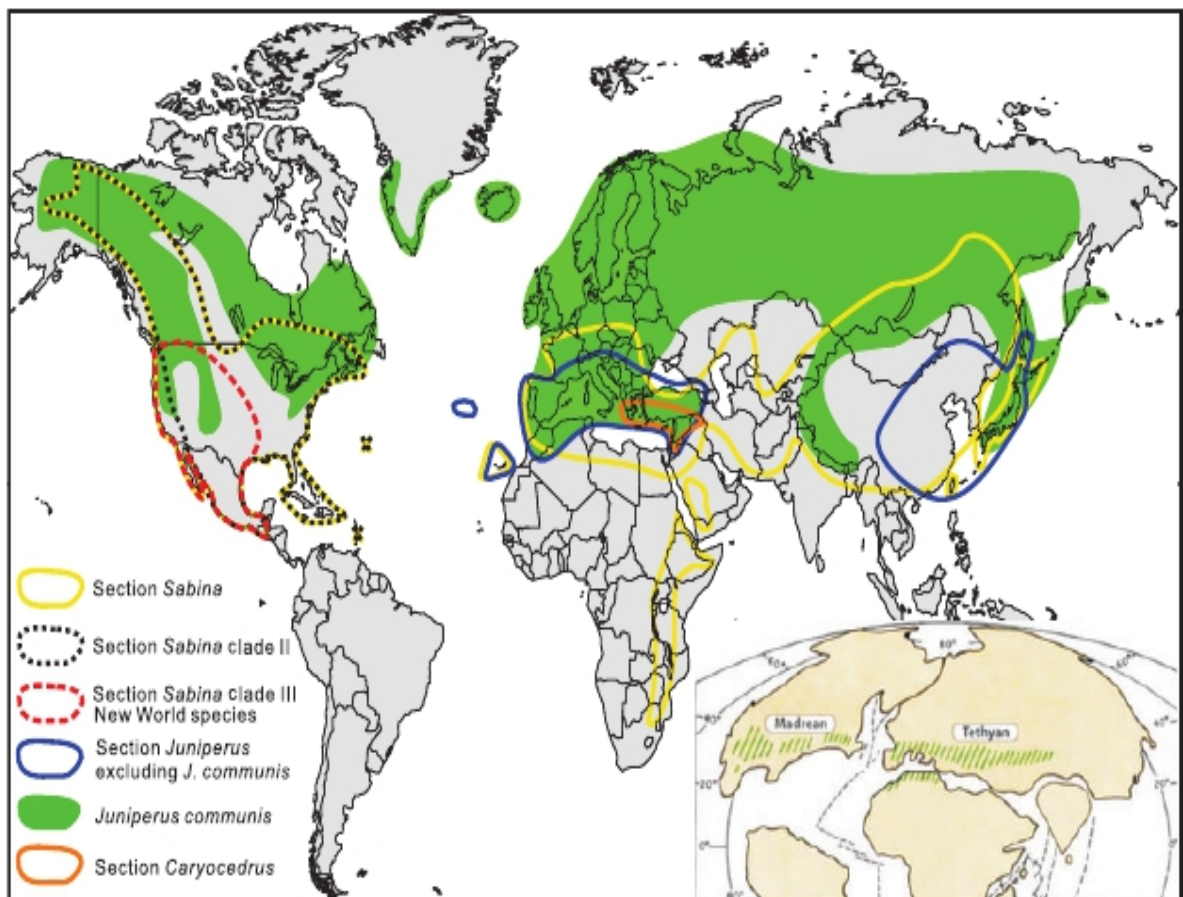


Figure n° 11. Répartition du genre *Juniperus* dans le monde (Mao et al., 2010)

2.5. Le Genévrier en Algérie

Selon **Quezel et Médail (2003)** et **Adams (2011)**, le genre *Juniperus* est représenté en Algérie par deux (02) sections et cinq (05) espèces il s'agit de:

- Section *Juniperus*: *J. oxycedrus* L. (1753) et *J. communis* L. (1753).
- Section *Sabina*: *J. phoenicea* L. (1753); *J. thurifera* L. (1753), et *J. sabina* L. (1753)

La localisation de ces espèces à l'échelle Mondiale ainsi en Algérie est illustrée dans la Fig.12.

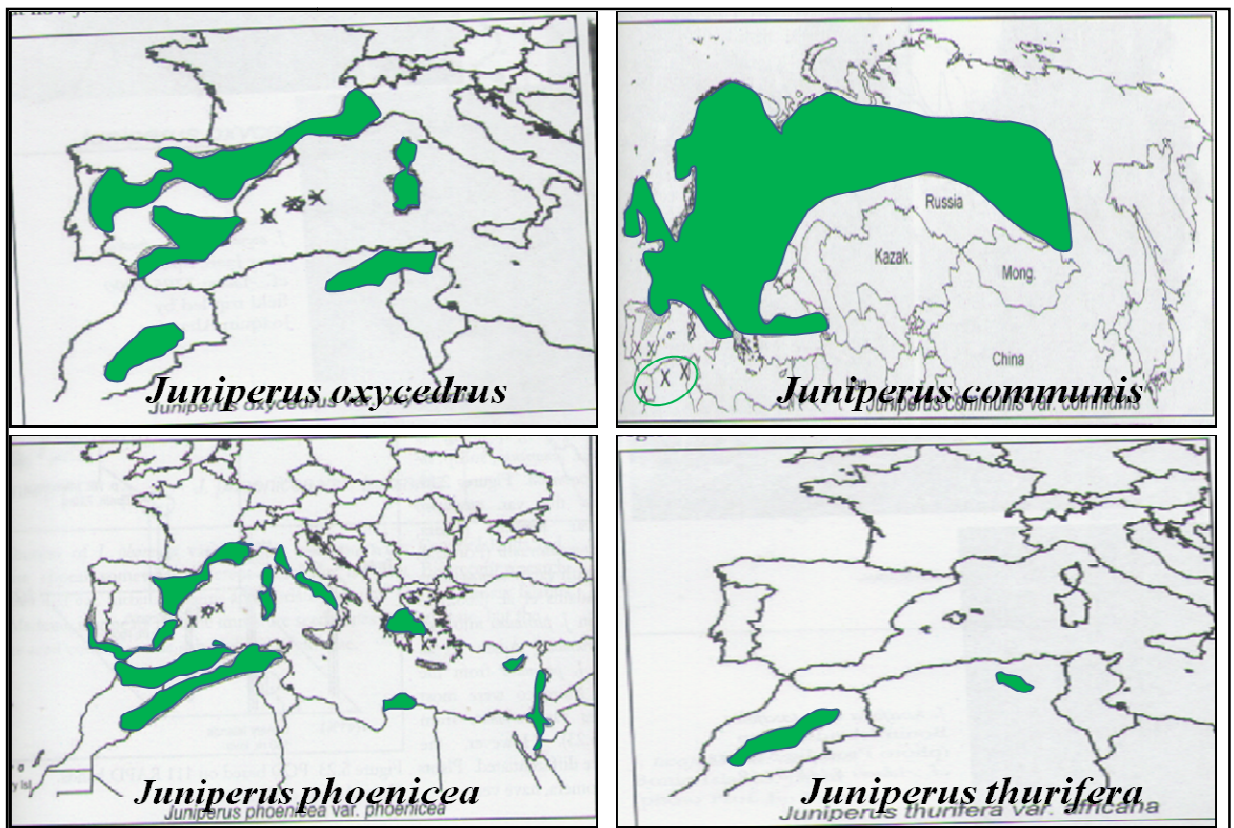


Figure n° 12. Localisation des quatre espèces dans le monde et en Algérie (Adams, 2011).

Les différences morphologiques, décrites par **Quezel et Médail (2003)**, entre ces quatre espèces sont illustrées dans l'Annexe 01.

2.6. Description de l'espèce *Juniperus sabina*

Parmi les cinq espèces qui existent en Algérie qui sont citées ci-dessus, une espèce a été choisie dans notre étude il s'agit de *Juniperus sabina*, espèce signalée comme très rare en Afrique de Nord et en Algérie (Quezel et Gast, 1998; Quezel et Médail, 2003; Yahi et al., 2012).

2.6.1. Description générale

C'est un arbuste caractéristique des hautes montagnes Eurasiatique (Quezel et Gast, 1998), à port étalé, prostré ou parfois dressé (Maire, 1952), sa hauteur varie de 30cm à 6m (Callen, 1976). Selon Maire, les jeunes rameaux sont bruns cannelle, tandis que les plus âgés ont une couleur gris-brun, de diamètre qui varie de 5 à 6 mm, les branches sont arrangées densément, minces et orientées vers le haut dont le diamètre varie de 0,8 à 1mm (Adams, 2011). Ce même auteur a défini deux formes de feuilles chez cette espèce, la première est en forme d'aiguille se trouvant chez les jeunes plante, et la seconde qu'on rencontre sur les sujets âgés est en forme d'écailles pouvant atteindre 2,5 mm de longueur, ces dernières sont plus odorantes que celles des jeunes lorsqu'elles sont froissées (Debazac, 1991). C'est une espèce dioïque rarement monoïque (Adams, 2011), les fleurs (cônes) mâles sont de couleur jaune pâle, ovales, subsessiles, dressées, renferment 10 à 15 étamines dans 4 à 5 sacs polliniques, le grain de pollen a un diamètre de 20µm, qui murit en mois de Mars (Gaussen, 1968) in (Quezel et Médail, 2003). La fleur femelle (cône à graine) est de couleur bleue verdâtre dans la première année qui deviendra bleue violacé ou noir à la maturité (la deuxième année), elle est globuleuse ou sub-globuleuse de dimensions 5,8x5,9 mm (Adams, 2011), elle se forme au début de Juillet, l'ovule n'est bien formé qu'en Octobre, la fructification a lieu l'été de l'année qui suit la floraison (Maire, 1952). Selon Adams (2011), la graine est ovoïde de 4 à 5 mm de longueur, légèrement fasciée et striée, pointue au sommet, contient un noyau résineux, le nombre de graine par cône varie de 1 à 3.

Gaussen (1968) in (Quezel et Médail, 2003) a attribué au genévrier sabbine le caractère rustique, car elle s'adapte bien aux terrains rocaillieux et aux sols calcaires et sablonneux arides (Adams, 2007). L'espèce croit sur les pentes ensoleillées, elle se trouve sur les versants sud, chauds et secs (Aichele et al. 1977) in (Toumi, 2010). Elle pousse dans les hautes altitudes de 1400 à 2750 m (Belomonte et al. 1999; Asgary et al. 2013), contrairement à Adams qui a limité l'altitude de 1000 à 3300 (Adams, 2011).

2.6.1.2. Systématique

Le genévrier sabine appartient à la famille des cupressacées section *sabina*, sa position dans le règne végétal est schématisée dans la Fig. 13.

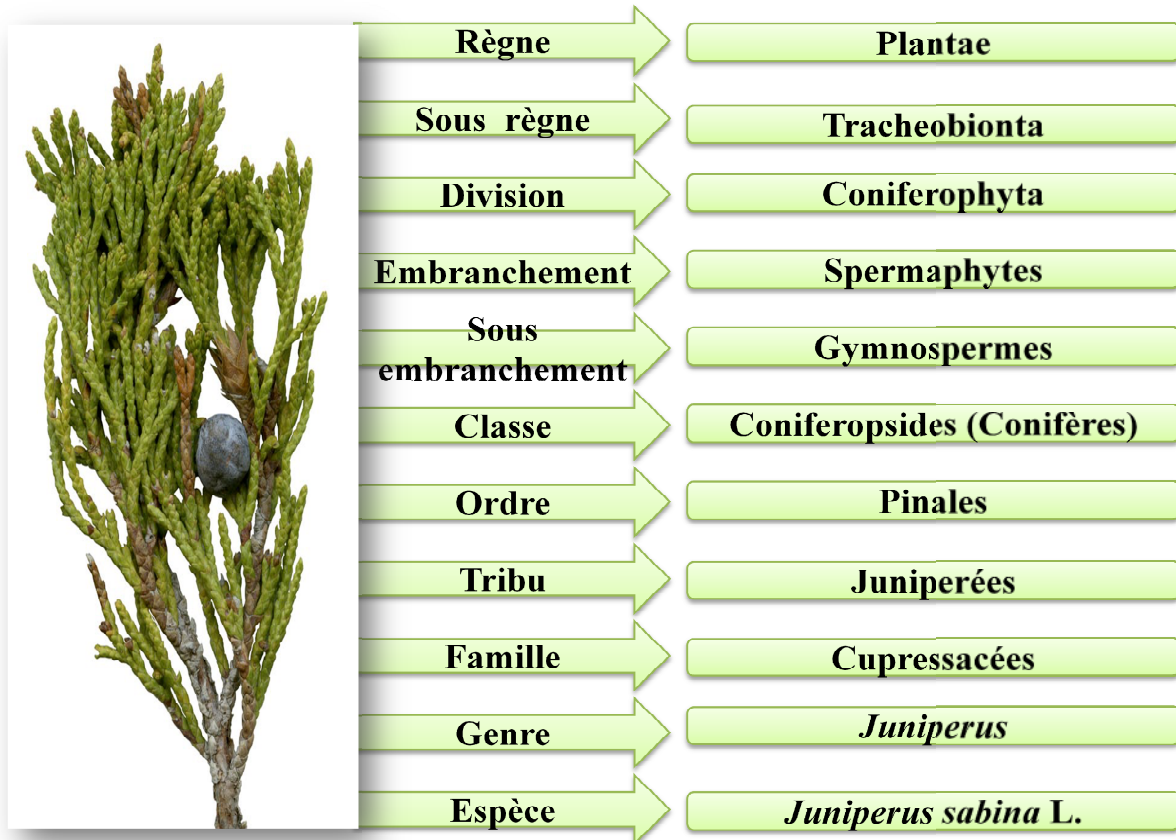


Figure n° 13. Classification botanique de *Juniperus sabina* L. (Ozenda, 2000).

Selon Adams et Schwarzbach, (2006), il existe trois variétés pour *Juniperus sabina* L. s'agit de *J. sabina* var. *arenaria* (E.H.Wilson) Farjon 2001; *J. sabina* var. *davurica* (Pall, 1789) Farjon 2001 et *J. sabina* var. *sabina* (Farjon, 2001) Adams 2011.

En 2006, Adams et Schwarzbach ont découvert la variété *mongolensis* comme une quatrième variété qui pousse dans les dunes sablonneuses de Mongolie, elle ressemble à la variété *arenaria* avec quelques différences dans le nombre de graines par cône, la forme des graines et la croissance des branches. Les clefs de détermination des quatre variétés ont été mises en évidence par Adams (2011) (Annexe. 02).

2.6.1.3. Aire de répartition

L'aire de répartition de *Juniperus sabina* L. s'étend de la Méditerranée à la Sibérie orientale (Wesche et al. 2005), elle se trouve en Europe centrale, l'Anatolie, le Caucase, les montagnes du sud de la Russie et celle d'Asie centrale (Kazakhstan, Mongolie et l'Ouest de Chine) ainsi que dans le Sud-Ouest de l'Asie (Sadeghi-aliabadi, 2009), mais cette étendue de l'Europe à l'Asie centrale est discontinue comme le montre la Fig. 14 (Adams et al. 2007; Adams et Shwarzbach, 2006).

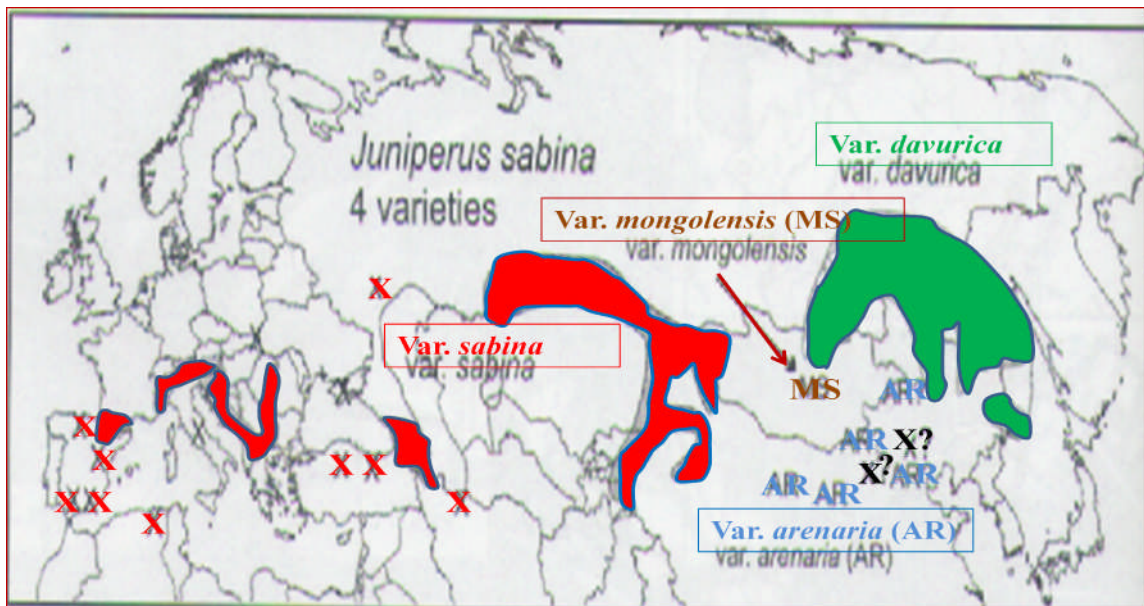


Figure n° 14. Distribution mondiale de *Juniperus sabina* L. et ses variétés (X dans la carte indique les populations écartées de *Juniperus sabina* var. *sabina*, X: présence confirmée, X?: présence douteuse) (Adams et Schwarzbash, 2006; Adams, 2011).

En Afrique du Nord, sa présence a été signalée par Quezel et Gast, 1998; Delemote, 1999 et Adams et al., 2007. Selon Quezel et Gast (1998), le genévrier sabine constitue un élément résiduel extrêmement localisé en Afrique du Nord où il est uniquement présent sur les lappiaz culminaux très arrosés de Djurdjura. Son existence en Algérie a été mise en évidence pour la première fois par Saccardy (1949) in (Gauquelin, 2006) et Barbero et Quezel (1989) qui ont décrit quelques pieds sur une crête rocailleuse calcaire près de Tizi Boussouil vers les 1800 m. En 1990, Mediouni et al. ont décrit deux autres stations, la première est située au sommet d'Aït-Tiziguessig (Issig-Issig) à 1900 m d'altitude au Nord Nord- Ouest de Tikjda refuge sur une surface d'environ 1 ha, la station se trouve sur un relief escarpé et rocheux La deuxième station est celle de Targa M'te Roumi (Azro-Ougougam), qui

a un accès très difficile, se situe en haut du versant avec une pente de 60 % et une exposition Ouest, Nord- Ouest. Sa présence en Algérie a été aussi citée par **Harfouche et al., (2005)** et **Yahi et al., (2012)**.

2.7. Métabolites secondaires de *Juniperus sabina*

Grace aux métabolites secondaires qu'il contient, le genévrier sabine est utilisé dans le domaine de médecine traditionnelle pour ses effets abortives, emménagogues, diurétiques, anti- ulcère et anti-rhumatisme (**Asegary et al., 2013**), ses lignanes lui offrent une activité anti-néo plastique et antivirale (**Akimov et al., 1977**), les extraits méthanoliques des feuilles femelles et des cônes ont montré une activité antioxydante élevée **Akimov et al. (1977)**, **Emami et al. (2007)**, **Hassanzadah et al. (2009)** et **Asili et al. (2010)** ont montré que les huiles essentielles de *Juniperus sabina* possèdent une activité antibactérienne et antifongique.

2.7.1. Composés phénoliques de *Juniperus sabina*

Les composés phénoliques sont peu étudiés chez l'espèce *Juniperus sabina*, on peut citer principalement les travaux de **De Pascual et al. (1981)**, **San Feliciano et al. (1989, 1990, 1991)**, ainsi que **Castro et al. (1996)** qui ont tous travaillé sur les extraits n- hexaniques par soxhlet à partir des feuilles de *Juniperus sabina* de l'Espagne, nous citerons ci- dessous ces travaux par ordre chronologiques:

En **1981**, **De Pascual et al.**, ont identifié de la Siderine, Coumarsabine, 8-méthoxycoumarsabine, les dérivés de propiophenone, 3,4,5 triméthoxytoluène et 2,5 diméthylcoumarine.

Huit ans plus tard (**1989**), **San Feliciano et al.** ont trouvé neuf nouveaux coumarines dans les extraits des feuilles de *Juniperus sabina*, il s'agit de: Deoxypicropodophyllotoxine, Deoxypodophyllotoxine, Deoxypodorhizon, β - peltatine A méthyle éther, Acetylepipodophyllotoxine, Acetyle-epipicropodophyllotoxine, Picropodophyllotoxine, Epipodophyllotoxine et Epipicropodophyllotoxine.

Ensuite, le même groupe d'auteurs a isolé en **1990**, 4 nouveaux lignanes dont β – peltatine- β – méthyle éther, Podorhizol acétate, 2'- méthoxyepipicropodophyllotoxine, 2'- méthoxypicropodophyllotoxine à partir des extraits des feuilles de *Juniperus sabina* de l'Espagne. Une année après (**1991**), les mêmes auteurs ont identifié deux acides phénoliques:

les dérivés de naphthalène (junaphthoïque) et 3- O- demethylyateine. En fin, **Castro et al. (1996)** ont réalisé une synthèse sur les composés phénoliques de *Juniperus sabina* d'Espagne puis ils ont réorganisé les composés isolés par des études antérieurs par famille et sous groupes comme suit:

****Famille des Lignanes**

- **Tetrahydrofuranes**

Dibydrosesamine, Acuminatine

- **Furofurans**

Epipinoresinol

- **Lignanolidés**

Podorhizol, Podorhizol acétate, Yateine, 3'-Demethylyateine, Savinin (hibalactone), Anhydropodorhizol

****Famille des Cyclolignanes**

- **Dérivées de non- lactone naphthalène**

Acide Junaphthoïque

- **Cyclolignanolidés**

Dehydropodophyllotoxine, β - Peltatine A méthyle éther, 2'-Methoxypodophyllotoxine, Deoxypodophyllotoxine, Podophyllotoxine, Epipodophyllotoxine, Epipodophyllotoxine acétate, Deoxypicropodophylline, Picropodophylline, Epipicropodophylline, Epipicropodophylline acétate, β - Peltatin B méthyle éther, 2'-Methoxypicropodophylline, 2'-Methoxyepicropodophylline, Picropodophyllone

Les structures de lignanes et cyclolignanes fournies par **Castro et al (1996)** sont illustrés dans l'Annexe 02.

En ce qui concerne les flavonoïdes et les tanins seulement deux études sont disponibles, celles d'**Emami et al. (2007)** et **Asili et al. (2010)** qui ont fait état de leur présence dans les extraits méthanoliques des cônes et des feuilles males et femelles de *Juniperus sabina* d'Iran., sans jamais les identifier ni les quantifier.

2.7.2. Huiles essentielles de *Juniperus sabina*

La composition chimique des huiles essentielles obtenues à partir de l'hydrodistillation de différentes parties de *Juniperus sabina* a fait l'objet d'assez peu d'études. Quelques publications décrivent la composition chimique de l'huile essentielle de cette espèce. Les premiers travaux sont ceux réalisés par **Fromm (1898)**, **Semmler (1900)**, **Guenther (1952)**, **Booth (1957)**, **Goryaev et Dzlalilov (1960)** et **Bruno (1962)** cités par **Rudloff (1963)**.

sabinyl acétate est le composé majoritaire dans les huiles essentielles de genévrier sabine analysés par Fomm, Semmler et Booth (**Rudloff, 1963**). Ce n'est pas le cas pour la composition de l'huile de *Juniperus sabina* d'Asie centrale analysée par Goryaev et Dzlalilov qui est très riche en limonène (40%) (**Rudloff, 1963**). Guenther a identifié dans son huile essentielle l' α pinène, terpinène, n-décanal, dihydrocuminy alcohol, citronellol et géranol en petites quantités. Quant à Booth, les constituants mineurs trouvés dans l'huile qui il a analysé sont myrcène, p- cymène, cis et trans- thujone, sabinol, terpinèn-4-ol, carvacrol, α – pinène, limonène et le sabinène. (**Rudloff, 1963**). La publication de ce dernier a décrit la composition chimique de l'huile essentielle de *Juniperus sabina* naturelle et commerciale de Canada où le sabinyl acétate et de sabinène sont les composés majoritaires, suivis de quelques quantités de: α pinène, myrcène, limonène, δ - terpinène, p- cymène, isothujone, terpinène et elemol.

La distillation, des huiles essentielles extraite à partir des rameaux de *Juniperus sabina* de Norvège **Koedam et Looman (1980)** a révélé presque le même résultat que celui de **Rudloff (1963)** dont le composé majoritaire est le sabinyl acétate suivi de sabinène, ces deux composés sont aussi identifiés respectivement en grande quantité dans le profil chimique de *Juniperus sabina* de l'Angleterre (**Banthorpe et al., 1973**).

Le triplet sabinène, myrcène et α pinène ont été trouvé majoritairement présents dans les huiles essentielles des rameaux de *Juniperus sabina* d'USA (**Fretz et al, 1976**) et celles extraites à partir des cônes de *Juniperus sabina* d'Espagne (**Hernandez et al., 1987**).

Adams et al. (1998) ont identifié le sabinène en première position suivi de myrcène et

de terpinène- 4- ol dans l'huile essentielle de genévrier sabine de Chine. Une autre composition (limonène, suivi de sabinène et d' α - pinène) d'un échantillon provenant de ce même pays a été révélé par (Akimov et al., 1977).

Le travail de **Shatar** sur les feuilles de *Juniperus sabina* de Mongolie a indiqué que le composé le plus important est le sabinène, suivi de terpinène-4-ol, puis de sabinyl acétate (**Shatar, 1984**) in (**Adams et al., 1998**). Ce même résultat a été confirmé par **Adams et al. (2006)** dans les profils chimiques des huiles essentielles des échantillons provenant des dunes de Mongolie, de Kazakhstan et de Pyrénées.

Les composés sabinène suivi de sabinyl acétate ont été observés dans la composition chimique des huiles essentielles de *Juniperus sabina* d'Espagne, des montagnes de Mongolie et des montagnes de Chine (**Adams et al., 2006**). Cet ordre s'inverse dans les huiles essentielles de genévrier sabine de Suisse (**Adams et al., 2006**). Ces auteurs ont observé un autre ordre dans les échantillons récoltés au niveau des dunes de Chine est composé de sabinène suivi d' α – pinène.

Les trois études les plus récentes sont celles réalisées sur la caractérisation des huiles essentielles obtenues à partir de différentes parties (feuillage mâles, feuillage femelle et des cônes) de *Juniperus sabina* échantillonné dans trois régions à différents altitudes d'Iran.

A 2000 m d'altitude, **Asili et al.** ont identifié, dans la composition chimique des huiles essentielles issues de feuillage mâle, le sabinène suivi d' α – pinène, celui du feuillage femelle contient le sabinène puis le terpinène-4-ol, quant aux cônes ont fourni une huile composée principalement de sabinène et de myrcène (**Asili et al., 2010**). Travaillant sur des échantillons provenant d'une altitude de 2050 m **Hassanzadeh et al.** ont montré que les profils chimiques des huiles essentielles extraites à partir de feuillage femelle et des cônes sont riche en sabinène suivi respectivement par le sabinyl acétate et le β – pinène. Le feuillage mâle a fourni une huile riche en sabinyl acétate suivi de sabinène (**Hassanzadeh et al., 2009**). Ce même ordre est trouvé dans les huiles essentielles de *Juniperus sabina* d'Iran à une altitude de 2900 m (**Asgary et al., 2013**) .

En Afrique du Nord, notamment en Algérie, le profil chimique de *Juniperus sabina* n'a jamais été étudié et à notre connaissance aucune étude n'est disponible.

3. Chimiotaxonomie

3.1. Les métabolites secondaires dans la classification

Traditionnellement la systématique des plantes était basée sur les caractères morphologiques (microscopiques ou macroscopiques) (Adams et al., 2003). Cependant, au cours de la dernière vingtaine d'années, lorsque des confusions dans la classification morphologiques surtout au niveau infra-spécifique sont trouvées, de nombreux efforts ont été faits pour établir une base solide pour l'identification et la classification des plantes en fonction de leur composition chimique (Hunt et Rudloff, 1974; Adams, 1977). C'est donc l'avènement de la chimiotaxonomie ou la systématique chimique qui est étroitement liée à l'introduction des méthodes d'analyse chimiques en particulier celle de chromatographie (Harborne, 1999). (Smith, 1976) in (Harborne, 1999) a considéré les métabolites secondaires (composés phénoliques, alcaloïdes, terpenoïdes) comme des meilleurs marqueurs utilisés dans la chimiotaxonomie, car elles présentent une grande variation de diversité chimique. Ainsi, ces métabolites secondaires sont souvent similaires dans les membres d'un clade, leur apparition ou leur présence pourrait être interprété comme une indication qu'ils proviennent de la même origine et donc présentent un lien de parenté (Harborne, 1977), elles sont incluses dans l'analyse de la systématique cladistique (Waterman, 2007). Harborne (1999) a justifié l'importance et l'avantage de la chimiotaxonomie par rapport à la classification morphologique et anatomique par le fait qu'elle ne demande pas une plante fraîche ou complète, mais seulement un échantillon sec et broyé d'une plante suffira de donner un résultat satisfaisant et une précision de classification, même avec un herbier de 100 ans.

D'après (Setyawan, 2002), l'étude de la contribution des métabolites secondaires dans la systématique chimique a été mise en évidence au cours du 20^{ème} années par plusieurs auteurs (Hegnauer, 1986; Waterman et Gray, 1988; Wink et Waterman, 1999). Tatro et al. (1973) ont considéré les huiles essentielles parmi les meilleurs marqueurs utilisés dans la systématique chimique, leur diversité quantitative et qualitative fournit un modèle chimique caractéristique, elles sont comme une empreinte digitale de la plante. En effet, la systématique de genre *Juniperus* a été élucidée par l'utilisation des huiles essentielles dans une série de travaux réalisés par Rudloff et Adams (Richard et Poveda, 2003; Waterman, 2007). Parmi les exemples qu'on peut donner sur les espèces de *Juniperus* reclassées à partir de l'analyse de leurs huiles essentielles, celui de *Juniperus occidentalis* et *Juniperus australis* poussant

dans l'Amérique du Nord et qui sont considérées auparavant comme étant la même espèce de point de vue ressemblance morphologique, la confusion a été dissipée dans l'étude menée par **Vasek et Scora (1967)**, sur la caractérisation des huiles essentielles de ces échantillons provenant de différentes régions de l'Amérique du Nord des deux espèces, dans laquelle ont pu déduire qu'elles sont deux sous espèces de *Juniperus occidentalis* ssp *australis* dans le Sud de la Californie, et *Juniperus occidentalis* ssp *occidentalis* dans le Nord de la Californie, Oregon et Washington. Un autre exemple de confusion morphologique a été résolu par la caractérisation des huiles essentielles, c'est celui de *Juniperus sabina* L. et ses variétés:

- *Juniperus sabina* var. *arenaria* identifiée par **Wilson (1928)** comme *Juniperus chinensis* var. *arenaria* et reclassée par **Farjon (2001)** en *Juniperus sabina* var. *arenaria* (**Farjon, 2001**).
- *Juniperus davurica* identifiée par **Pull (1981)** est transférée par **Farjon (2001)** en *Juniperus sabina* var. *davurica* (**Farjon, 2001**),

L'étude utilisant, les huiles essentielles et l'ADN faite par Adams a conforté les hypothèses de **Farjon (2001)** et a confirmé que *Juniperus chinensis* var. *arenaria* et *Juniperus davurica* sont bel et bien une variété de *Juniperus sabina* L. et non pas des espèces à part (**Adams et al., 2007**).

3.2. Les chimiotypes

La variation dans la composition ou le profil chimique dans une huile essentielle conduit à l'identification de ce qu'on a appelé les chimiotypes, ces derniers ont été mis en évidence dans les années 1960 par les pharmaciens Robert Granger et Jean Passet (**Duval, 2012**).

Pibiri (2005) a défini le chimiotype comme étant une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans l'huile essentielle. C'est l'élément qui permet de fournir les informations qui sera un critère de la classification chimique qui permet de sélectionner les huiles essentielles pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace (**Assad et al., 1997; Lopes et al., 1997**). Toutefois, une même espèce peut fournir des huiles essentielles de compositions chimiques différentes c'est-à-dire plusieurs chimiotypes de profils chimiques différents (**Sokmen et al., 2004; Loziene et al., 2005**). Ce polymorphisme chimique est le résultat de l'influence des facteurs intrinsèques de

la plante sur la biosynthèse de son huile essentielle (**Naghdi et al., 2004**). Le polymorphisme chimique chez *Juniperus sabina* s'est traduit par la présence de quatre chimiotypes différents. Ces différences sont au niveau de la nature du composé majoritaire de l'huile essentielle qui peut être soit:

- Le sabinène trouvé par **Banthorpe (1973)** aussi par **Fretz et al. (1976)**, ce composé était majoritaire aussi dans les huiles de *Juniperus sabina* analysées par **Adams et al. (1998)**; **Adams et al. (2006)**; **Hassanzadah et al. (2009)** et **Asili et al. (2010)**.
- Le trans-sabinyl acétate dans les huiles essentielles de genévrier sabine analysées par (**Bruno, 1962**; **Fromm, 1898** et **Semmler, 1900**) *in* (**Rudloff, 1963**), et celles caractérisées par **Koedam et Looman (1980)**; **Adams et al. (2006)** et **Asgary et al. (2013)**.
- Le Limonène dans le profil chimique des huiles de genévrier sabine étudié par (**Goryaev et Dzlalilov, 1960**) *in* (**Rudloff, 1963**) et **Akimov et al. (1977)**.

1. Présentation de la région d'étude

Notre étude est réalisée au niveau du Parc National de Djurdjura (P.N.D.) située à 140 km au sud-est d'Alger. Le P.N.D. est allongé selon la direction est-ouest sur 50 km de longueur et 3 à 10 km de largeur (coordonnées géographiques : de 36°31'02" à 36°25'42" de latitude Nord et de 3°57'23" à 4°19'43" de longitude). Il intègre des portions de territoires des wilayas de Bouira et de Tizi-Ouzou (Fig. 15) (Khidas, 1998).

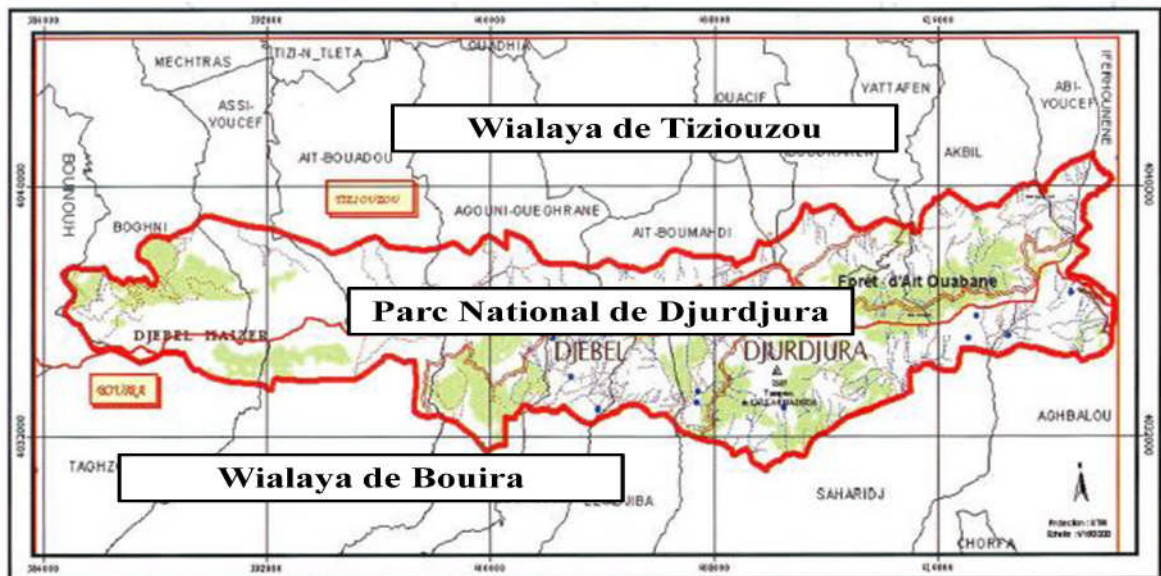


Figure n° 15. Localisation du Parc National de Djurdjura par rapport aux wilayas de Bouira et de Tizi ouzou (Khidas, 1998).

Soumis à un climat de type méditerranéen, le Djurdjura est l'une des régions les plus arrosées de l'Algérie, avec une pluviométrie annuelle allant de 1200 à 1500 mm, les précipitations ont lieu principalement sous forme de pluie et de neige, les mois les plus froids sont décembre, Janvier et Février, les températures minimales absolues sont inférieurs à zéro de Novembre à Avril, les températures maximales moyennes ne dépassent pas 24°C, Les chutes de neige ont lieu à partir du mois de Novembre et persistent, selon les années, jusqu'au mois de Mai et quelquefois jusqu'à Juin (Mallil, 2012). L'établissement d'une synthèse des facteurs climatiques à savoir la pluviométrie et la température montre que la période sèche est d'environ de 03 mois, elle s'étend de la mi-Juin jusqu'à la mi-Septembre, tandis que la période humide, s'étend de la fin Septembre jusqu'au début Juin, (Oubllil, 2011). Selon Khidas, (1998), au Djurdjura s'échelonnent les bioclimats subhumide, humide à hivers froid, frais et tempéré, et les vents sont de direction Nord et Nord-ouest. Quant à la géologie, le

massif du Djurdjura est constitué de terrains sédimentaires fortement plissés et fracturés dont une partie s'est formée dans le courant de l'ère primaire, mais la plupart appartiennent aux ères secondaires (Jurassique et Trias) et tertiaire, le calcaire est l'un des principaux faciès qu'on retrouve dans le Djurdjura (**Flandrin, 1952**).

De point de vue biodiversité, le Parc National de Djurdjura fait partie du 11^{ème} «point chaud» régional de biodiversité, c'est une zone de haute priorité de conservation dans le bassin méditerranéen (**Vela et Benhouhou, 2007**). Selon ces auteurs, le PND offre une variété de milieux qui favorise une diversification de biocénoses animales et végétales.

L'inventaire réalisé par la **Direction générale des Forêt (2010)** a révélé l'existence de 30 espèces de Mammifères et 122 oiseaux, la présence des Reptiles est aussi signalée. Quant à la flore, 1100 espèces sont présentes dont 25 taxons sont rares et exclusives où le Djurdjura leur offrent l'unique localité en Algérie (**Khidas, 1998**). Parmi ces 25 taxons, nous avons *Juniperus sabina* L, qui fait l'objet de notre étude.

1.1. Choix des stations d'étude

Nous avons effectué notre échantillonnage dans trois stations d'étude: Assoual, Issig-issig et Azro-ougougam (Fig.16). Ces dernières sont les seuls endroits où se trouve *Juniperus sabina* L. en Algérie (**Mediouni et al., 1990; Quezel et Médail, 2003**).

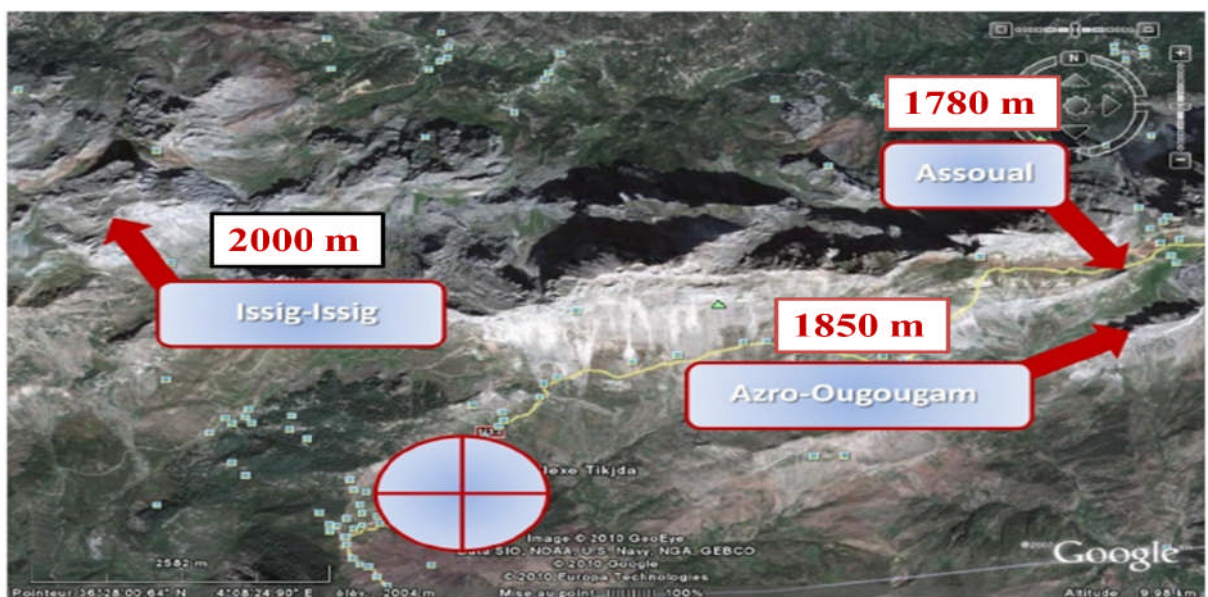


Figure n°16. Localisation des trois stations de *Juniperus sabina* L. au niveau de Djurdjura sur photographie satellitaire (Google Earth)(Toumi, 2010).

1.2. Description des stations d'étude

Pour la description de nos stations d'étude, nous nous sommes référés à l'étude réalisée par **Toumi (2010)** sur la cartographie de *Juniperus sabina* dans le Parc National de Djurdjura. Vu l'occupation horizontale des surface, les limites des pieds de genévrier sabine ne sont pas vraiment distingués, pour cela le nombre d'individus dans les stations est une estimation.

1.2.1. Station d'Assoual

Elle se situe à une altitude d'environ 1780 m, c'est une station rocheuse d'orientation Sud-Sud Ouest à Est-Nord Est, elle a un accès facile. Près de 27 individus sont présents dans cette station poussant sur un substrat calcaire. Elle présente une pente de 60% (Fig.17) (**Toumi, 2010**).



Figure n°17. Localisation des pieds de *Juniperus sabina* dans la station d'Assoual (Toumi, 2010)

1.2.2. Station d'Issig-Issig

Elle se trouve à 2000 m d'altitude. Elle a une exposition Sud-Sud Ouest, elle présente une pente douce. Cette station contient près de 70 Individus poussant sur un substrat calcaire (Fig.18) (**Toumi, 2010**).



Figure n°18. Localisation des pieds de *Juniperus sabina* dans la station d'Issig issig (Toumi, 2010)

1.3.2. Station d'Azrou ougougam

Elle se trouve à une altitude de 1850 m, elle se sépare de la station d'Assoual d'une dépression. C'est une station à accès très difficile avec une pente très rude à l'extrémité Nord où sont localisés la majorité des sujets de *Juniperus sabina* qui poussent sur le substrat calcaire, elle est d'exposition Ouest-Nord Ouest (Fig.19). Il existe près de 40 individus (Toumi, 2010).



Figure n°19. Localisation des pieds de *Juniperus sabina* dans la station d'Azrou ougougam (Toumi, 2010)

2. Période et méthode d'échantillonnage

Les échantillons de *Juniperus sabina* ont été collectés en mois de Septembre, Octobre et Novembre 2012 respectives pour les stations d'Assoual, d'Issig-issig et d'Azrou ougougam, suivant un échantillonnage aléatoire. Dans chacune des stations, des rameaux de cinq individus ont été prélevés au hasard. Les échantillons des deux dernières stations ont été fournis par M^r BEKDOUCHE et M^r BOUADAM, enseignants à l'université de Béjaia.

Les échantillons ramenés des stations d'Assoual (Fig.20) et d'Issig issig possèdent des cônes femelles. Les cônes femelles trouvés sur les individus provenant de la station d'Issig issig (Fig.22) étaient de couleur bleu violacé, alors que ceux portés par les individus échantillonnés de la station d'Assoual sont de couleur bleu verdâtre (Fig. 23).

Les échantillons récoltés de la station d'Azrou ougougam (Fig.21) sont dépourvus de cônes femelles, les cônes trouvés sur les cinq individus de cette station sont tous des cônes mâles.



Figure n°20. Feuillage avec cônes (Assoual)



Figure n°21. Feuillage sans cônes (Azrou ougougam)

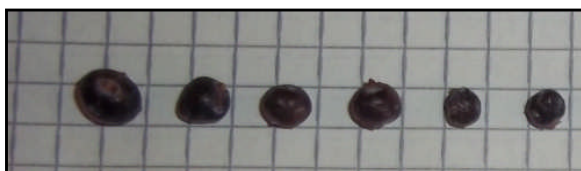


Figure n°22. Cônes de la station Issig-issig



Figure n°23. Cônes de la station Assoual

3. Matériel végétal

Notre étude a porté uniquement sur les parties aériennes (rameaux, feuilles et cônes). Les échantillons ont été transportés dans des sacs en plastiques étiquetés.

Au laboratoire, les échantillons ont été nettoyés puis séchés à l'air libre et à l'abri de l'humidité pendant 21 jours. Une petite partie de cette matière végétale séchée est finement broyée et tamisée à l'aide d'un tamis de 200 μ m de diamètre, la poudre obtenue est utilisée pour l'extraction des polyphénols.

Le reste est découpé en petits morceaux est utilisé pour l'extraction des huiles essentielles.

3.1. Etude morphologique

Seuls les individus provenant des stations d'Assual et d'Issig issig sont soumis à l'analyse morphologique, car les seuls paramètres mesurables sont ceux relatifs aux cônes femelles et aux graines qu'ils contiennent.

La longueur, la largeur des cônes et des graines ont été mesurées à l'aide d'un pied à coulisse, afin d'avoir une moyenne représentative, cinq répétitions ont été effectuées pour chaque échantillon.

Le poids des cônes et des graines est estimé à l'aide d'une balance de précision.

3.2- Etude biochimique

Nous avons analysé la teneur en composés phénoliques ainsi que le rendement et la caractérisation des huiles essentielles de 15 individus de *Juniperus sabina* à raison cinq individus par station.

Les résultats des différents dosages sont des moyennes de trois répétitions.

3.2.1. Extraction des polyphénols

La méthode d'extraction utilisée dans ce travail est celle d'Oomah (2010), qui consiste à dissoudre 0,4 g du broyat végétal (feuillage et cônes) dans 16 ml d'éthanol à 96%. Le mélange est agité pendant deux heures à température ambiante suivi d'une centrifugation

pendant 10 mn à 5000 tours/mn. Le surnageant est récupéré dans des tubes à essai puis conservé au frais (Fig.24).



Figure n°24. Extraits éthanoliques de *Juniperus sabina*.

3.2.2. Dosage des polyphénols

3.2.2.1. Dosage des phénols totaux

3.2.2.1.1. Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre en utilisant l'essai de Folin- Ciocalteu. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de folin-ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et molybdène (MO_8O_{23}). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux **(Boizot et Charpentier, 2006)**.

3.2.2.1.2. Protocole

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par **Skerget et al. (2005)** selon le protocole suivant:

Dans des tubes à essais, on mélange 500 µl de l'extrait dilué avec 2500 µl de folin-ciocalteu dilué (1/10). Après agitation, le mélange est incubé pendant 3mn à température ambiante, ensuite, on ajoute 2000 µl de Na₂CO₃ (7,5%).

Les tubes sont ensuite passés dans un bain marie à 50°C pendant 5mn. Une fois refroidis, l'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 760 nm.

Le témoin est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par 500 µl d'éthanol.

3.2.2.1.3. Expression des résultats

L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans la méthode au Folin-Ciocalteu (**Maisuthisakul et al., 2008**). La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, cette dernière est établie avec le standard étalon d'acide gallique (0,01-0,1 mg/ml), les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g).

3.2.2.2. Dosage des flavonoïdes

3.2.2.2.1. Principe

La formation d'un complexe jaunâtre, lors de l'ajout du chlorure d'aluminium, est due à la fixation des ions Al³⁺ sur les atomes d'oxygène, présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. La quantité des flavonoïdes dans un extrait devrait être déterminée selon le flavonoïde prédominant, cependant la quercétine est largement utilisée comme standard pour la détermination de la teneur des flavonoïdes dans un échantillon (**Bahorun et al.1996**).

3.2.2.2.2. Protocole

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) cité par **Quettier-Deleu et al., (2000)** ;**Chang et al., (2002)** et **Djeridane et al., (2006)** est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits. Le protocole de dosage est le suivant:

Dans des tubes à essai, on mélange 1000 µl d'extrait dilué avec 1000 µl de solution d'AlCl₃ (2%).

Après 10 mn d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, la lecture des absorbance est faite à 430 nm.

Le témoin est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par 1000 µl d'éthanol.

3.2.2.2.3. Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par la Quercétine à différentes concentrations (0,001-0,01mg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de Quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g).

3.2.2.3. Dosage des tanins condensés

3.2.2.3.1. Principe

Les tanins sont des polymères caractérisés par la présence d'un nombre suffisant de groupe hydroxyphénoliques permettant des combinaisons plus stables avec les protéines et alcaloïdes. Ces composés sont généralement amorphes, solubles dans l'eau et insolubles dans les solvants organiques apolaires (**Quettier-Deleu et al., 2000**).

3.2.2.3.2. Protocole

La méthode de n- butanol est utilisée pour le dosage des tanins condensés (**Quettier-Deleu et al., 2000; Dohou et al., 2004; Skerget et al., 2005**), selon les étapes suivantes:

On mélange 3000 µl de n-butanol avec 500 µl d'extrait dilué, le mélange est agité pendant une minute, puis on ajoute 100 µl de 2 % de la solution FeNH₄(SO₄)₂.12 H₂O préparée dans du HCl 2N. Après agitation, l'ensemble est mis au bain marie à 90C° pendant 20 min.

Les absorbances sont lues à 550 nm.

Le témoin est préparé de la même façon en remplaçant l'extrait par 500 µl d'éthanol

3.2.2.3.3. Expression des résultats

Selon **Vermerris et Nicholson (2006)**, la concentration de proanthocyanidines est exprimée en équivalent de la cyanidine. Le coefficient d'extinction molaire « ϵ » qui est utilisé pour convertir les valeurs d'absorption en concentrations est égal à $34700 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

La loi de Beer-Lambert: $A = \epsilon \cdot l \cdot C$ est employée pour déterminer les concentrations en tanins condensés

$$C = \frac{A \cdot M_m}{\epsilon \cdot l} \quad (\text{mg/ml})$$

Avec:

- **C**: la concentration de proanthocyanidines en mg/ml ;
- **ϵ** : coefficient d'extinction molaire de la cyanidine en $\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;
- **M_m** : masse molaire de la cyanidine (égale à $287,24 \text{ g/mol}$) ;
- **l**: largeur de la cuve en cm (égale à 1 cm).
- **A**: l'absorbance de l'échantillon.

3.3. Extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par la méthode d'hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger (**European Pharmacopoeia, 2011**). (Fig.25).

90 g de matière végétale sèche est macérée dans 400 ml d'eau distillée dans un ballon d'un litre pendant 24 heures. Puis le mélange est porté à l'ébullition pendant 2 à 3 heures. Les vapeurs chargées de substances volatiles traversent le réfrigérant se condensent puis elles sont récupérées dans une ampoule à décantation, l'eau et l'H.E se séparent par différence de densité. Les H.Es extraites sont conservées à une température de -20 C° (**Adams, 1999, 2000, 2011; Adams et al., 2010**), dans des flacons en verre opaque, fermés hermétiquement pour les préserver de l'air, de la lumière et des variations de température qui sont des principaux agents de dégradation.

Le rendement en huiles essentielles est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile obtenue et celle de la matière végétale traitée (Belyagoubi, 2006).

$$\text{Le rendement en Huile essentielle (\%)} = \left(\frac{P_1}{P_0}\right) \times 100$$

- P_1 : poids de l'huile (g);
- P_0 : poids de la matière végétale sèche (g);

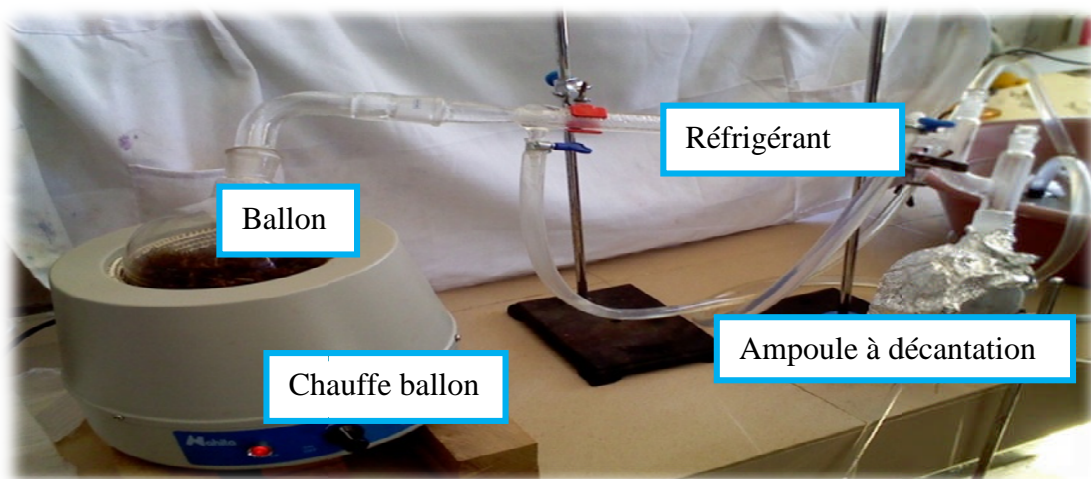


Figure n°25. Photographie de l'appareil utilisé pour l'hydrodistillation des huiles essentielles.

3.4. Caractérisation des huiles essentielles

Nos échantillons d'H.E ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse (GC/MS). L'appareil est de type Shimadzu QP 2010, équipé d'une colonne capillaire SE-30; (30 m x 0,25 mm, épaisseur du film : 0,25 μm). La détection est assurée par un détecteur à ionisation de flamme (FID) (250 °C) alimenté par un mélange de gaz H₂/Air. Le gaz vecteur utilisé est l'azote avec un débit de 0,77 ml.min⁻¹. L'appareil est équipé d'un injecteur PVT (Température de Vaporisation Programmée) de type *Split-splitless*. Le mode d'injection est Split (rapport de fuite : 1/20, débit). Le volume injecté est de 1 μl . La programmation de température va de 55 à 200 °C pendant 3 min, avec un gradient de 4 °C.min⁻¹. La fragmentation est effectuée par impact électronique sous un champ de 70 eV. L'appareil est piloté par un système informatique gérant une bibliothèque de spectres de masse.

Résultats et discussion

La présence du genévrier sabine en Afrique du Nord est limitée à trois stations localisées toutes au Djurdjura **Quezel et Gast (1998)**. Elles constituent la limite sud de son aire de répartition. Dans chaque station, le nombre de sujets est restreint (des dizaines d'individus).

Des échantillons de cinq individus sont prélevés par station et ont fait l'objet de mesures des paramètres morphologiques et biochimiques. Une analyse de la variance à un seul critère de classification (ANOVA) et une Analyse en Composantes Principales (ACP) sont les méthodes statistiques utilisées pour traiter les données obtenues.

1. Analyses morphologiques

Gauquelin et al. (1988) ont pu identifier deux sous espèces chez *Juniperus thurifera* en utilisant les caractères morphométriques comme la taille des cônes et le nombre de graines par cône. Pour notre étude, nous nous sommes inspirés de leur méthodologie vue les liens de parenté entre le genévrier sabine et le genévrier thurifère.

1.1. Morphologie des cônes femelles

Le nombre de graines dénombrées par cône femelle dans la station d'Assoual et la station d'Issig issig varie de 1 à 3. La station d'Azrou ougougam montre une absence totale de cônes femelles. Cette absence s'expliquerait soit par l'avortement des cônes femelles soit par l'absence d'individus femelles dans la station étudiée. Le nombre de graines trouvées dans les stations d'Assoual et d'Issig issig est similaire à celui trouvé par **Adams (2011)** pour *Juniperus sabina* var. *sabina*.

Les moyennes calculées pour la longueur, la largeur et le poids des 50 cônes sont donnés dans la Fig.26.

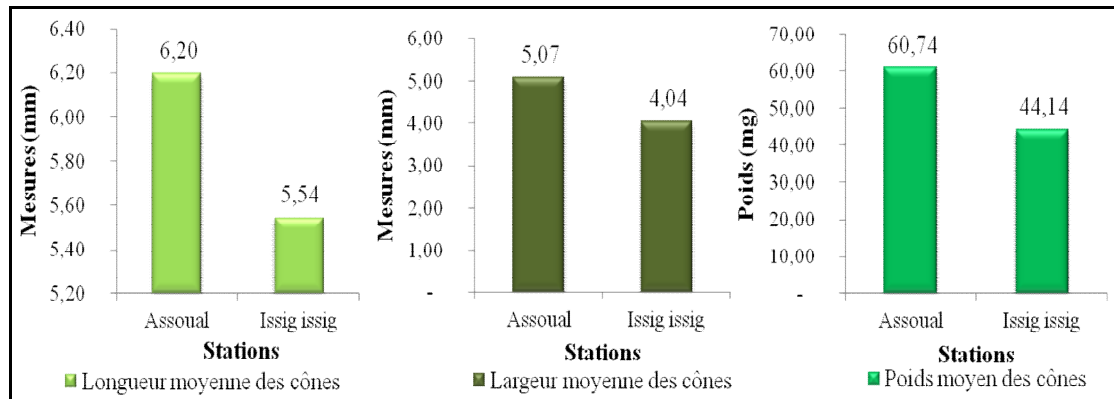


Figure n° 26. Longueur, largeur et poids des cônes de *Juniperus sabina* dans les deux stations analysées.

La Fig.26 montre que les cônes des individus de *Juniperus sabina* de la station d'Assoual présentent, en moyenne, une longueur de 6,20 mm, une largeur de 5,07 mm et un poids de 60,74 mg. Ces valeurs sont relativement plus élevées que celles trouvées pour la station d'Issig issig qui présente respectivement les valeurs de 5,54 mm, 4,04 mm et de 44,14mg.

Les valeurs trouvées pour la longueur et la largeur des échantillons analysés concordent avec celles des cônes de *Juniperus sabina* rapportées par **Adams (2011)** qui montrent une longueur de 5,9 mm et une largeur de 5,8 mm. Cependant, nos valeurs sont relativement inférieures à celles trouvées par **José et Herrera (1994)** pour les échantillons espagnols dont la longueur mesurée est de 8,3 mm et la largeur est de 6,6 mm.

Le résultat obtenu pour le poids des cônes étudiés se rapproche de celui évalué par **José et Herrera (1994)** qui montre un poids des cônes de *Juniperus sabina* d'Espagne variant entre 61 à 102 mg.

1.2. Morphologie des graines

Après dessiccation des cônes, quarante-six (46) graines sont dénombrées dans les cônes de *Juniperus sabina* échantillonnés dans la station d'Assoual et 43 graines dans leurs homologues de la station d'Issig issig. Les moyennes des mesures sont présentées dans la Fig.27.

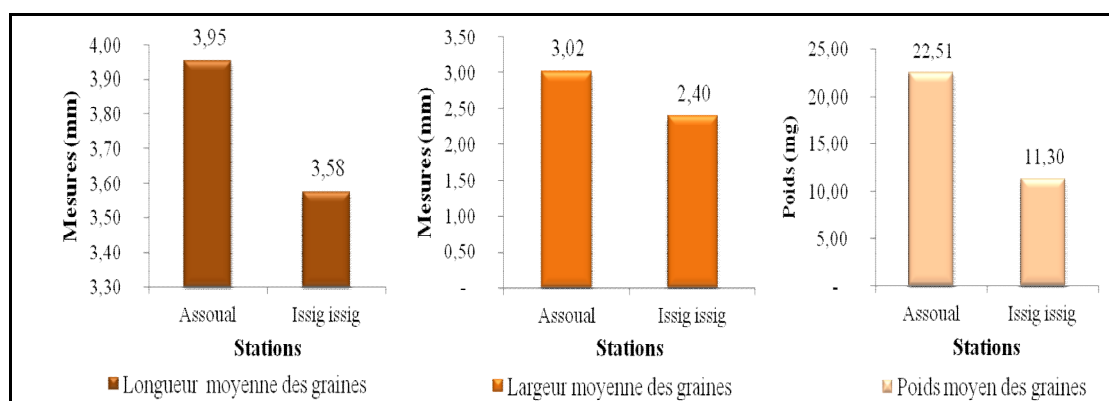


Figure n° 27. Longueur, largeur et poids des graines de *Juniperus sabina* dans les deux stations étudiées.

La Fig.27 montre que les graines des individus de *Juniperus sabina* de la station d'Assoual sont les plus longues (3,95 mm) et les plus larges (3,02 mm) par rapport à celles des individus de la station d'Issig issig. Nos résultats pour la longueur des graines sont proches de ceux rapportés par **Adams (2011)** pour *Juniperus sabina* var. *sabina* dont la longueur varie de 4 à 5mm. En ce qui concerne le poids des graines, la même figure indique que les individus de la station d'Assoual ont des graines avec un poids plus important (22,51 mg) par rapport à celui des graines des individus échantillonnés au niveau de la station d'Issig issig (11, 30 mg). Ces dernières valeurs sont inférieures à celles mesurées sur les échantillons de *Juniperus sabina* d'Espagne dont le poids des graines varie de 37 à 67mg (**José et Herrera, 1994**). Notons que le poids le plus élevé obtenu dans nos répétitions est de 36 mg.

L'analyse de la variance réalisée pour les paramètres morphologiques indique que les stations d'Assoual et d'Issig issig présentent une différence significative au niveau des paramètres mesurés(Tab.02)

Tableau II. Analyse de la Variance (ANOVA) des paramètres morphologiques.

Paramètres	Assoual	Issig issig	P
Longueur moyenne des cônes	06.20±0.55	05.54±0.25	0.043*
Largeur moyenne des cônes	05.07±0.59	04.04±0.37	0.010*
Poids moyen des cônes	60.74±11.78	44.14±8.97	0.036*
Longueur moyenne des graines	03.95±1.19	03.58±0.25	0.028*
Largeur moyenne des graines	03.02±0.30	02.40±0.24	0.006**
Poids moyen des graines	22.51±4.52	11.30±2.19	0.001**

Les valeurs représentent la moyenne de 5 répétitions ± Ecart type; (*): différence significative; (**):différence hautement significative.

1.3. Analyse en Composantes principales (ACP) des paramètres morphologiques

Afin d’apprécier les diverses corrélations qui peuvent exister entre les dimensions (longueur, largeur et poids) des cônes et des graines et de savoir s’il existe un regroupement possible entre les dix individus de *Juniperus sabina* échantillonnés, nous avons soumis ces paramètres (variables) à une ACP.

L’interprétation de l’ACP est basée sur l’analyse des corrélations qui existent entre les variables (paramètres mesurés) (Tab.III).

Tableau III. Matrice de corrélation des variables.

	Longueur du cône	Largeur du cône	Poids du cône	Poids de graine	Largeur de graine	Longueur de graine
Longueur du cône	1	0.844	0.840	0.803	0.398	0.346
Largeur du cône	0.844	1	0.935	0.884	0.622	0.537
Poids du cône	0.840	0.935	1	0.888	0.596	0.570
Poids de graine	0.803	0.884	0.888	1	0.711	0.788
Largeur de graine	0.398	0.622	0.596	0.711	1	0.550
Longueur de graine	0.346	0.537	0.570	0.788	0.550	1

En gras hors diagonale, valeurs significatives au seuil alpha=0.050.

Ce tableau montre que toutes les variables sont corrélées entre elles positivement. En effet, la plus forte corrélation est celle enregistrée entre le poids des cônes et la largeur des cônes (0,935). Aussi, la longueur des cônes, la largeur des cônes et le poids des cônes sont corrélés significativement aux poids des graines et forment les quatre variables qui influent sur le degré de rapprochement des individus des deux stations.

La position des variables sur le plan factoriel de l’ACP est illustrée dans la Fig.28

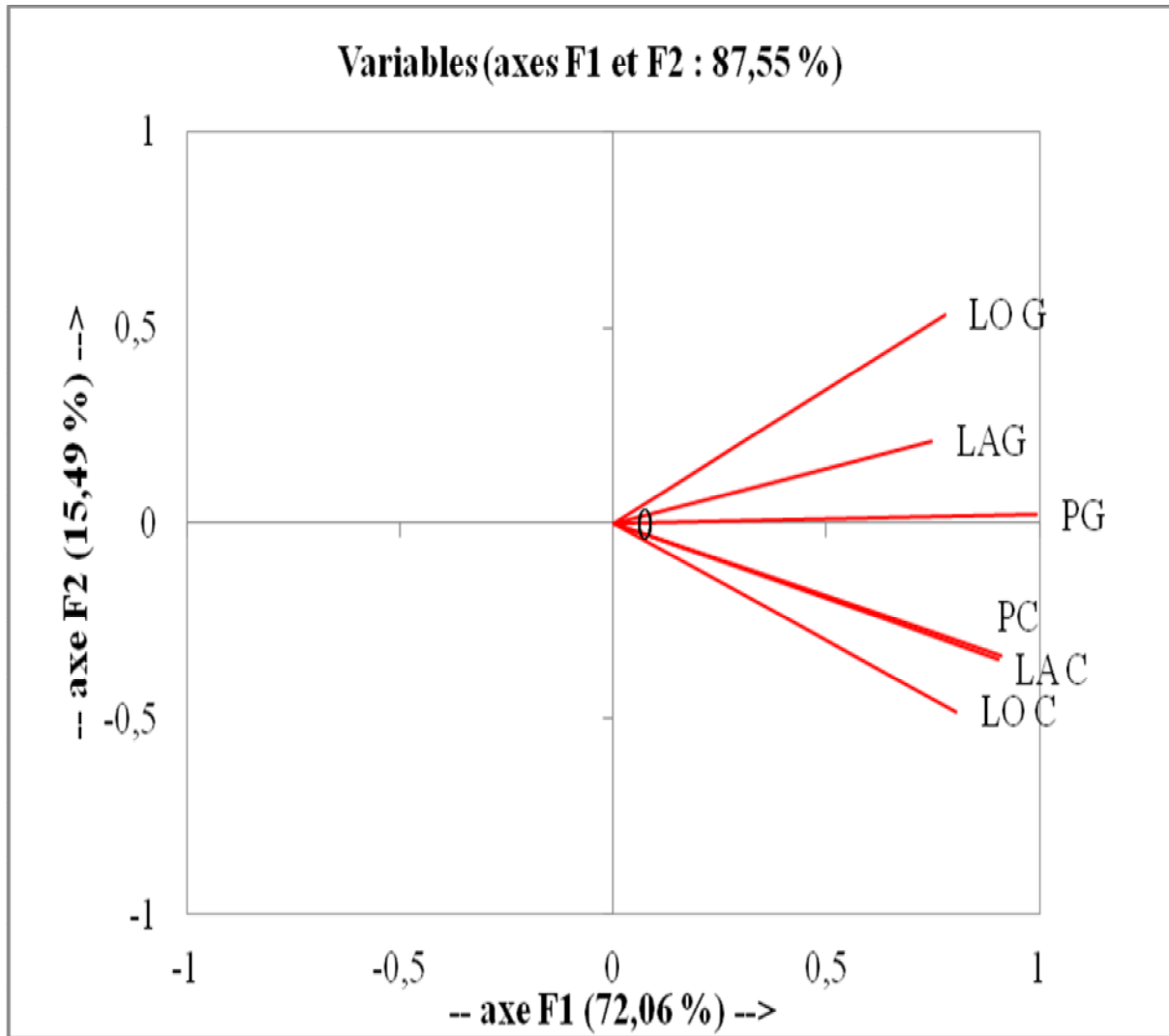


Figure n° 28. Position des variables mesurées sur le plan factoriel de l'ACP

De la Figure nous constatons que les variables relatives aux cônes sont plus proches les unes des autres que les variables relatives aux graines.

L'analyse du plan factoriel principal des dix (10) individus des deux stations (Assoual et Issig) de cette ACP est représentée dans la Fig.29

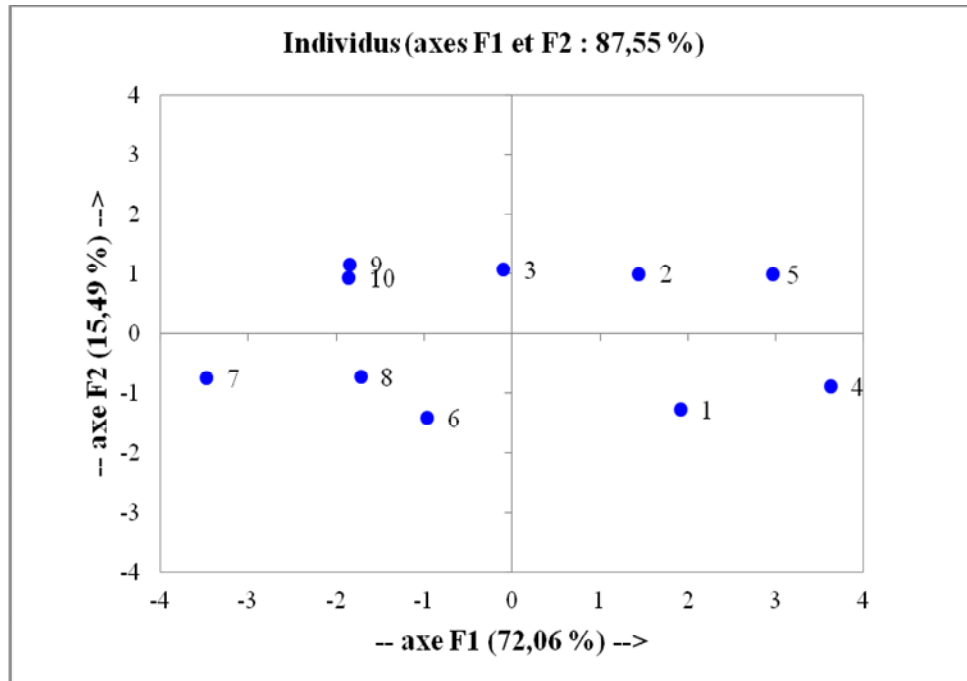


Figure n° 29. Position des individus sur le plan factoriel de l'ACP

A l'exception des individus 09 et 10 qui occupent des positions très proches dans le plan factoriel F2 et les individus 06 et 08 qui sont assez proches, la figure nous montre une discrimination entre le reste des individus appartenant aux deux stations.

La prise en compte des premières informations concernant la corrélation entre les variables mesurées (Tab.III) a permis de distinguer deux groupes d'individus, mais une confusion règne pour l'identification du troisième groupe. Le premier groupe est composé des individus 09 et 10, le second est constitué des individus 06 et 08 qui sont très proches par le poids moyen des cônes, la longueur et la largeur moyenne des cônes, ces variables présentent une forte corrélation (Tab.III). Les individus du deuxième groupe sont proches, en plus, par le poids des graines.

Concernant le troisième groupe, les individus 01, 02, 04 et 05 semblent avoir la même distance sur le plan factoriel principal F1 et ils ne semblent pas avoir des liens les uns avec les autres comparativement aux deux premiers groupes. Nous allons éclaircir les limites de ce troisième groupe par l'analyse des Fig. (30, 31, 32, 33 et 34) qui représentent les comparaisons entre les individus (01, 02, 04 et 05) pris deux à deux.

La comparaison entre l'individu 02 et l'individu 04 est exclue, car ils ne sont proches que par la longueur et la largeur de graines, ces variables ne sont pas fortement corrélées (Tab.III).

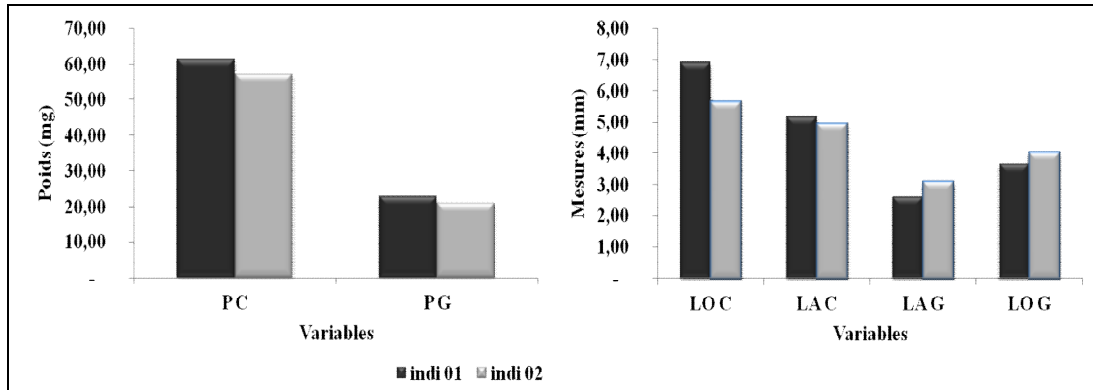


Figure n° 30. Comparaison entre les individus 01 et 02 (PC : Poids de cônes, PG : Poids de graine, LOC : Longueur de cône, LAC : Largeur de cône, LAG : Largeur de graine, LOG : Longueur de graine)

Cette figure montre que les individus 01 et 02 sont proches par le poids des graines, la largeur des cônes et la longueur des graines. Or, parmi les variables à forte corrélation, seulement deux (poids des graines et largeur des cônes), soit un rapport de 2/4, font rapprocher ces deux individus.

Les individus 01 et 04 sont proches au niveau des variables révélées par la Fig.31

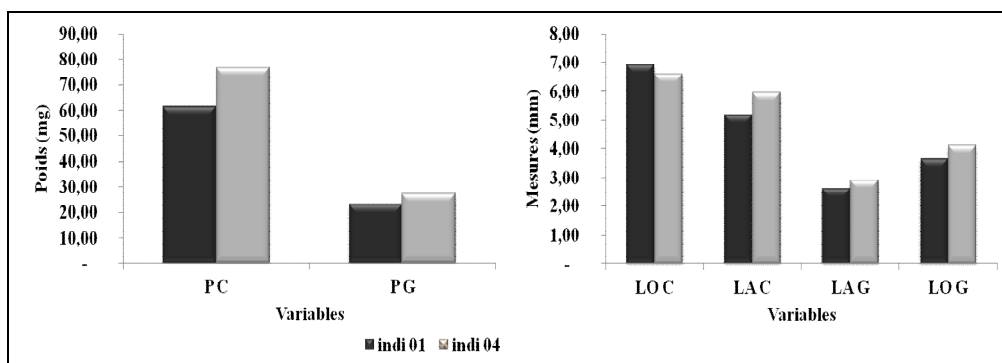


Figure n° 31. Comparaison entre les individus 01 et 04 (PC: Poids des cônes, PG: Poids des graines, LOC: Longueur des cônes, LAC: Largeur des cônes, LAG: Largeur des graines, LOG: Longueur des graines)

Les rapprochements morphologiques entre l'individu 01 et l'individu 04, sont enregistrés au niveau de la longueur des cônes, la largeur et la longueur des graines. Uniquement la longueur moyenne des cônes, soit un rapport de 1/4, est une variable corrélative.

Quant à l'individu 01 et à l'individu 05, les comparaisons sont rapportées dans la Fig.32

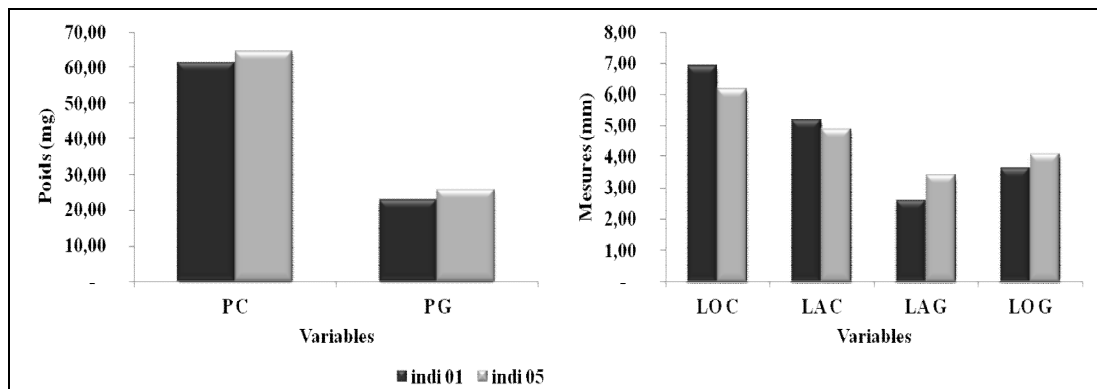


Figure n° 32. Comparaison entre les individus 01 et 05 (PC: Poids des cônes, PG: Poids des graines, LOC: Longueur des cônes, LAC: Largeurs des cônes, LAG: Largeur des graines, LOG: Longueur des graines)

D'après la figure, nous constatons que les individus 01 et 05 sont proches au niveau de la longueur des graines, la largeur des cônes, les poids des cônes et des graines. Les individus 01 et 05 sont très proches en raison de la présence de trois variables à forte corrélation soit un rapport de 3/4

La distance qui existe entre les individus 02 et 05, au niveau des variables morphologiques mesurées, est illustrée dans la Fig.33

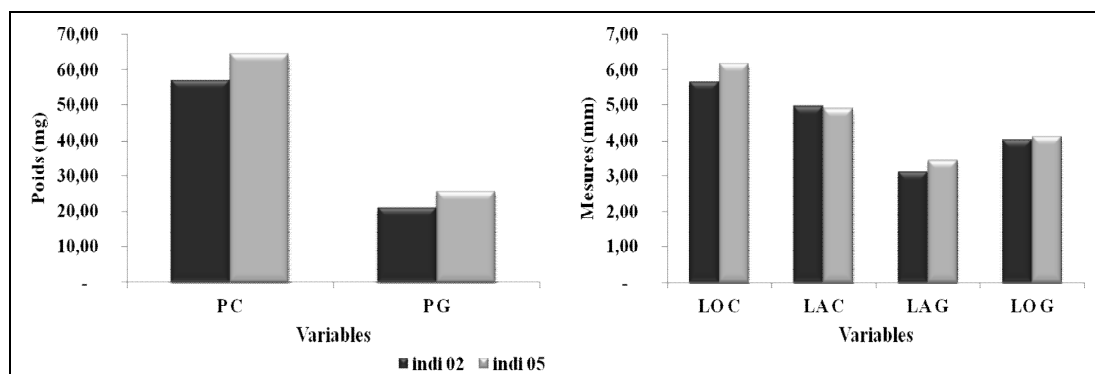


Figure n° 33. Comparaison entre les individus 02 et 05.(PC: Poids des cônes, PG: Poids des graines, LOC: Longueur des cônes, LAC: Largeur des cônes, LAG: Largeur des graines, LOG: Longueur des graines)

Les individus 02 et 05 sont proches par une seule variable corrélative, la largeur des cônes, le rapprochement est représenté par un rapport de 1/4.

En fin, la Fig.34 rapporte les mesures moyennes des variables distinctives des individus 04 et 05.

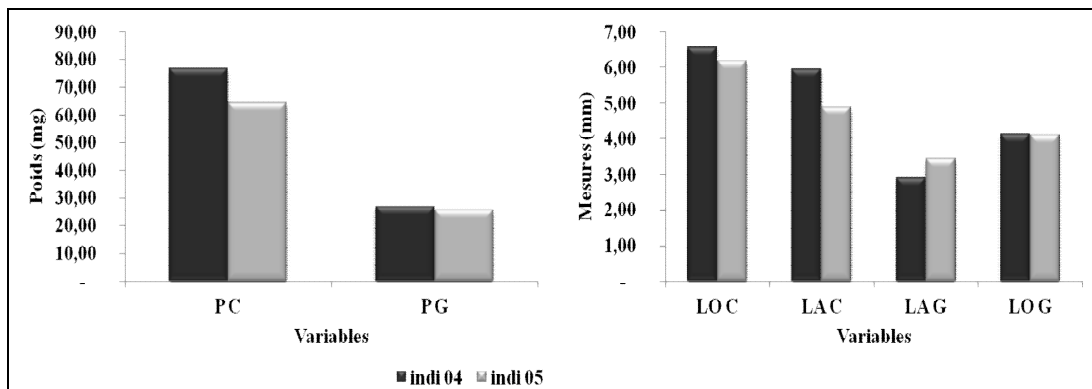


Figure n° 34. Comparaison entre les individus 04 et 05 (PC: Poids des cônes, PG: Poids des graine, LOC: Longueur des cônes, LAC: Largeur des cônes, LAG: Largeur des graines, LOG: Longueur des graines)

Comme le montre la figure, la longueur des cônes, la longueur et le poids des graines sont les variables par lesquelles se rapprochent les individus 04 et 05. Les variables poids des graines et longueur des cônes présentent une forte corrélation (2/4) (Tab.III).

L'analyse des cinq combinaisons montre que le troisième groupe est constitué de deux individus qui sont l'individu 01 et l'individu 05 qui sont proches par des variables à forte corrélation (la longueur, la largeur et le poids des cônes), à ce groupe se rapprochent les individus 02 et 04.

L'individu 07 est proche du groupe (9-10) par quatre variables (longueur et largeur des cônes, longueur et largeur des graines).

Les variables longueur des cônes, longueur et largeur des graines, rapprochent l'individu 03 beaucoup plus du groupe formé par les individus (01, 02, 04 et 05) que du celui composé de (07, 09 et 10).

Dans le plan factoriel de l'ACP (Fig.29), les individus 06, 07, 08, 09 et 10 provenant de la station Issig issig se séparent des individus 01, 02, 03, 04 et 05 issus de la station d'Assoual, par l'axe factoriel F1, formant ainsi deux groupes dont chacun correspond à une station (Fig.35).

Dans la Fig.35 sont présentés les groupes formés par les dix (10) individus.

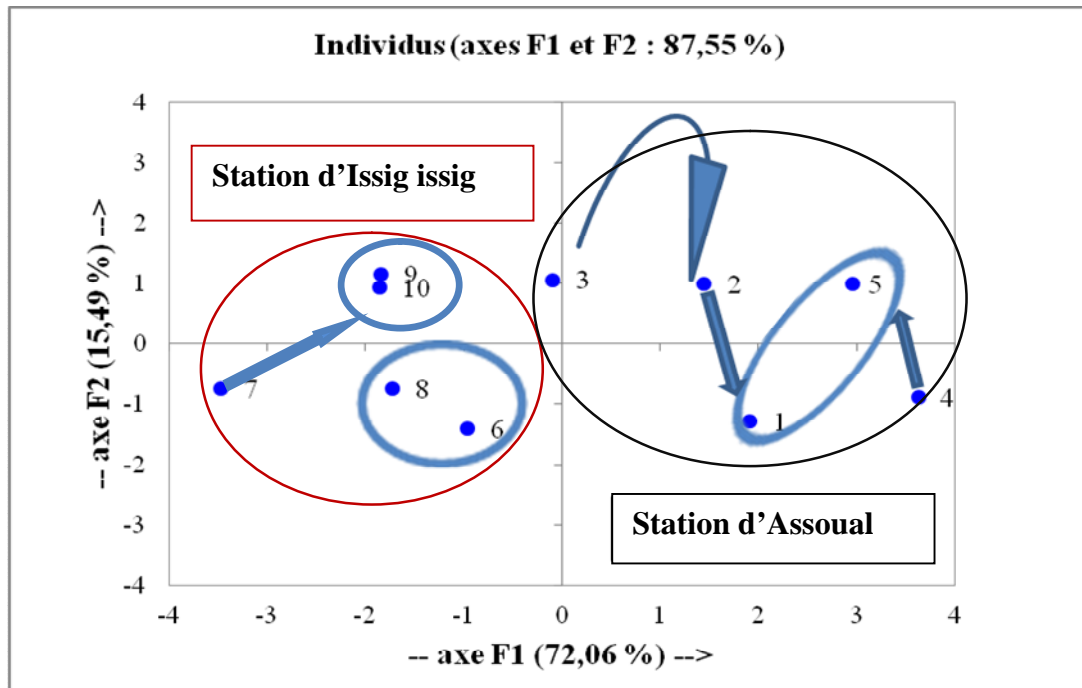


Figure n° 35. Regroupement des individus de *Juniperus sabina* des stations d'Assoual et d'Issig issig

De cette analyse, nous remarquons que les individus 01, 02, 03, 04, 05 de *Juniperus sabina* sont assez dispersés et ne forment pas vraiment un groupe bien distinct, et pourtant ils proviennent tous de la même station, cela peut être expliqué par le fait que leur station est la plus accessible, proche de la route et sujette à l'influence de l'activité anthropique et donc la plus perturbée, ce qui rend l'échantillonnage plus difficile à faire. Le nombre de répétitions (05) est probablement insuffisant pour avoir une idée générale sur l'état de la station d'Assoual. Ce n'est pas le cas de la station d'Issig issig, très éloignée des axes routiers, et ses individus (06, 07, 08, 09 et 10) constituent un groupe assez serré où la variabilité est très réduite.

La différence entre les individus de *Juniperus sabina* prélevés dans les deux stations est mise en évidence aussi bien par l'Analyse de la variance (Tab.02) que par l'Analyse en Composantes Principales où les individus des deux stations sont séparés par l'axe F1(Fig.35).

Les cônes et les graines en provenance d'Assoual sont plus volumineux que leurs homologues de la station d'Issig issig, cette différence s'expliquerait par un décalage dans la maturité des cônes. Comme nous l'avons déjà signalé dans la partie méthodologie, les cônes

chez les individus de la station d'Issig Issig étaient de couleur bleue violacée ce qui correspond à la couleur des cônes matures (**Adams, 2011**) et ceux trouvés sur les individus de la station d'Assoual étaient de couleur bleue verdâtre, selon le même auteur cette couleur correspond bien à celle des cônes immatures. Les individus de la station d'Issig Issig ont atteint leur maturité, donc les réserves dans les cônes sont épuisées, ce qui les rend petits et légers, contrairement à ceux trouvés sur les individus échantillonnés au niveau la station d'Assoual.

2. Analyses biochimiques

De nos jours, de nombreuses études phylogéniques combinent les données moléculaires avec les données morphologiques, ces dernières quand elles sont utilisées seules donnent toujours moins d'appui et de résolution pour un taxon donné. Toutefois, quand les données morphologiques sont combinées aux données moléculaires il y a le plus souvent une augmentation de la résolution (**Wortley et Scotland, 2006**).

2.1. Composés phénoliques

A l'intérieur d'une espèce végétale déterminée les différentes variétés peuvent présenter des équipements phénoliques très différents (**Mabry et al., 1970**). Ainsi leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, les organes et les stades physiologiques. Les composés phénoliques constituent un groupe de substances variées et ubiquistes. En font partie les flavonoïdes et les tanins condensés.

2.1.1. Polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé selon la méthode de Folin-ciocalteu, le protocole suivi dans notre étude est celui préconisé par **Skerget et al. (2005)**, une gamme étalon est établie séparément avec de l'acide gallique (Annexe. 04) pour calculer la concentration des polyphénols dans chaque extrait. Les résultats du dosage exprimés en mg d'équivalent d'Acide Gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/g) sont illustrés dans la Fig.36.

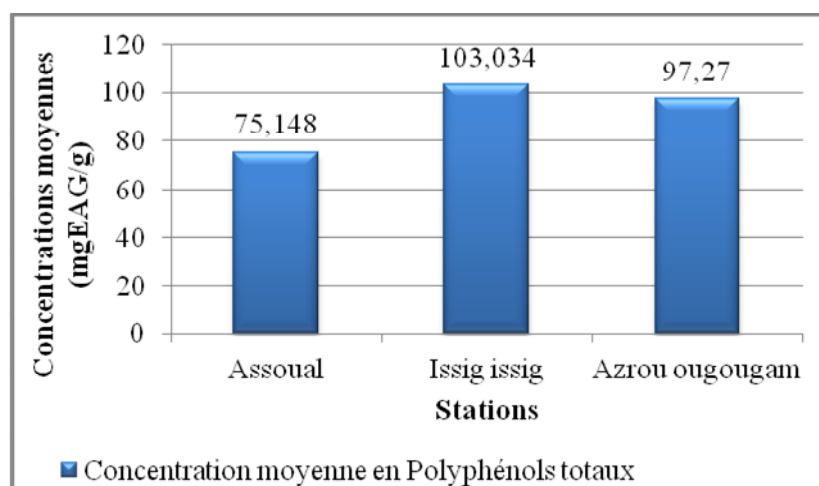


Figure n° 36. Teneurs en polyphénols totaux des échantillons de *Juniperus sabina* récoltés dans les trois stations d'étude.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux présentés dans la Fig.36 indiquent que la concentration moyenne la plus élevée (103, 034 mg EAG/ g) est enregistrée au niveau des extraits éthanoliques des rameaux de *Juniperus sabina* de la station d'Issig issig suivie de ceux de la station d' Azrou ougougam avec une concentration moyenne de 97,27 mg EAG/g. la faible concentration en polyphénols totaux (75,148 mg EAG/g) est évaluée dans les extraits de la station d'Assoual.

La comparaison de nos résultats avec ceux trouvés dans l'étude d'**Orhan et al. (2011)** qui ont analysé la teneur en composés phénoliques des cônes matures et celle des cônes immatures du genévrier sabine provenant de Turquie, indique que les teneurs obtenues dans les extraits des individus de la station d'Issig issig (103,03 mg EAG/g) sont proches de ceux obtenus par les auteurs dans les extraits des cônes matures (108,03 mg EAG/g), ainsi que les concentrations moyennes en polyphénols au niveau des extraits des individus de la station d'Assoual (75, 15 mg EAG/g) sont presque similaires à celles des extraits des cônes immatures (70,49 mg EAG/g). Ce résultat corrobore notre interprétation donnée pour l'analyse de la variabilité morphologique.

2.1.2. Flavonoïdes

L'évaluation quantitative des flavonoïdes dans les différents extraits est réalisée selon la méthode du trichlorure d'aluminium, nous avons dosé les flavonoïdes suivant le protocole cité par **Quettier-Deleu et al. (2000)**; **Chang et al. (2002)** et **Djeridane et al. (2006)**. Une gamme étalon est établie séparément avec de la Quercétine (Annexe 04) pour calculer la

concentration des flavonoïdes dans chaque extrait. Les résultats du dosage des flavonoïdes sont exprimés en milligramme d'équivalent Quercétine par gramme de matière végétale sèche (mg EQ/g) et ils sont mentionnés dans la Fig.37.

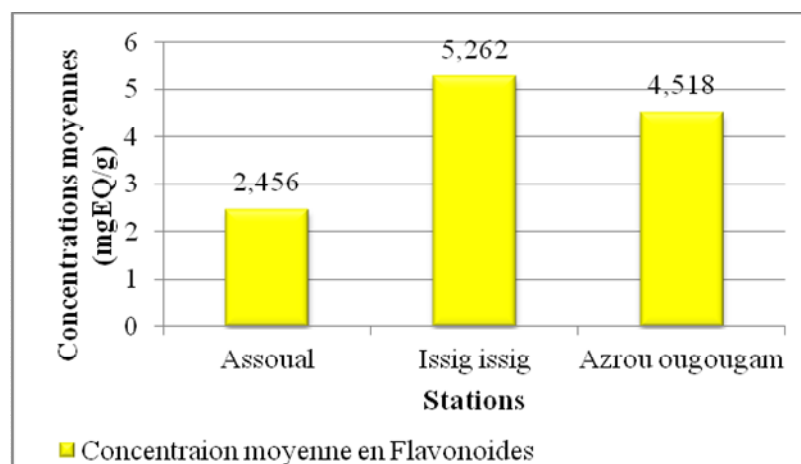


Figure n° 37. Teneurs en flavonoïdes des échantillons de *Juniperus sabina* prélevés dans les trois stations d'étude.

Le résultat du dosage quantitatif des flavonoïdes des rameaux de *Juniperus sabina* montre que les concentrations en flavonoïdes dans les extraits des individus des stations d'Issig issig (5,26 mg EQ/g) et d'Azrou ougougam (4,52 mg EQ/g) sont assez proches. Les extraits des individus de la station d'Assoual présentent une faible concentration qui est évaluée à 2,46 mg EC/g.

Nos résultats sont inférieurs à ceux d'**Orhan et al. (2011)** qui ont trouvé 16,52 mg EQ/g (cônes matures) et 07,00 mg EQ/g (cônes immatures).

2.1.3. Tanins condensés

Le dosage des tanins condensés est effectué par la méthode n-butanol selon le protocole suivi par **Quettier-Deleu et al. (2000)**; **Dohou et al. (2004)**; **Skerget et al. (2005)**, les concentrations exprimées en mg équivalent de cyanidine par gramme de matière sèche sont rapportées dans la Fig.38.

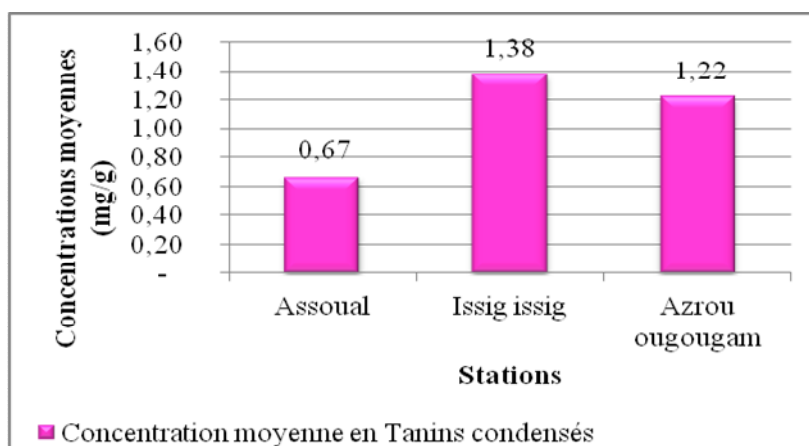


Figure n° 38. Teneurs en tanins condensés des échantillons de *Juniperus sabina* issus des trois stations d'étude.

La figure indique que les concentrations les plus élevées en tanins condensés sont observées dans les extraits des individus récoltés dans la station d'Issig issig avec une moyenne de 1,38 mg EC/g, suivis de ceux issus de la station d'Azrou ougougam avec une moyenne de 1,22 mg EAC/g. La concentration la plus faible (0,67 mg EC/g) est enregistrée au niveau des extraits des individus échantillonnés à Assoual.

Des études ont montré que la variation des teneurs en composés phénoliques chez le genévrier est sous l'influence de plusieurs paramètres comme le type d'extraction, la partie de la plante étudiée (Hayouni et al., 2007; Marija et al., 2011; Marija et al., 2013) et la période de récolte (Utsumi et al. 2009).

2.2. Huiles essentielles

A l'intérieur d'une même espèce végétale, on observe des variations chimiques (qualitatives et quantitatives) importantes ayant conduit à admettre l'existence de races chimiques (chimiotypes) (Cavalli, 2004).

2.2.1. Rendement en huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles est réalisée par hydrodistillation (*European Pharmacopoeia*, 2011), le pourcentage du rapport poids de l'huile sur poids sec de la matière végétale nous a permis de calculer le rendement des échantillons de *Juniperus sabina* en huiles essentielles. Les résultats obtenus sont indiqués dans la Fig.39

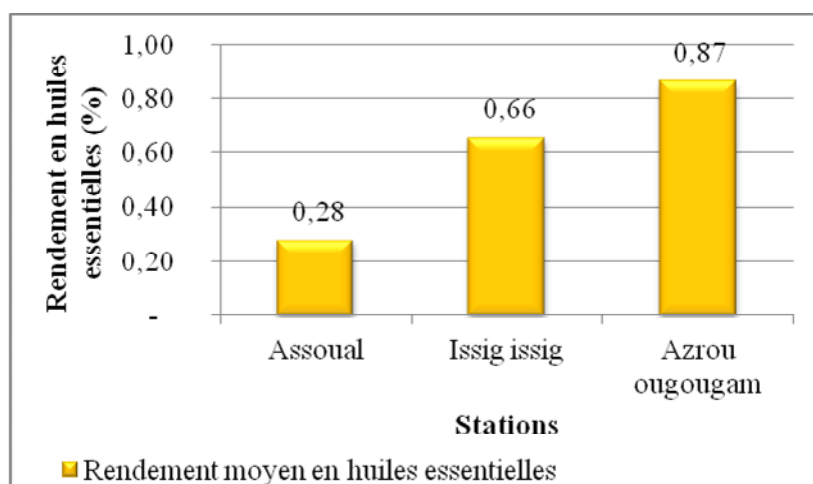


Figure n° 39. Rendement en huiles essentielles des échantillons de *Juniperus sabina* prélevés dans les trois stations d'étude.

De cette figure, nous constatons que les individus de *Juniperus sabina* issus de la station d'Azrou ougougam présentent le rendement le plus élevé avec une moyenne de 0,87%, suivis de ceux provenant de la station d'Issig issig (0,66%). Avec une moyenne de 0,28%, l'hydrodistillation des individus récoltés au niveau de la station d'Assoual a fourni le rendement le plus faible.

Cette variation dans le rendement pour les trois stations peut être attribuée à l'emplacement altitudinal des trois stations, d'Issig issig et d'Azrou ougougam sont situées à des altitudes plus élevées par rapport à celle de la station d'Assoual. Notons aussi que l'emplacement géographique de la station d'Azrou ougougam est plus au sud, proche de l'aridité, ce qui lui permet de synthétiser plus de terpénoïdes en réponse à des conditions de rusticité.

Les rendements moyens obtenus par l'hydrodistillation des individus échantillonnés dans la station d'Azrou ougougam et ceux issus de la station d'Issig issig sont similaires aux résultats de **Hassanzadah et al. (2009)** et d'**Asgary et al. (2013)** qui ont travaillé sur le *Juniperus sabina* d'Iran à une altitude de 2050 m et 2900 m respectivement. Ils ont obtenu un rendement de 1,1% pour les rameaux mâles et 0,75% d'huile à partir des rameaux femelles. Les auteurs ont fait leur échantillonnage au mois d'Octobre qui correspond à la période de notre échantillonnage. Une autre étude menée par **Asili et al. (2010)** en mois de Février sur le genévrier sabine d'Iran à une altitude de 2000m, a décelé un résultat tout à fait différent du notre, à savoir 0,6% à partir des rameaux mâles et un rendement de 1,00% pour les rameaux femelles.

Nos résultats sont inférieurs à ceux trouvés par **Adams et al. (1998)** qui ont déterminé un rendement de 1,5% d'huile essentielle extraite à partir des rameaux femelles sans cônes.

Ces résultats pourraient être expliqués par la période de récolte, selon **Kelen et Tepe (2008)**, le choix de la période de récolte ainsi que la partie de la plante utilisée sont primordiaux en termes de rendement et de qualité de l'huile essentielle.

L'analyse de la variance réalisée des paramètres biochimiques (composés phénoliques et rendement en huiles essentielles) pour les stations d'Assoual, d'Issig issig et d'Azrou ougougam, a montré que les trois stations présentent des différences significatives au niveau des polyphénols totaux, hautement significatives au niveau des flavonoïdes et des tanins condensés très hautement significatives au niveau du rendement en huiles essentielles (Tab.IV).

Tableau IV. Analyse de la Variance (ANOVA) des paramètres biochimiques (composés phénoliques et rendement en huiles essentielles)

Paramètres	Assoual	Issig issig	Azrou ougougam	P
Polyphénols totaux	66.07±21.65	103.03±14.77	97.27±14.61	0.011*
Flavonoïdes	2.45±0.89	5.26±0.59	4.51±1.40	0.0026**
Tanins condensés	0.66±0.22	1.38±0.25	1.22±0.43	0.0097**
Rendements en huiles essentielles	0.28±0.13	0.65±0.20	0.86±0.09	0.0002***

Les valeurs représentent la moyenne de 5 répétitions ± Ecart type; (*): différence significative; (**): différence hautement significative; (***): différence très hautement significative.

2.2.2. Caractérisation des huiles essentielles

La caractérisation de l'huile essentielle de nos échantillons par GC/MS a révélé la présence d'environ 74 composés pour l'ensemble des quinze (15) échantillons provenant des trois stations d'étude. Parmi les composés identifiés trente cinq (35), dont le pourcentage est supérieur à 1% présents au moins chez trois individus d'une même station, ont été retenus. Vingt trois (23/35) composés sont présents en quantités différentes dans la composition chimique des huiles essentielles des trois stations (Tab.V).

Tableau V. Composition chimique en pourcentage des huiles essentielles des individus de *Juniperus sabina* issus des trois stations d'étude.

Composés	01	02	03	C.ACP
β - Phellandrène	14.26¹	18.44¹	16.50²	C03
Sabinene	10.56³	10.54³	30.27¹	C21
Terpinen-4-ol	13.20²	6.18⁵	2.73	C13
4-Carene	7.86⁴	15.10²	6.35³	C06
\square -Terpinene	6.17⁵	10.38⁴	5.97⁴	C10
Cymene	2.32	0.94	4.04⁵	C07
β -Myrcene	4.85	4.53	3.75	C04
Methyl citronellate	5.49	2.38	0,55	C15
Geranyl Acétate	4.19	1.41	0.26	C14
α -Thujene	3.02	2.45	1.50	C01
D-Limonene	2.71	2.62	1.76	C08
α -Pinene	2.44	3.80	2.56	C02
α -Phellandrène	1.32	3.43	2.44	C05
σ -Cadinene	1.88	1.60	1.32	C16
Thujone	0.06	0.05	2.28	C23
α -Cadinol	1.22	0.25	0.44	C20
β -Cadinene	0.46	1.20	0.40	C34
β -Ocimene	0.42	0.67	1.18	C09
2-Butanone, 4-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-ylidene)-	1.00	0.43	0.42	C18
1,4-Cineol	0.25	0.83	0.38	C29
β -Linalool	0.80	0.43	0.16	C12
tau.-Cadinol	0.70	0.22	0.11	C22
β - Elemene	0.06	0.15	0.72	C32

Les chiffres en gras avec des numéros en exponentiel correspondent aux cinq composés majeurs. 01=Assoual, 02=Issig issig, 03=Azrou ougougam, C.ACP=Codes des composés dans l'ACP.

De ce tableau, nous remarquons que trois constituants chimiques dominant l'huile essentielle des rameaux des individus de *Juniperus sabina* provenant de la station d'Assoual, il s'agit de β - phellandrène (14,66%), le terpinèn- 4- ol (13,20%) et le sabinène (10,56%) accompagnés d'autres composés avec des pourcentages moyens moins importants comme le 4- carene (7,86%) et le \square -terpinene (6,17%). Ce même profil chimique est identifié dans l'huile essentielle obtenue dans la station d'Issig issig mais avec quelques différences dans la

quantité et dans l'ordre d'importance. En effet, le β - phellandrène est toujours identifié comme étant le composé majoritaire avec 18,44% suivi du 4- carène (15,10%), de sabinène (10,54%), de α -terpinene (10,38%) et en fin de terpinèn- 4- ol (06,18%).

Le β - phellandrène et le sabinène sont respectivement le premier et le troisième composé majoritaire dans les huiles essentielles des deux stations (d'Assoul et d'Issig issig).

En revanche, les rameaux des individus de la station d'Azrou ougougam ont fourni une huile essentielle très riche en sabinène avec une moyenne de 30,27%, suivi de β - phellandrène (16,50%), de 4- carène (6,35%) et de α -terpinene (5,97%). Le cymène vient en cinquième position (4,04%) dans la composition chimique de cette huile alors qu'il est présent à des teneurs moins importantes dans les huiles des deux autres stations.

Mis à part des composés tels que le α -thujene, le D-limonene, le α -pinene, le α - phellandrène, le σ -cadinene, le 2-butanone,4-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-ylidene), le 1,4-cineol et le β -linalool qui sont présents dans l'huile essentielle des rameaux en provenance des trois stations avec des teneurs assez proches, d'autres composés sont présents avec des teneurs qui varient nettement d'une station à l'autre, il s'agit principalement de methyl citronellate, de geranyl acétate et de α -cadinol qui ont des teneurs importantes dans l'huile essentielle des individus de la station d'Assoul plus que dans les huiles des deux autres stations. Le β -cadinene est mieux fourni par l'huile essentielle de la station d'Issig issig. aussi le thujone, le β - elemene et le β -ocimene ont des teneurs plus élevées dans l'huile essentielle des individus de la station d'Azrou ougougam alors que leur teneurs est très faible dans les huiles essentielles de la station d'Assoul et dans la composition moyenne de l'huile essentielle des individus de la station d'Issig issig.

A coté des vingt trois (23) composés cités dans le Tab.V, douze (12) autres composés ont été identifié (Fig.40), parmi lesquels des composés qui sont soit présent dans l'huile essentielle d'une station mais absents dans les deux autres, soit identifiés dans l'huile essentielle de deux stations et non pas dans celle de la troisième.

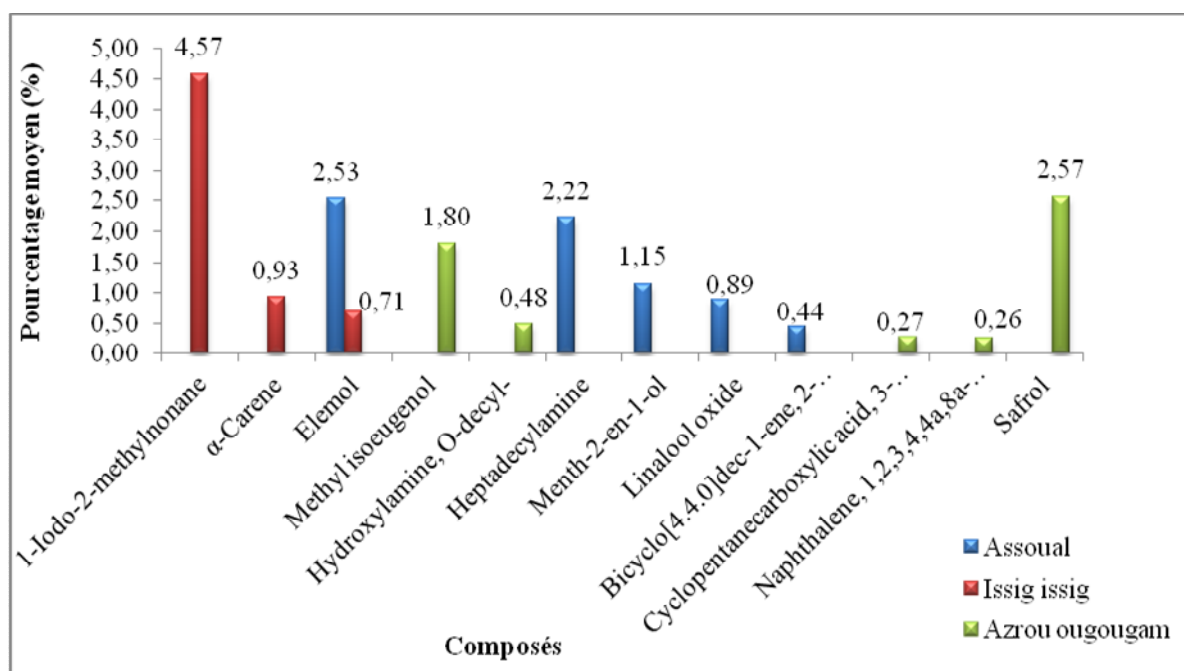


Figure n° 40. Composés caractéristiques des huiles essentielles des individus de *Juniperus sabina* de chaque station (les composés dans la figure prennent les codes respectives dans l'ACP: C27; C26; C17; C31; C35; C24; C11; C25; C19; C33; C28; C30)

La Figure montre que **1-iodo-2-methylnonane** et **α -carene** sont distinctifs de l'huile essentielle des individus de la station d'Issig issig, alors que l'huile essentielle des individus de la station d'Azrou ougougam se démarquent par la présence de **methyl isoeugenol**, de **l'hydroxylamine-O- decyl**, de **cyclopentanecarboxylic acid**, de **3-methylene-2,2-dimethyl-5-methyl ester**, de **naphthalene, 1,2,3,4,4a,8a-hexahydro** et de **safrol**. Aussi, **l'heptadecylamine**, **le menth-2-en-1-ol**, **linalool oxide** et **bicyclo[4.4.0]dec-1-ene, 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene** sont spécifiques à l'huile essentielle des individus de la station d'Assoual. **L'élémol** est absent du profil chimique de l'huile essentielle des individus de la station d'Azrou ougougam.

L'analyse de la variance indique que les trois stations présentent des différences significatives au niveau de six composés chimiques (Tab.VI). Cinq composés chimiques, à l'origine d'une différence significative, sont présents dans le profil chimique des individus d'une station à des teneurs beaucoup trop élevée par rapport à leurs teneurs dans les deux autres stations. Les trois stations présentent une différence très hautement significatives au niveau d'un composé chimique (Tab.VI), qui est présent dans tous les individus de la station d'Azrou ougougam à des teneurs supérieures à 1,50%, sa teneur dans les profils des individus des deux autres stations ne dépasse pas 0,1%.

Tableau VI. Analyse de la Variance (ANOVA) des paramètres biochimiques (composés chimiques issus de la caractérisation des huiles essentielles).

Paramètres	Assoual	Issig issig	Azrou ougougam	P
Sabinène	10.55±14.82	10.54±9.92	30.27±7.71	0.023*
Thujone	0.06±0.003	0.048±0.03	2.28±0.55	0.0000***
Terpinène- 4-ol	13.19±7.94	6.18±3.43	2.72±1.76	0.020*
4-Carène	7.86±4.55	15.1±6.43	6.35±1.95	0.02*
Methyl citronellate	5.48±3.46	2.38±0.72	0.55±0.88	0.007*
α-Thujene	3.02±0.62	2.44±0.51	1.50±0.69	0.007*

Les valeurs représentent la moyenne de 5 répétitions ± Ecart type; (*): différence significative; (***): différence très hautement significative.

Au regard de ces résultats, nous pouvons distinguer deux compositions chimiques distinctes: le sabinène est le composé majoritaire dans l'huile essentielle des individus de *Juniperus sabina* récoltés dans la station d'Azrou ougougam, suivi de β- phellandrène. Les huiles essentielles des individus de deux autres stations (d'Assoual et d'Issig issig) ont pour composés majoritaires le β- phellandrène suivi respectivement de terpinen-4-ol et de 4-carène.

Le résultat de la station d'Azrou ougougam où le sabinène est trouvé majoritaire concorde avec celui des huiles essentielles de *Juniperus sabina* de Chine (39,0%) (**Adams et al., 1998**) et d'Espagne (38,1%), de Pyrénées (51,9%), de Mongolie (50%) et de Kazakhstan (42,6%) (**Adams et al., 2006**) mais avec des teneurs plus élevées par rapport à la notre (30,27%). La teneur en sabinène est aussi trouvée supérieure à la notre, dans l'huile essentielle des échantillons d'Espagne (82,89%) (**Hernandez et al., 1987**). De leur côté, **Asili et al. (2010)** ont identifié le sabinène comme composé majoritaire dans les huiles essentielles du feuillage mâle (21,5%), du feuillage femelle (24,3%) et des cônes (48,6%) de *Juniperus sabina* d'Iran. **Benthorpe et al. (1973)** et **Fertz et al. (1976)** sont arrivés aux mêmes résultats en travaillant respectivement sur le genévrier sabine d'Angleterre et d'USA.

Cependant, les profils chimiques des huiles essentielles identifiés dans ces études se distinguent de nos échantillons par la nature du deuxième composé majoritaire, qui est le terpinèn-4-ol (7,2%) et le α- pinène (15,8%) dans le cas des huiles essentielle de *Juniperus sabina* des Pyrénées et de Kazakhstan respectivement (**Adams et al., 2006**). le myrcène (5,80%) a été trouvé en deuxième position par **Hernandez et al. (1987)** et par **Fertz et al. (1976)** (6,7%), ainsi que dans les huiles essentielles des cônes (10,8%) (**Asili et al., 2010**).

La deuxième position est prise aussi par le sabinyl acétate dans les huiles essentielles d'Espagne, de Mongolie et de Chine (Adams *et al.*, 1998; 2006). Le même résultat a été rapporté par Benthorpe *et al.* (1973).

Par ailleurs, d'autres études ont décrit le sabinyl acétate comme premier composé majoritaire suivi de sabinène en second lieu, on cite principalement, le cas de *Juniperus sabina* de Canada (Rudloff *et al.*, 1963), de Norvège (Koedam *et al.*, 1980), de Suisse (Adams *et al.*, 2006) et d'Iran (Asgary *et al.*, 2013). Dans notre étude, le sabinyl acétate se trouve en faible quantité dans la composition moyenne de l'huile essentielle de la station d'Assoual (0,01%) et d'Azrou ougougam (0,3%) et il est carrément absent de la composition de l'huile essentielle des individus de la station d'Issig issig.

De l'autre côté, le β - phellandrène est identifié dans nos résultats comme composé majoritaire dans l'huile essentielle des stations d'Assoual (14,26 %) et d'Issig issig (18,44%), avec un pourcentage moyen de (16,50%), il est le composé secondaire dans l'huile essentielle des individus de la station d'Azrou ougougam. Ce composé a été identifié à des teneurs beaucoup trop faibles (0,4%) dans les huiles essentielles de *Juniperus sabina* de Norvège, de Chine et de Mongolie étudiés respectivement par (Koedam *et al.*, 1980); (Adams *et al.*, 1998) et (Adams *et al.*, 2006), ces derniers auteurs, l'ont aussi identifié à 1,4% dans l'huile essentielle de *Juniperus sabina* provenant de Kazakhstan.

Le β - phellandrène est quasiment absent dans les autres profils chimiques de *Juniperus sabina* des études citées précédemment, sa présence était à des teneurs beaucoup plus faibles que dans nos échantillons.

D'après Fella *et al.* (2006), une huile essentielle est très fluctuante par rapport à sa composition chimique sur laquelle interviennent un certain nombre de paramètres, les principaux facteurs de variabilité de cette composition sont d'origine intrinsèque et extrinsèque : le génotype, l'environnement, l'origine géographique, la période de récolte, la température et la durée de séchage ainsi que le mode d'extraction.

De ces comparaisons, il en découle que nos résultats diffèrent, des résultats des autres études, par la présence de β - phellandrène comme composé majoritaire dans les profils chimiques des huiles essentielles issues des individus des stations d'Assoual et d'Issig issig.

De plus, le profil chimique des huiles essentielles de nos échantillons semble être original en raison non seulement de l'absence de β - phellandrène dans tous les profils chimiques des huiles essentielles des autres *Juniperus sabina* du monde (cela constitue une nouvelle information pour l'espèce), mais aussi de leurs compositions chimiques différentes de celles décrites dans la littérature qui ne présentent jamais les chimiotypes représentés par le couple sabinène/ β - phellandrène trouvé dans les huiles de la station d'Azrou ougougam ou le couple β - phellandrène/terpinèn-4-ol pour le profil chimique de l'huile essentielle de la station d'Assoual et le dernier couple β - phellandrène/4-carène révélé dans la composition chimique de l'huile essentielle des individus de *Juniperus sabina* de la station d'Issig issig.

2.3. Analyse en Composantes principales (ACP) des paramètres biochimiques

L'ensemble des résultats (variables) obtenus dans nos analyses biochimiques relatifs aux dosages des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins) et aux huiles essentielles (rendements et caractérisation) pour les quinze (15) individus de *Juniperus sabina* provenant des trois stations d'études (Assoual, Issig issig, Azrou ougougam) sont soumis à l'Analyse en Composantes Principales. Au total trente neuf (39) variables ont été analysées.

Uniquement les corrélations les plus significatives, dont le coefficient r est supérieur 700, sont prises en considération (Annexe 05) pour l'interprétation de cette ACP.

La position des variables biochimiques analysées dans le plan factoriel de l'ACP est indiquée dans la Fig.41.

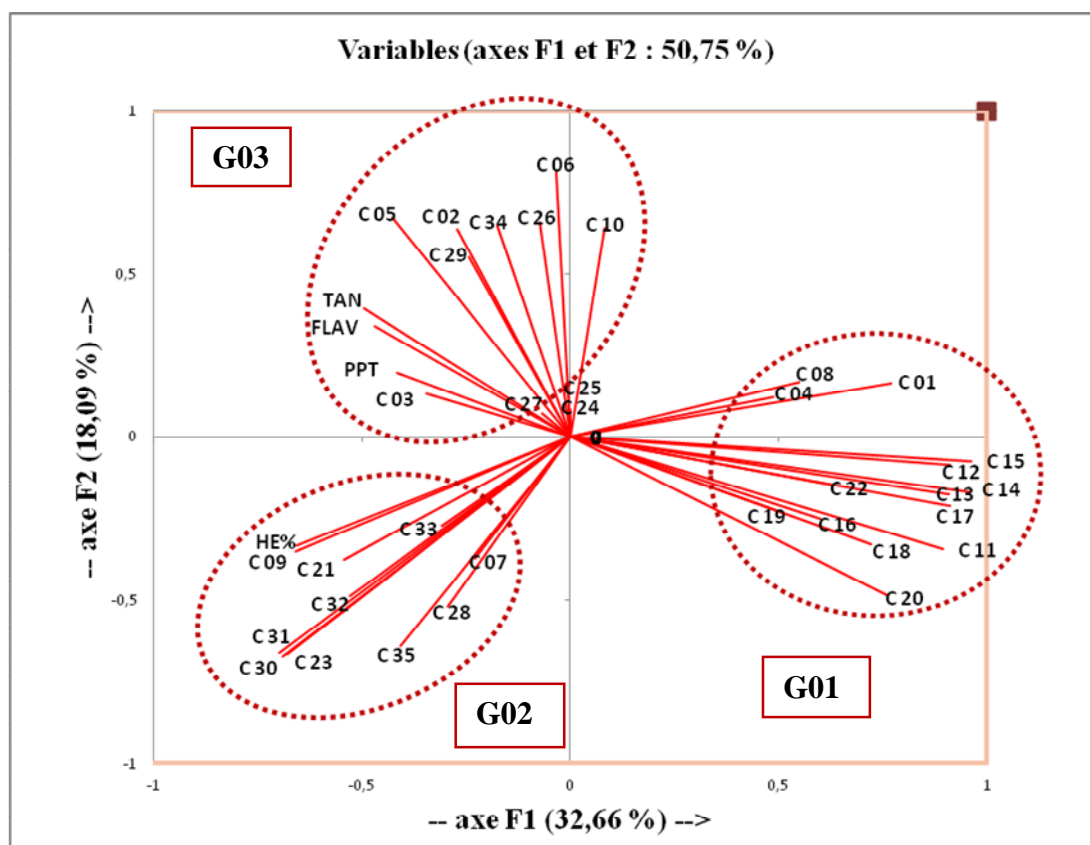


Figure n° 41. Répartition des trente neuf variables biochimiques dans le plan factoriel de l'ACP (Les noms des variables codés du C01 au C35 sont donnés dans le Tab. 05 et la Fig. 15, PPT (polyphénols totaux, TAN (tanins condensés), FLAV (flavonoïdes), HE% (rendement en huiles essentielles)).

D'après la figure, nous constatons l'apparition de trois groupes de variables en fonction de leur degré de corrélation (Annexe 05), les variables C24 et C25 qui présentent la plus forte corrélation se trouvent au centre du plan factoriel sans appartenir à aucun des trois groupes, mais elles sont proches du groupe G03.

D'après les résultats indiqués dans le Tab. V et la Fig. 40, les variables du groupe G01 correspondent aux composés dont les teneurs sont très importantes dans les huiles essentielles de la station d'Assoual. Les variables du groupe G02 sont trouvés à des teneurs élevées dans le profil chimique de la station d'Azrou ougougam, quant à la station d'Issig issig, elle est représentée par les variables du groupe G03.

L'ACP de l'ensemble des individus est mentionnée dans la Fig.42.

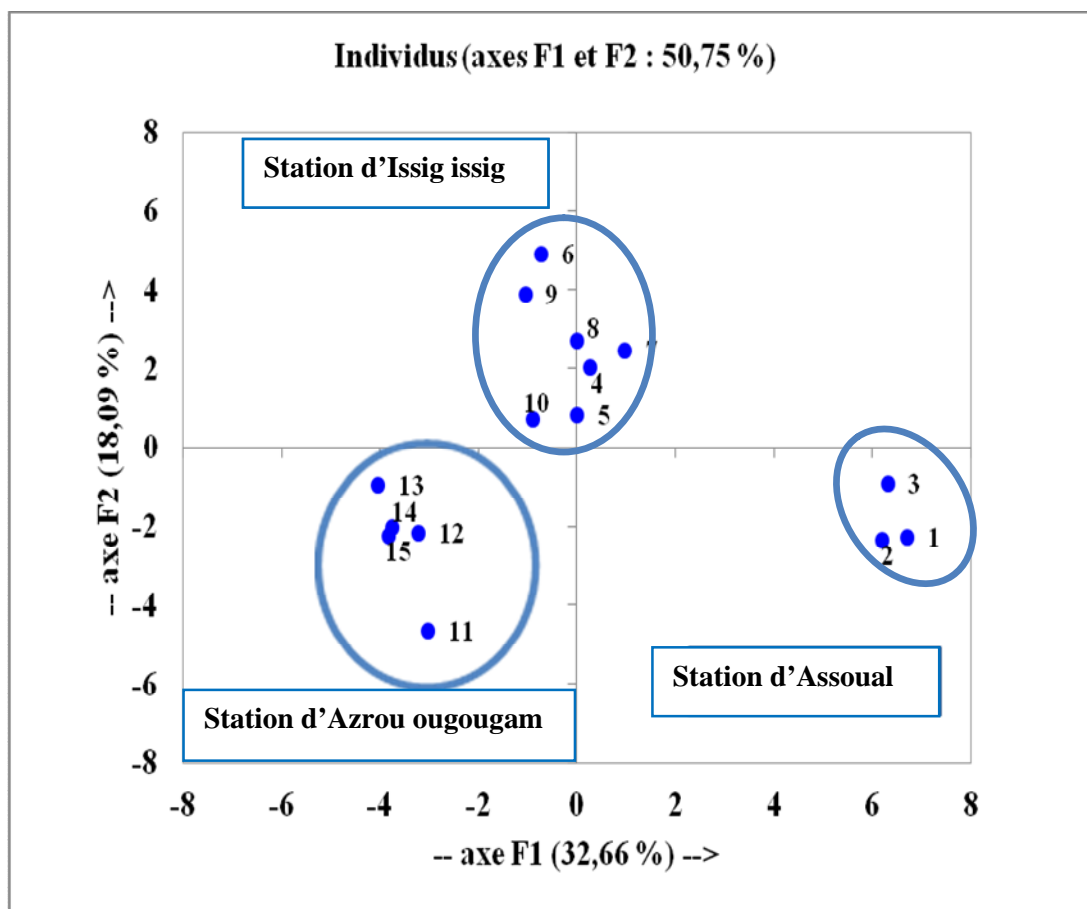


Figure n° 42. Position des quinze individus de *Juniperus sabina* provenant des trois stations d'étude dans le plan factoriel de l'ACP.

La Figure indique que nous sommes en présence de trois groupes, les individus 11,12,13,14 et 15 appartenant à la station d'Azrou ougougam ont formé un groupe homogène qui se distingue nettement des deux autres groupes. Ceci confirme ce que nous avons obtenu dans les résultats précédents concernant la morphologie (absence des cônes femelles), le rendement en huiles essentielles (plus élevé) et la caractérisation chimique de ces huiles essentielles où le profil chimique des individus de la station d'Azrou ougougam est dominé par le sabinène suivi de β -phellandène (Tab.V). De plus, l'huile essentielle des individus de la station d'Azrou ougougam est caractérisée aussi par la présence de cinq composés chimiques spécifiques (Fig.40).

De l'autre côté, les individus 06,07, 08, 09 et 10 échantillonnés dans la station d' Issig issig ont constitué un groupe à part.

En revanche, un petit déséquilibre se trouve au niveau des individus de la station d'Assoual, où la position de l'individu 04 et de l'individu 05 est retirée du reste du groupe (01,02 et 03). Leur éloignement du groupe s'explique par l'absence de trois composés caractéristiques de la station d'Assoual à savoir bicyclo[4.4.0]dec-1-ene,2-isopropyl-5-methyl-9-methylene, linalool oxide et menth-2-en-1ol (Fig.40) de la composition chimique des huiles de ces deux individus (04 et 05).

Le rapprochement des individus (04 et 05) de la station d'Issig issig pourrait être aussi expliqué par quelques points communs concernant la composition chimique de leurs huiles essentielles, en effet, l'individu 04 et l'individu 05 présentent des teneurs en composés C01, C02, C04, C12 et C13 proches de celles trouvés chez les individus de la station d'Issig issig.

A la lumière de tous les résultats obtenus pour les paramètres morphologiques et biochimiques ainsi que des deux ACP réalisées, nous pouvons conclure que les individus provenant des deux stations d'Assoual et d'Issig issig présentent des similitudes:

- Du point de vue morphologique, tous les individus (10) possèdent des cônes femelles.
- Du point de vue biochimique, le β - phellandrène est le composé majoritaire dans la composition chimique moyenne des huiles essentielles des deux stations, l'ACP a montré un rapprochement de deux individus de la station d'Assoual auprès des individus de la station d'Issig issig vu la ressemblance entre les deux profils chimiques par des teneurs proches en certains composés.
- Du point de vu géographique, les deux stations sont situées plus au Nord à des altitudes assez proches. Ces ressemblances biochimiques chez certains individus peuvent être interprétées par la dissémination de leurs cônes par Zoochorie ou de leurs grains de pollen par Anémophilie.

Plus au Sud à une altitude élevée, la station d'Azrou ougougam est différente, d'abord morphologiquement, les individus échantillonnés à son niveau contiennent des cônes mâles, la station en entier est dépourvue des cônes femelles. Ceci peut être du à l'effet altitudinal sur la proportion des mâles qui se traduit par une augmentation du sexe ratio mâle/femelle (**Ortiz et al., 2002**). D'après cette référence, le vieillissement des peuplements couplé aux stress hydrique ou édaphique se traduit par une faible allocation des produits de la photosynthèse aux organes reproductifs, notamment les cônes femelles, mais également par un avortement

prématuré des cônes. De plus, biochimiquement, la station d'Azrou ougougam est distincte des deux autres stations par le profil chimique de son huile essentielle qui se caractérise par le sabinène comme le premier composé majoritaire avec un pourcentage très élevé. En effet, cinq composés sont spécifiques à l'huile essentielle de cette station. Les résultats de l'ACP ont confirmé l'isolement des individus de cette station des deux autres formant un groupe très homogène.

Le genévrier sabine est une espèce signalée très rare en Afrique du Nord, sa présence dans ce continent est limitée à l'Algérie et exclusivement au niveau du Parc National de Djurjura où elle se trouve uniquement dans trois endroits (Assoual, Issig issig et Azrou ougougam) qui ont fait l'objet de notre étude. Cette étude qui constitue la première investigation en Algérie d'ordre morphologique et biochimique portant sur quinze individus de cette espèce.

L'objectif de notre travail était de caractériser l'espèce morphologiquement et biochimiquement, et de rechercher l'existence d'une éventuelle variabilité morphologique et biochimique entre les trois stations.

Les résultats de l'étude de la variabilité morphologique effectuée pour les individus échantillonnés des stations d'Assoual et d'Issig issig ont montré que les individus de la station d'Assoual contiennent les cônes et les graines les plus longs, les plus larges et les plus lourds par rapport à ceux des individus provenant d'Issig issig ceci est confirmé par l'analyse de la variance qui a montré des différences significatives au niveau de ces paramètres. En effet, deux groupes sont apparus lors de l'Analyse en Composantes Principales pour la variabilité morphologique, un groupe des individus de la station d'Assoual et un autre renferme ceux de la station d'Issig issig.

Pour la variabilité biochimique, tous les individus récoltés dans les trois stations ont été analysés. L'analyse phytochimique a porté sur deux parties, la première est celle du dosage des composés phénoliques et de l'extraction des huiles essentielles, la deuxième correspond à la caractérisation de ces huiles essentielles.

Les résultats obtenus des trois dosages (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés) ainsi que ceux du rendement en huiles essentielle ont révélé que les fortes concentrations en composés phénoliques sont enregistrées chez les individus de la station d'Issig issig suivis de leurs homologues de la station d'Azrou ougougam. La situation s'inverse pour le rendement en huiles essentielles. En revanche, les individus de la station d'Assoual ont produit les teneurs les plus faibles aussi bien en composés phénoliques qu'en huiles essentielles. De ce fait, l'analyse de la variance a montré des différences hautement significatives.

Les résultats de la caractérisation des huiles essentielles pour les quinze individus ont révélé la présence d'une variation quantitative au niveau de vingt trois composés et d'une variation qualitative au niveau de douze autres composés:

- Cinq composés sont caractéristiques de l'huile essentielles de la station d'Azrou ougougam;
- Quatre composés sont distincts des huiles essentielles produites par les individus de la station d'Assoual;
- Deux composés sont produits uniquement par les individus de la station d'Issig issig;
- Un composé observé dans le profil chimique des huiles essentielles des stations d'Assoual et d'Issig issig mais absent dans son homologue de la station d'Azrou ougougam.

Sur trente cinq composés identifiés, l'analyse de la variance n'a révélé des différences significatives qu'au niveau de six composés (Sabinène, Thujone, Terpinène- 4-ol, 4-Carène, Methyl citronellate et α -Thujene).

Les résultats montrent aussi que:

- Le β - phellandrène est le composé majoritaire produit par les individus des stations d'Assoual (14,26%) et d'Issig issig (18,44%) suivi respectivement par le terpinen-4-ol et le 4-carène;
- Le sabinène est recensé en forte quantité dans les échantillons de la station d'Azrou ougougam (30,27%) suivi de β - phellandrène (16,50%).

Ces deux résultats vont à l'encontre de ce qui était généralement admis dans la littérature au sujet de la dominance sabinène/sabinyl acétate ou sabinyl acétate/sabinène comme composés majoritaires dans les échantillons de *Juniperus sabina* de différentes provenances.

L'Analyse en Composantes Principales des quinze profils chimiques a mis en évidence l'existence de trois groupes dont chacun correspond à une station.

A l'issue de nos analyses morphologiques, biochimiques et statistiques, nous pouvons conclure sous réserve que:

- Le β - phellandrène est un composé caractéristique des populations de *Juniperus sabina* en Afrique du Nord.
- La station d'Azrou ougougam est différente des deux autres du point de vue morphologique et biochimiques. Quant aux deux autres stations, nous avons constaté une

faible discrimination due au fait que quelques individus de station d'Assoual sont proches surtout sur le plan biochimique de ceux de la station d'Issig issig.

Cette première étude pourrait être complétée en réalisant un échantillonnage plus ciblé et très vaste tout homogénéisant les conditions des prélèvements.

Aussi, des études génétiques pourraient apporter des réponses à la variabilité observée dans cette étude préliminaire.

Il est à noter que nous aurions pu, pour pousser encore plus loin nos investigations, par l'analyse des composés phénoliques par HPLC pour identifier la nature qualitative de ces composés présents et déceler une variabilité phénoliques éventuelle dans nos échantillons, nous ne l'avons pas fait faute de temps et surtout de moyens, mais c'est une direction à ne pas perdre de vue dans l'optique de la poursuite de ce travail.

- Adams, R.P. (1977).** Chemosystematics Analysis of populational differentiation and variability of ancestral and modern *Juniperus ashei*. *Ann. Mo. Bot. Gard.* **64**:184–209.
- Adams, R.P. (1999).** Systematics of multi – seeded eastern hemisphere *Juniperus* based on leaf essential oils and RAPD DNA fingerprinting, *Biochemical Systematics and Ecology* . **27**: 709-725.
- Adams, R.P. (2000).** The serrate leaf margined *Juniperus* (section Sabina) of the western hemisphere: systematics and evolution based on leaf essential oils and Random Amplified Polymorphic DNA_s (RAPD_s). *Biochemical Systematic and Ecology*. **28**: 975-989.
- Adams, R.P. (2011).** Junipers of the World: the genus *Juniperus*, 3rd edition, Vancouver Trafford Publishing, Canada. 426p.
- Adams, R. P. and Hogget, L. (1983).** Chemosystematic Studies of the Caribbean Junipers Based on their Volatile Oils. *Biochemical Systematics and Ecology*. **11**: 85-89.
- Adams, R.P. and Demeke, T. (2003).** Systematic relationships in *Juniperus* based on amplified polymorphic DNA_s (RADP_s). *Taxon*. **42** :553–571.
- Adams, R.P. and Schwarzbach, A.E. (2006).** A New variety of *Juniperus sabina* from Mongolia: *Juniperus sabina* var. *mongolensis*. *Phytologia*. **88**: 179-185.
- Adams, R. P., Zanoni, T., Rudloff, E. V. and Hogge, L. (1978).**The Terpenoids of an Ancestral/Advanced Species Pair of *Juniperus*. *Biochemical Systematics and Ecology*. **08**: 35-37.
- Adams, R. P., Zanoni, T., Rudloff, E. V. and Hogge, L. (1981).** The South-western USA and Northern Mexico One-seeded Junipers: their Volatile Oils and Evolution. *Biochemical Systematics and Ecology*. **09**: 93-96.
- Adams, R. P., Zanoni, T., Rudloff, E. V. and Hogge, L. (1984).** Analyses of the Volatile Leaf Oils of *Juniperus depeana* and its Infraspecific Taxa: Chemosystematic Implications. *Biochemical Systematics and Ecology*. **12**: 23-27.
- Adams, R. P., Demek, T., Abulfatih, H. A. (1993).** RADP DNA fringerprints and terpenoids: clues to past migration of *Juniperus* in Arabia and east Africa. *Theor Appl Genet* .**87**: 22-26.
- Adams, R. P., Dembitsky, A.D. and Shatar, S. (1998).** The leaf essential oils and taxonomy of *Juniperus centrasiatica* Kom., *J. jarkendensis* Kom. *J. pseudosabina* Fisch., Mey. & Ave-Lall., *J. sabina* L. and *J. turkestanica* Kom. from central Asia. *Journal of Essential Oils Research*. **10**:489-96.
- Adams, R. P., Schwarzbach, A. E. and Pandey, R. N. (2003).** The concordance of terpenoid, ISSR and RAPD markers, and ITS sequence data sets among genotypes: an example from *Juniperus*, *Biochemical Systematics and Ecology*. **31**: 375–387.
- Adams, R.P., Pandey, R.N., Leverenz, J.W., Dignard, N., Hoegh, K. and Thorfinnson, T. (2003).** Pan-Arctic variation in *Juniperus communis*: history biogeography based on DNA fingerprinting. *Biochem. Syst. Ecol.* **31**:181–192.
- Adams, R.P., Nguyen, S. and Liu, J. (2006).** Geographic variation in the leaf essential oils of *Juniperus sabina* L. and *J. sabina* var. *arenaria* (E.H. Wilson) Farjon. *Journal of Essential Oils Research*. **18**: 479–502.
- Adams, R. P., Schwarzbach, A. E., Nguyen, S., Morris, A. J. and Liu, J. Q. (2007).** Geographic variation in *Juniperus sabina* L., *J. sabina* var *arenaria* (E. H. Wilson) Farjon, *J. sabina* var *davurica* (Pall.) Farjon and *J. sabina* var *mongolensis* R. P. Adams. *Phytologia*. **89**:153-166.
- Adams, R.P., Beauchamp, P.S., Dev, V. and Bathala, R.M. (2010).** The Leaf Essential Oils of *Juniperus communis* L. Varieties in North America and the NMR and MS Data for Isoabienol. *Journal of Essential Oil Research*. **22** : 23-28.

- Akimov-Lu, A., Kharchenko, G. I., Krylova, A.P. and Belova, N.N. (1977).** Antimicrobial effect of terpenes from the Cossack juniper, *Juniperus sabina* L., Appl. *Biochem.Microbiol.* **3**:139-141.
- Allen, K. G., Banthorpe, D. V. and Charlwood, B. V. (1977).** Metabolic pools associated with monoterpene biosynthesis in higher plants. *Phytochemistry.* **16**: 79-83.
- Asgary, S., Naderi, G. A., Sahebkar, A., Ardekani, M. R. S., Kasherd, T., Aslani, S., Airin, A. and Emami, S. A. (2013).** Essential oils from the fruits and leaves of *Juniperus sabina* possess inhibitory activity against protein glycation and oxidative stress: an in vitro phytochemical investigation. *The Journal of Essential Oil Research.* **25**: 70–77.
- Asili, J., Emami, S.A., Rahimizadeh, M., Fazly-Bazzaz, B.S. and Hassanzadeh, M.K. (2010).** Chemical and antimicrobial studies of *Juniperus sabina* L. and *Juniperus foetidissima* Willd essential oils. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* **13**: 25–36.
- Assad, Y.O.H., Torto, B., Hassana, H. A., Njagi, P.G.N., Bashir, N.H.H. and Mahamat, H. (1997).** Seasonal variation in the essential oil composition of *Commiphora quadricincta* and its effect on the maturation of immature adults of the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Phytochemistry.* **44**: 833-841.
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J.C. et Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Journal of Arzheim- Forsch Drug Research.* **46**:1086-1108.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils. *Food Chemical Toxicology.* **46** : 446–475.
- Banthorpe, D. V., Davies, S., Catford, C. and Williams, R. (1973).** Monoterpene patterns in *Juniperus* and Thuja species. *Planta Med.* **23**: 64-69.
- Belmonte, J., Canela, M., Guàrdia, R., Guàrdia, R.A., Sbai, L., Vendrell, M., Carinanos, P., Díaz de la Guardia, C., Dopaz, A., Fernández, D., Gutiérrez, M. and Trigo, M.M. (1999).** Aerobiological dynamics of the Cupressaceae pollen in Spain. *Polen Rev.* **10**: 27-38.
- Belyagoubi, L.M. (2006).** Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration de céréales. Thèse magister en Biologie. Faculté des Sciences de la nature, Université de Tlemcen. 115p.
- Boizot, N. et Charpentier, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. INRA Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, *Laboratoire d'Analyses Biochimiques.* **18**: 79-82.
- Brandao, M. G. L., Grandi, T. S. M., Rocha, E. M. M., Sawyer, D. R. and Krettli, A. U. (1992).** Survey of medicinal plants used as antimalarials in the Amazon. *Journal of Ethnopharmacology.* **36**: 175 – 182.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. 3e édition, *Technique & Documentation*, Paris. 1120p.
- Callen, G. (1976).** Les conifères cultivés en Europe. V01 , Ed. Baillière, Paris. 402p.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P. V., Castillejos, L. and Ferre, A. (2007).** Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. *Journal of Dairy Science.* **90**: 2580-2595.
- Castro, M., Gordaliza, M., José, M.M. D. C. and San Feliciano, A. (1996):** Review article number 111 the distribution of lignanoids in the order coniferae. *Phytochemistry.* Vol **41**: 995-1011.
- Cavalli, J. F., Tomi, F., Bernardini, A. F. and Casanova, J. (2004).** Combined analysis of *Chenopodium ambrosioides* essential oil by GC, GC-MS and ¹³C-NMR spectroscopy. Quantitative determination of Ascaridole, a heat-sensitive compound. *Phytochem*

- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C. (2002).** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. **10**:178–182.
Anal. **15**: 275-279.
- Connan, S., Goulard, F., Stiger, V., Deslandes, E. and Gall, E. (2004).** Interspecific and temporal variation in phloro-tannin levels in an assemblage of brown algae. *Botanica Marina*. **47**: 410-416.
- Conrad, J., Vogler, B., Klaiber, I., Roos, G., Walter, U. and Kraus, W. (1998).** Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bark. *Phytochemistry*. **48**: 647 - 650.
- Debazac, E. F. (1991).** Manuel des conifères. 2ème édition. Ecole nationale de Génie Rural, des eaux et des forêts, Edition, Nancy, Paris. 215p
- De Pascual, J., San Feliciano, A., José, M.M.D.C., Barrero, A. F., Rubio, M. and Muriel, L.(1981).** 2,5-Dimethylcoumarins from leaves of *Juniperus sabina*. *Phytochemistry*. **20**: 2778-2779
- Dixon, R.A. and Paiva, N. L. (1995).** Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*. **7**: 1085-1097.
- Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*. **97**: 654-660.
- Dohou, N., Yamni, K., Gmira, N. and Idrissi Hassani, L. M. (2004).** Étude de polyphénols des feuilles d'une endémique Ibéro Marocaine, *Thymelaea lythroides* . *Acta Botanica Malacitana*. **29**: 233-239.
- Duval, L. (2012).** Les huiles essentielles à l'officine. Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie. Faculté de Médecine et Pharmacie, Université de Rouen. 210p.
- El Alaoui El Fels, M. A. and Roques, A. (2006).** Les arthropodes associés aux galbules et aux graines des Genévriers autochtones dans la partie sud du bassin Méditerranéen. *III Coloquio Internacional sobre los sabinares y enebrales (Género Juniperus): Ecologia y Gestion Forestal Sostenible*. **12** : 437-446.
- European Pharmacopoeia, (2011).** 7th edition, Council of Europe, Strasbourg, 1160-1161.
- Farjon, A. (2001).** World checklist and bibliography of conifers. 2nd Edition, Royal Botanic Gardens Press Kew. London 226p.
- Fellah, S., Romadhane, M. and Abderraba, M. (2006).** Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* L cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie - *Journal de la Société Algérienne de Chimie*. **16** : 193-202.
- Ferrari, J. (2002).** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaires des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : *Gnidia involucrata* Steud.ex *A.Rich* . Thèse de doctorat. Faculté des Sciences de l'Université de Lausanne. 242p.
- Flandrin, J. (1952).** La chaîne du Djurdjura : monographies régionales. *XIXème congrès géologique international, 1ère série* **19** : 49.
- Floss, H. G. (1997).** Natural products derived from unusual variants of the shikimate pathway. *Natural Product Reports*. **14** : 433-434.
- Fretz, T.A., Sydnor, T.D. and Cobbs, M.R. (1976).** Monoterpene Composition of Foliage of 9 *Juniperus* species. *Scientia Horticulturae*. **5**: 85-91.
- Gallet, C. et Pellissier, F. (2002).** La végétation forestière : gestion, enjeux et évolution. Interactions Allélopathiques en milieu forestier. *Forest Sciences*. **6** : 567-576.
- García, D. (2001).** Effects of seed dispersal on *Juniperus communis* recruitment on a Mediterranean mountain. *Journal of Vegetation Science*. **12** :839-848.
- García, D., Zamora, R. Gomez, J. Jordano, M.P. and Hodar, J. A. (2000).** Geographical variation in seed production, predation and abortion in *Juniperus*

- communis* throughout its range in Europe. *Journal of Ecology Letters*. **88**:436-446.
- Garcia, D., Zamora, R., Gomez, J. M. and Hodar, J. A. (2002).** Annual variability in reproduction of *Juniperus communis* L. in a Mediterranean mountain: Relationship to seed predation and weather. *Ecoscience* . **9**:251-255.
- Gauquelin, T. (2006).** Sobre sabinares y enebrales (Género *Juniperus*). *Actas del III coloquio internacional*. **01** : 25-30.
- Gauquelin, Th., Idrissi Hassani, M. et Lebreton, Ph. (1988).** Le Genévrier thurifère *Juniperus thurifera* L. (Cupressacées): analyse biométrique et biochimique; propositions systématiques. *Ecol. Medit., Marseille*. **34**: 31-42.
- Gauquelin, T., Bertaudière, V., Montès, N., Badri, W. and Asmode, J.F. (1999).** Endangered stands of thuriferous juniper in the western Mediterranean basin: ecological status, conservation and management. *Biodiversity and Conservation*. **8**:1479-1498.
- Gilbert, O. L. (1980).** Juniper in upper Teesdale. *Journal of Ecology*. **68**:1013-1024.
- Graham, T. L. and Graham, M. Y. (1991).** Glyceollin elicitors induce major but distinctly different shifts in isoflavonoid metabolism in proximal and distal soybean all populations. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. **3**: 157-166.
- Guillon, Y. (2010).** Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula* : aspects évolutifs et physiologiques. Thèse de doctorat d'Etat, Université Jean Monnet. 224p.
- Harborne, J. B. (1977).** Chemosystematics AND Coevolution: *Pure and Appl Chem*. **49**: 1403-1421.
- Harborne, J.B. (1999).** The comparative biochemistry of phytoalexin production in plants. *Biochemical Systematics and Ecology*. **27**: 335– 367.
- Harborne, J. B. and Williams, C.A. (2000).** Advances in flavonoids research since 1992. *Phytochemistry*. **55**: 481-504.
- Harfouche, A., Nedjahi, A., Ellatifi, M. et Daly-Hassen, H. (2005).** Les ressources génétiques forestières nord-africaines et leur conservation. *Revue de La forêt algérienne*. **7** : 16-32.
- Hassanzadeh-Khayyat, M., Emami, S. A. and Shahidi, N. H. (2009).** Antioxidant activity of the essential oils of different parts of *Juniperus sabina* L. and *Juniperus foetidissima* Willd. (Cupressaceae). *International Journal of Essential Oil Therapeutics*. **3**: 163-170.
- Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M. and Hamdi, M. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts . *Food Chemistry*. **105** :1126–1134.
- Hegnauer, R. (1986).** Comparative phytochemistry and plant taxonomy. *Giorn. Bot. Ital.* **120** : 15–26.
- Hernandez, E., Martinez, R. and Villanova, G. (1987).** Determination by gaz chromatography of terpenes in the berries of the species *Juniperus oxycedrus* L. *J.thurifera* L. and *J. sabina* L. *Journal of Chromatography*. **396**: 416-420.
- Hollman, P. C., Bijman, M. N., Van-Gameren, V., Gnossen, E. P., Devris, J. H. and Hatan, M. B. (1999).** The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoids glycosides in man. *Free radical Res*. **31**: 569-573.
- Hunt, R. S. and Rudloff, E.V. (1974).** Chemosystematic Studies in the Genus *Abies*. I. Leaf and twigs oil analysis of alpine and balsam firs. *Can. Jor. Bot.* **52**: 477-487.
- José, R. O. and Herrera, C. M. (1994).** Inter-and intraspecific variation in fruit traits in co-occurring vertebrate- dispersed plants. *Int. J. Plant. Sci.* **155**: 382-387.

Julies, A. and Christin, M. (2002). Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects and safety. *Annual Review of Nutrition*. **22**: 19-44.

Kelen, M. and Tepe, B. (2008). Chemical composition, antioxydant and antimicrobial proprieties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology*. **99**: 4096-4104.

Khidas, K. (1998). Distribution et normes de sélection de l'habitat chez les mammifères terrestres de la Kabylie de Djurdjura. Thèse de doctorat en Biologie. Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi ousou. 235p.

Knudsen, J. T., Eriksson, R., Gershenzon, J. and Stahl, B. (2006). Diversity and distribution of floral scent (Appendix I: Distribution of Floral Scent Compounds at the Level of Plant Family). *The Botanical Review*. **72**: 1-120.

Koedam, A. and Looman, A. (1980). Effect of pH during distillation on the composition of the volatile oil from *Juniperus sabina*. *Planta Med*. **55**: 22-28.

Lamarti, A., Badoc, A., Deffieux, G. and Carde, J.P. (1994). Biogénétique des monoterpènes. *Bull. Soc. Pharm.* **133**: 79-99.

Lebreton, Ph. et Rivera, D. (1988). Analyse du taxon *Juniperus phoenicea* L. sur des bases biochimiques et biométriques / *Natur. Monspel. Sér. Bot.* **53**: 1741.

Lebreton, Ph., Bayet, C. et Muracciole, M. (1991). Le statut systématique du Genéviller oxycède *Juniperus oxycedrus* L. (Cupressacées): une contribution d'ordre biochimique et génétique / *Lazaroa*. **12**: 21-42.

Little, D. P. (2006). Evolution and circumscription of the true Cupresses (Cupressaceae: Cupressus). *Systematic Botany*. **31**: 461-480.

Lopes, N.P., Kato, M.J., Aguiar Andrade, H., Soares Maia, J.G. and Yoshida, M. (1997). Orcadian and seasonal variation in the essential oil from *Virola surinamensis* leaves, *Phytochemistry*. **46**: 689-693.

Loziene, K. and Venskutonis, P.R. (2005). Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of *Thymus pulegioides*. *Biochemical Systematics and Ecology*. **33**: 517-525.

Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K. et Biro, L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*. **47**: 119-125.

Mabry, T. J., Markham, K. R. and Thomas, M. B. (1970). The Systematic Identification of Flavonoids, *Springer-Verlag: New York*. **31**: 250-253.

Maiga, A., Diallo, D., Fane, S., Sanogo, R., Paulsen, B. S. and Cisse, B. (2005). A survey of toxic plants on the market in the district of Bamako, Mali: traditional knowledge compared with a literature search of modern pharmacology and toxicology. *Journal of Ethnopharmacology*. **96**: 183 - 193.

Maire, R. (1952). Flore de l'Afrique du Nord. Encyclopédie biologique. Volume 01, Paul Lechevalier Editeur, Paris. 366p.

Maisuthisakul, P., Pasuk, S. and Ritthiruangdej, P. (2008). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *J Food Composition and Analysis*. **21**: 229-240.

Mallil, K. (2012). Comparaison des caractéristiques du régime alimentaire et de l'occupation de l'espace de la genette (*Genetta genetta* L.) dans deux milieux du Nord Algérien. Mémoire de magister. Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi ousou. 172p.

Marija, M. L., Beara, I. N., Orcic, D. Z., Ristic, J. D., Anackov, G.T., Balog, K. J., Franciškovic, M. M. and Mimica-Dukic, N. M. (2011). *Juniperus sibirica* Burgsdorf. as a novel source of antioxidant and anti-inflammatory agents. *J Food Chemistry*. **124** : 850-856.

Marija, M. L., Beara, I. N., Orcic, D. Z., Ristic, J. D., Anackov, G.T., Bozin, B.N. and Mimica-Dukic, N. M. (2012). Chemical characterisation and biological effects of *Juniperus foetidissima* Willd.1806, *Food Science and Technology*. **53**:530- 539.

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

Mediouni, K., Djellouli, Y., Dahmani, M., Muller, M. and Sahki, A., (1990). The contribution to the study of the distribution of *Phaenicia* and *Sabina* in the Djurdjura. *Biocenoses*. **5** : 103-118.

Middleton, J., Chilhan, K. and Theoharis, C. (2000). Effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart diseases and cancer. *Pharmacology and Experimental Therapeutics*. **52**: 673-751.

Naghdi, B. H., Yazdani, D., Mohammad Ali, S. and Nazari, F. (2004). Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L. *Industrial Crops and Products*. **19**: 231–236.

Narayana, K. R., Reddy, M. S., Chaluvadi, M. R. and Krishna, D. R. (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*. **33** : 2-16.

Olatunji, G. (2000). Diterpene lactone from the heartwood of *Daniella Oliveri*. *Cellulose chemistry and technology*. **34**: 505-507.

Oomah, B.D., Corbé, A. and Balasubramanian, P. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of bean hulls. *Journal of agricultural and food chemistry*, **58**: 8225-8230.

Orhan, N., Erdogan, I., Orhan-Ergun, F. (2011). Insights into cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of five *Juniperus* species. *Food and Chemical Toxicology*. **49**: 2305–2312.

Ortiz, P.L., Arista, M. and Talavera, S. (2002) . Sex ratio and reproductive effort in the dioecious *Juniperus communis* subsp alpine along an altitudinal gradient. *Annals of Botany*. **89**: 205-211.

Oublil, D. (2011). Sélection de l’habitat et écologie alimentaire du chacal doré *Canis aureus algeriensis* dans le Parc National de Djurdjura. Mémoire de magister. Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi ouzou.103p.

Ozenda, P. (2000). Les végétaux, organisation et diversité biologique. Edition, Dunod, Paris. 315p.

Park, D.S., Landini, S., Graham, M. Y. and Graham, T. L. (2002). Induced distal defence potentiation against *Phytophthora sojae* in soybean. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. **60**: 293-31.

Pibiri, M.C. (2005). Assainissement microbiologique de l’air et des systèmes de ventilation au moyen d’huile essentielle. Thèse de Doctorat en Agronomie. Faculté de Polytechniques, Université de Lausanne. 325p.

Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J.C., Bailleul, F. and Trotin, F. (2000). Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*. **72** : 35–42.

Quezel, P. et Barbero, M. (1989). Les formations à genévriers rampants du Djurdjura (Algérie) : Leur signification écologique, dynamique et syntaxinomique dans une approche globale des cédraies kabyles. *Lazaroa* .**11** : 85-100.

Quezel, P. et Gast, M. (1998). Genévrier de l’Afrique du Nord. *Gauda- Girrei*. **20** : 3016-3023.

Quezel, P., Médail, F. (2003). Ecologie et biogéographie des forêts méditerranéens.

Edition Scientifique et Médicale, Elsevier SAS, Paris. 292p.

Rajnerayanama, K., Reddy, M., Charluvadi, M.R. and Krishna, D.R. (2001). Biflavonoids: Classification, pharmacological, biochemical effect and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*. **33**: 2-16.

Richard, S. D. et Poveda, M. M. (2003). Environmental gradients and population divergence contribute to variation in cuticular wax composition in *Juniperus communis*. *Biochemical Systematics and Ecology*. **31**: 1257–1270.

Romani, A., Ieri, F., Turchetti, B., Mulinacci, N., Vincieri, F. F. and Buzzini, P. (2006). Analysis of condensed and hydrolysable tannins from commercial plant extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **41**: 415-420.

Rudloff, E.V. (1963). Gas-liquid chromatography of terpenes. IX. The volatile oil of the leaves of *Juniperus sabina* L. *Can. J. Chem.* **41**: 2876- 2881.

Rudloff, E. V. (1975). Chemosystematic studies of the volatile oils of *Juniperus horizontalis*, *J. scopulorum* and *J. virginiana*. *Phytochemistry*. **14**:1319-1329.

Rudloff, E. V., Hogge, L. and Granat, M. (1980). The leaf oil terpene composition of *Juniperus occidentalis*. *Phytochemistry*. **19**: 1701- 1703.

Sadeghi-aliabad, H., Emami, A., Saidi, M., Sadeghi, B. and Jafarian, A. (2009). Evaluation of In Vitro Cytotoxic Effects of *Juniperus foetidissima* and *Juniperus sabina* Extracts Against a Panel of Cancer Cells. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. **8**: 281-286.

San Feliciano, A., José, M. M. D. C., Gordaliza, M. and Castro, M. A. (1989). Acetylated lignans from *Juniperus sabina*. *Phytochemistry*. **28**: 659-660.

San Feliciano, A., José, M. M. D. C., Gordaliza, M. and Castro, M. A. (1990). Lignans from *Juniperus sabina*. *Phytochemistry*. **29**: 1335-1338.

San Feliciano, A., José, M. M. D. C., Gordaliza, M. and Castro, M. A. (1991). acidic and phenolic lignans from *Juniperus sabina*. *Phytochemistry*. **30**: 3483. 3485.

Santos, T.J., Telleria, L. and Virgos, E. (1999). Dispersal of spanish juniper *Juniperus thurifera* by birds and mammals in a fragmented landscape. *Ecogeography*. **22**:193-204.

Setyawan, A. D. (2002). Chemotaxonomic Studies on the Genus *Amomum* Based on Chemical Components of Volatile Oils. *Hayati* . **9**: 71- 79.

Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Rizner-Hras, A., Simonic, M., Knez, Z. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. **89** : 191–198.

Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, H.A., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., Sokmen, M. and Sahin, F. (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*; *Food Control*. **15**: 627-634. **Stiger, V., Deslandes, E. and Payri, C.E. (2004).** Phenolic contents of two brown algae *Turbinaria ornata* and *Sargassum mangarevense* on Tahiti (French Polynesia): interspecific, ontogenic and spatio-temporal variations. *Botanica Marina*. **47**: 402-409.

Tatro, V.E., Scora, R. W., Vasek, F.C. and Kumamoto, J. (1973). Variation in the leaf oils of three Species of *Juniperus*. *Amer. Jor. Bot.* **60**: 236-241.

Thorne, R.F. (1972). Major disjunctions in the geographic ranges of seed plants. *The Quarterly Review of Biology*. **47**: 365–411.

Thorne, R.F. (1976). A phylogenetic classification of the Angiospermae. *Evolutionary Biology* . **09** : 35–106.

Toumi, A. (2010). Contribution à l'inventaire et la cartographie de *Juniperus sabina* L. au niveau du Parc National de Djurdjura. Mémoire d'ingénieur d'Etat en Sciences Agronomique. Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi ouzou. 72 p.

- Urquiaga, I. et Leighton, F. (2000).** Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*. **33**: 55-64.
- Utsumi, S. A., Cibils, A. F., Estell, R. E., Soto-Navarro, S. A., and Leeuwen, D. V. (2009).** Seasonal changes in one seed juniper intake by sheep and goats in relation to dietary protein and plant secondary metabolites. *Small Ruminant Research*. **81**:152–162.
- Véla, E. et Benhouhou, S. (2007).** Évaluation d'un nouveau point chaud de biodiversité végétale dans le Bassin méditerranéen (Afrique du Nord). *C. R. Biologies Écologie / Ecology* . **330**: 589–605.
- Vermerris, W. et Nicholson, R. (2006).** Phenolic Compound Biochemistry. Ed., Springer. 230p.
- Vesek, F.C. and Scora, R.W. (1967).** Analysis of the oil of Western north American Junipers by Gas- Liquid- Chromatography of Terpene. *Amer. Jor. Bot.* **54**: 781-789.
- Vila, R., Mundina, M., Tomi, F., Fursan, R., Zacchino, S., Casanova, J. and Canigüreal, S. (2002).** Composition and antifungal activity of the essential oil of *Solidago chilensis*. *Planta med.* **68**: 164-167.
- Waterman, G. P. (2007).** The current status of chemical systematic. *Phytochemistry*. **68** : 2896–2903.
- Waterman, P.G. and Gray, A.I. (1988).** Chemical systematics. *Nat. Prod. Rep.* **4**: 175–203.
- Wesche, K., Ronnenberg, K., Hensen, I. (2005).** Lack of sexual reproduction within mountain steppe populations of the clonal shrub *Juniperus sabina* L. in semi-arid southern Mongolia . *Journal of Arid Environments*. **63**: 390–405.
- Wink, M. (2003).** Review, Evolution of secondary metabolites from an ecological and phylogenetic perspective. *Phytochemistry*. **64**: 3-19.
- Wink, M., Waterman, P.G. (1999).** Chemotaxonomy in relation to molecular phylogeny of plants. *Annu. Plant Rev.* **2**: 300– 341.
- Wollgast, J. and Anklam, E. (2000).** Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*. **33**: 423 - 447.
- Wortley, A. H. and Scotland, R. W. (2006).** Determining the potential utility of datasets for phylogeny reconstruction. *Taxon*. **55**: 431-442.
- Yahi, N., Vela, E., Benhouhou, S., De Belair, G. and Gharzouli, R. (2012).** Identifying Important Plants Areas (Key Biodiversity Areas for Plants) in northern Algeria. *Journal of Threatened Taxa*. **8**: 2753–2765.

Annexe. 01 : Différences morphologiques entre *Juniperus oxycedrus*, *Juniperus communis*, *Juniperus phoenicea* et *Juniperus thurifera* (Quezel et Médail, 2003)

	Taille et Port	Feuilles	Cônes	Nbre de Graines
<i>J. communis L.</i>	Arbre de petite taille, Port fastigié ou pleureur	Aciculaires Verticillées par 3 5 à 15 mm de longueur et 2 mm de largeur	Ovoïdes 4 à 8 mm de longueur Vert clair puis noir bleuâtre	3 graines par cône
<i>J. oxycedrus L.</i>	Arbre de petite taille Port étalé	Aciculaires Verticillées par 3 10 à 15 mm de longueur et 1,5 mm de largeur	Globuleux 6 à 10 mm de diamètre Vert puis brun rouge	3 à 4 graines par cône
<i>J. phoenicea L.</i>	Arbre de petite taille Port dressé jusqu' à 8m de hauteur	Squamiformes opposées Rarement verticillées par 3	Globuleux 8 à 15 mm de diamètre Jaunâtre à maturité	3 à 9 graines par cône
<i>J. thurifera L.</i>	Arbre peut atteindre 20 m de hauteur Ramification ascendante, à cime dense et conique	Squamiformes opposées A pointe aigue et un peu écartées	Sub- globuleux 7 à 12 mm de diamètre Vert brunâtre puis bleu noirâtre	1 à 2 graines par cône

Annexe. 02 : Différences entre les quatre variétés de *Juniperus sabina L.* (Adams, 2011)

Variétés de <i>J. sabina L.</i>	Nombre de graines par cône	Forme de graines	Croissance des branches
<i>Var. arenaria</i>	(1) 2 (3-4)	Bilobée, ellipsoïdes allongée avec une pointe moins aigue	Les branches terminales se développent autour des branches latérales.
<i>Var. davurica</i>	(1) 2-4	Bilobée, ovoïdes avec une pointe très aigue	Les plantes matures contiennent à la fois des feuilles en forme d'aiguille et d'écailles qui s'étendent sur une seule branche.
<i>Var. mongolensis</i>	2-4	Un lobe, globulaires avec un sommet obtus	Les branches terminales se développent à coté de parties supérieures des branches latérales les plus longues.
<i>Var. sabina</i>	1-3	Un lobe, ovoïdes avec une pointe moins aigue	Les aiguilles se trouvent uniquement chez les plantes jeunes, les mature contient seulement les écailles.

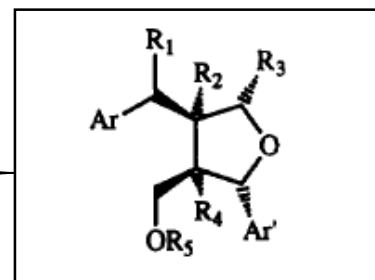
Annexe. 03: Structures chimiques des lignanes et cytolignanes retrouvés chez *juniperus sabina* (Castro et al., 1996)

Famille des Lignanes

- Tetrahydrofuranes

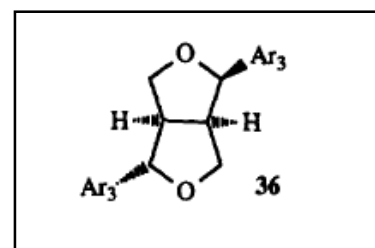
Dibydropsesamine : H H H H H Ar_e Ar_e

Acuminatine: H H H H H Ar₃ Ar₅ 23



- Furofurans

Epipinoresinol



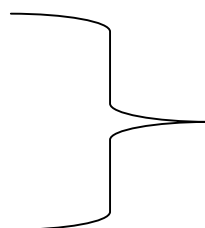
- Lignanolides

Podorhizol : OH H Ar₉

Podorhizol acétate : OAc H Ar₉

Yateine : H H Ar₉

3'-Demethylyateine : H H Ar₈



Savinin (hibalactone) : H Ar₅ Ar₅

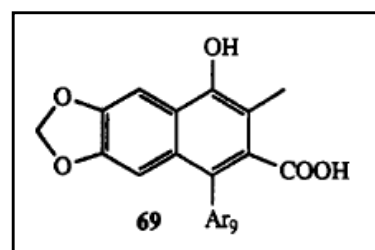
Anhydropodorhizol : H Ar₉ Ar₅



Famille des Cyclolignanes

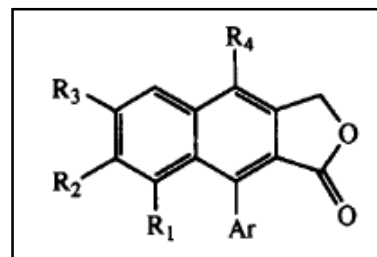
- Dérivées de non- lactone naphthalène

Acide Junaphthoïque



- **Cyclolignanols**

Dehydropodophyllotoxine : H O-CH₂-O OH Ar₀



β- Peltatine A méthyle éther : OMe H H

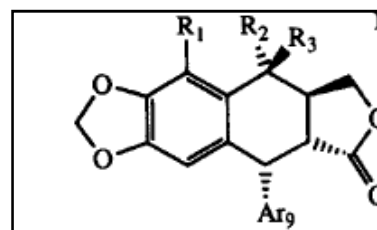
2'-Methoxypodophyllotoxine : OMeOH H

Deoxypodophyllotoxine : H H H

Podophyllotoxine : H OH H

Epipodophyllotoxine : H H OH

Epipodophyllotoxine acétate : H H OAc



Deoxypicropodophylline : H H H

Picropodophylline : H OH H

Epipicropodophylline : H H OH

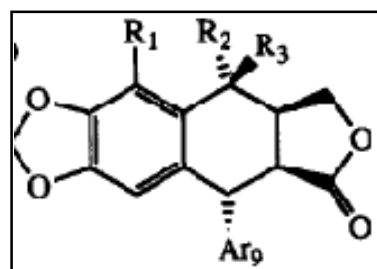
Epipicropodophylline acétate : H H OAc

β- Peltatin B méthyle éther: OMe H H

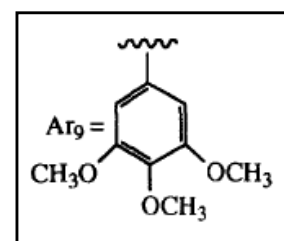
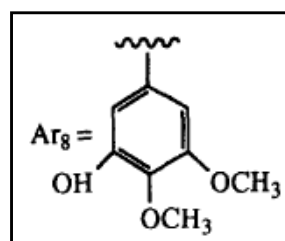
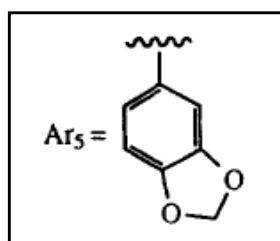
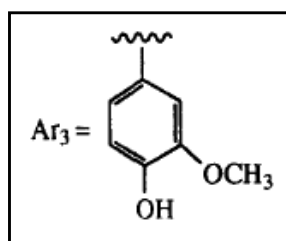
2'-Methoxypicropodophylline: OMeOH H

2'-Methoxyepipicropodophylline: OMe H OH

Picropodophyllone : H =O



Structure des substituant Aryl



Annexe . 04 : Courbes d'étalonnages

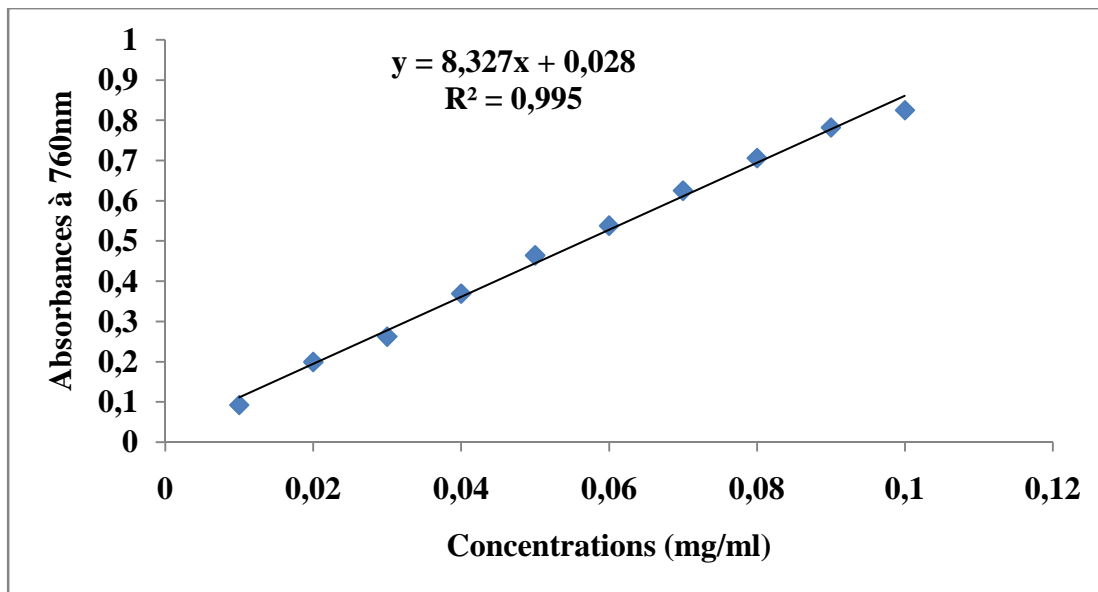


Fig. 01: Courbe étalon du dosage des Polyphénols totaux (acide gallique comme standard) (Moyenne de 3 essais).

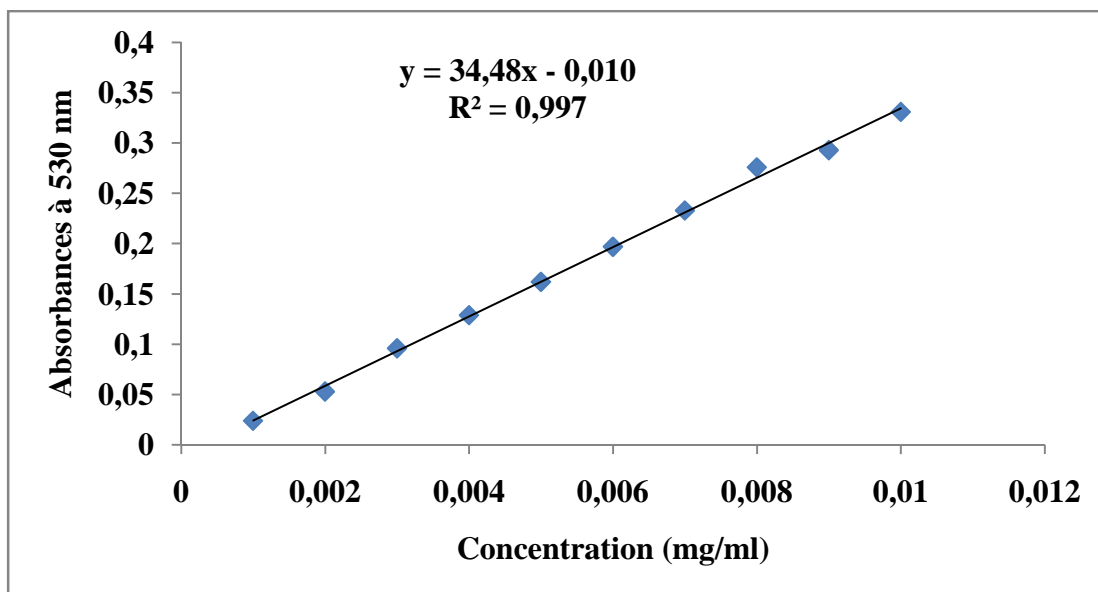


Fig. 02: Courbe étalon du dosage des Flavonoïdes (Quercitine comme standard), (Moyenne de 3 essais).

Annexe. 05 .Corrélations les plus significatives des trente neuf (39) variables ($p^* < 0,05$ quand $500 < r < 700$; $p^{} < 0,01$ quand $700 < r < 900$; $p^{***} < 0,001$ quand $r > 900$)**

Corrélations positives			
C24-C25 ($r=1,000$)	C11-C13 ($r=0,891$)	C12-C15 ($r=0,830$)	C30-C32 ($r=0,769$)
C12-C13 ($r=0,987$)	C14-C20 ($r=0,878$)	C06-C10 ($r=0,827$)	C06-C26 ($r=0,768$)
C23-C30 ($r=0,986$)	PPT-FLAV ($r=0,863$)	C09-C30 ($r=0,813$)	C12-C17 ($r=0,760$)
C23-C31 ($r=0,986$)	FLAV- TAN ($r=0,863$)	C04-C08 ($r=0,812$)	C11-C18 ($r=0,752$)
C14-C15 ($r=0,980$)	C01-C12 ($r=0,860$)	C09-C32 ($r=0,812$)	C19-C20 ($r=0,746$)
C14-C17 ($r=0,975$)	C15-C20 ($r=0,858$)	C09-C31 ($r=0,805$)	C09-C35 ($r=0,745$)
C15-C17 ($r=0,961$)	C12-C14 ($r=0,856$)	C01-C13 ($r=0,804$)	C01-C08 ($r=0,738$)
C18-C20 ($r=0,955$)	C01-C04 ($r=0,848$)	C18-C19 ($r=0,802$)	PPT-TAN ($r=0,738$)
C11-C14 ($r=0,950$)	C13-C15 ($r=0,847$)	C13-C17 ($r=0,799$)	C14-C16 ($r=0,708$)
C32-C35 ($r=0,948$)	C23-C35 ($r=0,842$)	C28-C32 ($r=0,796$)	C16-C17 ($r=0,738$)
C14-C18 ($r=0,935$)	C15-C18 ($r=0,840$)	C28-C35 ($r=0,795$)	C13-C22 ($r=0,735$)
C17-C20 ($r=0,928$)	C23-C32 ($r=0,840$)	C31-C35 ($r=0,795$)	C09-C21 ($r=0,734$)
C11-C15 ($r=0,906$)	C11-C20 ($r=0,837$)	C30-C35 ($r=0,782$)	C02-C06 ($r=0,731$)
C11-C17 ($r=0,904$)		C31-C32 ($r=0,782$)	C09-C28 ($r=0,707$)
C17-C18 ($r=0,898$)	C09-C23 ($r=0,835$)	C16-C18 ($r=0,781$)	C11-C22 ($r=0,704$)
C13-C14 ($r=0,892$)	C11-C12 ($r=0,833$)	C16-C20 ($r=0,780$)	C21-C30 ($r=0,704$)

Résumé

Le genre genévrier comprend 68 espèces, en Algérie il est représenté par cinq espèces. Parmi lesquelles on trouve *Juniperus sabina*, espèce signalée très rare en Afrique du Nord.

Notre étude consiste à caractériser le genévrier sabine en utilisant des paramètres morphologiques et biochimiques et à comparer entre les individus de cette espèce provenant de trois stations (Assoual, Issig issig, Azrou ougougam), nos résultats sont soumis à l'analyse de la variance (ANOVA) et l'analyse en composantes principales (ACP).

L'étude de la variabilité morphologique était au niveau des cônes et des graines. Quant à la variabilité biochimique, elle est mise en évidence par le dosage des composés phénoliques, le rendement ainsi que la caractérisation des huiles essentielles. L'ACP des paramètres morphologiques pour les deux stations d'Assoual et d'Issig issig a permis l'identification de deux groupes d'individus. Cette même analyse dans le cas des paramètres biochimiques, pour l'ensemble des trois stations, a montré la présence de trois groupes dont chaque groupe correspond aux individus provenant d'une même station.

La caractérisation des huiles essentielles par GC/MS a révélé l'existence de trois chimiotypes caractéristiques des trois stations: sabinène/ β -phellandrène pour la station d'Azrou ougougam, le β - phellandrène /terpinen-4-ol et β - phellandrène /4- carene pour les stations d'Assoual et d'Issig issig respectivement. Ces chimiotypes trouvés dans notre étude semblent être caractéristiques de *Juniperus sabina* de l'Afrique du Nord.

Mots clefs: *Juniperus sabina*, huiles essentielles, composés phénoliques, chimiotaxonomie chimiotypes.

Abstract

The genus of juniper includes 68 species, in Algeria this genus is represented by five species. Among which is *Juniperus sabina*, reported very rare species in North Africa.

Our study aimed to characterize the sabine juniper using morphological and biochemical parameters and compare the individuals of this species from three stations (Assoual, Issig issig, Azrou ougougam), our results are subjected to analysis of the variance (ANOVA) and the principals components analysis (ACP).

The study of morphological variability was at the cones and seeds. The biochemical variability is highlighted by the determination of phenolic compounds, yield and characterization of essential oils. The A C P of morphological parameters for the two stations of Assoual and Issig issig allowed the identification of two groups of individuals. The same analysis in the case of biochemical parameters for all three stations, showed the presence of three groups, each group consists of individuals from the same station. Characterization of essential oils by GC / MS revealed the presence of three chemotypes characteristics of three stations: sabinene / β - phellandrene for Azrou ougougam station, β - phellandrene / terpinen -4-ol and β - phellandrene / 4 - carene for the stations of Assoual and Issig issig respectively. These chemotypes found in our study seems to be characteristic of *Juniperus sabina* of North Africa.

Key words: *Juniperus sabina*, essentials oils, phenolic compounds, chemotaxonomy, chemotype.

ملخص

صنف العرعار (Genévrier) يحتوي على 68 نوع. في الجزائر ممثل بخمسة أنواع من بينها *Juniperus sabina*، النوع الذي يعتبر جـ نادر في شمال إفريقيا.

دراستنا تتضمن على وصف النوع Genévrier sabine باستعمال المقاييس المورفولوجية، البيوكيميائية والمقارنة بين أفراد هذا النوع المتواجدة في ثلاثة مناطق (أسوال، إسيق إسيق، أزرو أوقوقام).

نتائجنا حلت بواسطة استعمال طرق إحصائية مثل تحليل التغير (ANOVA) وتحليل المكونات الأساسية (ACP).

دراسة التباينات المورفولوجية كانت على مستوى الثمار والبذور، بينما التباينات البيوكيميائية تم الكشف عنها بواسطة التقدير الكمي للمركبات الفينولية، المرود وكذا تحديد تركيب الزيوت الأساسية.

لتحليل الإحصائي (ACP) للتباينات المورفولوجية، للمنطقتين أسوال و إسيق إسيق، أظهرت وجود مجموعتين من الأفراد. نفس التحليل للتباينات البيوكيميائية، للمناطق الثلاثة، كشفت على وجود ثلاثة مجموعات بحيث كل مجموعة تحتوي على الأفراد الأتية من نفس المنطقة. تحديد تركيب الزيوت الأساسية، عن طريق كروماتوغرافيا المرحلة الغازية مزدوج مع مطيافية الكتلة (MS/GC)، بينت ظهور ثلاثة أنواع كيميائية خاصة بكل منطقة: بيتا فيلوندران/تريبينان 4 أول وبيتا فيلوندران/ 4 كاران تختص بهما منطقتي أسوال وإسيق إسيق على الترتيب، صيبينان / بيتا فيلوندران خاص بمنطقة أزرو أوقوقام. هذه الأنواع الكيميائية المتحصل عليها في دراستنا يمكن أن تكون خاصة بالنوع *Juniperus sabina* في شمال إفريقيا.

الكلمات المفتاحية: *Juniperus sabina*، الزيوت الأساسية، المركبات الفينولية، التصنيف الكيميائي، الأنواع الكيميائية.