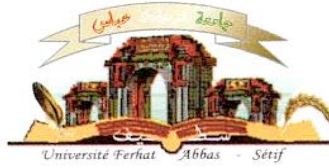


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET D'ÉCOLOGIE VÉGÉTALE

N°...../SNV/2016

THÈSE

Présentée par

ZERAIB Azzeddine

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière: BIOLOGIE

Spécialité: BIOLOGIE VÉGÉTALE

THÈME

**Etude phytochimique et chimiosystématique de
Juniperus thurifera L. en Algérie.**

Soutenue publiquement le 07/04/2016

DEVANT LE JURY

Président	LAOUAR Hocine	Pr. UFA Sétif 1
Directeur	RAMDANI Messaoud	Pr. UFA Sétif 1
Examineurs	DHAHBI Aïcha	Pr. UAM Béjaïa
	LOGRADA Takia	MCA UFA Sétif 1
	LAYADI Ziane	MCA UMK Biskra
	SARI Madani	MCA UMB M'sila

Bel exemple d'espèce partagée que celui du Genévrier thurifère.

Partagée d'abord entre le Sud et le Nord de la Méditerranée, avec certes des exigences de gestion et de préservation différentes, mais toujours en intégrant les contraintes anthropiques et climatiques qu'elle subit dans toute son aire de répartition.

Partagée ensuite entre tous ses utilisateurs, gestionnaires et protecteurs, animés par une même fascination pour cet arbre original fortement implanté dans les cultures locales.

Partagée enfin entre tous les scientifiques qui y voient un modèle pour analyser et comprendre comment une espèce donnée peut se différencier, s'étendre, fonctionner et résister dans des environnements fortement contraints et changeants.

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je tiens à remercier dieu le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience pour finaliser ce travail.

Prf. Ramdani Messaoud, je tiens à le remercier tout particulièrement pour tous ses efforts et pour le soutien qu'il ma témoigné tout au long de cette étude placée sous sa direction, ses compétences scientifiques, ses encouragements dans mes moments de doute et la confiance qu'il m'a accordé m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je tiens à remercier Monsieur le Prf. Laouar Hocine de l'université de Ferhat Abbès, d'avoir assuré la présidence de jury de thèse.

Je souhaite exprimer également mes remerciements à :

*Madame Prf. Dhahbi Aïcha, Professeur à l'université Abderrahmane Mira de Béjaïa ;
Madame Dr. Lougrada Takia, maître de conférences à l'université Ferhat Abbès de Sétif ;
Le Dr. Layadi Ziane maître de conférences à l'université Mohammed Khaïder de Biskra ;
Et le Dr. SARI Madani maître de conférences à l'université Mohamed Boudiaf de M'sila
qui m'ont fait le grand honneur de juger mon travail.*

Ce travail a demandé l'analyse des huiles essentielles, je souhaite remercier chaleureusement toutes les personnes qui, de près ou de loin, y ont pris part:

*Monsieur le Dr. Pierre Chalard, de l'université de blaise pascal de Clermont de m'avoir invité et pour l'accueil qu'il ma réservé dans laboratoire de chimie des huiles essentielles.
Le Dr. Gilles Figueredo pour sa disponibilité lors de l'identification des composées par spectrométrie de masse.*

Mon ami le Dr. Fercha Azzeddine, Maître de conférences à l'université Abbès Laghrour de Khenchela, pour ses encouragements et ses très bons conseils lors de la soumission des articles et la rédaction de thèse.

Je ne saurais oublier Ma collègue et mon épouse BOUDJEDJOU Lamia, Doctorante à l'université de Ferhat Abbès, pour ses encouragements et son aide ainsi que ses très bons conseils lors de la rédaction de l'article puis la réalisation de cette thèse.

Enfin, je remercie tous ceux que j'ai eu l'occasion de côtoyer au cours de ces cinq années de recherche, dans des sphères universitaires ou associatives mais avant tout amicales.

*A la mémoire de mon frère **Adel** qui a été toujours fier de son grand frère (moi),
que dieu repose son âme en paix
A mes parents que dieu les protège
A **Lamia** ma collègue et mon épouse qui m'a toujours aidé et encouragé
A mon ange **Hanine**
A mes frères et mes sœurs*

Avant-propos

Une partie des travaux relatés dans ce manuscrit de thèse a donné lieu à la publication de deux articles scientifiques dans des journaux internationaux à comité de lecture. Ces travaux ont également été valorisés scientifiquement par communications par affiche.

Publications

Zeraib A., Ramdani M., Boudjedjou L., Chalard P., Figuredo G., **2014**. Chemical composition and antibacterial activity of *Juniperus thurifera* L. essential oils. *J. BioSci. Biotech.*, 3(2): 147-154

Zeraib A., Ramdani M., Boudjedjou L., Chalard P., Figuredo G., **2014**. Characterization and chemosystematics of Algerian thuriferous juniper (*Juniperus thurifera* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 87:249 – 255.

Communications scientifique

ZERAIB Azzeddine, RAMDANI Messaoud, LOUGRADA Takia, BOUDJEJOU Lamia, CHALARD Pierre, FIGUEREDO Gille; la composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Juniperus thurifera* L. var. *africana* (Maire). Le Premier Séminaire international sur les Forêts et les Steppes des milieux Semi-Arides. 28-30 Novembre 2011, Djelfa –Algérie.

Zeraib A., Boudjedjou L., et Ramdani M., Activité antifongique des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* L. var. *africana*. Séminaire national de Biotechnologie, Biodiversité et Développement durable. 27-28 Février 2013, Khenchela, Algérie.

Zeraib A., Ramdani M., Boudjedjou L., Typification de la thurifère Algérienne (*Juniperus thurifera* L.). 2^{ème} Séminaire National; Eau, Environnement et Biodiversité. 27-28 Mai 2014, Khenchela, Algérie.

Résumé

Les huiles essentielles des feuilles de *Juniperus thurifera*, récoltées de six localités de l'Aurès, ont été analysées par CPG et par CPG/SM. Les hydrocarbures monoterpéniques représentent la fraction majoritaire dans l'HE de *J. thurifera* (29,39%), suivis par les sesquiterpènes oxygénés (27,15%). Trois chimio-types sont identifiés en se basant sur les composés majeurs qui sont : le sabinène (11,95%), l' α -cadinol (10,10%) et le terpinène-4-ol (7,37%).

Les analyses statistiques des résultats ont révélé des différences significatives entre les populations de *Juniperus thurifera*, et confirmé la nette séparation des populations algériennes des populations européennes et marocaines. La composition chimique des HE de Genévrier thurifère algérienne est plus similaire aux populations marocaines, et différentes de celle des populations européennes. Nous soutenons la proposition de nommer la population Algérienne: *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*, Vela et Schäfer dans le clade variétal.

L'activité antimicrobienne des HE de *J. thurifera* extraites des individus mâles et femelles a été évaluée contre 14 bactéries. L'action bactéricide des huiles essentielles testées dépend de la souche bactérienne et de type d'huile testée (extraite d'individu mâle ou femelle).

Mots clés: *Juniperus thurifera* L.; huiles essentielles; Chimio-systématique; Algérie.

ملخص

تم تحليل الزيوت الأساسية المستخلصة من أوراق العرعار *Juniperus thurifera* التي تم جمعها من ستة مواقع في جبال الأوراس بواسطة GC و GC/MS. تمثل الهيدروكربونات المونوترينينية الجزء الرئيسي في تركيب الزيوت الأساسية المستخلصة (29.39%) ثم تليها السيسكيتربينات الاوكسيجينية (27.15%). تم تحديد ثلاثة أنواع كيميائية بالاعتماد على المكونات الرئيسية للزيوت الأساسية و هي : α -cadinol ، sabinene (11.95%) و (10.10%) و (7.37%) terpinen-4-ol .

التحليلات الإحصائية للنتائج كشفت وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين عشائر العرعار وأكد انفصال العشيرة الجزائرية عن العشائر الأوروبية والمغربية. التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية المستخلصة من أوراق العرعار مماثل للتركيب الكيميائي لزيوت العشائر المغربية ومختلف عن تركيب الزيوت الأوروبية. نؤيد اقتراح تصنيف العشائر الجزائرية كما يلي *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* .

تم تقييم نشاط مضادات الميكروبات للزيوت الأساسية المستخلصة من الأفراد الذكور والإناث ضد 14 نوع من البكتيريا. تم التوصل إلى أن النشاط ضد البكتيري للزيوت الأساسية يتعلق بالسلالة البكتيرية ونوع الزيت الأساسي (المستخرج من أفراد إناث أو ذكور).

الكلمات المفتاحية : *Juniperus thurifera* الزيوت الأساسية الجزائر Chimio-systématique

Abstract

Leaf essential oils of *Juniperus thurifera* L. collected at six locates from Aures Mountains in Algeria, were analyzed by GC and GC/MS. Monoterpene hydrocarbons represent the major fraction in the EO of *J. thurifera* (29.39%), followed by oxygenated sesquiterpenes (27,15%). Three chemo-types are identified based on the major components which are: sabinene (11,95%), α -cadinol (10,10%) and terpinene-4-ol (7,37%).

Statistical analysis of the results revealed significant differences between *Juniperus thurifera* populations, and confirmed the clear separation of Algerian populations to the European and Moroccan populations. Algerian thuriferous juniper is more similar to *J. thurifera* from Moroccan populations, and different from that of essential oils obtained from European populations. We support the proposal to name the Algerian population: *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*, Vela and Schäfer in varietal clade.

The antimicrobial activity of male and female *J. thurifera* essential oils was evaluated against 14 bacteria. The results showed a variable degree of antibacterial activity depending from the type of the oil (extracted from male or female trees). Essential oils of female trees were most effective.

Key words: *Juniperus thurifera* L.; Essential oils; Chemo-systematic; Algeria.

TABLE DES MATIERES

	page
Sommaire.....	I
Abréviations	VI
Liste des schémas	VIII
Liste des tableaux.....	VIII
Liste des figures.....	IX
Liste des annexes.....	XII

SOMMAIRE

Introduction.....	1
--------------------------	----------

PREMIER CHAPITRE: Synthèse bibliographique

I- ASPECTS BOTANIQUES.....	4
I-1- Généralités	4
I-2- Les <i>Cupressaceae</i> Bartlett (Famille de Cyprès).....	5
I-2-1- Description morphologique	6
I-2-2- Distribution géographique et écologique.....	8
I-3- Les genévriers.....	9
I-4- L'espèce <i>Juniperus thurifera</i> L.....	13
I-4-1- Description morphologique.....	13
I-4-2- Systématique.....	15
I-4-3- Répartition géographique de l'espèce.....	17
I-4-3-1- Dans le monde.....	17
I-4-3-2- En Algérie.....	18
II- LES HUILES ESSENTIELLES.....	19
II-1- Généralités sur les huiles essentielles.....	19
II-1-1- Définition.....	19
II-1-2- Répartition et localisation des huiles essentielles.....	20
II-1-3- Obtention des huiles essentielles.....	20
a- Hydrodistillation simple.....	20
b- Distillation à vapeur saturée.....	21
c- Hydrodistillation assistée par micro-ondes.....	22

II-1-4- Analyse des huiles essentielles.....	23
II-1-4-1- La chromatographie en phase gazeuse.....	24
II-1-4-2- L'indice de rétention.....	25
II-1-5- Composition chimique des huiles essentielles.....	25
II-1-5-1- Les terpènes.....	25
II-1-5-2- Les dérivés du phénylpropane.....	28
II-2- Biosynthèse des constituants volatils et odorants.....	28
II-2-1- Les terpènes du motif isoprénique	28
II-2-2- Biosynthèse des précurseurs des terpénoïdes.....	31
II-2-3- Biosynthèse des monoterpènes.....	32
II-2-4- Biosynthèse des sesquiterpènes.....	33
II-3- L'utilisation des terpénoïdes comme des marqueurs génétiques.....	37
II-3-1- Marqueurs génétiques.....	37
II-3-2- Marqueurs biochimiques.....	38
II-3-3- Les terpènes comme marqueurs génétique.....	38
II-3-4- Travaux phytochimiques antérieurs.....	39
II-4- L'activité antibactérienne des huiles essentielles.....	40
II-4-1- Activité liée à la composition des huiles essentielles.....	40
II-4-2- Activité liée aux microorganismes testés.....	42
II-4-3- Travaux Antérieurs.....	42
III- APERCU SUR LA ZONE D'ETUDE.....	44
III-1- Milieu physique.....	44
III-1-1- Situation administrative.....	44
III-1-2- Localisation géographique	44
III-1-3- Hydrographie.....	45
III-1-4- Le sol.....	45
III-2- Le climat.....	45
III-2-1- Précipitations	46
III-2-1-1- Le secteur humide.....	46
III-2-1-2- Le secteur aux précipitations moyennes.....	47
III-2-1-3- Le secteur sec.....	47
III-2-2- Température.....	49
III-2-3- Variété d'étages bioclimatiques.....	50

III-3- Le couvert végétal.....	50
--------------------------------	----

DEUXIEME CHAPITRE: Matériel et Méthodes

I- MATERIEL.....	53
I-1- Matériel végétal.....	53
I-2- Les souches bactériennes testées.....	55
II- METHODES.....	56
II-1-Méthodes chimiques.....	56
II-1-1- Extraction des huiles essentielles.....	56
II-1-2- Analyse chromatographique des huiles essentielles.....	57
II-1-2-1- Chromatographie CPG/FID.....	57
II-1-2-2- Chromatographie couplée à la spectrométrie de masse CPG/SM.....	57
II-2- Méthodes microbiologiques.....	58
II-2-1- Méthode de la diffusion sur gélose.....	58
II-2-2- Préparation des suspensions bactériennes.....	60
II-2-3- Modes opératoires.....	60
II-3-Techniques statistiques.....	60
II-3-1- Analyse en composantes principales.....	61
II-3-2- Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means.....	61

TROISIEME CHAPITRE: Résultats et discussion

I- CARACTERISATION PHYTOCHIMIQUE.....	62
I-1- Résultats.....	62
I-1-1- Rendement en huiles essentielles.....	62
I-1-2- Composition chimique des huiles essentielles de <i>J. thurifera</i>	62
✚ La population de T'kout 1	68
✚ La population de T'kout 2.....	69
✚ La population de Tizi Nerrsas.....	70
✚ La population de Baâli.....	71
✚ La population de Tibhirine.....	73
✚ La population de Chelia.....	74
I-1-3- Analyse en composantes principales	76
a)- Etude des variables.....	77
✚ Matrice des corrélations.....	77

✚ Cercle des corrélations.....	77
b)- Etude des populations.....	79
I-1-3-3-l'Analyse des clusters UPGMA.....	82
I-2- Discussion.....	84
I-2-1- Rendements en HE.....	84
I-2-2- variabilité intra-spécifique de la composition chimique des HE de <i>J. thurifera</i>	84
I-2-2- variabilité interspécifique de la composition chimique des HE de <i>J. thurifera</i>	86
Conclusion.....	87
II- COMPARAISON DES HUILES ESSENTIELLES DES POPULATIONS DE JUNIPERUS THURIFERA.....	91
II-1- Résultats de l'analyse statistique.....	91
II-1-1- Variabilité en composition chimique.....	91
II-1-2- L'analyse en composantes principales.....	95
II-1-2-1- Etude des variables.....	95
a- Matrice des corrélations.....	95
b- Cercle de corrélation.....	100
II-1-2-2- Etude des populations.....	101
II-1-3- L'analyse des clusters UPGMA.....	103
II-2- Discussion.....	104
Conclusion.....	107
III- L'activité antibactérienne des HE de <i>J. thurifera</i>.....	108
III-1- Résultats	108
III-1-1- Composition chimique des HE testées.....	108
III-1-2- L'activité antibactérienne des HE de <i>J. thurifera</i>	113
III-2- Discussion.....	116
III-1-1- Composition chimique des HE testées.....	116
III-1-2- L'activité antibactérienne des HE de <i>J. thurifera</i>	117
Conclusion	118
Conclusion générale.....	119
Références Bibliographiques.....	121

Annexes

Publications

- 1- Characterization and chemosystematics of Algerian thuriferous juniper (*Juniperus thurifera* L.).
- 2- Chemical composition and antibacterial activity of *Juniperus thurifera* L. essential oils

ABREVIATIONS

- ACP** : Analyse en Composantes Principales.
- AFLP** : Amplified Fragment-Length Polymorphism
- AM** : Arbres mâles.
- AF** : Arbres femelles
- CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuse.
- CV** : Coefficient de variabilité.
- ddl** : degré de liberté.
- ET** : Ecart-type.
- SC** : somme des carrées des écarts.
- CM** : carré moyen.
- F** : Le résultat de l'analyse de variance, soit le test **F**.
- SM** : Spectrophotomètre de Masse.
- FID** : Détecteur à ionisation de flamme.
- UPGMA**: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means.
- ANOVA** : Analyse Of Variance.
- MtH** : Monoterpènes Hydrocarbonés.
- MtO** : Monoterpènes Oxygénés.
- StH** : Sesquiterpènes Hydrocarbonés.
- StO** : Sesquiterpènes Oxygénés.
- DtH** : Diterpènes Hydrocarbonés.
- DtO** : Diterpènes Oxygénés.
- ATCC** : American Type Culture Collection.
- SARM** : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline
- HE** : Huile Essentielle.
- KI** : Kovats Index
- MH** : Muller Hinton.
- Tk1** : la population de T'kout 1.
- Tk2** : la population de T'kout 2.
- Ch** : la population de Chelia.
- Tb** : la population de Tibhirine.
- Tz** : la population de Tizi Nerrsas.
- Ba** : la population de Baâli.

CPG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse.

HP : Hewlett-Packard.

HD : hydrodistillation

MAHD : Hydro Distillation assistée par Micro-ondes.

IPP : Isopentényl diphosphate.

MEP : Méthylérythritol phosphate.

FPP : Farnésyl diphosphate.

GPP : Géranyl diphosphate.

DMPP : Diméthylallylpyrophosphate.

GGPP : géranyl-géranyl diphosphate.

MVA : Mévalonate.

P : Probabilité de commettre l'erreur alpha.

LISTE DES SCHEMAS

	Page
Schéma 1: Biosynthèse de l'isopentenyl diphosphat selon la voie mévalonate.....	29
Schéma 2: Biosynthèse de l'isopentenyl diphosphat selon la voie MEP.....	30
Schéma 3: Biosynthèse du diphosphate de géranyle (GPP).....	31
Schéma 4: Biosynthèse des précurseurs des différentes classes des terpènes.....	32
Schéma 5: Voies biosynthétiques des principaux monoterpènes acycliques.....	33
Schéma 6: Voies biosynthétiques des principaux monoterpènes cycliques.....	34
Schéma 7: Biosynthèse des sesquiterpènes acycliques.....	35
Schéma 8: Biosynthèse des sesquiterpènes cycliques.....	36

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau 1: La position systématique de <i>Juniperus thurifera</i> L.	15
Tableau 2: Les différentes classes des terpènes.....	26
Tableau 3: Cordonnées géographiques des populations échantillonnées.....	54
Tableau 4: Composition chimique des huiles essentielles de <i>J. thurifera</i>	64
Tableau 5: Moyennes des composés de l'essence des populations de <i>J. thurifera</i> L...	92
Tableau 6: Composition chimique des HE des arbres males et femelles de <i>J. thurifera</i>	110
Tableau 7: Zones d'inhibition (en mm) des huiles essentielles de <i>J. thurifera</i>	114
Tableau 8: L'analyse de la variance des deux facteurs contrôlés.....	115

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1: Répartition mondiale des conifères	4
Figure 2: Arbre phylogénétique de la famille des <i>Cupressaceae</i>	7
Figure 3: Morphologie des <i>Cupressaceae</i>	8
Figure 4: Position du genre <i>Juniperus</i> sur l'arbre phylogénétique des conifères.	10
Figure 5: Arbre phylogénétique du genre <i>Juniperus</i> L.....	11
Figure 6: Aire de répartition du genre <i>Juniperus</i> L.	12
Figure 7: Les espèces du genre <i>Juniperus</i> de l'Algérie.....	13
Figure 8: Echantillon récolté d'un individu monoïque.....	14
Figure 9: Résultats de l'étude basée sur le polymorphisme de longueur de fragments amplifiés de <i>J. thurifera</i>	16
Figure 10: Aire de répartition de <i>Juniperus thurifera</i>	17
Figure 11: Répartition de <i>J. thurifera</i> en Algérie.....	18
Figure 12: Appareil pour la détermination des huiles essentielles dans les drogues végétales.....	21
Figure 13: Montage pour l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodiffusion.....	22
Figure 14: Montage d'une distillation par micro-ondes.....	23
Figure 15: Schéma descriptif de la Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	24
Figure 16: Représentation de l'isoprène, le 2-méthyle-1,3-butadiène.....	25
Figure 17: Structure chimique de certains composés des huiles essentielles.....	27
Figure 18: Les précipitations moyennes dans le massif de l'Aurès (1913-1963).....	47
Figure 19: Précipitations annuelles moyennes du secteur sec.....	48
Figure 20: Températures annuelles dans le massif de l'Aurès.....	50
Figure 21: Graphique bioclimatique.....	51
Figure 22 L'espèce <i>J. thurifera</i> dans son milieu naturel.....	53
Figure 23: Localisation des populations échantillonnées.....	54
Figure 24: Appareil d'extraction des huiles essentielles type Clevenger.....	56
Figure 25: Synoptique de l'obtention et de l'analyse d'une huile essentielle.....	59
Figure 26: Aromatogramme sur boîte de pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque imprégné de l'HE.....	59

Figure 27: Les principales familles de composés de l'HE de <i>J. thurifera</i> L.....	66
Figure 28: Les principaux composés de l'huile essentielle de <i>J. thurifera</i> L.....	67
Figure 29: Répartition en % des principales familles de composés de l'HE de <i>J. thurifera</i> récoltée de T'kout 1.....	68
Figure 30: Les principaux composés de l'HE de <i>J. thurifera</i> L. récoltée de T'kout 1...	69
Figure 31: Répartition en % des principales familles de composés de l'HE de <i>J. thurifera</i> récoltée de T'kout 2.....	69
Figure 32: Les principaux composés de l'HE de <i>J. thurifera</i> L. récoltée de T'kout 2...	70
Figure 33: Répartition en % des principales familles de composés de l'HE de <i>J. thurifera</i> récoltée de Tizi nerrsas.....	71
Figure 34: Les principaux composés de l'HE de <i>J. thurifera</i> L. récoltée de Tizi nerrsas.....	71
Figure 35: Répartition en % des principales familles de composés de l'HE de <i>J. thurifera</i> récoltée de Baâli.....	72
Figure 36: Les principaux composés de l'HE de <i>J. thurifera</i> L. récoltée de Baâli.....	73
Figure 37: Répartition en % des principales familles de composés de l'HE de <i>J. thurifera</i> récoltée de Tibhirine.....	73
Figure 38: Les principaux composés de l'HE de <i>J. thurifera</i> L. récoltée de Tibhirine..	74
Figure 39: Répartition en % des principales familles de composés de l'HE de <i>J. thurifera</i> récoltée de Chelia.....	75
Figure 40: Les principaux composés de l'HE de <i>J. thurifera</i> L. récoltée de Chelia.....	75
Figure 41: Variation de la concentration des terpènes chez <i>J. thurifera</i>	76
Figure 42: Projection des variables sur le plan (1x2) des populations de <i>J. thurifera</i> ...	78
Figure 43: Projection des variables sur le plan (3x4) des populations de <i>J. thurifera</i> ...	79
Figure 44: Projection des populations de <i>Juniperus thurifera</i> sur le plan (1/2).....	80
Figure 45: Projection des populations de <i>Juniperus thurifera</i> sur le plan (3/4).....	81
Figure 46: Projection spatiale des populations de <i>Juniperus thurifera</i> basée sur les trois principaux facteurs.....	81
Figure 47: UPGMA cluster des six populations de <i>J. turifera</i>	82
Figure 48: Projection spatiale des populations de <i>Juniperus thurifera</i> basée sur les trois principaux composés (le sabinène, le terpinène-4-ol, et l' α -cadinol)...	83
Figure 49: Variation de la concentration des composés de l'huile essentielle chez <i>J. thurifera</i>	94

Figure 50: Courbe de corrélation de sabinène et limonène chez les populations de <i>J. thurifera</i>	95
Figure 51: Courbe de corrélation de sabinène et δ -2-carène chez les populations de <i>J. thurifera</i>	96
Figure 52: Courbe de corrélation de terpinène-4-ol et limonène chez les populations de <i>J. thurifera</i>	97
Figure 53: Courbe de corrélation de limonène et δ -2-carène chez les populations de <i>J. thurifera</i>	98
Figure 54: Courbe de corrélation de limonène et γ -terpinène chez les populations de <i>J. thurifera</i>	99
Figure 55: Courbe de corrélation de α -cadinol et δ -cadinène chez les populations de <i>J. thurifera</i>	99
Figure 56: Projection des variables sur le plan (1x2), des 39 populations de <i>Juniperus thurifera</i> L.....	100
Figure 57: Projection des populations de <i>J. thurifera</i> , sur le plan (1x2) basée sur la teneur en composés terpéniques.....	101
Figure 58: Projection spatiale des populations de <i>Juniperus thurifera</i> , basée sur les trois principaux Axes.....	102
Figure 59: UPGMA cluster des populations de <i>J. thurifera</i> basée sur la teneur en composés terpéniques.....	103
Figure 60: Les principales familles de composés de l'HE des arbres males et femelles.....	108
Figure 61: Principaux composants des HE testées dans l'activité antibactérienne.....	109
Figure 62: Diamètres des zones d'inhibition des tests de l'activité antibactérienne.....	115

LISTE DES ANNEXES

- Annexe A:** Matrice de corrélation des composants de l'huile essentielle de six populations Algériennes de *J. thurifera* L.
- Annexe B:** Courbe de corrélation de sabinène et myrcène chez les populations de *J. thurifera* algériennes.
- Annexe C:** Courbe de corrélation de sabinène et γ -eudésmol chez les populations de *J. thurifera* algériennes.
- Annexe D:** Courbe de corrélation de sabinène et α -cadinol chez les populations de *J. thurifera* algériennes.
- Annexe E:** Courbe de corrélation de cis-hydrate de sabinène et terpinène-4-ol chez les populations de *J. thurifera* algériennes.
- Annexe F:** Courbe de corrélation de valencène α -cadinol chez les populations de *J. thurifera* algériennes.
- Annexe G:** Les données de la composition chimique des huiles essentielles de *J. thurifera* utilisés dans l'étude chimio-systématique.
- Annexe H:** Matrice de corrélation des composants de l'huile essentielle de 39 populations de *J. thurifera* L.

Introduction

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le Genévrier thurifère, *Juniperus thurifera* L. (*Cupressaceae*), est un arbre endémique de quelques pays riverains de la Méditerranée : Algérie, Maroc, Espagne, France (Corse comprise) et Italie (Gauquelin *et al.*, 1988).

Depuis 260 ans de la description de *J. thurifera*, des dizaines de publications, des thèses d'état, des projets de recherche et des colloques faisant l'objet des études morphologiques, phytochimiques, biogéographiques, génétiques, cytogénétiques, ...etc, sont dédiés spécifiquement à cet arbre, mais sa variabilité intra-spécifique ne semble pas définitivement acquise. Si cette espèce a fait l'objet de nombreuses études dans différents domaines en Europe et au Maroc, cependant il n'en est pas de même en Algérie (Gauquelin *et al.*, 2012).

Les populations algériennes de *Juniperus thurifera* des Aurès sont rares et très peu étudiées. Malgré qu'elles sont situées à plus de 1000 km à l'est de celles du Maroc, ces populations sont souvent assimilées de manière péremptoire aux populations marocaines en leur appliquant ainsi sans vérification les conclusions taxonomiques et biogéographiques s'y rapportant (Véla *et Schäfer* 2013).

L'étude génétique menée par Terrab *et al.* (2008), suivie par une synthèse taxonomique, complétée d'une brève étude morphologique des galbules sur des échantillons d'herbier réalisé par Véla *et Schäfer* (2013), concluent à la distinction souhaitable d'un taxon marocain (var. ou subsp. *africana*) et d'un taxon algérien nommé var. *aurasiaca* Véla & P. Schäf., var. *nova*. Ces auteurs ont proposé de le classer au rang variétal.

La question qui se pose : quel est donc le statut taxinomique de cette variété:
appartient-elle au sous ensemble Européen (subsp. *thurifera*), ou elle est
incluse au sous ensemble marocain (subsp. *africana*)?

Les systématiciens font de plus en plus appel à la chimie afin de résoudre certains problèmes taxonomiques. En effet l'étude des composés chimiques des végétaux permet d'établir des différences intra et interspécifiques qui ne peuvent être mises en évidence par des méthodes classiques basées sur la morphologie, la cytologie ou même l'écologie.

Il a été montré que la synthèse des différents composés monoterpéniques et sesquiterpéniques est contrôlée de façon monogénique (Marpeau *et al.*, 1975; Baradat *et Marpeau*, 1988; Bernard-Dagan, 1988).

Les métabolites secondaires comme les terpènes, ont été utilisés comme marqueurs génétiques dans plusieurs travaux (Baradat *et Yazdani*, 1988; Hanover, 1992; Raffi *et al.*, 1996; Echeverrigaray *et al.*, 2001; Keskitalo *et al.*, 2001; Ramdani, 2002; Ramdani *et al.*, 2007, 2008, 2011, 2012; Böszörményi *et al.*, 2009; Mendes *et al.*, 2009; Djabou *et al.*, 2011, 2012a, 2012b; Rodrigues *et al.*, 2013; Martínez-Natarén *et al.*, 2014; Tikhonova *et al.*, 2014).

Le travail entrepris dans le cadre de cette thèse se propose de rechercher le statu taxonomique du taxon Algérien, en se basant sur les marqueurs phytochimiques.

Notre contribution se veut constituer un point de départ pour la compréhension de la taxonomie de cette espèce dans la région de l'Aurès, et de combler le retard dans l'étude de celle-ci.

Le but de ce travail est donc la caractérisation du genévrier thurifère de l'Algérie à travers la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles. Pour cela, nous avons réalisé:

- ✚ L'extraction et l'analyse des échantillons d'huiles essentielles.
- ✚ Les résultats ont été soumis à un traitement statistique (ACP et UPGMA), en vue de mettre en évidence une homogénéité ou une éventuelle variabilité de la composition chimique de l'espèce étudiée.
- ✚ Une comparaison entre la composition de ces huiles et celles du Maroc et de l'Europe décrites dans la littérature a été effectuée pour identifier la variation infra-spécifique

de l'espèce, et déterminer les relations entre le taxon Algérien et ceux de l'Europe et du Maroc.

- ✚ Une partie de ce travail est consacrée à l'étude de l'activité antibactérienne des HE extraites à partir des feuilles des individus males et autres femelles, dans le but de valoriser l'espèce *J. thurifera*.

Ce manuscrit comprend : un premier chapitre bibliographique consacré à la botanique, la systématique et la répartition géographique des différents taxons en question (la famille des *Cupressaceae*, le genre *Juniperus*, et l'espèce *Juniperus thurifera*), nous nous pencherons ensuite sur les méthodes d'extraction et d'analyse des huiles essentielles, ainsi que leur composition chimique et activité biologique, puis un recueil des principaux résultats phytochimiques antérieurs relatifs à l'espèce *Juniperus thurifera* L. Enfin, ce chapitre sera clôturé par un aperçu sur la zone d'étude.

Le deuxième chapitre sera consacré au protocole expérimental. Alors que le troisième chapitre regroupe les résultats ainsi que leur discussion.

A la fin de ce manuscrit, nous présenterons une conclusion générale. En annexe, seront donnés un certain nombre d'éléments intéressants mais qui, à notre avis, auraient rendu la lecture moins aisée s'ils avaient été insérés dans le manuscrit.

Premier Chapitre :
Synthèse bibliographique

I- ASPECTS BOTANIQUES

I-1 Généralités

Les gymnospermes représentent un des embranchements taxonomiques les plus anciens du globe, apparu au Paléozoïque, précisément au Dévonien, il y a 300 millions d'années. Néanmoins, son épanouissement évolutif s'est produit au cours du Mésozoïque, principalement au Jurassique, il y a 150 millions d'années. Durant cette période, 10 000 espèces environ de gymnospermes sont différenciées (Villar, 2013). Cette importante diversité a été plus tard affectée par les événements géologiques et changements climatiques divers jusqu'au point de perdre 90% de ses effectifs. Cependant, dans l'hémisphère nord, un arbre sur deux est un conifère. Il ne reste plus aujourd'hui qu'environ 1000 espèces vivantes de gymnospermes (Ruiz de la Torre, 2006; Christenhusz, 2011), réparties sur 14 familles. Au total, une espèce représente les Ginkgo, 68 représentent les Gnetophytes, 289 sont des Cycadophytes, et le reste des espèces sont des conifères, ces chiffres de taxons sont discutables à \pm 5-10% (Earle, 2012). De nombreux problèmes de classification sub-familiale et tribale complexes restent à résoudre.

Les Gymnospermes les plus familières sont les conifères (**Figure 1**), avec les pins, les sapins, les épicéas, les cèdres, les *Tsuga*, les ifs, les mélèzes et les cyprès (Raven *et al.*, 2011; Gaussen, 2014).

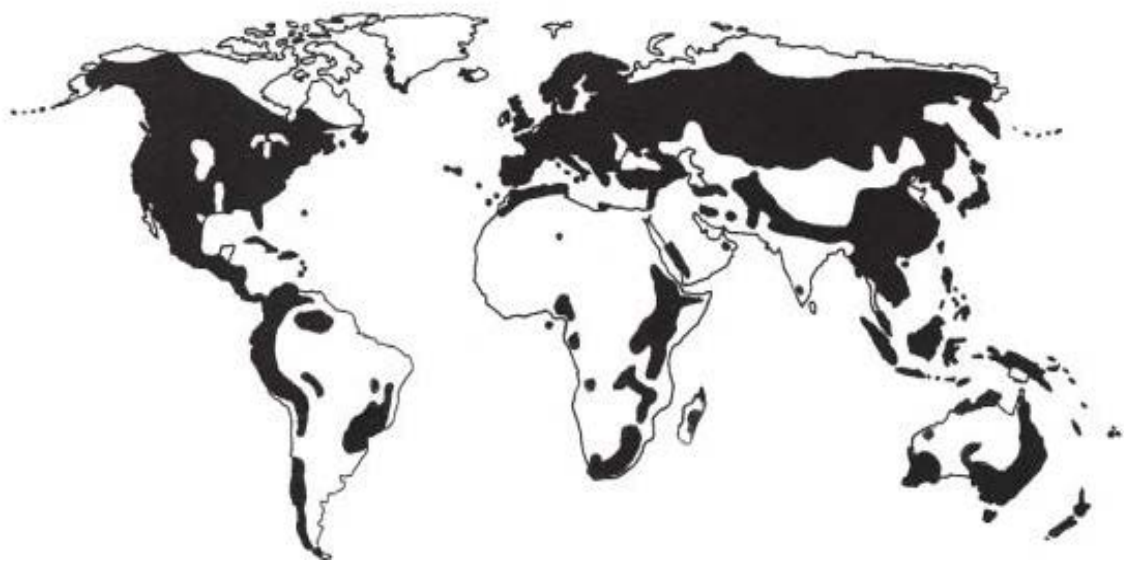


Figure 1: Répartition mondiale des conifères, extraite de Farjon (2010).

(La surface en noir représente l'aire de répartition des conifères).

I-2- Les *Cupressaceae* Bartlett (Famille des Cyprès)

La famille des *Cupressaceae* regroupe vingt-neuf genres et plus de 130 espèces. (Gadek *et al.*, 2000; Little *et al.*, 2004 ; Farjon, 2005; Adams *et al.*, 2009; Debreczy *et al.*, 2009; Christenhusz *et al.*, 2011). C'est la plus grande famille des conifères en termes de genres, et la troisième en termes d'espèces (Earle, 2010; Farjon, 2010).

La famille a longtemps été scindée en *Cupressaceae s.s.* et *Taxodiaceae* (Pilger, 1926; Gadek *et al.*, 2000), en raison de différences dans les feuilles, qui sont soit opposées et écailleuses, soit verticillées et linéaires chez les *Cupressaceae s.s.*, alors que celles des *Taxodiaceae* sont alternes et linéaires (Judd *et al.*, 2002; Earle, 2010). Mais cette distinction a été largement remise en cause par la suite de l'analyse phénétique d'Eckenwalder (1976). En effet, il existe de nombreuses similitudes (et des synapomorphies potentielles) réunissant ces deux familles: soudures des écailles et des bractées du cône; ailes latérales sur la graine dérivant du spermodermis; plus de deux microsporangies par microsporophylle; plus de deux graines par écaille du cône; grains de pollen non ailés;... (Judd *et al.*, 2002).

D'autres études; des analyses cladistiques (Hart, 1987); immunologiques (Price *et Lowenstein*, 1989); morphologiques (Farjon, 2002, 2005); anatomiques (Schulz *et Stützel*, 2007), ainsi que des enquêtes moléculaires (Brunsfeld *et al.*, 1994; Tsumura *et al.*, 1995; Chaw *et al.*, 1997, 2000; Stefanovic *et al.*, 1998; Gadek *et al.*, 2000; Kusumi *et al.*, 2000; Quinn *et al.*, 2002; Rydin *et al.*, 2002; Schmidt *et Schneider-Poetsch*, 2002; Rai *et al.*, 2008; Pittermann *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2012) soutiennent d'une façon cohérente la fusion des deux familles.

Concernant la classification sub-familiale de la famille des *Cupressaceae s. l.*, Gadek *et al.* (2000); et Pittermann *et al.* (2012) divisent les *Cupressaceae* en sept sous-familles qui sont: *Cunninghamioideae*, *Taiwanioideae*, *Athrotaxidoideae*, *Sequoioideae*, *Taxodioideae*, *Callitroideae* et *Cupressoideae* (**Figure 2**). Cette division est basée essentiellement sur la morphologie et des analyses de l'ADN chloroplastiques.

I-2-1- Description morphologique

Arbres ou arbustes, généralement résineuses et aromatiques monoïques (les espèces du genre *Juniperus* généralement sont dioïques). Ecorce de troncs souvent fibreuse, se desquamant en longues lanières sur les troncs adultes (Judd *et al.*, 2002; Earle, 2010).

Branches latérales bien développées, semblables à des rameaux principaux, des brindilles cylindriques, angulaires, ou aplatis (avec des surfaces structurellement distinctes inférieures et supérieures dans *Thuja*, *Calocedrus*, *Thujopsis*, *Fokienia*, *Libocedrus*, *Papuacedrus*, et dans une moindre mesure, dans d'autres genres) (Earle, 2010).

Les feuilles sont persistantes (caduques chez trois genres), simples, alternes et disposées autour du rameau, ou repliées à la base et apparaissant alors distiques, opposées ou verticillées, écailleuses, étroitement apprimées sur le rameau et ne dépassent pas 1 mm, ou linéaires et atteignant alors 3 cm de long, à canaux résinifères, tombant avec les rameaux latéraux; feuilles écailleuses souvent dimorphes, feuilles latérales carénées et enveloppant le rameau, et feuille du sommet et de la base du rameau aplatis (Judd *et al.*, 2002).

Microstrobiles et microsporophylles alternes ou opposées; microsporanges 2-10 sur la face abaxiale des microsporophylles; grains de pollen dépourvus de ballonnets, sans cellules prothalliennes. Cône atteignant sa maturité en 1-3 ans, à écailles peltées ou fixées par leur base et aplatis, charnues chez *Juniperus*, soudées ou bractées persistantes (caduques chez *Taxodium*); ovule 1-20, portées par la face adaxiale, dressés (le micropyle opposé à l'axe de cône; les ovules pouvant parfois être renversés); archégonies en nombre fort variable par ovule, agglomérées. Graines 2-3 courtes ailes latérales (ailes absentes chez certains genres) embryon droit, cotylédons 2-15 (**Figure 3**) (Judd *et al.*, 2002; Earle, 2010).

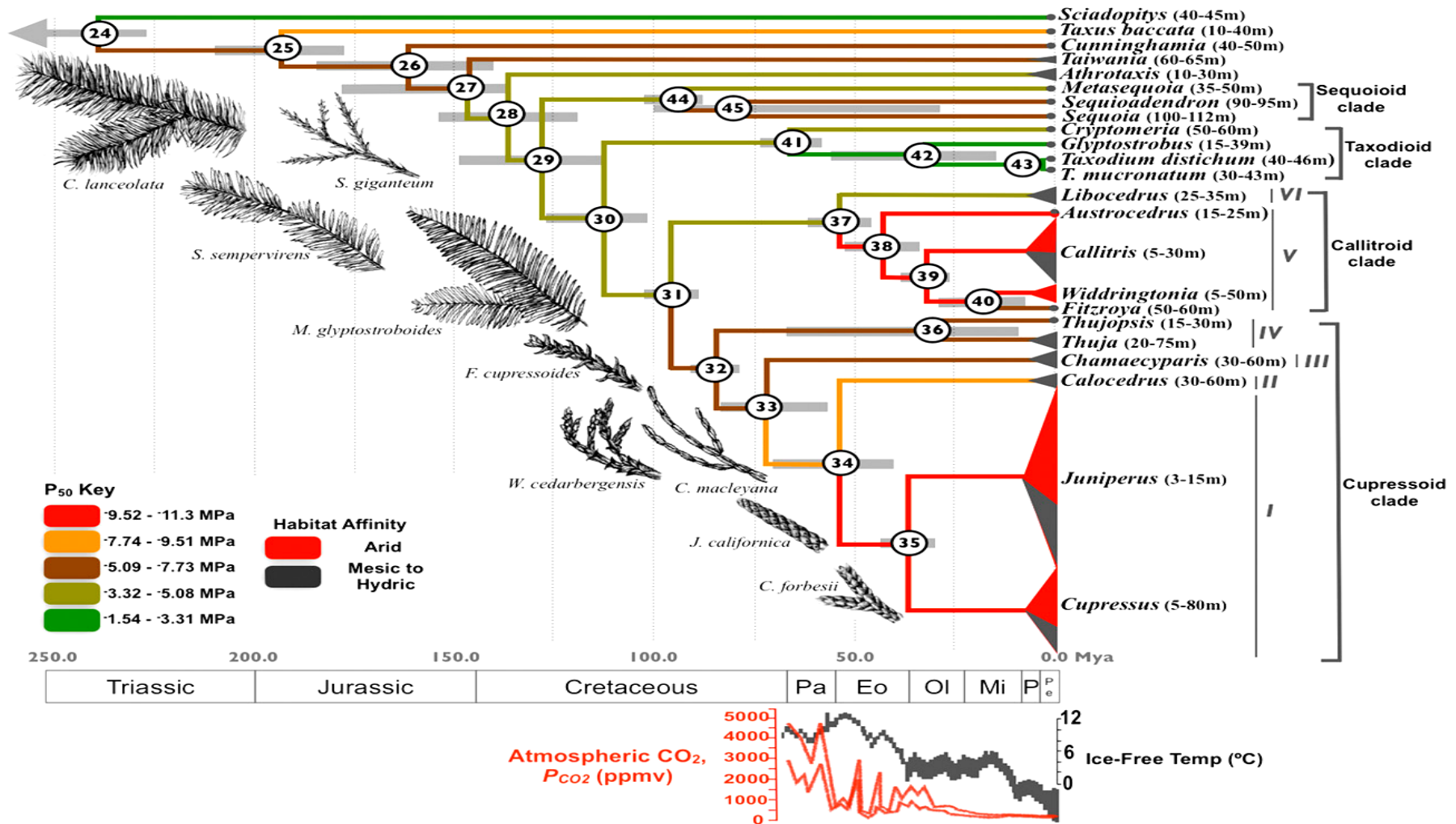


Figure 2: Arbre phylogénétique de la famille des Cupressaceae (Pittermann et al., 2012).



Figure 3: Morphologie des *Cupressaceae*, (Judd *et al.*, 2002).

(A-J) *Juniperus virginiana*; (A) Jeune rameau à feuilles écailleuses; (B) Jeunes rameaux à feuilles en écailles et en aiguilles; (C) détail d'un jeune rameau à feuilles en aiguille; (D) microstrobile avant la pollinisation; (E) Microsporophylle (vue abaxiale); (F) Jeune rameau avec mégastrobile au moment de la pollinisation; (G) écaille du cône (vue adaxiale) avec deux ovule dressée, proches de la pollinisation; (H) mégastrobile à maturité, à écailles soudées; (I) coupe transversale d'un cône mûr, avec deux ovules atteignant la maturité; (J) graine; (K-Q) *J. communis*; (K) rameau montrant les feuilles ternées et les mégastrobiles axillaires; (L) détail d'une portion détachée d'une feuilles en vue adaxiale; (M) microstrobile ayant émis son pollen; (N) microsporophylle en vue abaxiale; (O) rameau axillaire montrant de jeunes mégastrobiles à son sommet: trois ovules sont prêts à la pollinisation; (P) portion d'un rameau portant un mégastrobile mûr; (Q) vue apicale d'un cône, montrant les lignes de suture de trois écailles.

I-2-2 Distribution géographique et écologique

La famille des *Cupressaceae* est cosmopolite (Farjon, 2010), elle préfère des climats tempérés chauds à frais (Judd *et al.*, 2002). Les trois quarts des espèces habitent l'hémisphère nord. Environ 16 genres ne renferment qu'une seule espèce et beaucoup d'entre eux montrent un endémisme étroit. Les membres de cette famille fréquentent des habitats variés, depuis les sols gorgés d'eau jusqu'aux substrats secs, et depuis le niveau de la mer jusqu'à des altitudes élevées dans les régions montagneuses. Les deux espèces de *Taxodium* du sud-est des Etats-Unis se rencontrent fréquemment dans des eaux stagnantes (Judd *et al.*, 2002).

1-3- Les genévriers

Les genévriers (*Juniperus* L.) occupent une place importante dans le paysage nord-africain, essentiellement en raison de leur rusticité et de leur dynamisme; ce sont en effet des espèces pionnières peu exigeantes du point de vue écologique, elles sont présentes depuis le bord de mer jusqu'aux sommets des Atlas. Leur rusticité leur permet de résister aux agressions humaines intenses dont elles sont l'objet car dans de nombreuses régions, elles représentent le seul élément arboré ou arbustif susceptible d'être exploité pour le bois ou le feuillage, voire à des fins industrielles ou médicinales (Quézel *et* Gast, 1998). Ce genre est composé d'environ 75 espèces (Adams *et* Schwarzbach, 2013; Adams, 2014), il est le deuxième plus grand genre de conifères en nombre d'espèce après le genre *Pinus* (Miller, 1977; Farjon, 2010).

Le genre *Juniperus* est caractérisé par des cônes très particuliers, appelés «galbules», comportant des écailles plus ou moins complètement soudées entre elles. Beaucoup d'espèces sont dioïques (Rameau *et al.*, 2008).

La position phylogénétique des Genévriers indique qu'ils occupent le clade terminal et c'est l'un des genres les plus évolués des conifères (**Figure 4**). L'arbre phylogénétique du genre *Juniperus* montre les trois sections qui sont en clades bien distincts (**Figure 5**).

✚ La section *Caryocedrus* Endlicher, 1847, représentée par une seule espèce *J. drupacea* Labill., est confinée à la région de la Grèce et la Turquie (**Figure 6**), elle est considérée comme la section la plus ancestrale du genre (Adams *et* Schwarzbach, 2013).

J. drupacea sont des arbres dioïques à 30 m ou plus de hauteur, de feuilles larges aciculaires (2- 3,5 mm de large; 10- 25 mm de long), les feuilles en écailles sont absentes, cônes axillaires, cônes femelles 18-25 mm à maturité avec 3 écailles de cône visibles, trois grains fusionnés ensemble pour faire une drupe, les cônes femelles atteignent la maturité entre 18 mois à 2 ans (Adams, 2014).

✚ Section *Juniperus* (= *Oxycedrus*; espèce type *J. communis*) regroupant 14 espèces, caractérisées par des cônes bleus ou rouges, souvent avec 3 graines (Adams *et* Schwarzbach, 2013).

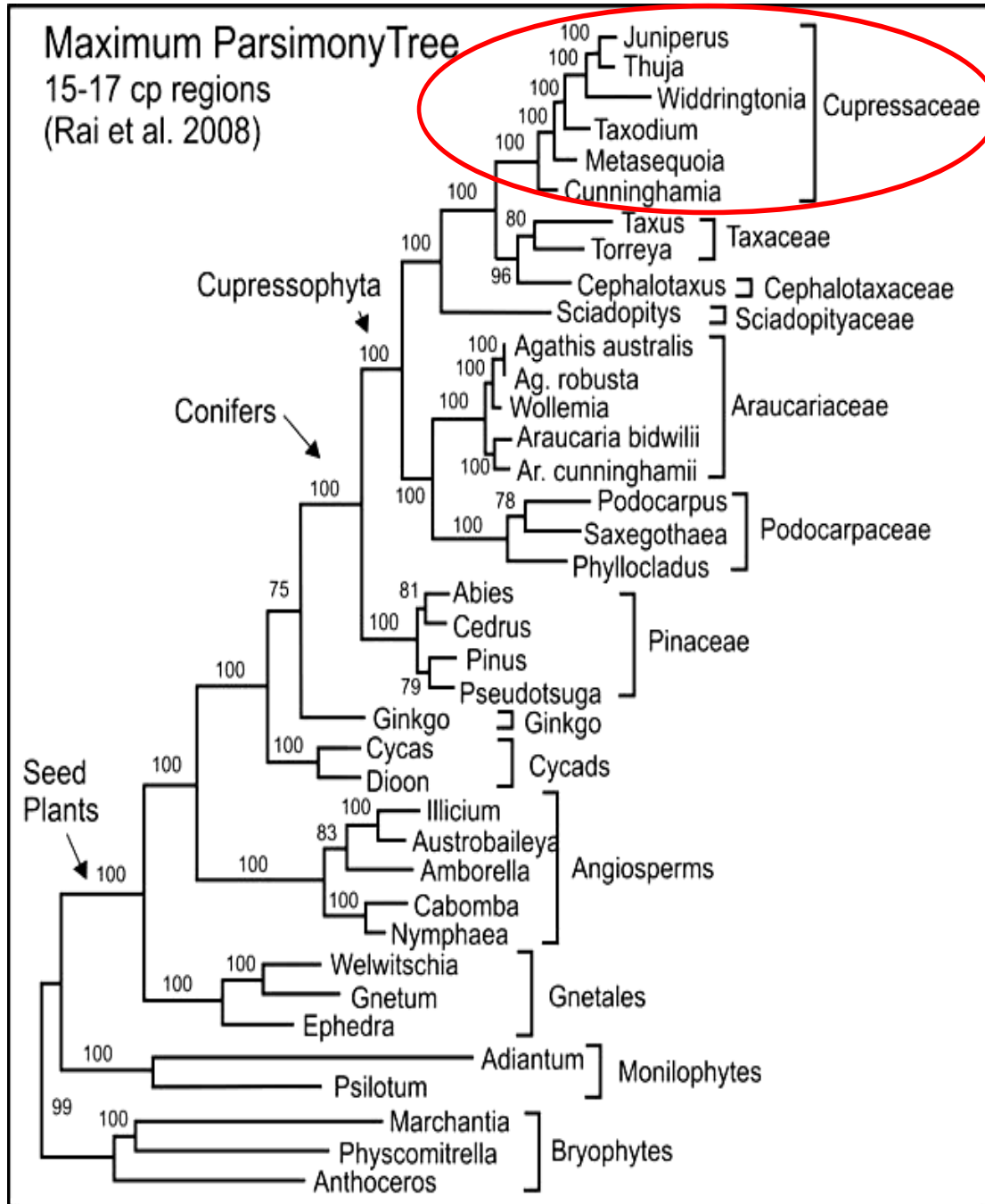


Figure 4: Position du genre *Juniperus* sur l'arbre phylogénétique des conifères, adapté par Adams (2014).

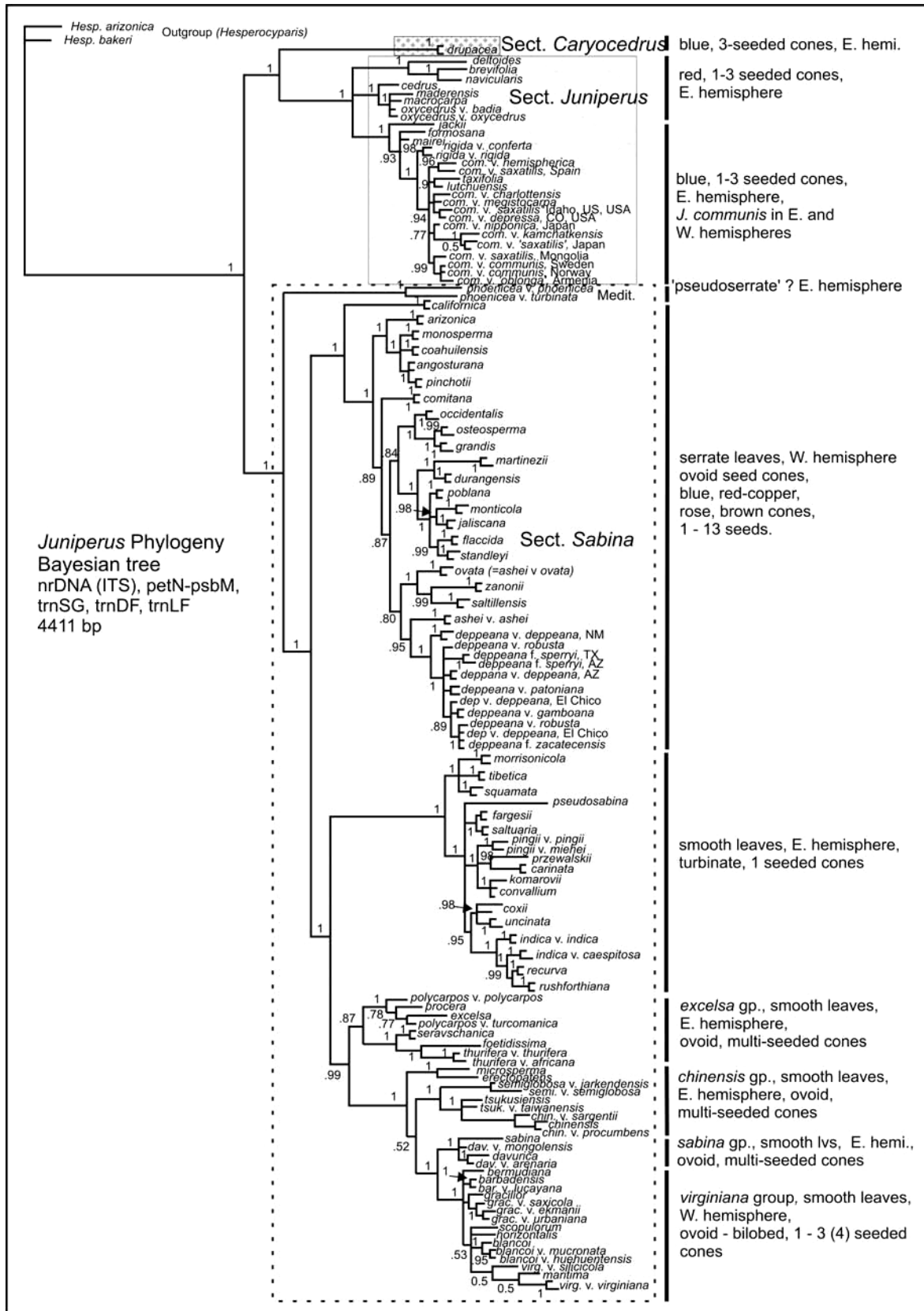


Figure 5: Arbre phylogénétique du genre *Juniperus* L, (d'après Adams *et* Schwarzbach, 2013).

✚ Section *Sabina*, la plus importante, comprenant soixante espèces, caractérisées par des cônes avec 1 à 13 graines, bleus, rouge-cuivres ou bruns. La section *Sabina* est divisée en trois grands clades (Mao *et al.*, 2010; Adams *et Schwarzbach*, 2013; Adams, 2014):

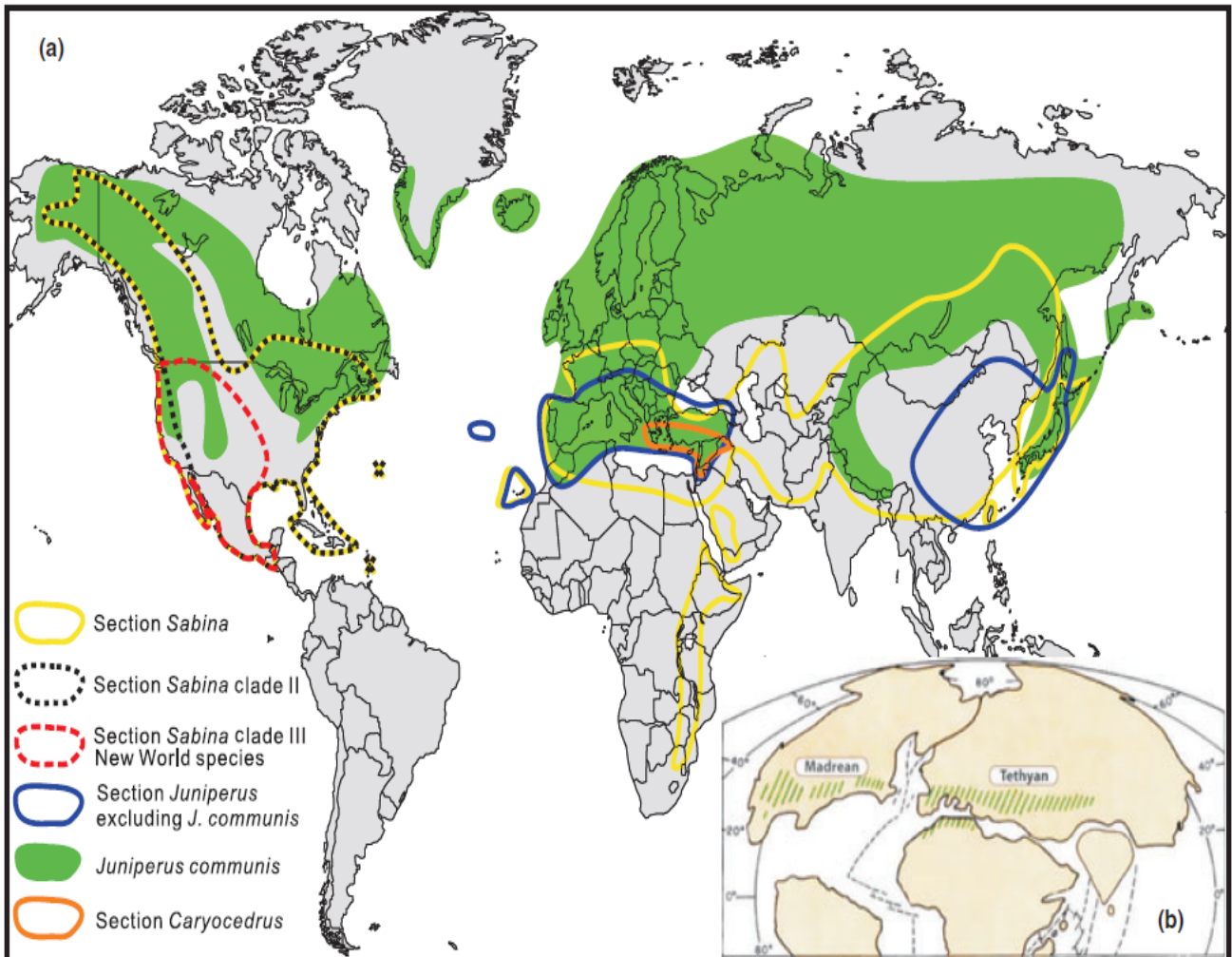


Figure 6: Aire de répartition du genre *Juniperus* L. (Mao *et al.*, 2010).

En Algérie, le genre *Juniperus* est représenté par deux sections et cinq espèces; Sect. *Oxycedrus* (*J. communis* L., *J. oxycedrus* L.), et la section *Sabina* (*J. thurifera* L., *J. phonicea* L., *J. sabina* L.) (Quézel *et Santa*, 1962; Maire, 1967).

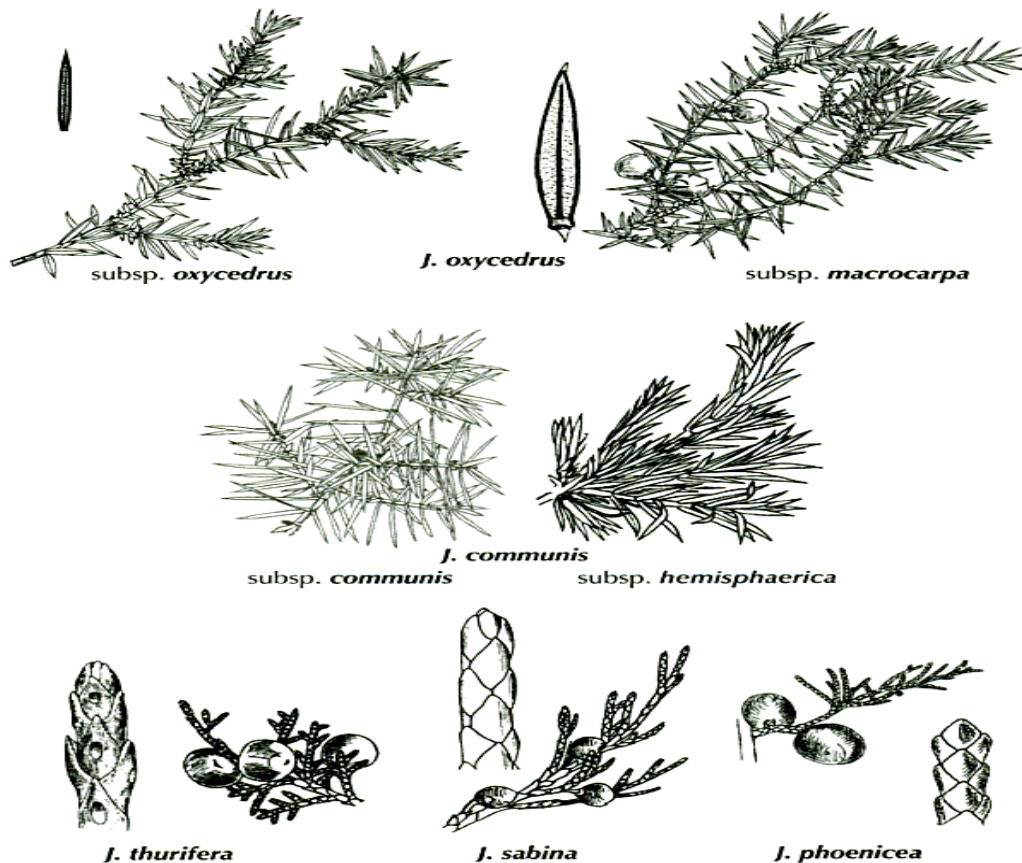


Figure 7: Les espèces du genre *Juniperus* de l'Algérie.

I-4- L'espèce *Juniperus thurifera* L.

I-4-1-Description morphologique

Le genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) (Nom commun "berbère": Aywel; Thazenzna), est un arbre ou arbuste dioïque, bien que la présence de quelques individus monoïques ait été mentionnée dans les Alpes françaises et en Corse (Borel *et* Polidori, 1983; Conrad, 1986); de même en Espagne, au Maroc dans le Haut Atlas (Badri, 2003), et en Algérie (les Aurès) dans la population de T'kout plus précisément dans la localité dite Malou de T'kout (Observation personnelle) (Figure 8).

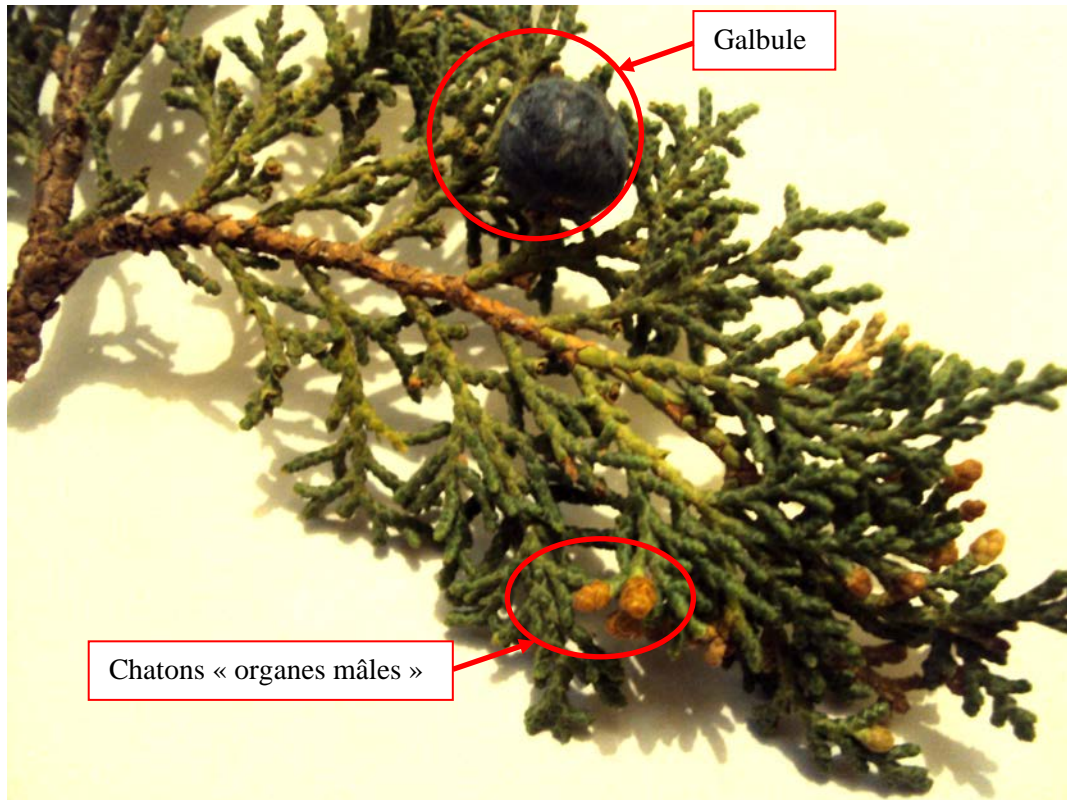


Figure 8: Echantillon récolté d'un individu monoïque. Photo Zeraib A., 10/04/2015.

« L'association des galbules qui sont le résultat de développement des fleurs femelles et les chatons qui portent les grains de pollens sur le même individu »

J. thurifera possède un port très variable, il peut atteindre 20 mètres de hauteur, avec un tronc très ramifié montrant une structure « troncs multiples » ou multicaule. Les feuilles en écailles, entières ou faiblement denticulées, à dos plus ou moins caréné (Bertaudière, 1999, Badri, 2003). La forme plus ou moins tétragones des ramules est due à la disposition des écailles (disposées par quatre) opposées décussées (Maire, 1952; Rameau *et al.*, 1993).

A l'état juvénile, les feuilles ne sont pas sous forme d'écailles mais de petites feuilles en alènes (formes de jeunesse), semblables à celles du genévrier oxycèdre ou commun, espèces qui appartiennent au même genre (Badri, 2003).

Les cônes femelles (galbules) sont charnus, subglobuleux, de couleur noir bleuâtre, et contiennent 2 à 4 graines suivant la variété, bien que selon Gauquelin *et al.* (1988), les Thurifères du Maroc ne contiennent généralement qu'une seule graine, dont la maturité est atteinte au bout de deux ans.

Les fleurs mâles sont réunies en chatons terminaux sub-globuleux d'une taille moyenne de 5 mm, situées sur des courts ramules dressés. Leur floraison se déroule de février au mois d'avril (Montès, 1999; Badri, 2003).

I-4-2- Systématique

La classification botanique de l'espèce *J. thurifera* est résumée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1: La position systématique de *Juniperus thurifera* L., d'après Mao *et al.* (2010).

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Pracheobionta</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous-embranchement	<i>Gymnospermes</i>
Division	<i>Pinophyta</i>
Classe	<i>Pinopsida</i>
Ordre	<i>Pinales</i>
Famille	<i>Cupressaceae</i>
Sous-famille	<i>Cupressoideae</i>
Genre	<i>Juniperus</i> L.
Section	<i>Sabina</i>
Espèce	<i>Juniperus thurifera</i> L.

Classiquement *Juniperus thurifera* L. comprend trois variétés: la variété *gallica* De Coincy correspondant aux peuplements européens (Alpes, Corse et Pyrénées); la variété *hispanica* Miller regroupant les peuplements de la péninsule Ibérique, et la variété *africana* Maire, pour les individus d'Afrique du Nord (Maroc et Algérie) (Montès, 1999), cette section présente deux sous espèces sur la base du nombre de graines par galbule (Gauquelin *et al.*, 1988; Adams, 2014).

J. thurifera var. *africana* Bull., [synonymes : *J. thurifera* var. *africana* Maire, *J. africana* (Maire) Villar, *J. thurifera* subsp. *africana* (Maire) Gauquelin], dont l'aire de répartition se limite au Nord d'Afrique.

J. thurifera var. *thurifera*, qui est présente de manière localisée en Espagne, dans les Pyrénées, dans les Alpes françaises et en Corse. Selon Montès (1999) et Adams (2014), on le trouve sous de nombreuses appellations : *J. bonatiana* Vis., *J. cinerea* Carriere, *J. hispanica* Mill., *J. sabinoides* Endl. Syn. Conif., *J. thurifera* L. var *gallica* (Coincy), *J. thurifera* L. ssp. *gallica* (Coincy) Rouy, *J. thurifera* L. ssp. *gallica* (Coincy), *Sabina foetidissima* (Willd.), *S. thurifera* (L.), *S. pseudothurifera* Antoine.

L'étude menée par Terrab *et al.* (2008), concerne toute l'aire de répartition *J. thurifera*, a montré que le polymorphisme génétique de type AFLP (polymorphisme de longueur de fragments amplifiés) permettait de rapprocher partiellement la population algérienne des populations européennes, tandis qu'elle confirmait la nette distinction des populations marocaines, non seulement des populations européennes, mais aussi des populations algériennes (**Figure 9**). Par contre, l'étude menée par Véla *et Schäfer* (2013) a montré que les individus de la population Algérienne présentent une ressemblance morphologique avec la sous-espèce *africana* des Atlas marocains.

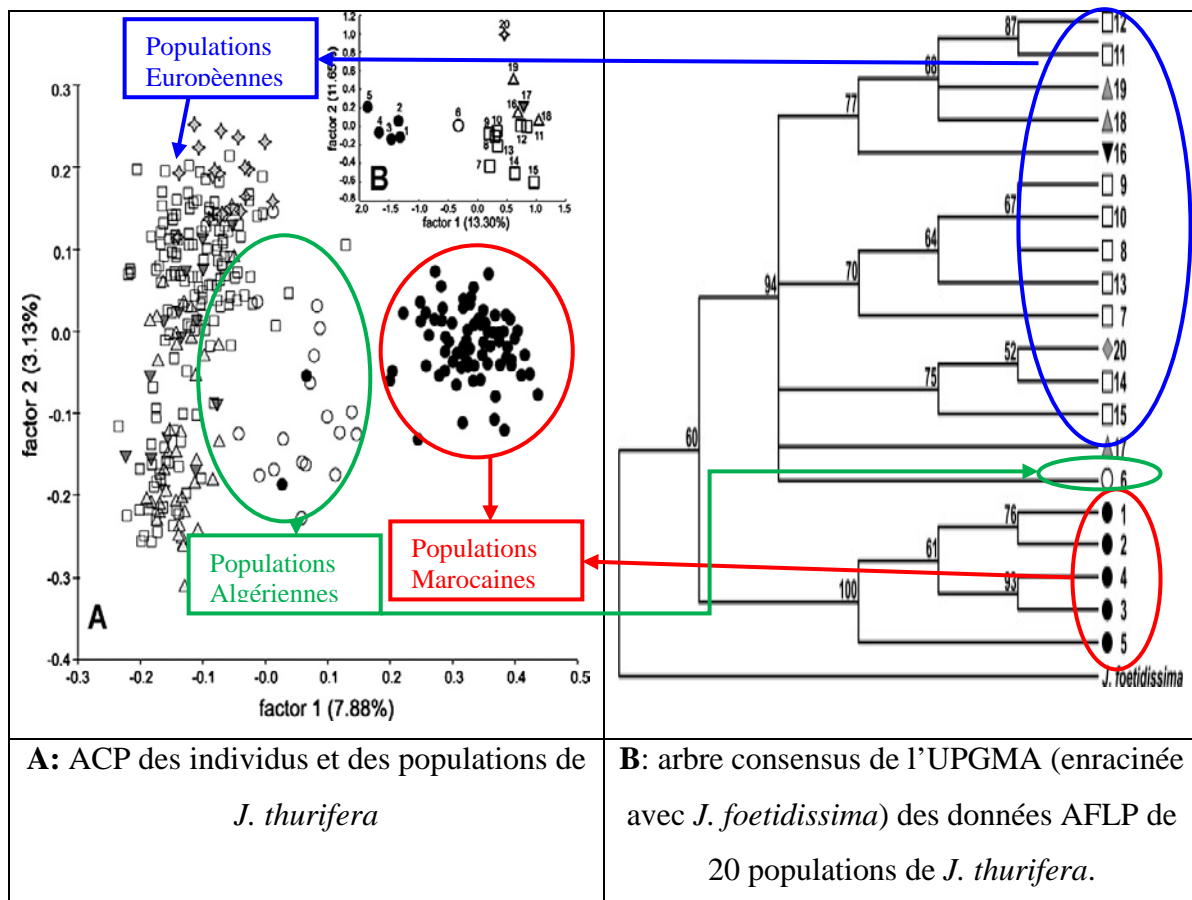


Figure 9: Résultats de l'étude basée sur le polymorphisme de longueur de fragments amplifiés de *J. thurifera* menée par Terrab *et al.* (2008).

I-4-3- Répartition géographique

I-4-3-1- Dans le monde

Le Genévrier thurifère est une espèce oroméditerranéenne, affectionnant un climat semi-aride, sec, froid en hiver et très exposé à l'ensoleillement. Il se rencontre en Espagne, en France, au Maroc, en Algérie et en Italie (**Figure 10**) (Gauquelin *et al.*, 1988, 1999; Farjon, 2005; Romo *et Boratyński* 2007; Adams, 2014).

Cet arbre présente non seulement une distribution très morcelée, mais également très inégalitaire: suivant les pays, les surfaces occupées par le Genévrier thurifère varient de quelques centaines d'hectares (En Algérie et en Italie) à environ 150 000 ha (en Espagne et au Maroc). Les peuplements de Genévrier thurifère occupent généralement des superficies restreintes, accentuant de ce fait le caractère fragmenté de sa répartition (Montès, 1999).

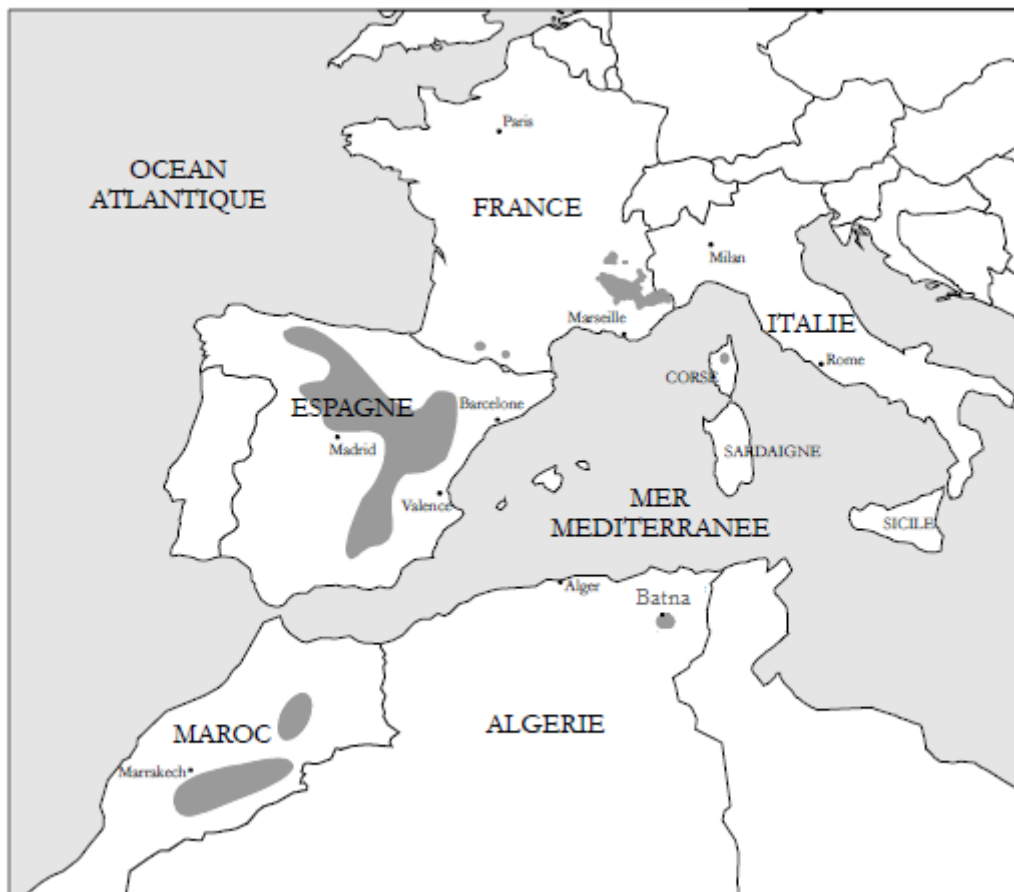


Figure 10 : Aire de répartition de *Juniperus thurifera* (Montès 1999), modifiée.

I-4-3-2- En Algérie

En Algérie, *J. thurifera* se rencontre dans le massif de l'Aurès, sous forme de peuplements très ouverts, dégradés et paraissant relictuels (Lapie Maige, 1914; Boudy, 1952; Tamagoult, 1988).

La thurifère dans les Aurès est distribuée en 3 blocs d'inégale importance: le premier est situé dans la région de T'kout, le second, dans la vallée de l'Ouled Abdi alors que le troisième est localisé dans le lieu dit Tibhirine (**Figure 11**). Les deux autres endroits où se situe le Génévrier thurifère sont dominés par d'autres essences forestières. Il n'arrive pas à individualiser des formations distinctes. Il s'agit de la cédraie de S'gag et de Chelia. Cependant, des sujets isolés éparpillés, peuvent se rencontrer çà et là dans les Aurès (un pied au village d'Ich Moul, quelques sujets au niveau de la zone d'Inoughissene) (Beghami, 2013).

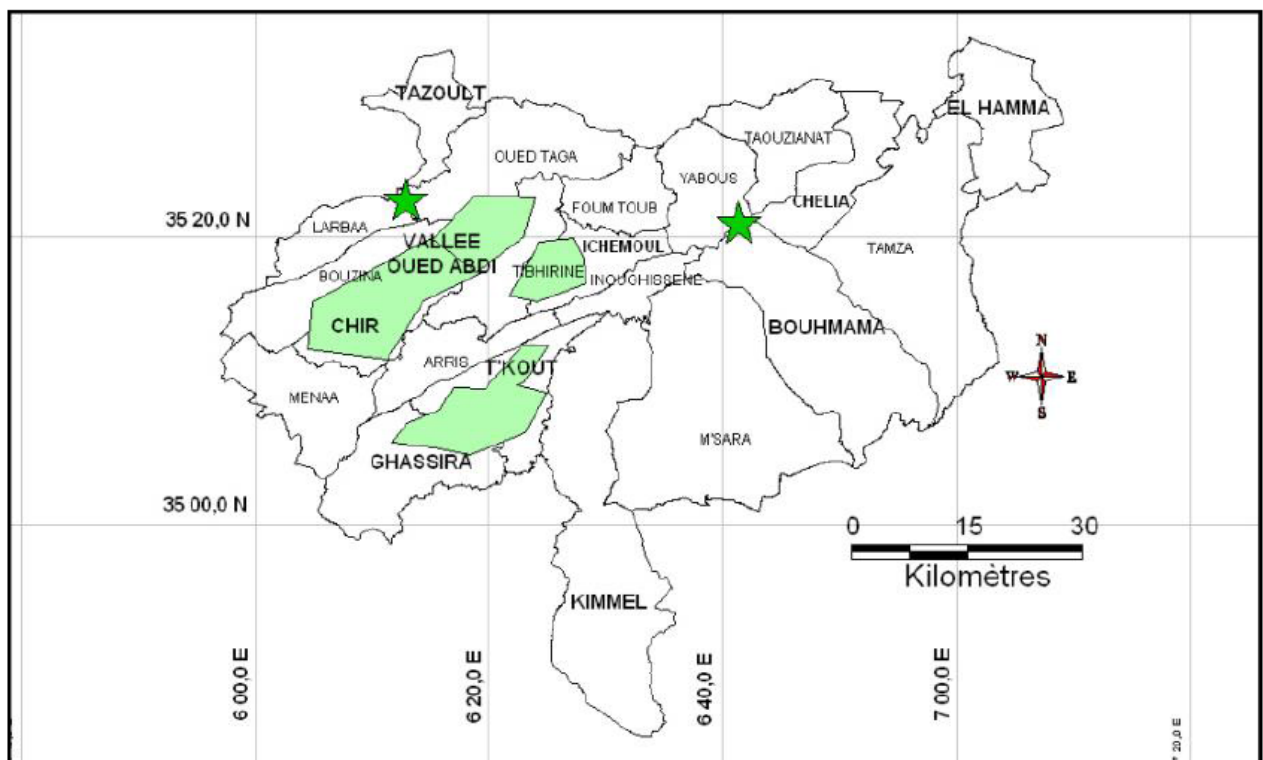


Figure 11: Répartition de *J. thurifera* en Algérie (Beghami, 2013).

II- LES HUILES ESSENTIELLES

II-1- Généralités sur les huiles essentielles

II-1-1- Définition

Chaque fois qu'on écrase un pétale de fleur, une branchette, ou une quelconque partie d'une plante, un parfum se dégage, cela signifie qu'une huile essentielle (HE) s'est libérée (Padrini *et* Luncheroni, 1996). Les huiles essentielles, appelées communément essences végétales, sont des produits huileux, odoriférants et volatils contenus dans les différentes parties des végétaux (Bruneton, 1999; Guestem *et al.*, 2001). Les HE sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux. Obtenus soit à partir des matières premières naturelles par distillation à l'eau, soit à partir des fruits de citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparées de la phase aqueuse par des procédés physiques (Afnor, 2000).

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables pouvant contenir plus de 300 composés différents (Sell, 2006), appartenant principalement à deux groupes chimiques qui se caractérisent par des origines biogénétiques distinctes. Il s'agit des composés terpéniques, les plus volatiles, tels les monoterpènes qui constituent 90 % des huiles essentielles d'une espèce; et les sesquiterpènes. Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane, sont beaucoup moins fréquents (Guignard *et al.*, 1985; Bruneton, 1999; Guestem *et al.*, 2001). Les huiles essentielles peuvent également renfermer divers produits issus des processus de dégradation (Bruneton, 1999; Guestem *et al.*, 2001).

Généralement, seuls les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire est faible (de 10 à 20 atomes), y sont rencontrés soit les monoterpènes et les sesquiterpènes (Bruneton, 1999). Exceptionnellement, quelques diterpènes ($C_{20}H_{32}$) peuvent se retrouver dans les huiles essentielles (Vila *et al.*, 2002).

II-1-2- Répartition et localisation des huiles essentielles

Il y aurait 17500 espèces aromatiques (Lawrence, 1995), distribuées sur 60 familles (Raut *et* Karuppayil, 2014). Les espèces capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles d'une valeur médicinale et industrielle sont réparties dans un nombre limité de familles, par exemple: *Alliaceae*, *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Myrtaceae*, *Poaceae* et les *Rutaceae* (Vigan, 2010; Hammer *et* Carson, 2011).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes: les sommités fleuries (Lavande, Menthe), les écorces (Cannelier), les racines (Vétiver), les rhizomes (Gingembre), les fruits (Anis, Fenouil, Badianier), le bois (Camphier), les feuilles (Citronnelle, Eucalyptus), les graines (Muscade) et les boutons floraux (Clou de Girofle) (Bruneton, 1999; Guestem *et al.*, 2001).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante: cellules à huiles essentielles des *Lauraceae* ou des *Zingiberaceae*, poils sécréteurs des *Lamiaceae* (Svobodak, 2000, 2003), poches sécrétrices des *Myrtaceae* ou des *Rutaceae*, canaux sécréteurs des *Apiaceae* ou des *Asteraceae* (Bruneton, 1999; Guignard, 2000).

II-1-3- Obtention des huiles essentielles

La distillation est le procédé le plus utilisé par l'industrie, le principe de cette technique est basé sur la volatilité des huiles essentielles sous l'effet de la chaleur. Les cellules éclatent et l'essence est entraînée avec la vapeur d'eau. On assiste à une transformation de phase: les molécules volatiles, initialement à l'état liquide, passent à l'état vapeur (Besombes, 2008). Après condensation, l'essence se sépare du distillat par décantation (Bruneton, 1999).

a- Hydrodistillation simple

Elle se produit dans l'appareil de Clevenger et consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (entier, coupé ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide. En effet, les vapeurs ascendantes provenant de l'alambic ou du réacteur

progressent dans la partie A puis se condensent dans la partie B. Le condensat est récupéré dans la partie C où l'huile se sépare de la phase aqueuse. L'eau en excès retourne dans l'alambic par la partie D (**Figure 12**). Dans une variante du procédé, le matériel végétal est broyé *in situ*.

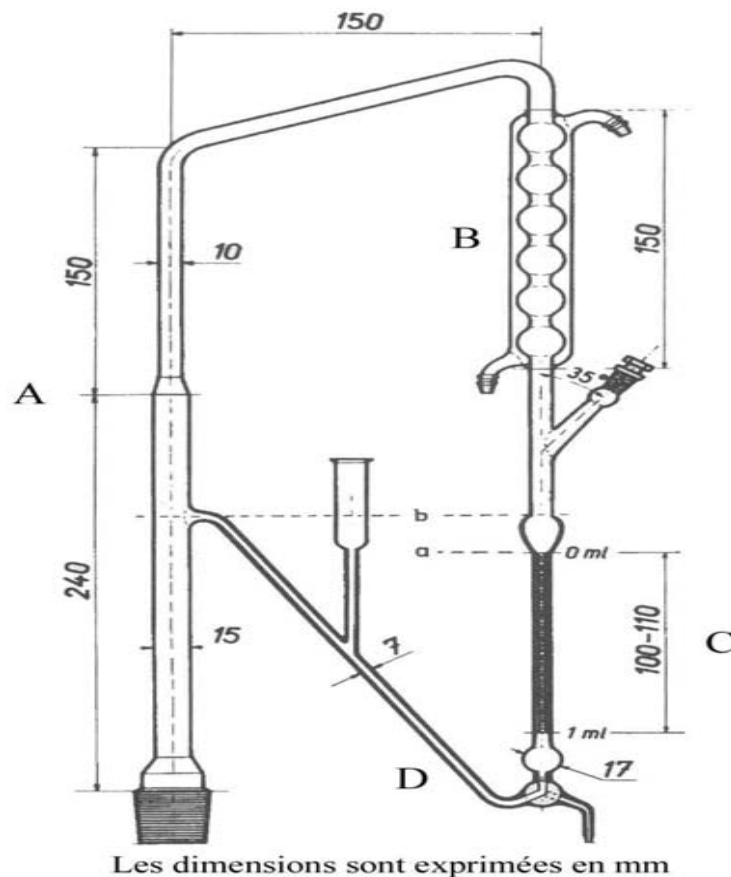


Figure 12: Appareil pour la détermination des huiles essentielles dans les drogues végétales.

b- Distillation à vapeur saturée

Dans la distillation à vapeur saturée comme produite avec l'appareillage de Kaiser Lang, le végétal n'est pas en contact avec l'eau: la vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées. Pour raccourcir le temps de traitement, limiter l'altération des constituants de l'huile essentielle et économiser l'énergie, il est possible de travailler en surpression modérée (1 à 3 bar). La conséquence de la surpression étant une augmentation de la température, la qualité de l'huile essentielle obtenue peut être modifiée.

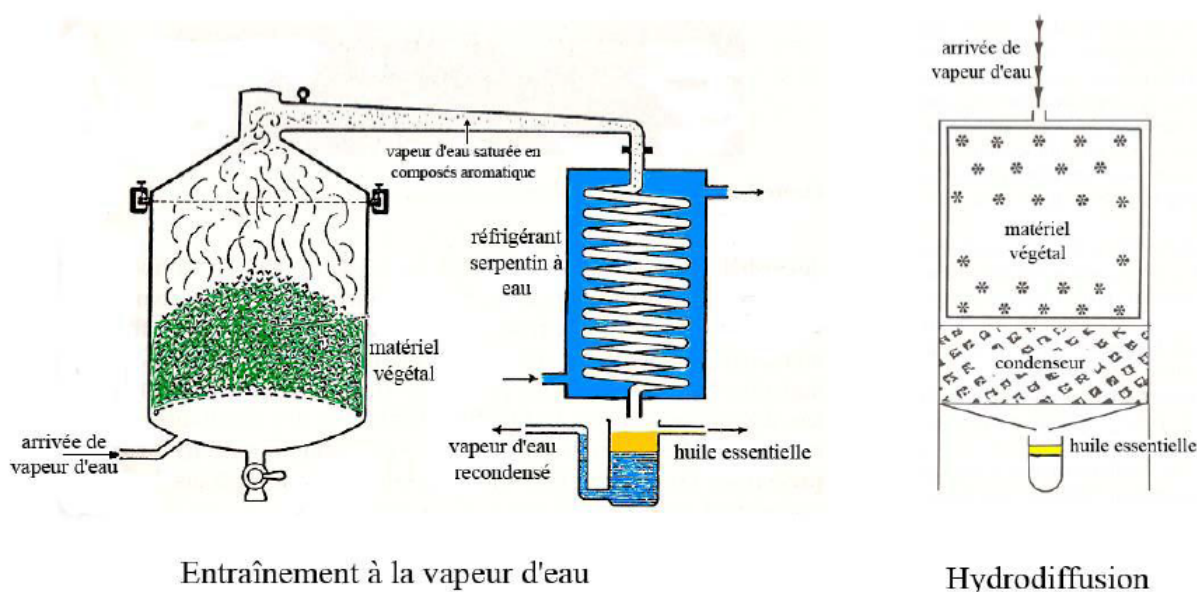


Figure 13: Montage pour l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodiffusion.

c- Hydrodistillation assistée par micro-ondes

L'hydrodistillation assistée par micro-ondes est un procédé développé par Stashenko *et al.* (2004a, b). Ce procédé, basé entièrement sur le principe de l'hydrodistillation classique, consiste à placer une partie du montage d'hydrodistillation dans le four à micro-ondes (**Figure 14**). Le matériel végétal est donc placé en présence d'une quantité d'eau suffisante dans un réacteur disposé dans l'enceinte du four à micro-ondes. Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération des essences sont situés à l'extérieur du four.

Cette technique a été appliquée pour l'extraction des huiles essentielles à partir de plusieurs plantes aromatiques et épices. Plusieurs études ont montré que le procédé MAHD, comparé à l'hydrodistillation classique (HD), permet un temps d'extraction plus court pour un rendement et une composition chimique de l'huile similaire. (Stashenko *et al.* 2004a, b ; Kosar *et al.*, 2005; Iriti *et al.* 2006; Golmakani *et* Rezaei, 2008a, b; Rezvanpanah *et al.*, 2008; Thi *et al.*, 2008; Farhat, 2010 ; Bahri *et al.*, 2013). Cette technique rapide apparaît compatible avec l'environnement et offre une économie en énergie par rapport à l'hydrodistillation classique (HD).

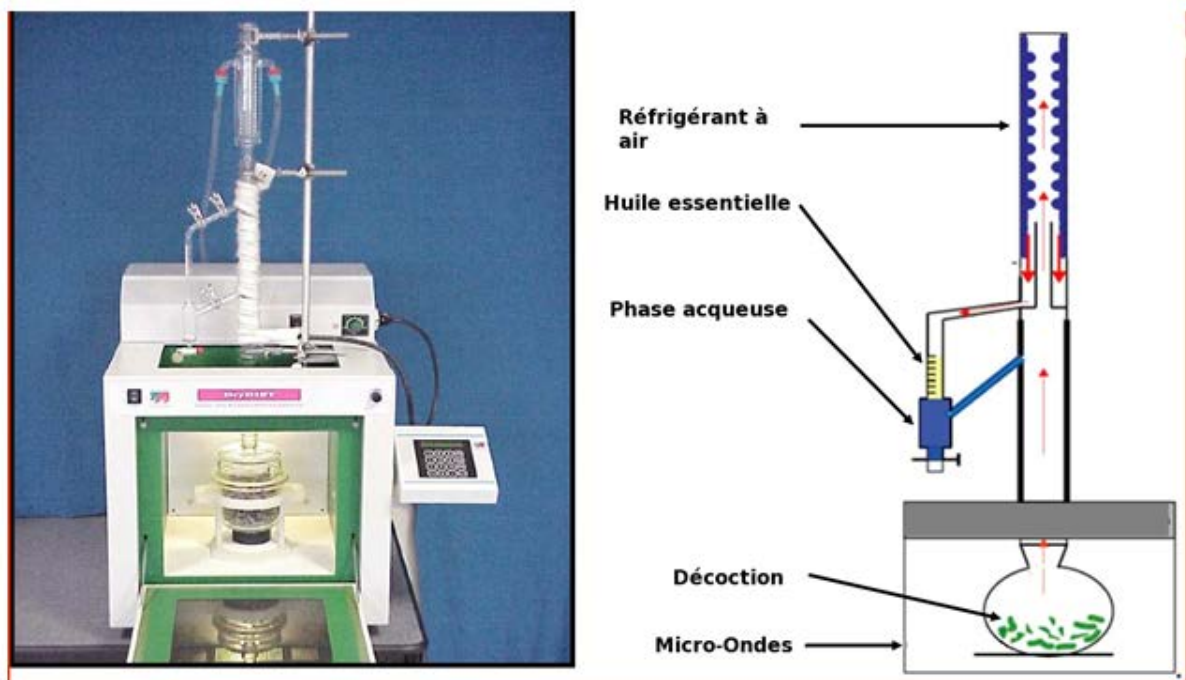


Figure 14: Montage d'une distillation par micro-ondes.

II-1-4- Analyse des huiles essentielles

De manière schématique, il existe deux types de démarches analytiques. La première est la méthode chromatographique procédant par individualisation des composés du mélange. L'identification est réalisée à l'aide des indices de rétention, d'une part, et des spectres de masse, d'autre part. C'est la méthode conventionnelle d'analyse des huiles essentielles, mais aussi la méthode de référence du marché. La seconde méthode est le recours à la RMN (résonance magnétique nucléaire) du carbone C13 des mélanges ne nécessitant pas d'individualisation préalable, mais ne pouvant être appliquée que sous certaines conditions (Darriet-Giudicelli, 2011). La RMN peut être couplée ou non à une CPG, mais une des difficultés majeures de cette technique est l'obtention d'une quantité de composé pur de l'ordre de 10 à 100 mg (Figuredo, 2007).

Le laboratoire où nous avons réalisé les analyses des huiles essentielles a opté pour la première démarche, c'est-à-dire l'usage de la chromatographie en phase gazeuse associée à une détection par ionisation de flamme (CPG-FID) et de la chromatographie en phase gazeuse couplée en ligne avec la spectrométrie de masse (CPG/SM).

II-1-4-1- La chromatographie en phase gazeuse

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition (Arpino *et al.*, 1995). C'est la technique de séparation la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles, car elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. Les progrès technologiques réalisés dans le domaine des colonnes capillaires, des phases stationnaires et des détecteurs (FID) ont contribué à rendre la CPG incontournable pour l'analyse des huiles essentielles (Matovská *et Lehotay*, 2004).

La CPG est une chromatographie de partage, la phase stationnaire étant un liquide non volatil réparti ou greffé sur un support inerte. La phase mobile est constituée de gaz inerte (H_2 , N_2 , He). La solution est injectée au moyen d'une seringue soit manuellement, soit avec un injecteur automatique qui permet d'obtenir une meilleure reproductibilité. La chambre d'injection est maintenue à une température telle que la vaporisation de l'échantillon se fasse dans un temps le plus court possible. La séparation des composés dépend du type de colonne utilisée et de la polarité de la phase stationnaire (Figuredo, 2007).

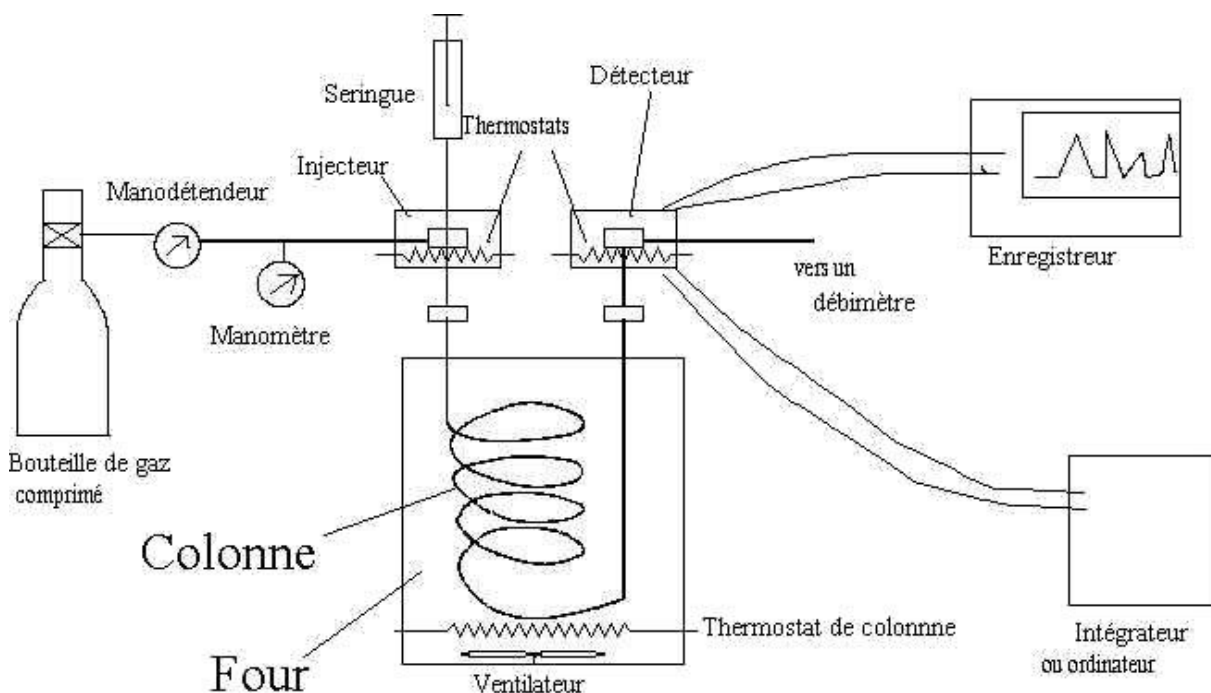


Figure 15: Schéma descriptif de la chromatographie en phase gazeuse (CPG).

II-1-4-2- L'indice de rétention

L'un des problèmes de la CPG est le manque de reproductibilité des temps de rétention d'un appareil à l'autre ou d'une colonne à l'autre, même si elles sont de nature identique. Pour résoudre ce problème lié aux phénomènes complexes qui interviennent pendant l'élution (variation des conditions opératoires), Kovats a proposé l'utilisation d'un indice de rétention (IK), en considérant que la montée de température du four est linéaire sur la plage de température étudiée. Van Den Dool et Kratz ont donc utilisé ces indices qui sont indépendants des conditions chromatographiques (Figuredo, 2007).

II-1-5- Composition chimique des huiles essentielles

II-1-5-1- Terpènes

Les terpènes constituent une famille importante de molécules naturelles, relativement simples et très abondantes, ce qui rend leur disponibilité assez aisée (Breitmaier, 2006). Historiquement, les terpènes ont été très employés pour l'embaumement, d'où le qualificatif de *balsamique* donné aux plantes et aux huiles qui en contiennent.

Le nom de terpènes a été forgé à partir de la térébenthine, matière de base de leur obtention, et de la racine «ène» pour rappeler qu'il s'agit de composés insaturés. Le terme terpénoïdes désigne un ensemble de substances naturelles construites à partir d'unités isopréniques (**Figure 16**). Isolés du règne végétal, ils possèdent des propriétés pharmacologiques, d'autres ont généralement des fonctions fongicides, insecticides ou attractives.

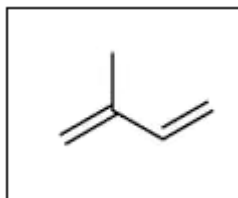


Figure 16: Représentation de l'isoprène, le 2-méthyle-1,3-butadiène.

Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène etc...), monocycliques (α - et γ -terpinène, *para*-cymène, δ -élémane,...), bicycliques (α - et β -pinène, δ -3-carène, camphène, β -caryophyllène, etc...),

- cétones : acycliques (tagétone), monocycliques (menthone, carvone, etc...), bicycliques (verbénone, thuyone, etc....),

- aldéhydes : le plus souvent acycliques (géranial, néral, citronellal, etc...),

- esters : acycliques (acétate de linalyle, acétate de citronellyle), monocycliques (acétate de menthyle, d' α -terpényle, etc...), bicycliques (acétate de bornyle, etc...),

- éthers : 1,8-cinéole,

- peroxydes : ascaridol, CH₃

- phénols : thymol, carvacrol (Figueredo, 2007; Bekkali *et al.*, 2008).

La diversité des structures terpéniques naturelles rend délicate, sinon difficile, toute tentative de généralisation, à l'heure actuelle, on en décompte environ 30000 (Connolly *et Hill*, 1991). Le chimiste Ruzicka (1953) proposa une nomenclature pour les dérivés isopréniques en fonction du nombre d'unités d'isoprène qui les constitue (**Tableau 2**).

Tableau 2: Les différentes classes des terpènes.

Classe des terpènes	Nombre d'unités isopréniques	Nombre de carbones	structure détaillée
Hémiterpènes (50 molécules)	1	5C	C ₅ H ₈
Monoterpènes (1500 molécules)	2	10C	C ₁₀ H ₁₆
Sesquiterpènes (10000 molécules)	3	15C	C ₁₅ H ₂₅
Diterpènes (5000 molécules)	4	20C	C ₂₀ H ₃₂
Sesterpènes (150 molécules)	5	25C	C ₂₅ H ₄₀
Triterpènes (5000 molécules)	6	30C	C ₃₀ H ₄₈
Tétraterpènes (200 molécules)	8	40C	C ₄₀ H ₆₄
Polyterpènes (non renseigné)	N	5nC	n(C ₅ H ₈)

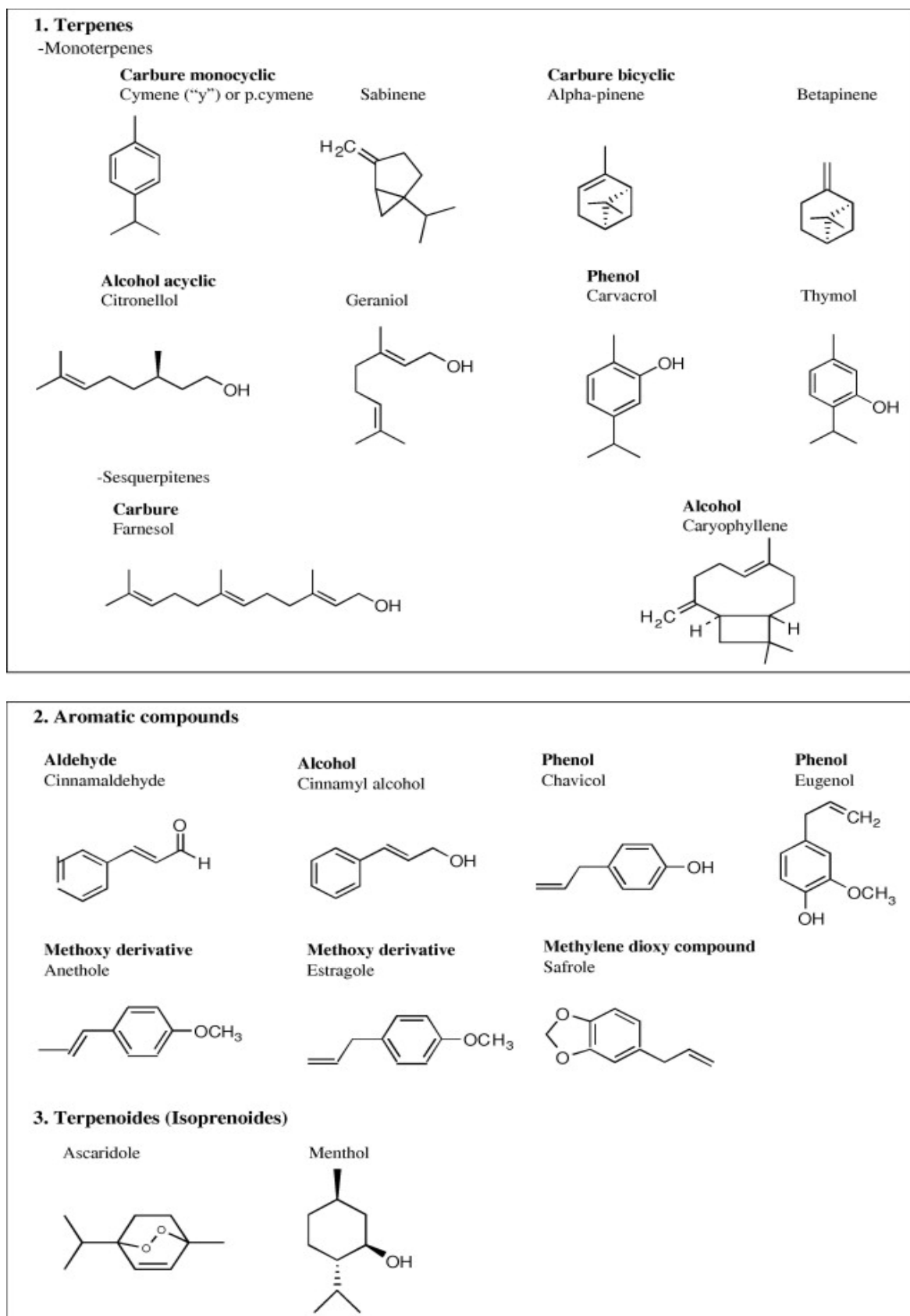


Figure 17: Structure chimique de certains composés des huiles essentielles (Bekkali *et al.*, 2008).

II-1-5-2- Les dérivés du phénylpropane

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Kurkin, 2003). Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, la vanille, la cannelle, le basilic, l'estragon, etc. (Bruneton, 1999).

Enfin, il existe un nombre non négligeable de composés volatils issus de la dégradation, de terpènes non volatils (c'est le cas par exemple des ionones qui proviennent de l'auto-oxydation des carotènes) et d'acides gras (les petites molécules odorantes, comme par exemple le (3Z)- hexén-1-ol ou le décanal, qui sont obtenues à partir des acides linoléique et α -linoléique) (Bruneton, 1999).

II-2- Biosynthèse des constituants volatils et odorants

II-2-1- Biosynthèse du motif isoprénique

L'unité de base des biosynthèses est l'isopentényl diphosphate (IPP) et son isomère le diméthylallyl-diphosphate. Ces deux composés sont associés en géranyl diphosphate (précurseur des monoterpènes), en farnésyl diphosphate (précurseur des sesquiterpènes et des triterpènes) et en géranyl-géranyl diphosphate (précurseur des diterpènes et des tetraterpènes) par des isoprényltransférases. Deux voies de biosynthèse conduisent à ces unités de base à 5 carbones.

La première est la voie du mévalonate. Elle débute par la condensation de 3 unités acétyl CoA, passe par un composé en C₆ (le mévalonate) et débouche sur l'IPP (**Schéma 1**).

La seconde voie – voie du MEP ou encore nommée voie indépendante du mévalonate est spécifique des végétaux et se déroule dans les plastes. Elle débute par la condensation d'une unité pyruvate (C₃) avec une unité glyceraldéhyde 3-phosphate (C₃) et conduit au méthylerythritol phosphate (MEP) un composé intermédiaire en C₅. Plusieurs étapes enzymatiques conduisent ensuite à la synthèse de l'IPP. Cette voie n'a été mise en évidence qu'à la fin des années 90, il s'est rapidement avéré qu'il s'agit de la voie majoritaire pour la biosynthèse de la majeure partie des terpènes (**Schéma 2**).

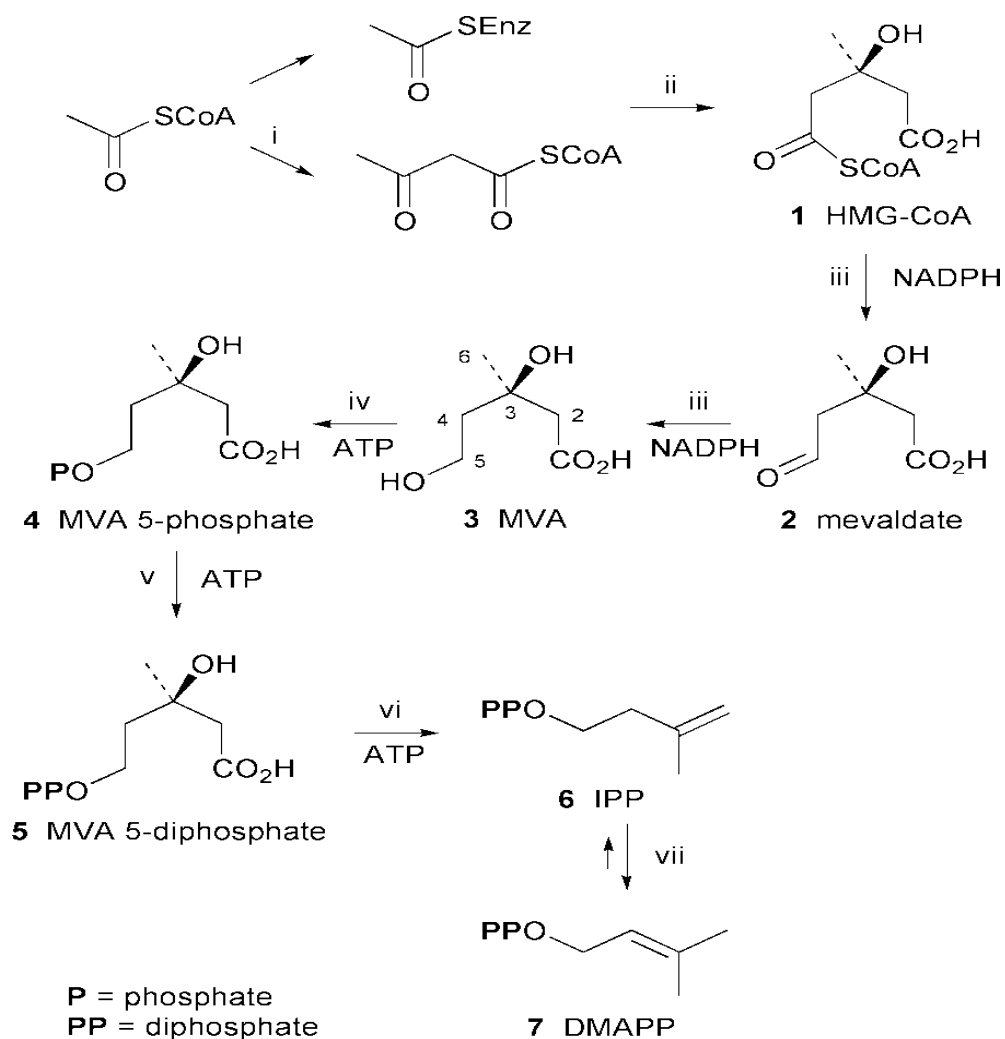


Schéma 1: Biosynthèse de l'isopentényl diphosphat selon la voie mévalonate, d'après Dewick (2002).

- (i) : acétoacétyl-coenzyme A thiolase
- (ii) : hydroxyméthylglutaryl-coenzyme A synthétase
- (iii) : hydroxyméthylglutaryl-coenzyme A réductase
- (iv) : mévalonate kinase
- (v) : phosphomévalonate kinase
- (vi) : mévalonate-5-diphosphate décarboxylase
- (vii) : isopentényl diphosphate-D-isomérase

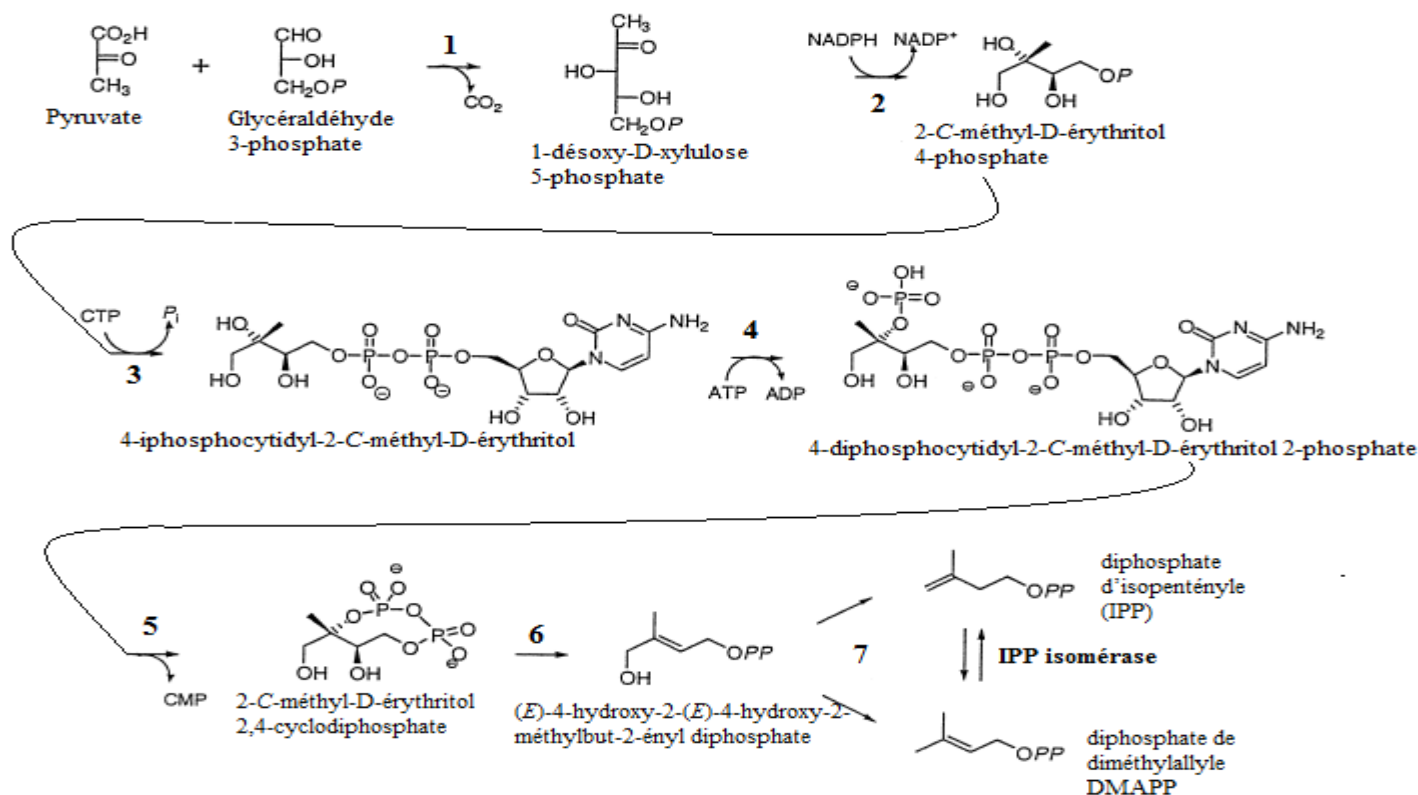


Schéma 2: Biosynthèse de l'isopentényl diphosphat selon la voie MEP.

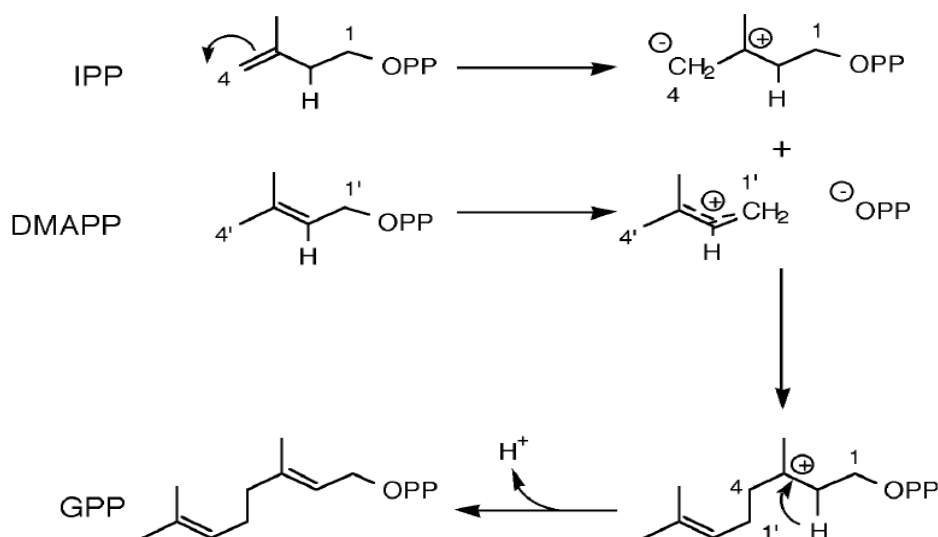
Enzymes: 1, 1-désoxyxylulose 5-phosphate synthase ; 2, 1-désoxyxylulose 5-phosphate isoméroréductase ; 3, 2-C-méthyl-D-érythritol 4-phosphate cytidyltransférase ; 4, 4-diphosphocytidyl-2-C-méthyl-D-érythritol kinase ; 5, 2-C-méthyl-D-érythritol 2,4-cyclodiphosphate synthase ; 6, (E)-4-hydroxy-2-méthylbut-2-ényl diphosphate synthase ; 7, isopentényle diphosphate/diméthylallyle diphosphate synthase

II-2-2- Biosynthèse des précurseurs des terpenoïdes

Le premier terme de la série est le diméthylallylpyrophosphate (DMAPP). L'addition du DMAPP sur la double liaison de l'IPP est catalysée par une GPP synthétase et conduit au pyrophosphate de géranyle (GPP), précurseur des monoterpènes (**Schéma 3**).

La réaction implique l'ionisation du pyrophosphate d'allyle et le départ du groupe pyrophosphate qui permet l'attaque électrophile simultanée et stéréosélective du carbocation allylique formé sur la double liaison du pyrophosphate d'isopentényle.

Le processus s'accompagne de l'élimination d'un proton H 2-pro-(R) de l'IPP, conduisant à la formation d'une double liaison *trans*, dans la biosynthèse du GPP. L'élimination d'un proton H 2-pro-(S) conduirait à la formation de l'isomère *cis*.



Shéma 3: Biosynthèse du diphosphate de géranyle (GPP) (Lamarti *et al.*, 1994).

Cette réaction de prénylation peut se poursuivre par l'addition de l'IPP sur le GPP et conduire au pyrophosphate de farnésyle (FPP), précurseur des sesquiterpènes ; une condensation ultérieure de l'IPP sur le FPP conduira au pyrophosphate de géranylgéranyl (GGPP), précurseur des diterpènes et ainsi de suite pour former la série de pyrophosphates de prényls allyliques homologues (**Schéma 4**). L'allongement de la chaîne est catalysé par des prényl-transférases dont certaines sont spécifiques pour une chaîne donnée.

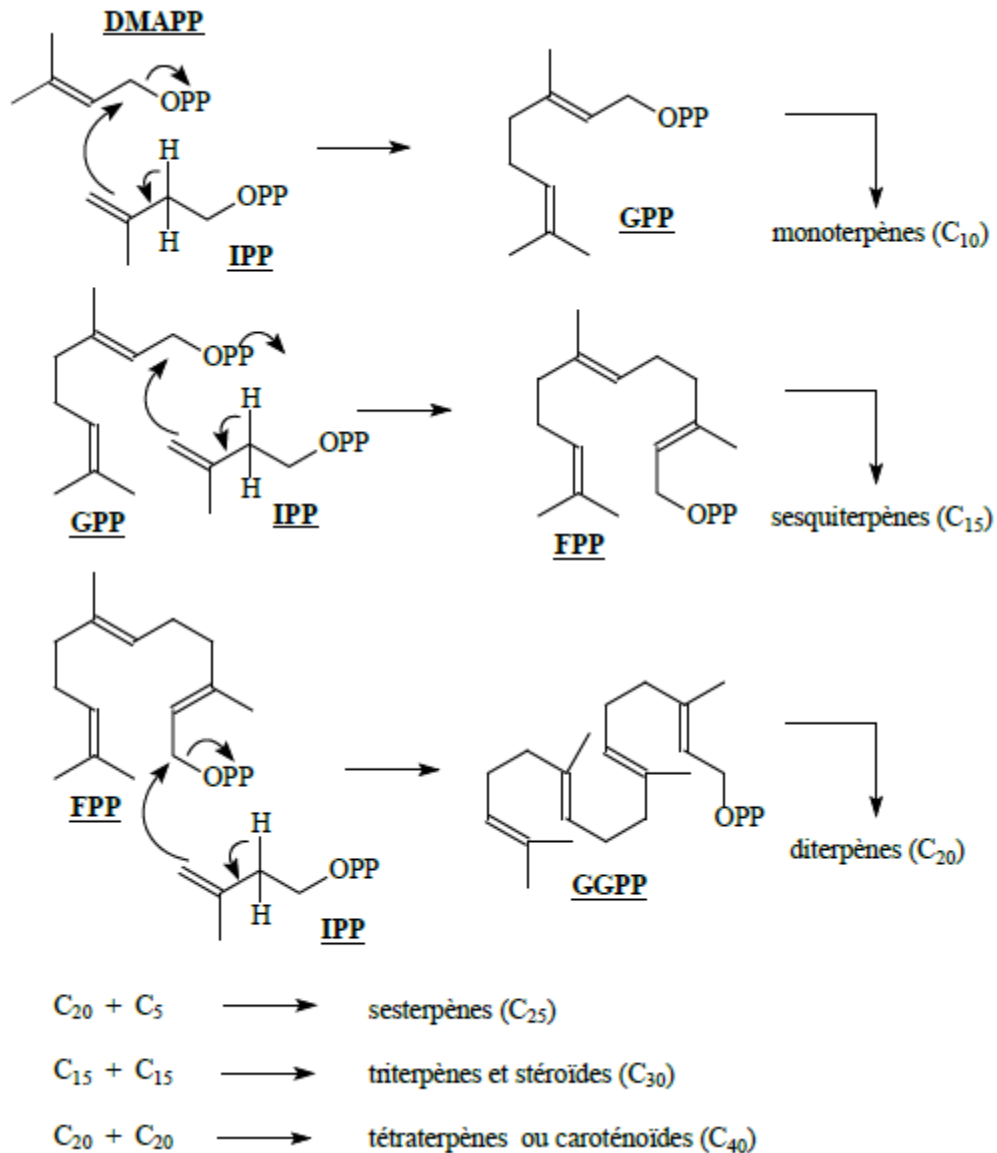


Schéma 4: Biosynthèse des précurseurs des différentes classes des terpènes (Mann, 1987).

II-2-3- Biosynthèse des monoterpènes

Selon leurs caractéristiques géométriques, les différents types de monoterpènes acycliques rencontrés sont susceptibles de dériver "directement" du géranylpyrophosphate qui a une forme cationique très probablement stabilisée. Ce cation évolue par cyclisation électrophile; la suite de réactions se termine par l'élimination d'un proton ou par addition d'une molécule d'eau (Schéma 5).

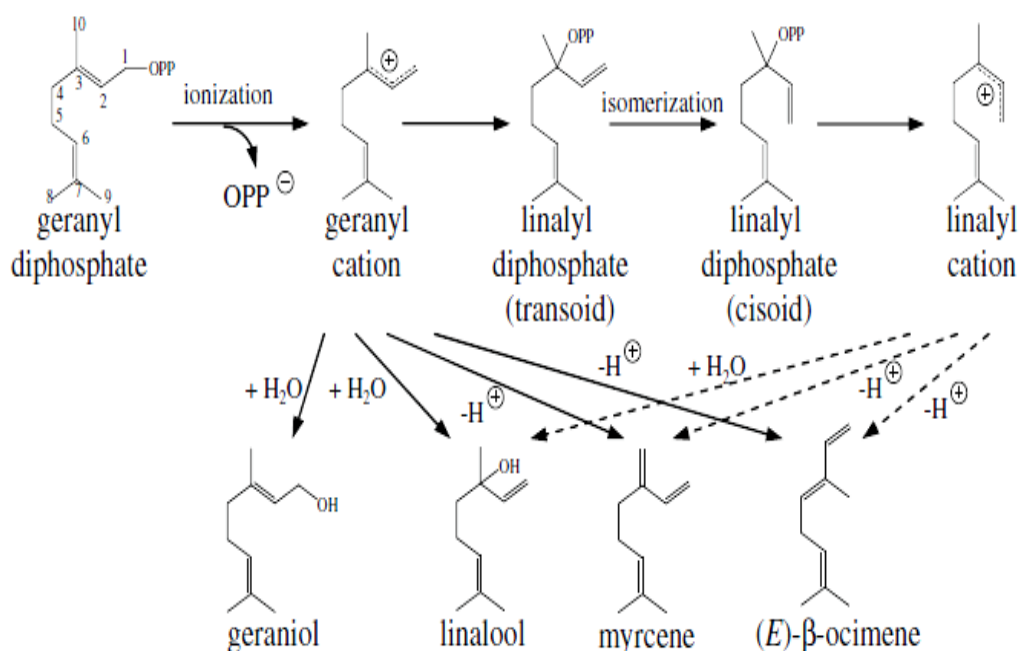


Schéma 5: Voies biosynthétiques des principaux monoterpènes acycliques (Degenhardt *et al.*, 2009)

Chez les plantes, les cyclisations sont catalysées par des enzymes appelés cyclases. A partir d'un même précurseur acyclique, ces cyclases spécifiques produisent différents squelettes.

Le cation terpinyle provient du GPP après cyclisation et devient ainsi le précurseur de la plupart des composés cycliques terpéniques (**Schéma 6**).

II-2-4- Biosynthèse des sesquiterpènes

Le pyrophosphate de farnésyle, sous deux configurations (2Z, 6E) et (2E, 6E), est à l'origine de la quasi-totalité des composés sesquiterpéniques. On retrouve les réactions d'isomérisation analogues à celles décrites dans l'inter-conversion GPP, NPP, LPP (**Schéma 7**).

Les sesquiterpènes acycliques sont donc directement issus de ces précurseurs, ou formés par transformation des carbocations correspondantes.

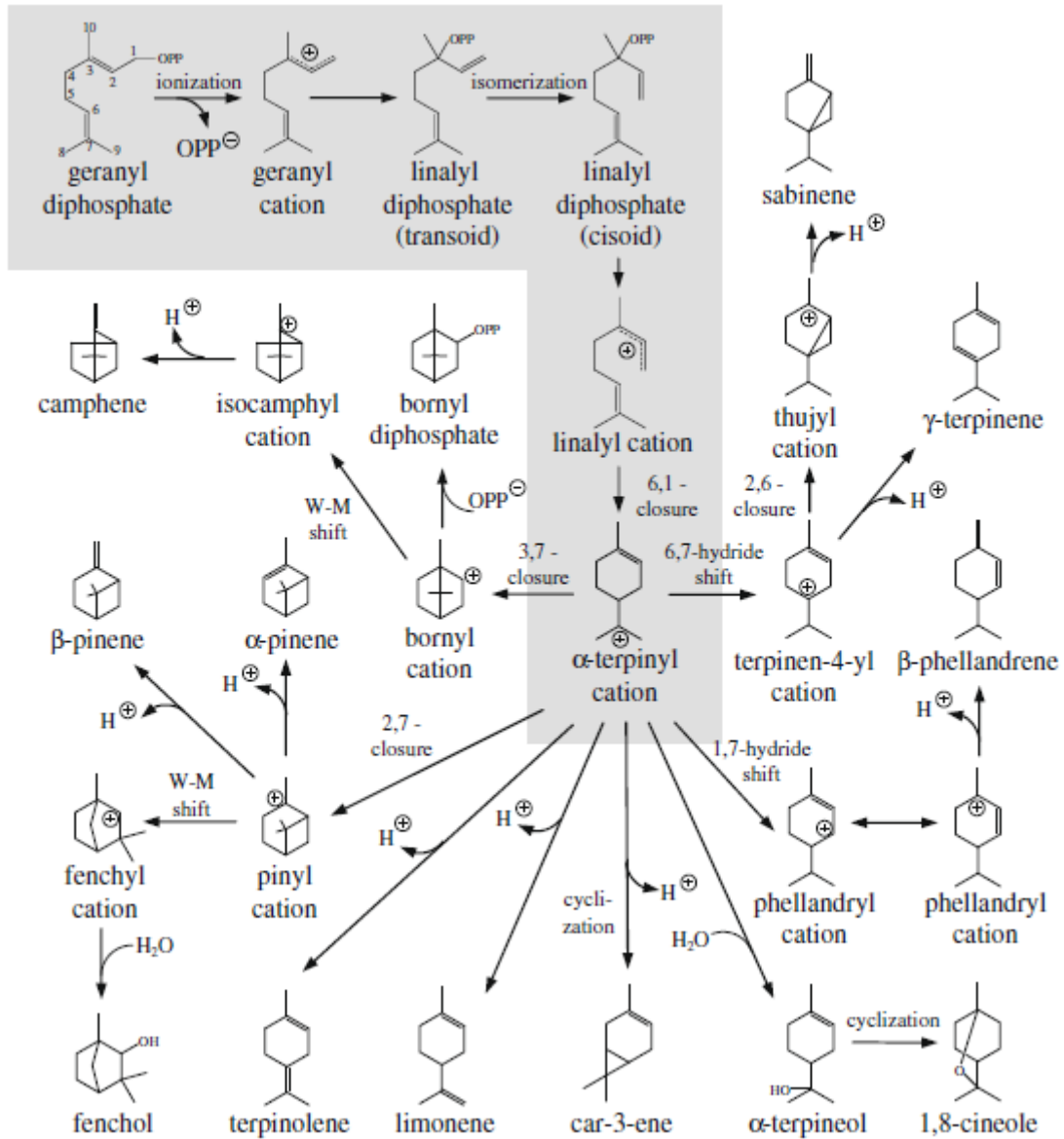


Schéma 6: Voies biosynthétiques des principaux monoterpènes cycliques (Degenhardt *et al.*, 2009).

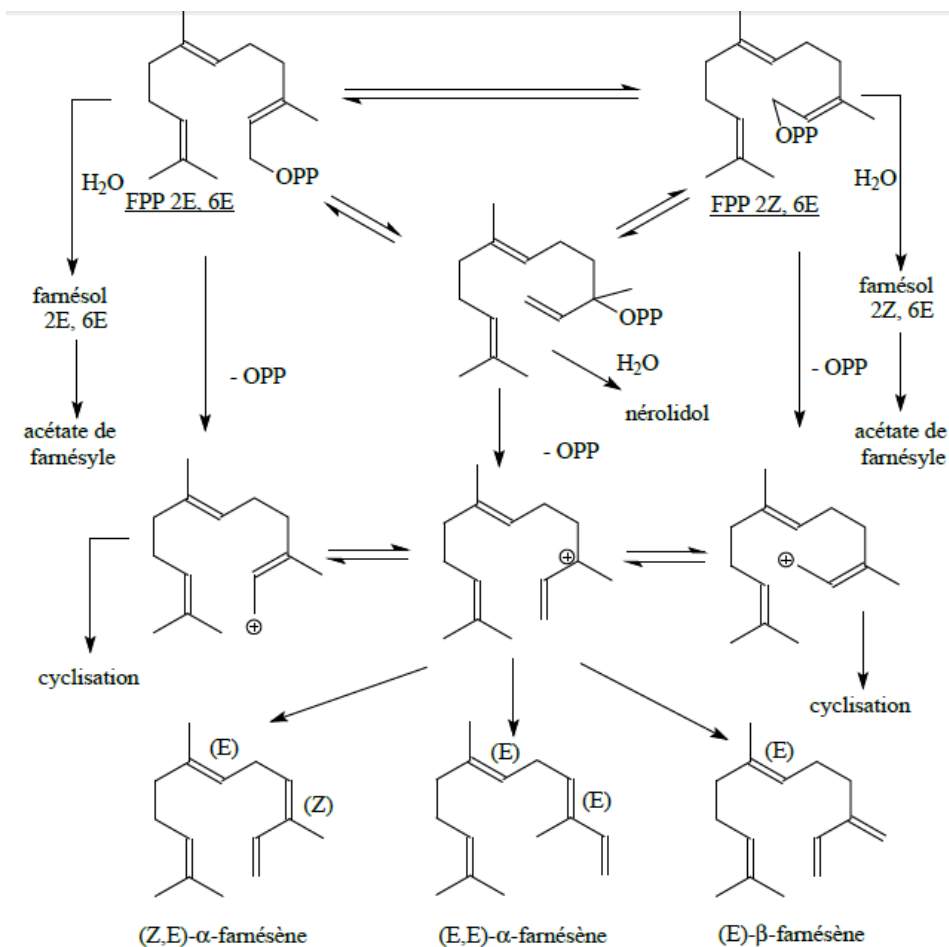


Schéma 7: Biosynthèse des sesquiterpènes acycliques (Mann, 1987).

Les sesquiterpènes cycliques sont supposés être formés par cyclisation des carbocations issus des 2 isomères géométriques du FPP (Schéma 8). Les voies biosynthétiques proposées sont inspirées du schéma proposé par Mann (1987) qui tient compte de la stéréochimie des précurseurs potentiels (2Z, 6E-FPP et 2E, 6E-FPP) des différentes structures cycliques rencontrées

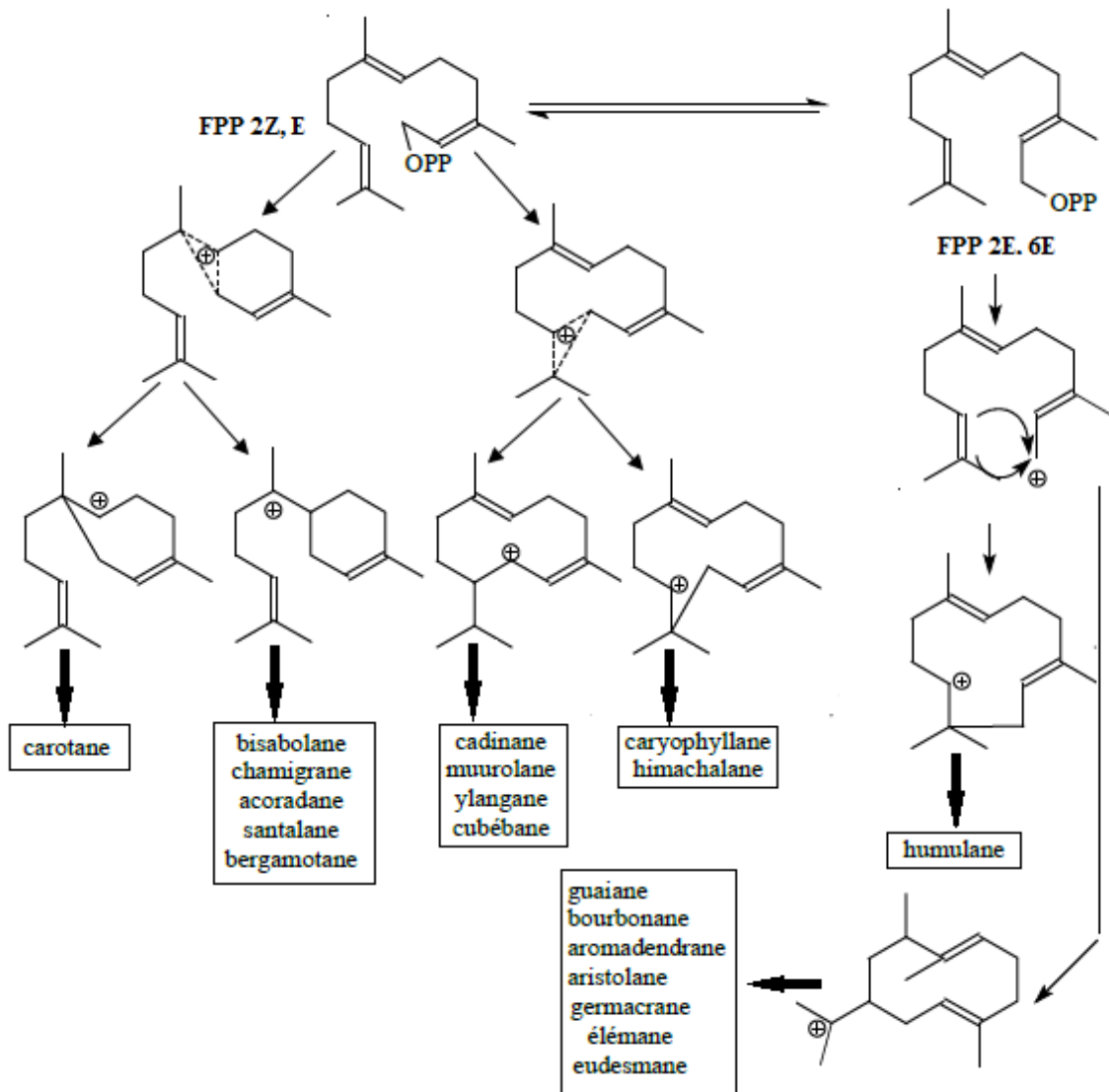


Schéma 8: Biosynthèse des sesquiterpènes cycliques (Mann, 1987).

II-3- L'utilisation des terpénoïdes comme des marqueurs génétiques

II-3-1- Marqueurs génétiques

Les marqueurs génétiques sont par définition des caractères héréditaires (Tagu, 1999), qui doivent permettre la caractérisation du génotype et ceci, de préférence à tout moment et indépendamment des facteurs environnementaux. Ils permettent de décrire et quantifier la variabilité génétique ou évaluer des distances entre les taxons (Prat *et al.*, 2006).

D'après Bretting *et* Widrlechner (1995), les marqueurs génétiques doivent réunir les caractéristiques idéales suivantes:

- ✚ Etre des caractères mendéliens à hérédité simple;
- ✚ Avoir plusieurs allèles;
- ✚ Etre co-dominants;
- ✚ Ne pas avoir d'effet pléiotropique;
- ✚ Etre dispersés le long du génome;
- ✚ Ne pas être liés entre eux;
- ✚ Etre stables à tous les stades du développement;
- ✚ Ne pas avoir d'effet sur la croissance, ou la reproduction sexuée;
- ✚ Etre sélectivement neutres;
- ✚ Etre facilement observables et sans ambiguïté;
- ✚ Etre d'un coût modeste.

Les marqueurs sont classés en différentes catégories en fonction des molécules utilisées pour révéler le polymorphisme. Les marqueurs largement utilisés à ce jour concernant directement l'information portée par les acides nucléiques ou les produits de traduction des gènes (Santoni *et al.*, 2000).

De nombreux auteurs distinguent les marqueurs biochimiques, issus de l'expression des gènes, y compris les produits du métabolisme secondaire et les marqueurs moléculaires, directement issus du polymorphisme existant au niveau de l'ADN (Prat *et al.*, 2006).

II-3-2- Marqueurs biochimiques

Les séquences exprimées du génome codent des protéines dont une partie assure les réactions enzymatiques du métabolisme. Les allèles d'un même locus codent des protéines qui peuvent présenter des différences de séquences et éventuellement d'activité. La quantité d'une substance peut ainsi révéler des variations des enzymes responsables de son accumulation. Les produits du métabolisme secondaire qui est très actif chez les arbres forestiers sont utilisables dans certains cas comme marqueurs. Les protéines enzymatiques, provenant directement de la traduction du génome, sont des marqueurs moins soumis à l'influence du milieu et de l'ontogenèse surtout si elles interviennent dans le métabolisme primaire: il s'agit des isoenzymes. Leur polymorphisme peut révéler de nombreux allèles. Ces marqueurs correspondent uniquement à des séquences traduites. Les protéines totales sont aussi parfois utilisées comme marqueurs génétiques (Prat *et al.*, 2006).

II-3-3- Les terpènes comme marqueurs génétiques

L'utilisation des marqueurs biochimiques (izoenzymes, protéines, tannins et les terpènes) est apparue dans les années 1970, elle a été développée principalement aux Etats-Unis pour les pins du Sud-Est et à Bordeaux en France pour le pin maritime.

Certains des terpènes de plantes tels que les stérols et les carotènes font une partie du métabolisme primaire et sont présents essentiellement chez toutes les plantes. Cependant, la majorité des terpènes présents dans les plantes sont classés comme des composés «secondaires» dont la synthèse a évolué dans les plantes à la suite de la sélection pour une meilleure condition physique grâce à une meilleure adaptation au milieu écologique de chaque espèce. Des milliers de ces terpènes ont été trouvés dans le règne végétal, mais chaque espèce est capable de synthétiser seulement une petite fraction de ce total (Chen *et al.*, 2011).

Pour que les résultats aient une valeur taxonomique Erdtman, *in* Misset (1975) suggère l'emploi des composés qui ne participent pas aux processus principaux du métabolisme et qui ne soient pas sensibles aux facteurs externes, les terpènes et les alcaloïdes peuvent être considérés comme des produits finaux du métabolisme, donc utilisables à des fins taxonomiques.

La synthèse des différents composés monoterpéniques et sesquiterpéniques est contrôlée de façon monogénique, (Baradat *et al.*, 1972; 1975; Marpeau *et al.*, 1975, 1983; Bernard-Dagan *et al.*, 1988). Ils sont largement utilisés comme des marqueurs génétiques chez les arbres forestiers (Baradat *et Yazdani*, 1988; Hanover, 1992; Echeverrigaray *et al.*, 2001; Keskitalo *et al.*, 2001), et constituent un outil très puissant pour étudier les différences chimio-taxonomiques entre deux espèces de la même famille ou du même genre. Et qui ont contribué également à la compréhension de la phylogénie des unités taxonomiques analysées (Fady *et al.*, 1992).

II-3-4- Travaux phytochimiques antérieurs sur l'espèce *J. thurifera*

La caractérisation phytochimique de genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.), a fait l'objet de plusieurs études, la plupart d'entre elles ont porté sur les populations de Maroc (Nord d'Afrique), et de l'Espagne en Europe.

Plusieurs acides labdane ont été isolés par Feliciano *et al.* (1989; 1992a, 1992b, 1993) à partir d'un extrait chloroformique des feuilles de *Juniperus thurifera* récoltées dans la région de Pradena en Espagne.

Les travaux de Barrero *et al.* (1996; 2000), menés sur cette espèce, ont permis l'identification de nouvelles molécules, notamment dans les huiles essentielles de bois.

L'analyse chimique de l'huile essentielle extraite de bois de *J. thurifera* a conduit à l'identification de cinquante-huit composés sesquiterpéniques, le cédrol (41%), le thujopsène (20%), le widdrol (16%) et l' α -cedrène (12%) sont les composés majoritaires (Barrero *et al.*, 2005). L'huile essentielle extraite des rameaux de *Juniperus thurifera* collecté au Moyen Atlas oriental du Maroc est plus riche en monoterpènes (97,09 %), elle comprend comme composés majoritaires le β -pinène (36,26 %), le terpin-4-ol (12,76 %), l' α -oxyde de pinène (10,89 %), la pipéritone (10 %), le β -E-ocymène (4,38 %), l' α -pinène (3,14 %) et le myrcène (3,13 %) (Mansouri *et al.*, 2010).

La substance dominant l'huile essentielle extraite de baies de *Juniperus thurifera* est le limonène (ultra-majoritaire avec un pourcentage de 84-88%) (Teresa *et al.*, 1980; Hernandez *et al.*, 1987).

La composition chimique des huiles essentielles extraites des feuilles provenant de différentes régions du Maroc sont riches en sabinène (de 12.2% à 45.8%), α -pinène (de 4% à 17.1%) et terpinène-4-ol (de 2.6% à 16.9%) (Adams *et al.*, 2003; Achak *et al.*, 2008; 2009; Bahri *et al.*, 2013). Tandis que les huiles essentielles des feuilles provenant de différentes régions de l'Europe (Espagne, Pyrénées, Alpes françaises et Corse) sont riches en limonène (de 30 à 75%), le pourcentage de sabinène varie entre 0% et 9,7% (Adams *et al.*, 2003; Achak *et al.*, 2008, 2009; Ottavioli, 2009).

II-4- Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Les propriétés médicinales des huiles essentielles sont nombreuses: antispasmodique, expectorant, rafraîchissant, diurétique, antiseptique...etc. Cependant, dans ce travail, nous allons nous limiter à l'étude des propriétés antimicrobiennes qui constitueront l'essentiel de notre étude de recherche.

Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser.

Les HE ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement en fonction de leur composition chimique. Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines.

L'activité antibactérienne des HE dépend de deux principaux paramètres: la composition chimique de l'huile essentielle d'une part, et le micro-organisme (type, structure, ...) d'autre part (Kalemba *et Kunicka*, 2003; Raut *et Karuppayil*, 2014).

II-4-1- Activité liée à la composition chimique de l'HE

Dans la littérature, les HE les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques et leurs modes d'action sur les souches microbiennes appartiennent à la famille des *lamiaceae*.

Les HE de l'Origan (*Origanum vulgare*) et de thym (*Thymus vulgaris*) sont les plus étudiées présentant une activité antibactérienne contre une large gamme d'espèces bactériennes à Gram positif et Gram-négatif. De même, les HE extraites d'autres espèces appartenant aux genres *Origanum*, *Salvia* et *Mentha* ont montré une inhibition de la croissance bactérienne (Hammer *et al.*, 1999; Dorman *et Deans*, 2000; Moreira *et al.*, 2005; Gutierrez *et al.*, 2008). Cette activité est due principalement aux substances dominant l'HE (terpineol, eugenol, thymol, carvacrol, carvone, geraniol, linalool, citronellol, nerol, safrole, eucalyptol ...etc) (Bekkali *et al.*, 2008).

De nombreuses études ont mis en évidence une activité antimicrobienne qualitativement similaire entre les huiles essentielles et leurs composés chimiques testés isolément. Cependant il existe des différences quantitatives. En effet, il a été prouvé que l'effet antimicrobien des huiles essentielles est supérieur à celui de ses composés majoritaires testés séparément (Didry *et al.*, 1993; Lahlou, 2004). Selon l'étude de Lambert *et al.* (2001), l'association des principaux composés actifs agirait de façon synergique en potentialisant l'action antimicrobienne de l'huile essentielle.

Les phénols sont responsables de l'activité bactéricide des huiles essentielles qui en contiennent (Kim *et al.*, 1995; Helander *et al.*, 1998; Cosentino *et al.*, 1999; Cox *et al.*, 2000; Lambert *et al.*, 2001; Burt *et Reinders*, 2003; Trombetta *et al.*, 2005). Ils produisent des dégâts irréversibles au niveau de la membrane (Pibiri, 2006). Cependant, il est à signaler que les phénols seuls ne sont pas responsables de l'intégralité de l'activité des huiles essentielles; les autres composés chimiques doivent également être pris en compte (Cosentino *et al.*, 1999).

Les alcools sont généralement plus connus pour leur activité létale que bactériostatique sur les cellules végétatives, en dénaturant les protéines (Dorman *et Deans*, 2000).

Les aldéhydes, fortement électronégatifs à double liaison, sont de puissants agents antimicrobiens en réagissant avec les composés nitrés vitaux (protéines et acides nucléiques) des bactéries (Desjobert *et al.*, 1997; Dorman *et Deans*, 2000).

II-4-2- Activité liée aux microorganismes testés

Une huile essentielle peut être biocide vis-à-vis de certaines souches, biostatique vis-à-vis d'autres ou encore n'avoir aucun effet. Ceci peut être lié au type de microorganisme (à Gram positif ou à Gram négatif), à sa forme planctonique ou en biofilm, à son métabolisme et à sa résistance.

Zaika (1988), Hussein (1990), et Santos *et* Novales (2012), ont montré que les bactéries à Gram positifs résistent mieux aux huiles essentielles, que les bactéries à Gram négatifs, ce qui est contraire aux résultats trouvés par Jay (1996), Outtarar *et al.* (1997), Smith-Palmer *et al.* (1998), Hammer *et al.* (1999), Marino *et al.* (1999), Mangena *et* Muyima (1999), Inouye *et al.* (2001), Hammer *et* Carson (2011), qui ont révélé que les bactéries à Gram positifs sont généralement plus sensibles aux huiles essentielles que celles à Gram négatifs. De plus, parmi les bactéries Gram positifs une plus grande résistance a été décelée pour celles qui produisent de l'acide lactique.

Par ailleurs, l'activité antimicrobienne des huiles essentielles diffère selon que la bactérie croît en forme planctonique ou au sein d'un biofilm bactérien. La résistance bactérienne aux huiles essentielles, comme pour tout agent antimicrobien, semble être liée à la formation du biofilm. En effet, un isolat clinique récent peut montrer une résistance augmentée, pouvant provenir des interactions avec les cellules de l'hôte (Alviano *et* Alviano, 2009), tandis que les microorganismes évoluant sous forme planctonique sont plus susceptibles (Fine *et al.*, 2001).

II-4-3- Travaux antérieurs sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles de l'espèce *J. thurifera*

Les travaux focalisés sur l'activité antibactérienne sont très rares :

L'activité antimicrobienne des sesquiterpènes isolés de l'huile extraite du bois de *Juniperus thurifera* a été testée par Barrero *et al.* (2005) contre neuf micro-organismes (bactéries Gram-positif et Gram-négatif et des levures). L' α et β -cedrènes et le sesquithuriférol ont exercé une forte activité avec une concentration minimale inhibitrice de 3,06 $\mu\text{g} / \text{mL}$ contre *Bacillus subtilis* et *Proteus sp.*

Mansouri *et al.* (2010), ont étudié l'effet antimicrobien des HE extraites du bois de *J. thurifera* du Maroc vis-à-vis de sept micro-organismes: Bactéries: *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, et *Micrococcus luteus* et Champignons: *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum*, et *Penicillium expansum*. Les huiles se sont montrées actives et ont inhibé tous les micro-organismes à la concentration de 1/100 V/V. Le germe le plus sensible était *Penicillium expansum* dont la croissance est inhibée à 1/2 000 V/V de l'huile essentielle. Il est à noter que les champignons étaient plus vulnérables aux huiles essentielles de cette espèce que les bactéries.

Bahri *et al.* (2013), se sont intéressés au pouvoir antibactérien des HE de *J. thurifera* obtenues par trois méthodes différentes, contre des bactéries Gram (-) et Gram (+). Les huiles se sont montrées très actives contre toutes les bactéries testées, à l'exception des *Pseudomonas* qui se sont avérés résistants.

III- APERÇU SUR LA ZONE D'ETUDE

Le Genévrier thurifère est extrêmement rare en Algérie (Boudy, 1952), il se localise dans le massif de l'Aurès où il forme des peuplements clairs. Temagoult (1988) établit avec précision sa biogéographie Aurassienne où les premiers peuplements se rencontrent à partir de 1700 m, cependant des pieds isolés peuvent descendre jusqu'à 1300m.

III-1- Milieu physique

III-1-1- Situation administrative

Administrativement, le massif de l'Aurès est partagé entre les trois wilayas de Batna, Biskra et Khenchela, il s'étend sur Quarante-deux (42) communes et occupe une superficie totale de 9886 Km²; vingt-quatre (24) Communes dans la wilaya de Batna, onze (11) Communes dans la wilaya de Khenchela et sept (7) Communes dans la wilaya de Biskra (Ben Messaoud, 2010), proprement dit, il est situé entre trois lignes: la ligne Batna Khenchela, au Nord, la ligne Khenchela Sidi-Naji, à l'Est, et la ligne Batna Biskra, à l'Ouest (Mitard, 1941; Ben Messaoud, 2010).

III-1-2- Localisation géographique

Le massif de l'Aurès est localisé en Algérie du Nord, à quelques 250 km au sud de la Méditerranée, dans l'extrémité Est de l'Atlas saharien, et constitué essentiellement par un ensemble de chaînons parallèles dirigés Sud Ouest - Nord Est (Busson, 1900 ; Mitard, 1941; Gouat *et* Gouat, 1983; Ballais, 1989; Berkane *et* Yahiaoui, 2007). Il se place à la charnière des deux grands ensembles qui forment l'atlas saharien aussi bien en Algérie qu'en Tunisie et qui s'allonge dans une direction Est-Ouest parallèle à l'atlas tellien lui-même suit les rivages méridionaux de la mer Méditerranée (Ballais, 1989; Meharzi, 2010). C'est dans cette partie méridionale que se situe cette zone, entre 35° 10' – 35° 30' de latitude Nord et 6° 30' – 7° 10' de longitude (Baghami, 2013).

III-1-3- Hydrographie

Avec ses 9886 Km² et ses différentes structures, le massif de l'Aurès ne peut qu'avoir un réseau hydrographique très dense qui est endoréique ou aréique pour l'ensemble du massif. Pour les oueds, certains sont sahariens, ils traversent le massif du Nord-est vers le sud-ouest et constituent des compartimentages dans la structure géographique. Ils s'éteignent tous dans les chotts du sud et de l'ouest (Delartigue, 1904; Ballais, 1981; Abdessemed, 1984).

Les cours d'eau de l'Aurès sont presque secs durant la plus grande partie de l'année, mais à la saison des pluies ils roulent des eaux torrentielles dont les effets de déblaiement sont considérables (Beghami, 2013).

III-1-4- Le sol

L'Aurès est formé de calcaire datant du Crétacé et de l'Eocène. Il n'est donc pas surprenant de constater que, dans la plupart des sites, le sol soit argileux avec des blocs rocheux constitués de calcaire. Il peut s'agir d'un calcaire homogène ou coquillier, ou même d'un poudingue à gros blocs dont la désagrégation aboutit à un sol argileux avec graviers (Gouat *et* Gouat, 1983).

Compte tenu du caractère montagneux de la région, la zone d'étude est soumise à une érosion intense sur ces pentes, les matériaux des sols évoluent très peu, c'est pourquoi les sols des Aurès se caractérisent par l'importance des matériaux grossiers et de ce fait, évoluent lentement en sous des basses températures qui sévissent, donc nous avons affaire à des sols non maturés c'est-à-dire des sols jeunes.

Dans les vallées et plaines, les sols sont argilo-calcaires sans éléments grossiers. Ils contiennent de l'humus en raison de leur destination culturale agricole, fourragère et même forestière (Ben Messaoud, 2010).

III-2- Le climat

Le climat méditerranéen est un climat de transition entre les climats tropicaux et les climats tempérés avec un été sec et chaud et une période pluvieuse correspondant aux saisons relativement froides allant de l'automne au printemps, tempéré seulement en bordure de la mer, l'hiver est très frais et plus humide. Ce climat est qualifié de xérothermique (Benabadji

et Bouazza, 2000). Le climat de l'Algérie septentrionale appartient à ceux de la Méditerranée, il est caractérisé par deux saisons bien séparées, celle des pluies et celle de la sécheresse. La période des pluies coïncide avec celle du froid, alors que la saison chaude correspond à la période sèche estivale (Le-Houerou, 1995).

III-2-1- Précipitations

Les précipitations exercent une action prépondérante pour la définition de la sècheresse globale du climat (Le-Houerou *et al.*, 1977). Par rapport à ses environs immédiats et à sa situation méridionale, le massif de l'Aurès est bien arrosé puisque certains sommets enregistrent plus de 1000 mm/an. C'est le cas du Djebel Chélia et du Djebel Aidel qui arrivent à 1200 mm/an (Chaumont *et Paquin*, 1971).

Mais ce massif connaît une diversité de climats (si on prend uniquement en considération les précipitations) assez abondante puisqu'on constate que le total des précipitations d'une station à l'autre varie de 1 à 4 et ce sur une distance très courte (Exemple: El Kantara avec 241 mm/an par rapport au Djebel Mahmel avec 976 mm/an qui ne se trouve pourtant qu'à 40 km à vol d'oiseau) (Meharzi, 1994, 2010).

Les précipitations dans le massif de l'Aurès varient en fonction de l'altitude; de l'orientation des chaînes montagneuses et de l'exposition. De ce fait, les secteurs les plus arrosés sont les plus élevés. Ainsi les versants Nord et Nord Ouest reçoivent plus de précipitations que les autres expositions (Meharzi, 1994, 2010; Beghami, 2013).

Suivant ces deux paramètres (l'altitude et l'exposition), Meharzi (2010) a distingué trois secteurs de pluviosité:

III-2-1-1- Le secteur humide

Celui-ci correspond aux montagnes et aux sommets dépassant 1800 m d'altitude. Nous citons le Mahmel, le Chélia, l'Ichmoul, l'Aidel. Autrement dit un secteur de direction est-ouest et se situant au nord du massif. Il reçoit des précipitations oscillant entre 900 et 1200 mm/an (Meharzi, 1994, 2010).

III-2-1-2- Le secteur aux précipitations moyennes

Correspond au versant nord du massif, Il s'étale plus profondément à l'ouest pour inclure le Djebel Ich-Ali et toute la forêt de S'GAG dont les sommets culminent respectivement à 1809 m et 2009 m. Dans ce secteur, les précipitations moyennes oscillent entre 400 et 800 mm/an. Elles s'expliquent surtout par leur exposition face aux influences du nord et dans une situation d'ubac (Meharzi, 1994, 2010).

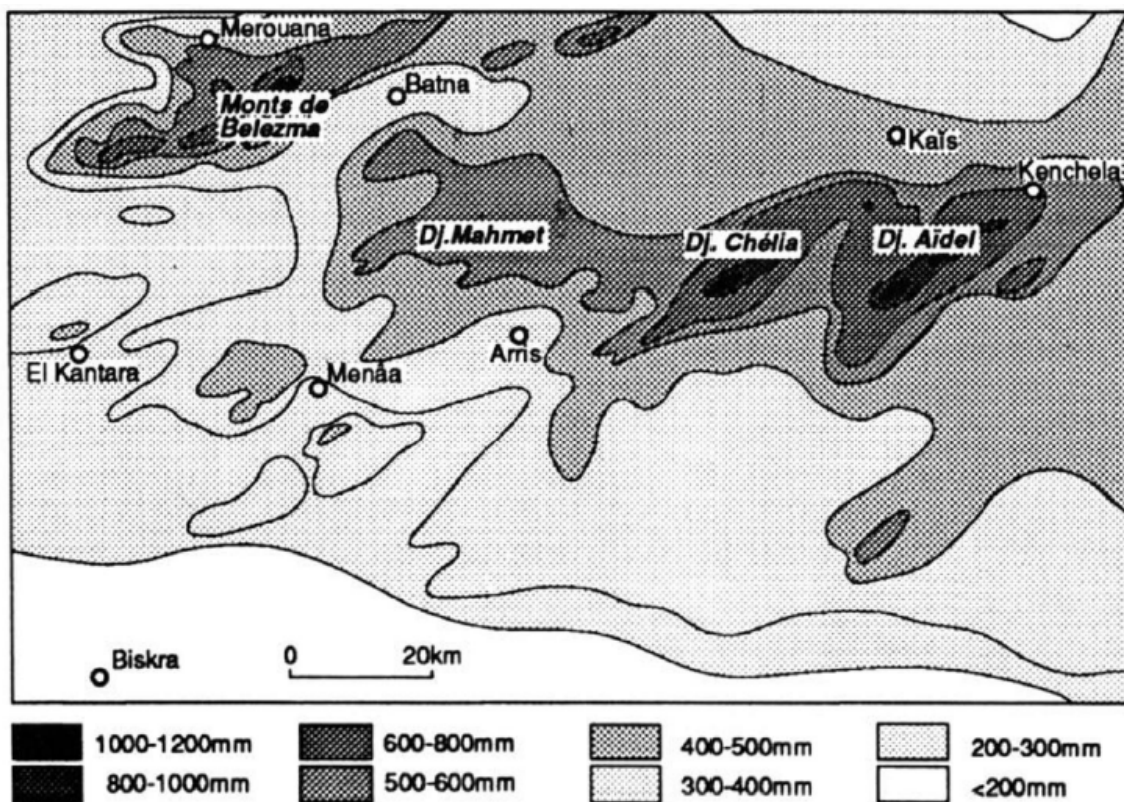


Figure 18: Les précipitations moyennes dans le massif de l'Aurès (1913-1963), d'après Chaumont *et* Paquin (1971).

III-2-1-3- Le Secteur sec

Pour celui-ci, les précipitations moyennes oscillent entre 200 et 400 mm/an et se répartissent aussi bien à l'ouest qu'au sud du massif. Des considérations géographiques expliquent la brutalité de ce contraste (Meharzi, 1994, 2010).

Le secteur ouest

Il intéresse le couloir orienté NE-SW se situant entre les monts de Belezma et le massif de l'Aurès autrement dit les stations d'El-Kantara (241 mm), Aïn Touta (269 mm) ainsi que Hamia (328 mm) et Batna (346 mm), pourtant se trouvant aux mêmes altitudes et latitudes que Foug EL Gueiss. La faiblesse de leurs précipitations est due essentiellement à l'effet orographique puisqu'elles sont dominées au NW par les monts de Belezma (Tuggurt 2094 m, Dj. Kasrou 1803 m) et qui sont de véritables remparts empêchant la majeure partie des pluies de passer au SE (**Figure 19, transect 1**) (Meharzi, 1994, 2010).

Le Secteur Est

Il concerne la retombée aurasienne où la pluviométrie diminue rapidement jusqu'à 200 mm voire 150 mm/an (Biskra). Il est plus continu surtout dans la partie est englobant ainsi la quasi-totalité de la forêt de Béni Imloul. Ceci est dû d'une part, à la diminution du relief où on passe de 1800 m au Dj. Taourit à 1290 m au Dj. Berga en passant par le Dj. Toubount (1700 m) et Ras Fourar (1600 m) (**Figure 19, transect 2**) et d'autre part aux hautes pressions sahariennes. L'isohyète 300mm pénètre les vallées largement ouvertes de l'Oued El Abiod et l'Oued Abdi jusqu'aux environs d'Arris (Meharzi, 1994, 2010).

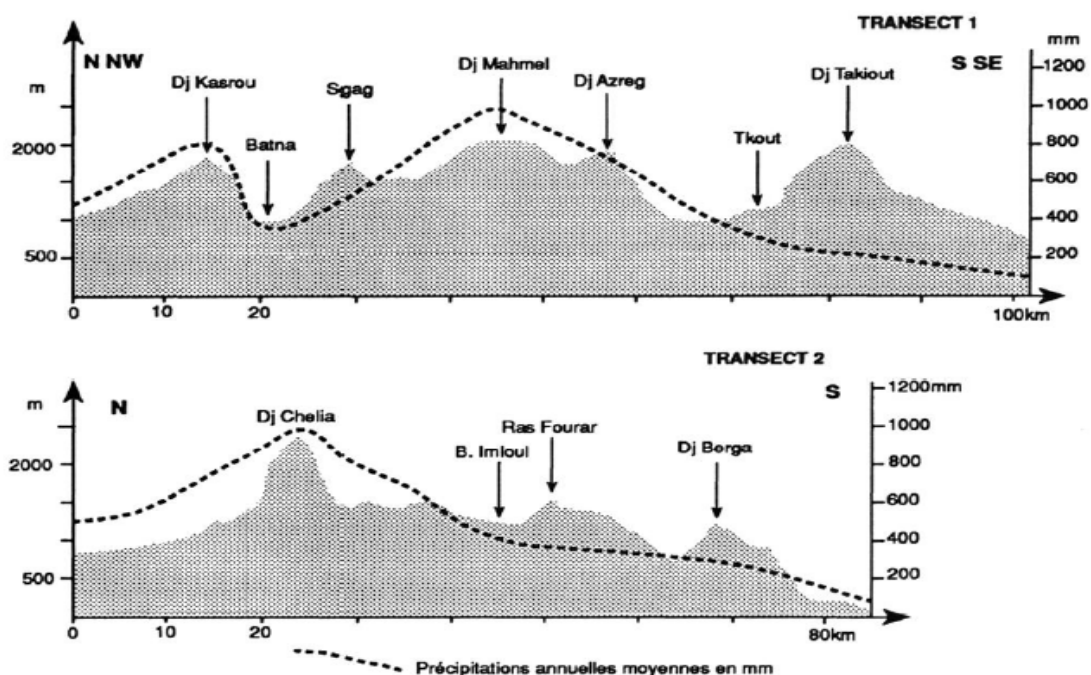


Figure 19: Précipitations annuelles moyennes du secteur sec (Meharzi, 1994).

Si les précipitations semblent satisfaisantes dans le massif de l'Aurès où il tombe une moyenne de 437 mm/an (Meharzi, 2010), qu'en est-il de leur répartition saisonnière?

Le climat méditerranéen particulièrement sur sa frange méridionale, est connu pour son irrégularité. Les précipitations connaissent de grandes fluctuations d'un mois à l'autre et d'une année à une autre (Ballais, 1981; Ben Messaoud, 2010). De ce fait, de nombreux contrastes ont été décelés dans le massif de l'Aurès où le classement suivant : automne-hiver-printemps-été n'est toujours pas respecté (Meharzi, 2010).

Généralement, l'Aurès connaît une grande concentration des précipitations au cours des périodes printanières (Mars, Avril et Mai) et automnales (Septembre, Octobre et Novembre). Le mois le moins arrosé coïncide généralement avec le mois de juillet avec un été sec (Ben Messaoud, 2010).

III-2-2- Températures

Avec la faiblesse de la pluviométrie et son irrégularité d'une année à l'autre, et d'un mois à l'autre, la deuxième caractéristique du climat de la région est la température très élevée durant la saison sèche estivale. Elle peut atteindre 43,5 °C au mois de juillet et descendre à -4°C au mois de janvier (Ben Messaoud, 2010). Les deux saisons intermédiaires qui sont le printemps et l'automne sont relativement courtes.

Cette région présaharienne est caractérisée en premier lieu: par des températures moyennes annuelles et températures estivales fortes. Les effets de la latitude et de la continentalité qui sont déterminants pour la chaleur se conjuguent aussi avec ceux de l'altitude, ceci explique deux originalités du climat des Aurès (**Figure 20**) (Cote, 1974; Anser, 2002; Meharzi, 2010).

Des températures plus froides ou plus fraîches, selon les saisons, que dans les basses plaines de même latitude et des amplitudes accentuées. Ces traits généraux évoluent du Nord au Sud de la région étudiée, globalement vers une moindre rigueur du froid et une réduction des amplitudes (Ben Messaoud, 2010).

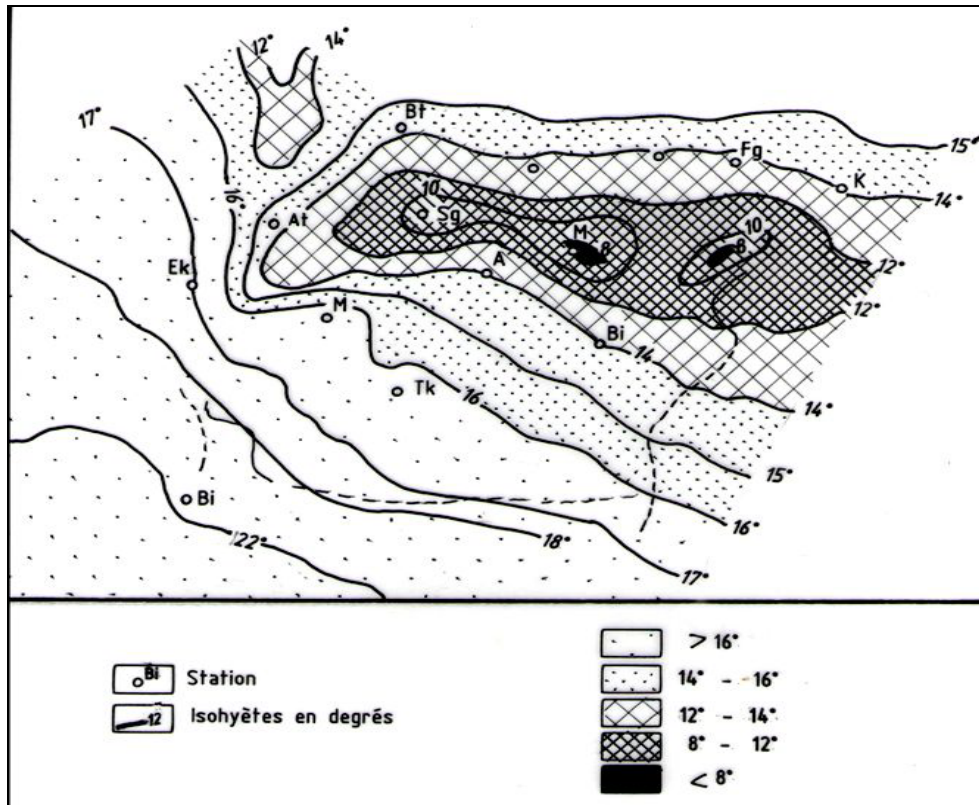


Figure 20: Températures annuelles dans le massif de l'Aurès (Meharzi, 2010).

III-2-3- Variété d'étages bioclimatiques

La quasi-totalité du massif est située dans l'étage semi-aride avec des quotients oscillant entre 32 (Ain Touta) et 52 (Foum Toub) mais également dans l'étage sub-humide (S'gag = 53, Khenchela = 59, Aïn Mimoun = 63) ainsi que dans l'humide (Djebel Mahmel= 118) (Figure 21) (Meharzi, 2010).

III-3- Le couvert végétal

Les principales essences du massif de l'Aurès sont du *Cedrus atlantica*, *Pinus halepensis* et *Quercus ilex*, occupant chacune 80000 ha (Boudy, 1952). La forêt de pins d'Alep occupe encore des espaces considérables, en particulier sur le versant sud et dans l'est où le bloc de la forêt des Beni Meloul, *Pinus halepensis* s'associe à *Quercus ilex*, *Fraxinus xanthoxyloides*, *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea* au-dessus d'un sous bois de *Stipa tenacissima* et *Thymus thymelea* (Ballais, 1989).

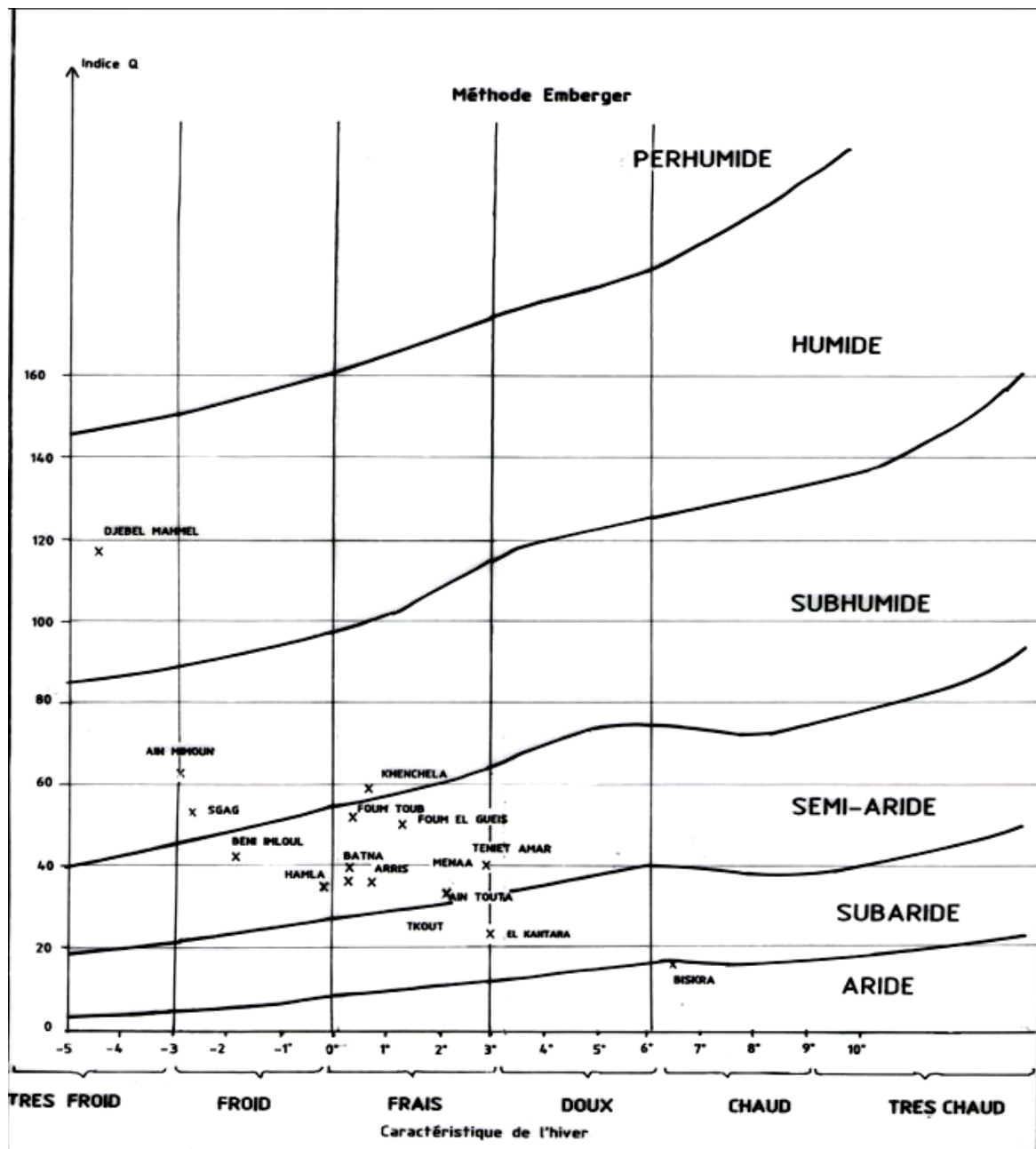


Figure 21: Graphique bioclimatique (Meharzi, 2010).

La forêt de *Juniperus thurifera* est un peuplement très lâche de gros individus âgés, dominant un sous-bois de xérophytes épineux. Elle s'étend à exposition sud-sud-est vers 1750-1900 m d'altitude dans ces Aurès occidentales plus sèches, sur les calcaires des djbel Mahmel et Ahmar Khaddou (Ballais, 1989).

Une forêt claire de *Juniperus phoenicea* se localise principalement vers la base de la forêt de chênes verts ou de pins d'Aleps (Ballais, 1989). On peut rencontrer d'autres essences dans le massif de l'Aurès à savoir; *Pistacia atlantica*, *P. lentiscus*, *Phillyrea Angustifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Erinacea pungens*, *Bupleurum spinosum*, *Ziziphus lotus*, *Artemisia campestris*, *Artemisia herba alba*, *Tamaryx*, *Nerium oleander*, *Atriplex halimus*, ...

Deuxième Chapitre:

Matériel et méthodes

I- Matériel

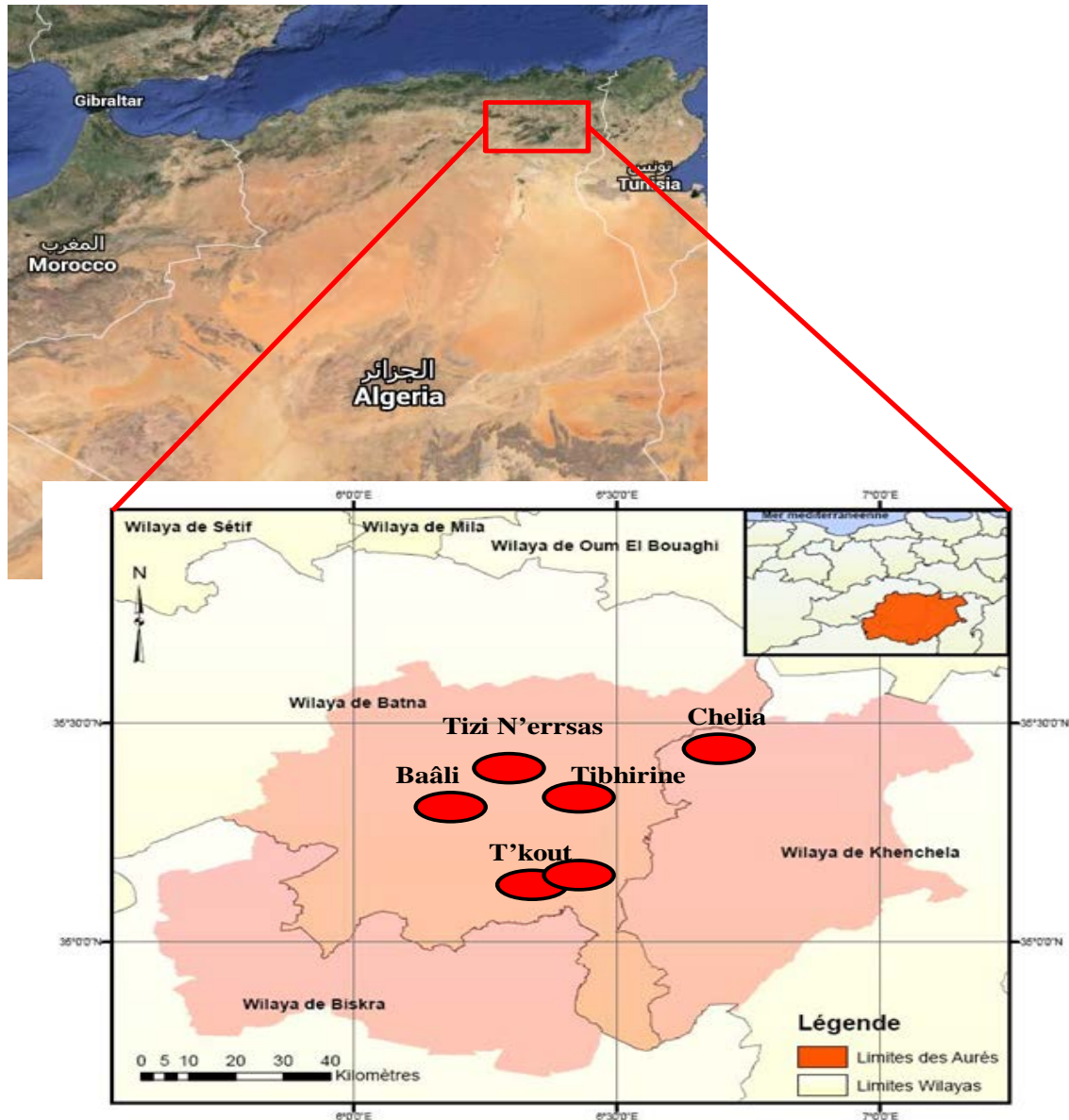
I-1- Matériel végétal

Après la localisation et l'identification de l'espèce *Juniperus thurifera* L. (**Figure 22**), une récolte globale des échantillons (la partie aérienne) des individus males et des femelles a été réalisée durant la saison d'automne (Septembre, Octobre et Décembre) de l'année 2010. Les stations échantillonnées sont choisies en se basant sur la présence de l'espèce. Le matériel végétal utilisé dans cette étude est récolté de six populations couvrant presque toute l'aire de répartition de *J. thurifera* (**Figure 23**).

Les populations de T'kout et Thniat Elabed ont été représentées par 20 individus, pour les populations de Chelia et Tibhirine seulement dix individus ont été échantillonnés en raison de la rareté de l'espèce dans ces localités (**Tableau 3**).



Figure 22 : L'espèce *Juniperus thurifera* L. dans son milieu naturel, Photo Zeraib A., 10/2010.



● Les populations de *Juniperus thurifera* échantillonnées
Figure 23: Localisation des populations échantillonnées.

Tableau 3: Cordonnées géographiques des stations échantillonnées.

Populations	Localités	Cordonnées Géographiques	Altitude (m)
T'kout 1	Malou N'Tkout (Tkout)	N35°071 E06°210	1510
T'kout 2	Ikhf Nessra (Tkout)	N35°071 E06°240	1780
Chelia	Chelia (Bouhmama)	N35°193 E06°382	2000
Baâli	Thniat Elabed	N35°162 E06°173	1750
Tizi nerrsas	Thniat Elabed	N35°214 E06°204	1730
Tibhirine	Tibhirine (Ichemmoul)	N35°200 E06°250	1450

I-2- Les souches bactériennes testées

Les huiles essentielles des arbres males et femelles de la population de T'kout 2, sont testées vis-à-vis de trois bactéries Gram (+); *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* clinique et *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), et sept bactéries Gram (-): *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus permeri*, *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella para*, *Salmonella spomb*, *Shignella* sp. et *Meningo* sp. La gentamicine a été utilisée comme un test positif, et le méthanol comme un test négatif.

II- Méthodes

II-1- Méthodes chimiques

II-1-1- Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont extraites par hydrodistillation, en utilisant un appareil de type Clevenger (**Figure 24**). L'hydrodistillation se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles.



Figure 24: Appareil d'extraction des huiles essentielles type Clevenger.

On introduit une quantité suffisante de matériel végétal dans un ballon en verre contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements à l'ébullition. On chauffe le mélange à l'aide d'une chauffe-ballon. Les vapeurs chargées d'huiles essentielles passent à travers le tube vertical, puis dans le réfrigérant où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli au préalable d'eau distillée. En raison de la différence de densité, l'huile essentielle surnage à la surface de l'eau. L'opération d'extraction dure 3 heures à partir du début d'ébullition.

L'huile essentielle ainsi obtenue est récupérée puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium, pour éliminer de l'eau retenue dans l'huile. Les huiles sont conservées à l'abri de la lumière à (4°C) jusqu'au moment de l'utilisation.

II-1-2-Analyse chromatographique des huiles essentielles

L'analyse des huiles a été réalisée dans le laboratoire de Chimie des Hétérocycles et des Glucides à l'Université Blaise Pascal de Clermont Ferrand (France). L'identification des constituants volatiles des huiles essentielles (HE) a été réalisée au moyen de la CPG couplée à la spectrométrie de masse (GC/SM) et la détermination quantitative a été faite sur un appareil équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (CG/FID). La quantification des constituants des huiles essentielles a été déterminée par la méthode universelle de normalisation.

II-1-2-1- Chromatographie CPG/FID

La technique utilisée est la Chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme CPG/FID (Chromatographe Hewlett-Packard HP 6890 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme).

Conditions opératoires

- Colonne: DB5: 30m x 0,25mm, épaisseur du film 0,25m
- Gaz vecteur: Hydrogène: 1mL/min
- Température de l'injecteur: 280°C
- Température du détecteur: 300°C
- Programmation du four : 50°C pendant 5min, 5°C/min de 50° à 300°C, 5min à 300°C
- Injecteur mode split 1: 60

II-1-2-2- Chromatographie couplée à la spectrométrie de masse CPG/SM

Chromatographe Hewlett-Packard HP 7890 couplé à un spectromètre de masse HP 5975-C.

Conditions opératoires

- Colonne: DB5: 30m x 0,25mm, épaisseur du film: 0,25m
- Gaz vecteur: Hélium: 1mL/min
- Energie d'ionisation: 70eV
- Température de l'injecteur: 250°C
- Température du détecteur: 280°C
- Programmation du four : 50°C pendant 5min, 5°C/min de 50° à 300°C, 5min à 300°C
- Injecteur mode split 1: 100

L'identification des composés a été réalisée par comparaison de leurs spectres de masse et de leurs KI (Indice de Kovats) avec ceux des bases de données Massada (1976), Adams (2001), NIST (2002), et celle établie par le laboratoire d'accueil.

Le procédé d'identification et de quantification des composés d'une huile essentielle est résumé dans la **figure 25**. La quantification a été acquise par le calcul des aires relatives obtenues par rapport à l'aire totale du chromatogramme à l'aide du logiciel Chemstation de Agilent Instrument.

II- Méthodes microbiologiques

II-2-1- Méthode de la diffusion sur gélose

La technique utilisée est celle de la diffusion sur gélose ou méthode des disques. Cette méthode se base sur la diffusion de l'extrait testé dans la gélose. Elle consiste à déposer à la surface d'un milieu gélosé préalablementensemencé par la suspension de germes choisis, des disques en papier-filtre imprégnés des extraits à tester. Après l'incubation, la lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres (**Figure 26**)

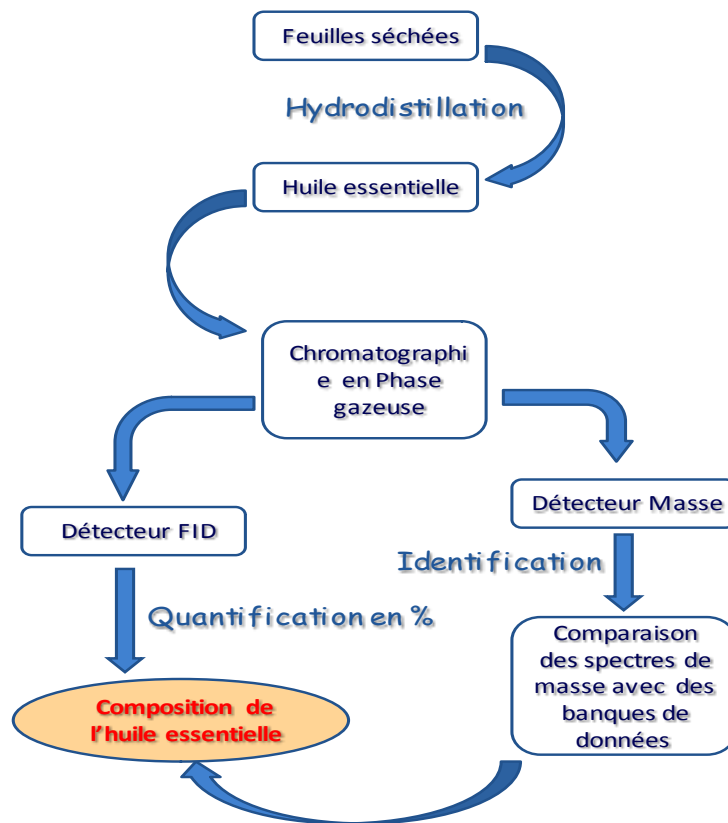


Figure 25 : Synoptique de l'obtention et de l'analyse d'une huile essentielle.

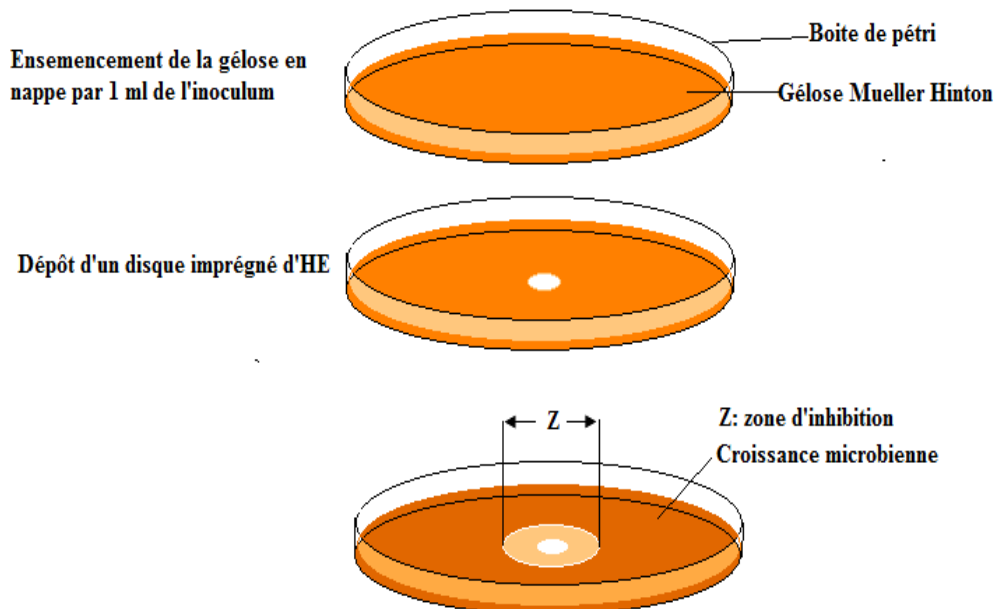


Figure 26: Aromatogramme sur boîte de pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque imprégné de l'HE.

II-2-2- Préparation des suspensions bactériennes

Un prélèvement des souches tests est effectué, provenant de l'organisme ATCC et autres provenant de l'hôpital Hakime Saâdane à Biskra. Ces dernières ont été inoculées dans un bouillon nutritif et incubées à 37°C pendant 24h. Les cultures ont été soumises à trois transferts successifs afin de déterminer la pureté et la viabilité de chaque souche avant emploi. Seules les souches âgées de 18 à 24 h ont été utilisées. Trois à quatre colonies ont été prélevées à l'aide d'une anse stérile et introduites dans un tube contenant de l'eau physiologique. Après une bonne agitation et homogénéisation à l'aide d'un vortex, nous avons mesuré la transmission à une longueur d'onde 620 nm.

II-2-3- Mode opératoire

Le test est effectué en cultivant les bactéries sur un milieu Muller Hinton. Chaque boîte de pétri de 90 mm a reçu 20 ml du milieu de culture et estensemencée avec 1 à 2 ml de la suspension microbienne contenant $10^7 - 10^8$ cfu/ml. Les disques stériles imprégnés de l'extrait sont déposés à la surface du milieu. Ensuite ils ont été inversés et incubés à l'obscurité dans une étuve à une température de 37°C durant 24 h.

La sensibilité des différentes souches vis-à-vis des HE étudiées est classée selon le diamètre d'inhibition (Ponce *et al.*, 2003).

- **Non sensible (-)** ou résistante: diamètre < 8 mm.
- **Sensible (+)** : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- **Très sensible (++)**: diamètre compris entre 15 à 19mm.
- **Extrêmement sensible (+++)** diamètre > 20 mm

II-3- Techniques statistiques

L'analyse numérique des données a été réalisée à l'aide du logiciel *STISTICA 10*.

Tous les tests de l'effet antibactérien des huiles essentielles ont été réalisés en triple, les résultats sont exprimés en moyenne avec l'écart-type. Une analyse de la variance est réalisée pour tester la différence entre les résultats de l'activité antibactérienne et les huiles testées.

Pour étudier la variabilité chimique de l'huile essentielle de l'espèce étudiée, il est indispensable d'effectuer un traitement statistique de la matrice constituée par les pourcentages normalisés et standardisés des constituants des mélanges volatils. Pour cela, les deux outils les plus fréquemment utilisés sont l'Analyse en Composantes Principales (ACP) et Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means (UPGMA).

Ces deux outils permettent d'avoir une vision synthétique, des similitudes ou des différences au sein d'un ensemble d'échantillons.

I-3-1- Analyse en composantes principales (ACP)

L'analyse en composantes principales (ACP) est une méthode statistique d'analyse des données qui consiste à rechercher les directions de l'espace qui représentent le mieux les corrélations entre les variables aléatoires. Donc le but est de comprendre et de visualiser comment les effets de phénomènes à priori isolés se combinent. Lorsqu'on veut compresser un ensemble de N variables aléatoires, les n premiers axes de l'ACP sont le meilleur choix, du point de vue de l'inertie expliquée. Si on décide de ne retirer que les deux premiers axes de l'ACP, on pourra alors projeter notre nuage sur un plan, et le visualiser. Même si l'ACP est majoritairement utilisée pour visualiser des données, il ne faut pas oublier que c'est aussi un moyen de décorréler les données, les axes qui ne sont pas utilisés c'est de l'information perdue, c'est une classification des données en amas (clusters) corrélés.

I-2-3-2- Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means (UPGMA)

L'UPGMA est le nom d'un algorithme destiné à la construction d'un arbre phylogénétique. Cette méthode permet la transformation d'une matrice de distances (entre différents organismes, populations ou séquences de nucléotides) en un arbre enraciné. C'est la méthode la plus simple de construction d'arbre. A l'origine elle a été développée pour construire les phénogrammes taxonomiques (arbres qui reflètent les similitudes phénotypiques entre unités taxonomiques), mais elle est employée aussi pour construire les arbres phylogénétiques si les taux d'évolution sont approximativement constants parmi les différentes lignées.

Troisième Chapitre:
Résultats et Discussion

I-CARACTÉRISATION PHYTOCHIMIQUE

I-1- Résultats

I-1-1- Rendements en huiles essentielles

Les huiles essentielles de *Juniperus thurifera* L., ont été obtenues à partir des feuilles récoltées de six populations (Tkout 1, T'kout 2, Tibhirine, Baâli, Tizi Nerrasse et Chélia), qui couvrent presque la totalité de l'aire de répartition de cette espèce en Algérie. Les huiles essentielles obtenues sont de couleur jaune verdâtre ou vert jaunâtre, une odeur forte, et un état laqueux et huileux.

Le rendement moyen en huiles essentielle obtenu est de 0,46 %. Le rendement le plus élevé a été enregistré chez la population de Tkout 1 (0,53 %), suivie par la population de Tizi Nerrsas (0,48 %), tandis que le rendement le plus faible est celui obtenu à partir les feuilles récoltées de la population de Chélia (0,40 %) (**Tableau 4**).

I-1-2- Composition chimique des huiles essentielles de *J. thurifera*

L'analyse des huiles essentielles obtenues par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par CPG couplée au spectromètre de masse (CPG/SM) a permis l'identification de 79 composants représentant 95,41 % de l'huile essentielle (**Tableau 4**).

Dix-sept hydrocarbures monoterpéniques représentant 29,39 % de l'huile essentielle ont été identifiés (**Figure 27**). Le sabinène (11,95 %), le γ - terpinène (3,25 %) et l' α - pinène (3,17 %) sont les composés majoritaires à côté du myrcène, limonène, α - terpinène, terpinolène, et le *cis*-hydrate de sabinène. Les autres composants ont un pourcentage faible (<1%) (**Figure 28, Tableau 4**).

Tableau 4: Composition chimique des huiles essentielles de *J. thurifera*.

	Ki	Tk1	Tk2	Tz	Ba	Tb	Ch	Moy
Rendement (%)		0,53	0,46	0,48	0,45	0,46	0,40	0,46
Nombre de composants identifiés		78	67	66	67	72	58	79
Composants								
Monoterpènes hydrocarbures (MtH)								
V1 α -thujène	924	1,2	0,8	1,1	1,5	0,8	0,5	0,98
V2 α-pinène	932	3,3	2,6	2,62	3,5	3,1	3,9	3,17
V3 Fenchène	946	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	-	0,07
V4 Camphène	947	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	0,08
V5 Sabinène	975	17,9	8,3	11,3	20,0	9,0	5,2	11,95
V6 β - pinène	979	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,32
V7 Myrcène	991	2,8	1,7	2,0	3,3	1,7	1,2	2,12
V8 Δ^3 -carène	1011	0,2	1,5	0,9	0,5	1,0	0,8	0,82
V9 α -terpinène	1018	1,6	1,3	1,7	1,8	1,9	1,2	1,58
V10 p-cymène	1026	0,5	0,2	0,3	0,7	0,4	0,5	0,43
V11 Limonène	1031	1,4	3,2	2,5	2,0	1,2	0,7	1,83
V12 β -phellandène	1031	0,2	-	0,2	0,2	0,2	0,2	0,17
V13 (Z)- β -ocimène	1040	0,10	-	-	-	-	-	0,02
V14 (E)- β -ocimène	1050	0,3	-	0,2	0,3	0,2	-	0,17
V15 γ-terpinène	1062	3,2	2,7	3,5	3,6	3,9	2,6	3,25
V16 <i>cis</i> -hydrate de sabinène	1068	0,8	0,8	1,6	0,6	2,3	0,6	1,12
V17 terpinolène	1088	1,3	1,2	1,5	1,5	1,5	0,9	1,32
Totale (%)		35,3	24,7	29,9	40,0	27,7	18,7	29,39
Nombre des MtH identifiés		17	14	16	16	16	14	
Monoterpènes oxygénés (MtO)								
V18 Linalool	1096	4,6	0,3	0,4	2,5	1,6	0,4	1,63
V19 <i>cis</i> -thujone	1100	0,2	0,4	-	0,3	0,6	-	0,25
V20 <i>trans</i> -thujone	1111	-	0,3	-	-	-	0,3	0,1
V21 <i>cis</i> -p-menth-2-en-1-ol	1122	0,4	0,3	0,5	0,4	0,6	0,3	0,42
V22 <i>trans</i> -menth-2-en-1-ol	1141	0,3	0,2	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3
V23 terpinène-4-ol	1177	7,2	5,4	7,6	7,5	9,4	7,1	7,37
V24 α -terpinéol	1195	1,6	0,6	1,1	1,1	1,1	0,9	1,07
V25 verbanone	1205	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4	0,3	0,28
V26 <i>trans</i> -pipéritol	1209	0,1	-	-	-	-	-	0,02
V27 nérol (80)	1224	0,3	-	0,2	0,2	0,2	-	0,15
V28 Acétate de linalyle	1249	6,2	1,2	3,4	3,2	3,7	0,9	3,1
V30 Acétate de bornyle	1284	0,2	-	-	0,1	0,1	0,4	0,13
V31 isobutyle de benzène	1287	0,3	-	0,3	-	0,3	-	0,15
V32 decan-2,4-dien-1-ol	1312	0,3	0,2	-	0,5	0,1	-	0,18
V34 L'acétate de l' α -terpinyle	1343	0,7	0,8	1,7	0,8	1,1	1,0	1,02
V35 Acétate de néryle	1362	0,4	-	0,3	0,3	0,3	-	0,22
V36 Acétate de géranyle	1381	1,0	0,3	0,6	0,8	0,6	0,3	0,6
Totale (%)		24	10,2	16,7	18,3	20,5	12,3	16,98
Nombre des MtO identifiés		16	12	12	14	15	11	

Sesquiterpènes hydrocarbures (StH)									
V29	Pregeijerène	1280	0,1	-	-	-	-	-	0,02
V33	δ -élémente	1338	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	-	0,15
V37	β -élémente	1391	0,3	0,4	0,3	0,4	0,4	0,2	0,33
V38	β -caryophyllène	1419	0,9	1,1	0,9	1,0	1,2	0,5	0,93
V39	γ -élémente	1429	0,4	0,4	0,2	0,1	0,4	-	0,25
V40	cadina-3,5-diene	1448	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	-	0,1
V41	α -humulène	1454	0,6	1,0	0,8	0,9	1,1	0,7	0,85
V42	<i>Cis</i> -muurolo-4(14),5-diene	1460	0,1	0,5	0,2	0,4	0,7	0,3	0,37
V43	cadina-1(6),4-diène	1460	0,1	0,2	-	0,2	0,1	-	0,1
V44	γ -muuroloène	1477	0,3	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,48
V45	Curcumène	1478	0,2	-	0,3	-	0,2	0,2	0,15
V46	germacrène-D	1480	1,9	2,7	4,4	3,2	3,3	1,6	2,85
V47	<i>trans</i> -muurolo-4(14),5-diène	1494	0,2	0,4	0,3	0,5	0,2	0,4	0,33
V48	α -muuroloène	1500	0,8	1,1	1,1	0,8	0,7	0,4	0,82
V49	β -curcumène	1516	0,6	0,2	0,7	0,2	0,4	0,2	0,38
V50	γ -cadinène	1514	0,7	1,8	1,0	1,5	1,2	1,4	1,27
V51	δ-cadinène	1523	3,3	6,1	4,1	5,6	3,9	4,2	4,53
V52	α -cadinène	1539	0,2	0,5	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3
V54	germacrène-B	1561	2,5	2,3	2,0	1,2	2,6	1,2	1,97
V61	Valencène	1619	0,5	2,5	3,1	1,4	0,9	6,6	2,5
V69	Gurjunène	1670	0,8	1,1	0,9	0,8	1,6	-	0,87
V70	γ -gurjunène	1678	0,3	0,6	0,6	0,8	0,4	0,7	0,57
Totale (%)			15,1	23,8	21,9	20,1	20,4	19,4	20,12
Nombre des StH identifiés			22	20	20	20	21	16	
Sesquiterpènes oxygénés (StO)									
V53	Élémol	1550	4,7	5,8	0,7	3,9	7,6	5,2	4,65
V55	germacrène-D-4-ol	1576	0,8	1,9	1,1	0,9	1,1	1,1	1,15
V56	Caryophyllène Oxyde	1585	0,1	-	1,1	0,2	-	-	0,23
V57	Cédrol	1596	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,8	0,23
V58	humulène époxyde II	1607	0,3	0,2	0,1	-	-	0,1	0,12
V59	β -oplopénone	1608	0,5	1,2	0,7	0,6	0,5	0,9	0,73
V60	épi-cédrol	1613	0,9	-	-	-	-	-	0,15
V62	1,10-diepi-cubénol	1627	0,3	0,4	0,2	0,2	0,4	0,3	0,3
V63	1-épi-cubénol	1629	1,1	1,3	1,1	1,8	0,8	1,6	1,28
V64	γ -eudésmol	1632	1,3	2,1	2,4	1,1	2,0	2,4	1,88
V65	épi- α -cadinol	1640	0,9	2,9	1,2	0,8	1,2	3,0	1,67
V66	épi- α -muurolol	1642	0,9	3,7	0,7	0,8	1,0	3,2	1,72
V67	α-cadinol	1663	6,1	13,5	10,6	5,5	9,2	15,7	10,10
V68	Bulnésol	1666	3,2	1,8	0,9	1,9	2,0	0,6	1,73
V71	<i>epi</i> - α -bisabolol	1686	0,3	0,4	0,4	0,1	0,4	0,6	0,37
V72	2-pentadécaneone	1698	0,3	0,4	-	-	0,2	0,4	0,22
V73	(<i>Z,Z</i>)-farnésol	1714	0,5	0,3	0,4	0,2	1,0	0,9	0,55
V74	8- α -acétoxy élémol	1789	0,1	0,2	-	-	0,1	-	0,07
Totale (%)			22,4	36,2	21,7	18	27,7	36,8	27,15
Nombre des StO identifiés			18	16	15	14	15	15	

Diterpènes hydrocarbures (DtH)									
V77	Abiétatriène	2090	0,3	0,5	0,4	0,2	0,3	1,7	0,57
V78	Phytol	2109	0,2	0,2	-	-	0,1	-	0,17
Totale (%)			0,5	0,7	0,4	0,2	0,4	1,7	0,65
Nombre des DtH identifiés			2	2	1	1	2	1	
Diterpènes oxygénés (DtO)									
V75	manoyl oxide	1989	0,4	0,2	-	-	0,2	-	0,13
V76	13-épi-manoyl oxide	1992	0,3	0,6	0,1	0,3	0,2	-	0,25
V79	4-épi-abiétal	2299	0,7	1,1	0,3	0,4	0,6	1,3	0,73
Totale (%)			1,4	1,9	0,4	0,7	1	1,3	1,12
Nombre des DtO identifiés			3	3	2	2	3	1	

Tk1: T'kout 1; Tk2: T'kout 2; Tz: Tizi Nerrsas; Ba: Baâli; Tb: Tibhirine; Ch: Chelia.

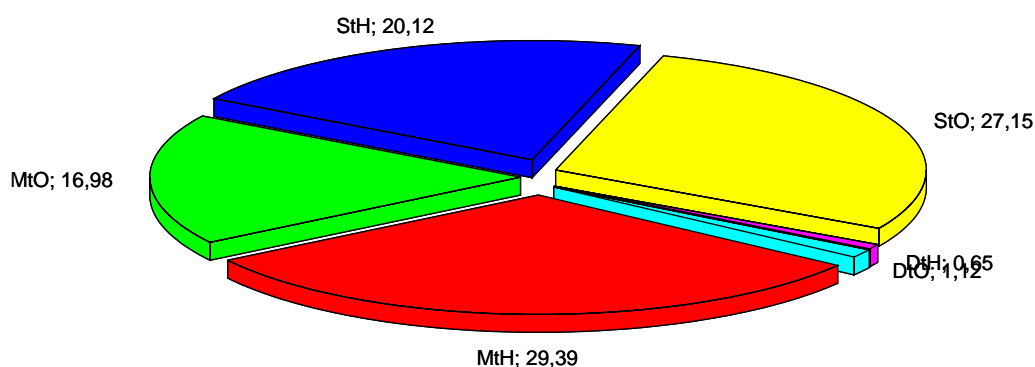


Figure 27: Les principales familles de composés de l'HE de *J. thurifera* L.

Dix-sept monoterpènes oxygénés (16,98 % de l'HE), sont représentés majoritairement par le terpinène-4-ol (7,37 %), l'acétate de linalyle (3,1 %), linalool, l' α -terpinéol, et l'acétate de l' α -terpinyle.

Vingt-deux constituants sont des hydrocarbures sesquiterpéniques (20,12 % de l'HE) et 18 constituants sont des sesquiterpènes oxygénés (27,15 % de l'HE), représentés principalement par l' α -cadinol 10,10 %, l'èlèmol 4,65 %, le δ -cadinène

4,53 %, le germacrène-D 2,85 %, le valencène 2,5 %, et autres composés. Parmi les 40 sesquiterpènes identifiées, 27 composés ont un pourcentage faible (<1%)

Les diterpènes ne représentent que 1,76 % de l'HE de *J. thurifera*; deux constituants sont des hydrocarbures diterpéniques (0,65 % de l'HE), alors que trois de ces constituants sont des diterpènes oxygénés représentant 1,1 % de l'huile essentielle.

Les composés majoritaires dans les huiles essentielles des populations étudiées sont: le terpinène-4-ol dans la population de Tibhirine, l' α -cadinol dans les populations de Chélia et de T'kout 2, et le sabinène dans l'HE de les populations de T'kout 1, Tizi Nerrsas et Baâli. Les trois composés constituent à eux seuls 29,33% du total de l'essence, présentant des variations inter-populations importantes.

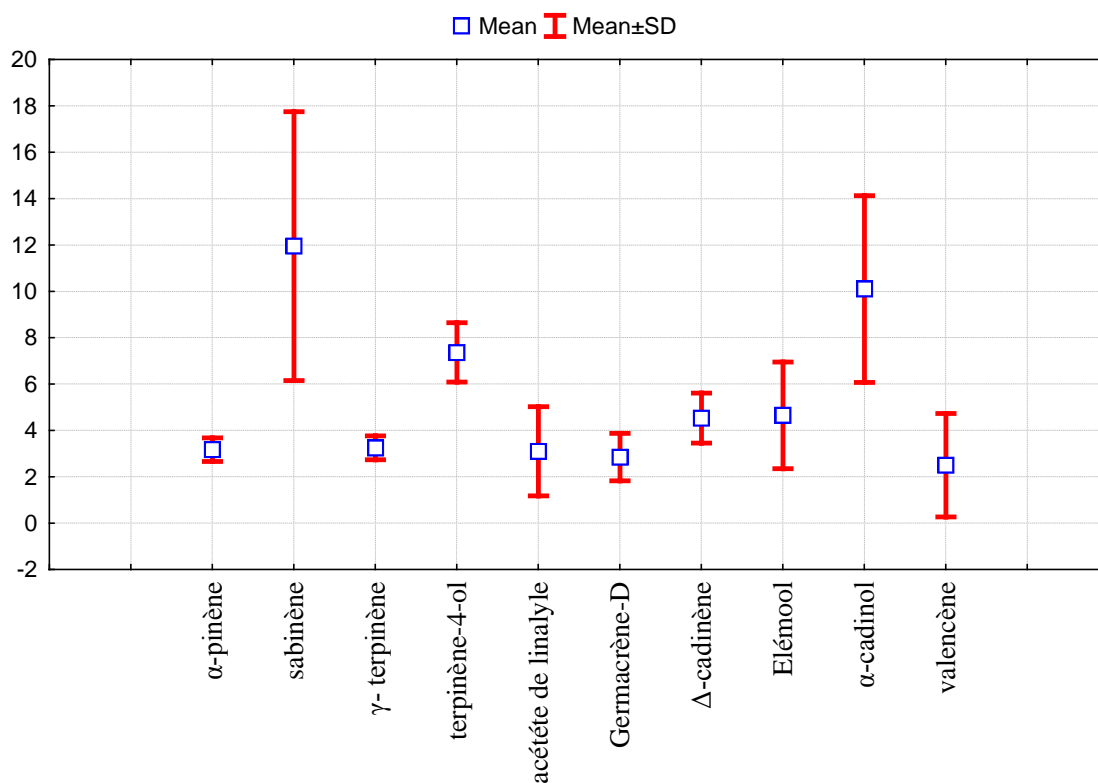


Figure 28: Les principaux composés de l'huile essentielle de *J. thurifera* L.

Pour une meilleure compréhension des résultats, la composition chimique de chacune des huiles essentielles sera visualisée par un graphique représentant les différentes familles de composés et un autre représentant les composés principaux.

✚ La population de T'kout 1

78 composés ont été identifiés dans l'huile essentielle de la population de T'kout 1, représentant 98,7 % de l'huile, dont 59,3 % sont représentés par les monoterpènes (les hydrocarbures monoterpéniques 35,3 % et les monoterpènes oxygénés 24 %) (**Figure 29**).

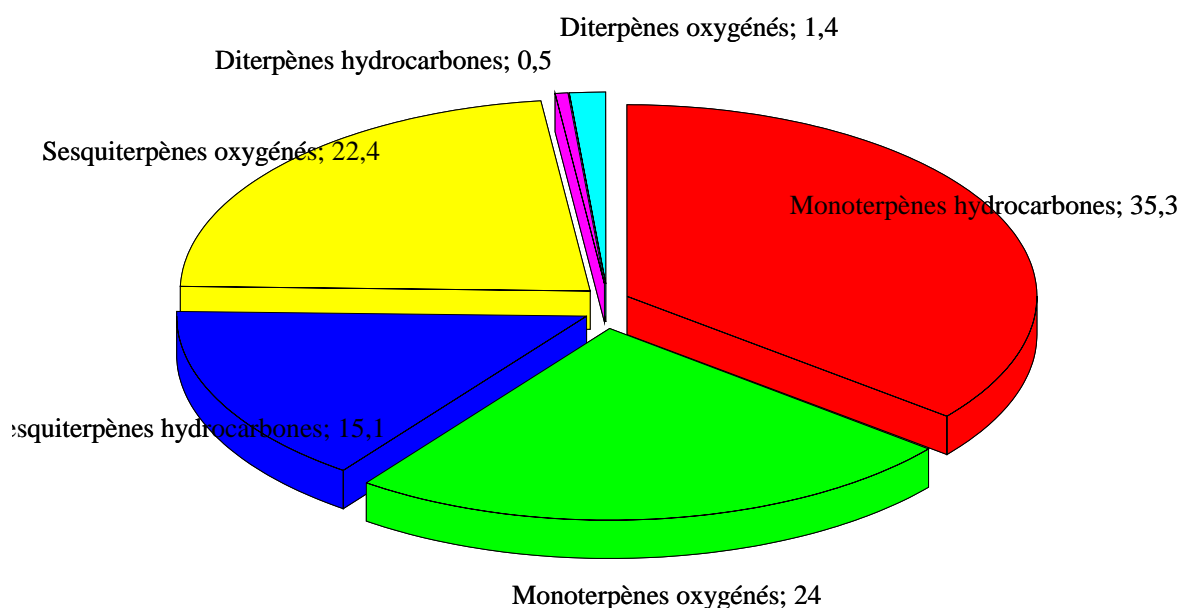


Figure 29: Répartition des principales familles chimiques de la population de Tkout1.

Deux familles de composés sont présentes en quantité équivalente (les monoterpènes oxygénés et les sesquiterpènes oxygénés). Cinq diterpènes ont été identifiés représentant 2 % seulement, le plus important est le 4-épi-abiétal (0,7 %). Les principaux composants identifiés dans l'HE de la population T'kout 1 sont: le sabinène (17,9 %), le terpinène-4-ol (7,2 %), l'acétate de linalyle (6,2 %), et l' α -cadinol (6,1 %) (**Figure 30**).

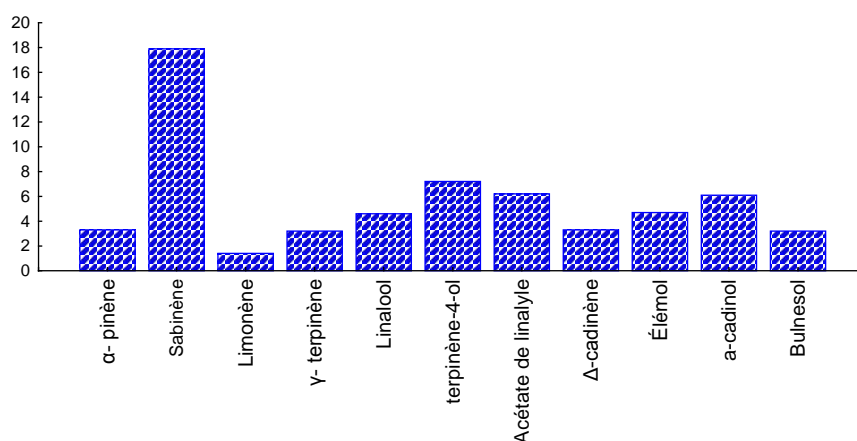


Figure 30: Principaux composés de l'HE de *J. thurifera* L. récoltée de Tkout 1.

✚ La population de T'kout 2

67 composés ont été identifiés dans l'huile essentielle de la population de T'kout 2, représentant 97,3 % de l'huile. L'HE de cette population est caractérisée par la teneur élevée en sesquiterpènes environ 60 % de l'huile, avec la prévalence des sesquiterpènes oxygénés (36,2 %). Les hydrocarbures monoterpéniques et sesquiterpéniques sont présents en quantité équivalente (**Figure 31**). 2,5 % de l'huile essentielle de T'kout 2 est représenté par cinq diterpènes, dont le plus important est le 4-épi-abiétal (1,1 %).

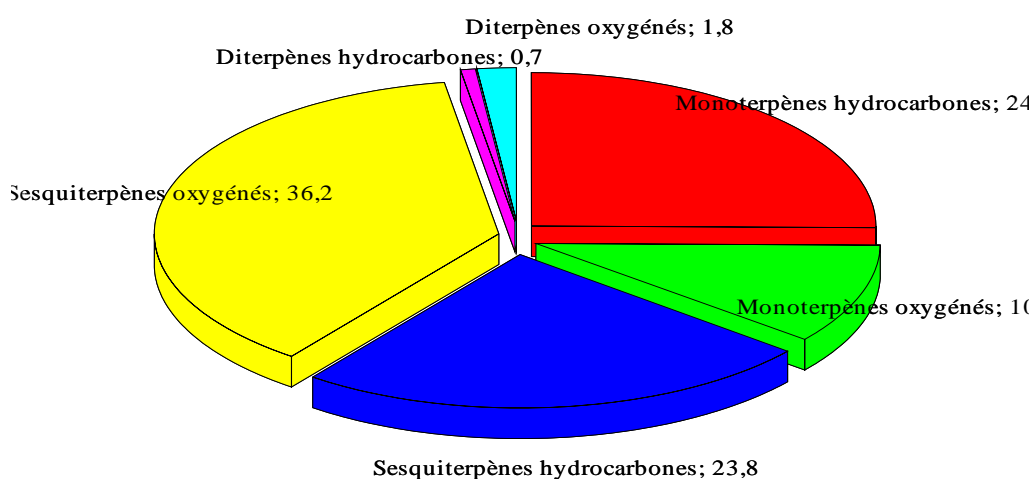


Figure 31: Répartition des principales familles chimiques de la population de Tkout 2.

L'HE de *J. thurifera* récoltée de T'kout 2 est caractérisée par la dominance de l' α -cadinol qui représente 13,5 % de l'huile, suivi par le sabinène avec un taux de 8,3% (**Figure 32**). Le terpinène-4-ol, le δ -cadinène et l'élémol sont présents en quantités voisines (5,4 %, 6,1%, 5,8 % successivement).

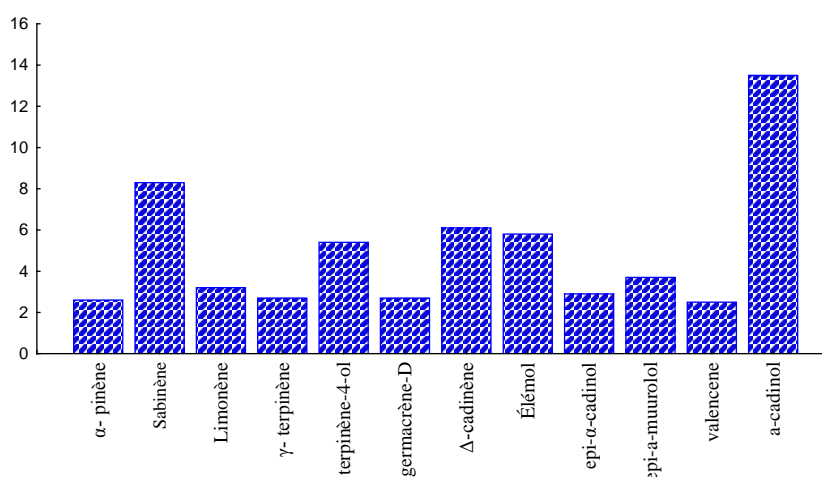


Figure 32: Principaux composés de l'HE de *J. thurifera* L. récoltée de Tkout 2.

La population de Tizi Nerrsas

Les analyses ont permis d'identifier 66 composés représentant 91% de la composition de l'huile essentielle de la population de Tizi Nerrsas. Les hydrocarbures monoterpéniques constituent la majorité de l'huile (29,8 %) suivis par les hydrocarbures sesquiterpéniques, les sesquiterpènes oxygénés (21,7 %) et les monoterpènes oxygénés avec un pourcentage de 16,7 %. Trois diterpènes (le 4-épi-abiéтал, abiétatriène et oxide 13-épi-manoyl) sont présents à l'état de traces dans l'huile essentielle de cette population, et dont le pourcentage n'excède pas 1 % (**Figure 33**).

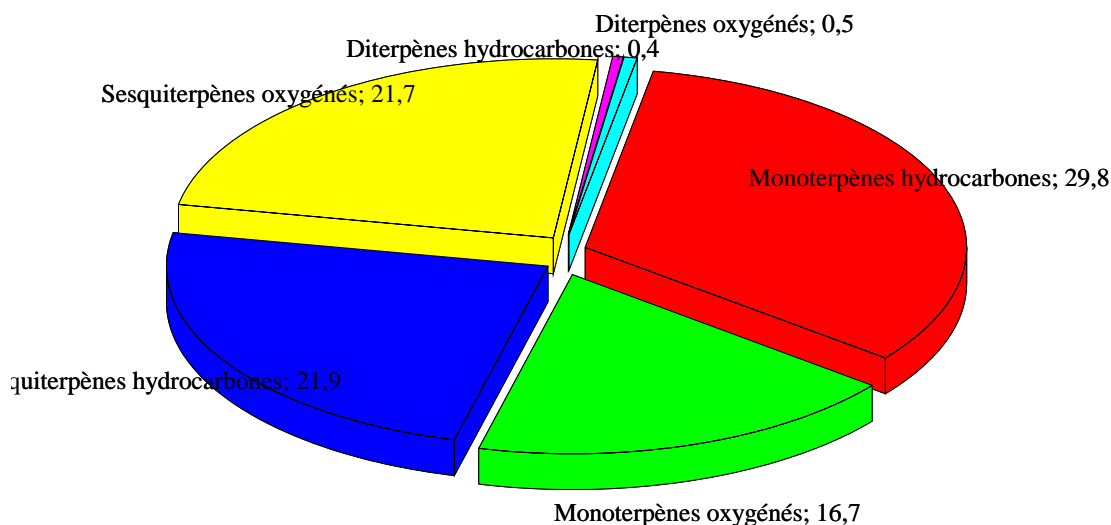


Figure 33: Répartition des principales familles chimiques de la population de Tizi Nerrsas.

Les composés dominants l'huile essentielle de la population de Tizi Nerrsas sont: Le sabinène (11,3 %), l' α -cadinol (10,6 %), et le terpinène-4-ol (7,6 %) (**Figure 34**).

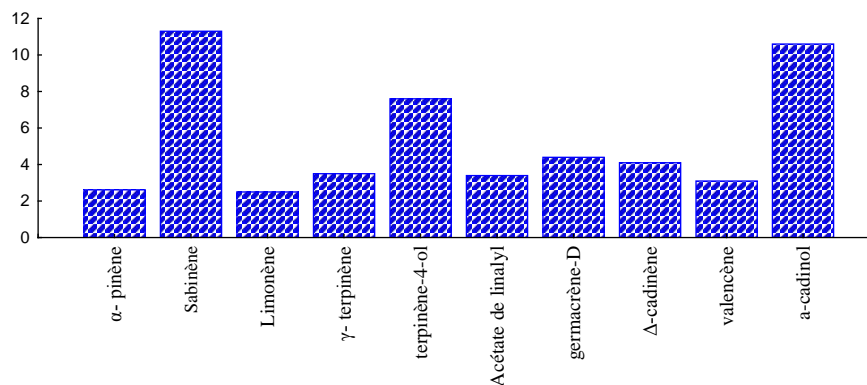


Figure 34: Principaux composés de l'HE de *J. thurifera* L. récoltée de Tizi nerrsas.

✚ La population de Baâli

Les analyses nous ont permis d'identifier 67 composés dans l'huile essentielle de la population de Baâli représentant 97,4 % de l'huile. 16 hydrocarbures monoterpéniques ont été dénombrés, représentant 40,1 % de l'huile dont le plus représenté est le sabinène qui constitue 20 % de l'huile. D'autres hydrocarbures

monoterpéniques caractérisent cette huile: l' α - pinène (3,5 %), le myrcène (3,3 %), le limonène (2 %) et γ - terpinène (3,6 %). 14 monoterpènes oxygénés représentant 18,3 % de l'huile ont été identifiés dont les plus importants sont: le terpinène-4-ol (7,5 %), l'acétate de linalyle (3,1 %) et le linalool (2,5%) (**Figure 35 et Figure 36**).

19 hydrocarbures sesquiterpéniques et 15 sesquiterpènes oxygénés représentant 20,2 % et 18% de l'huile respectivement sont identifiés, dont les plus importants sont: le δ -cadinène (5,6 %), le germacrène-D (3,1 %), l' α -cadinol (5,5%) et l'éléool (3,9 %).

Trois diterpènes sont présents à l'état de traces dans l'huile essentielle des feuilles récoltées de Baâli.

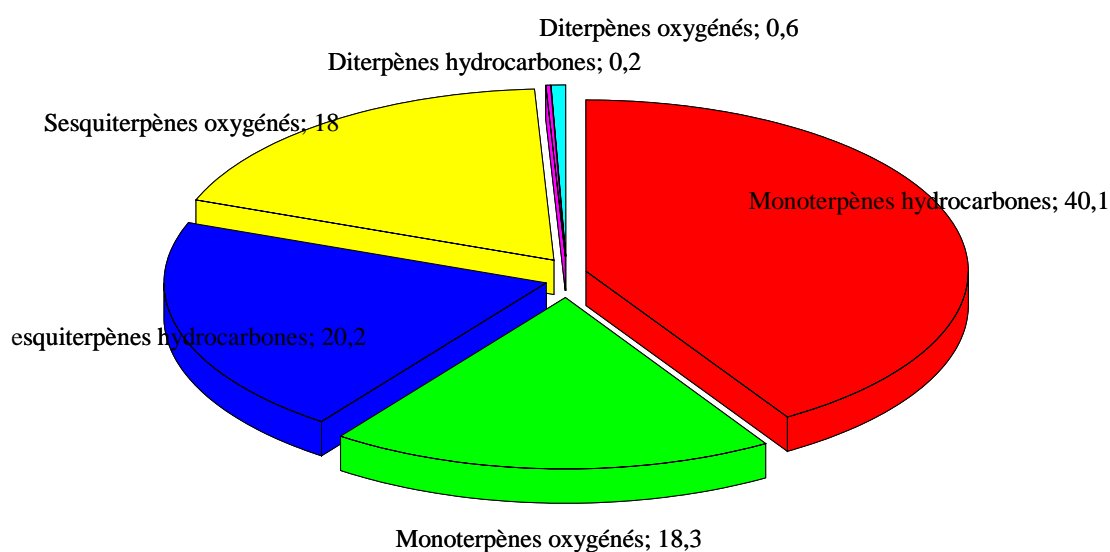


Figure 35: Répartition des principales familles chimiques de la population de Baâli.

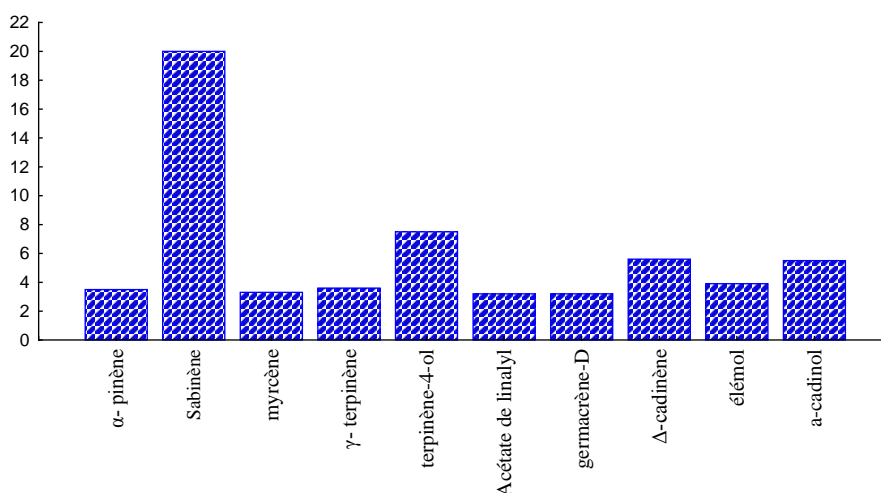


Figure 36: Principaux composés d'HE de *J. thurifera* L. récoltée de Baâli.

La population de Tibhirine

72 composés chimiques ont été identifiés dans l'huile essentielle de la population de Tibhirine, constituant 98 % de la quantité totale de l'HE. La fraction hydrocarbures monoterpéniques (16 composés) constitue la majorité de la composition de l'huile essentielle avec 27,9 % de l'HE. Une quantité équivalente a été enregistrée pour les sesquiterpènes oxygénés (15 composés) puis viennent les monoterpènes oxygénés (15 composés) et les hydrocarbures sesquiterpéniques (21 composés) qui sont présents à 20,6 % et 20,4 % respectivement (Figure 37).

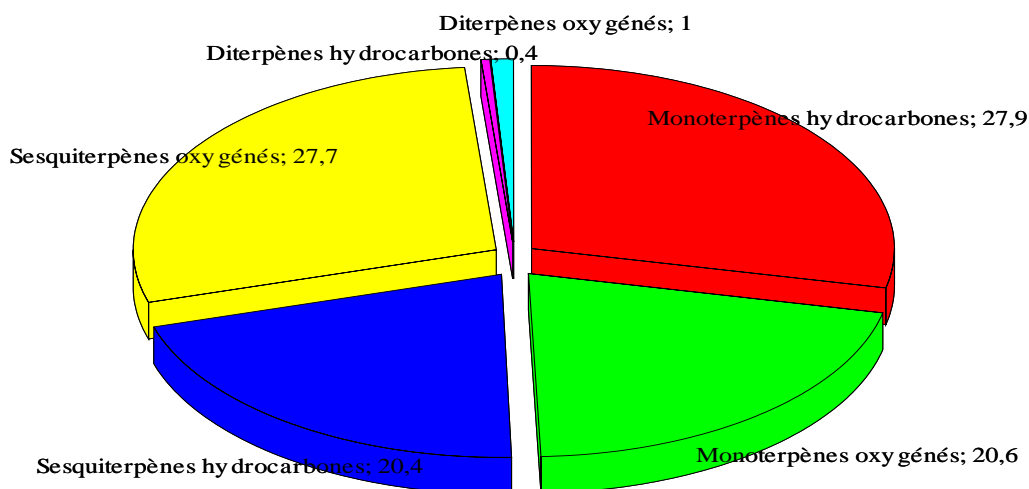


Figure 37: Répartition des principales familles chimiques de la population de Tibhirine.

Le terpinène-4-ol (9,4 %), l' α -cadinol (9,2 %), le sabinène (9 %), et l'élémol 7,6 % constituent les composés majoritaires de l'huile essentielle de la population de Tibhirine. D'autres composés sont présents avec une quantité importante dans l'huile essentielle des feuilles récoltées de Tibhirine à savoir: le γ -terpinène (3,9 %), le δ -cadinène (3,9 %), l'acétate de linalyl (3,7 %), le germacrène-D (3,3 %), l' α -pinène (3,1 %), et le germacrène-B (2,6 %) (**Figure 38**).

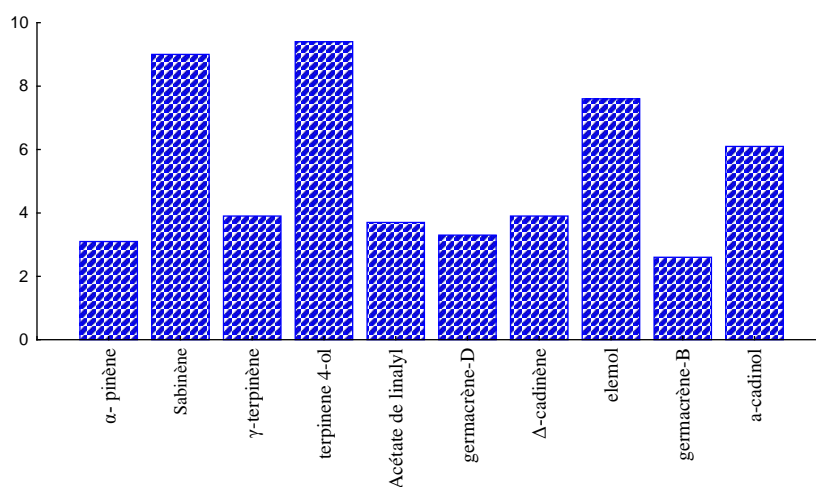


Figure 38: Les principaux composés de l'HE de *J. thurifera* L. récoltée de Tibhirine.

✚ La population de Chélia

58 composés ont été identifiés dans l'HE des feuilles récoltées de Chélia, constituant 90,2 % de l'huile. L'HE de cette population est caractérisée par une teneur élevée en sesquiterpènes représentant 57 % de l'huile, avec la prévalence de sesquiterpènes oxygénés (37 %). Les hydrocarbures monoterpéniques et sesquiterpéniques sont présents en quantité équivalente (19 % et 20 % successivement). Les monoterpènes oxygénés ne représentent que 12 % de l'huile. 3% de l'huile essentielle de Chélia est représenté par deux diterpènes: l'abiétatriène (1,7 %) et le 4-épi-abiétal (1,3 %). Les composés non identifiés représentent 10 % de l'huile (**Figure 39**).

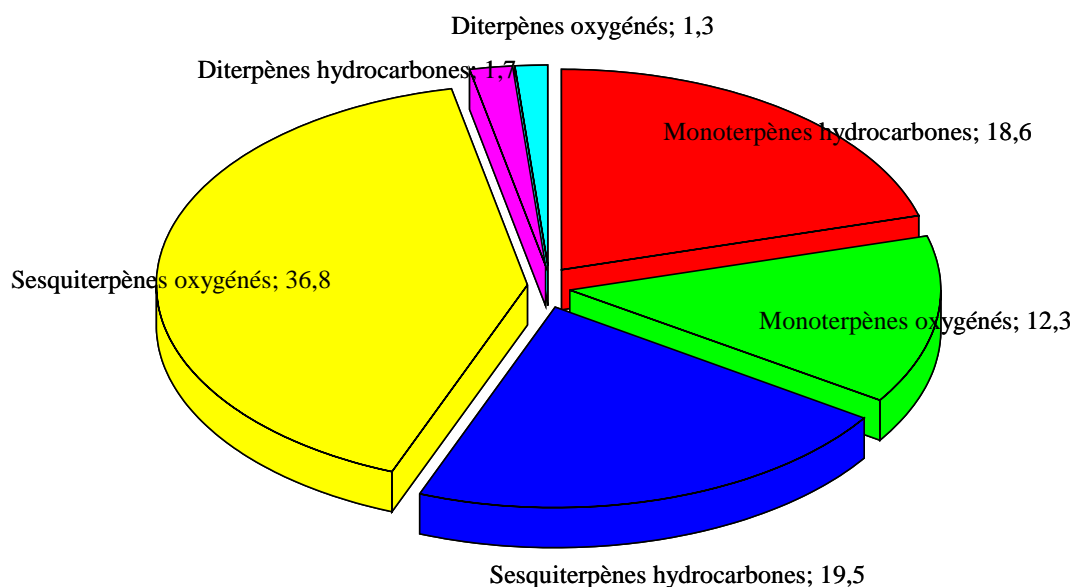


Figure 39: Répartition des principales familles chimiques de la population de Chélia.

L'HE de *J. thurifera* récoltée de Chélia se distingue d'un point de vue qualitatif par la dominance de l' α -cadinol qui constitue 15,7 % de l'huile, suivi par le terpinène-4-ol avec un taux de 7,1 % et le valencène avec un pourcentage de 6,6 %. Le sabinène ne représente que 5,2 %, avec l'élémol (5,2 %). Le δ -cadinène et l' α -pinène sont présents en quantité voisines (4,1 % et 3,9 successivement) (**Figure 40**).

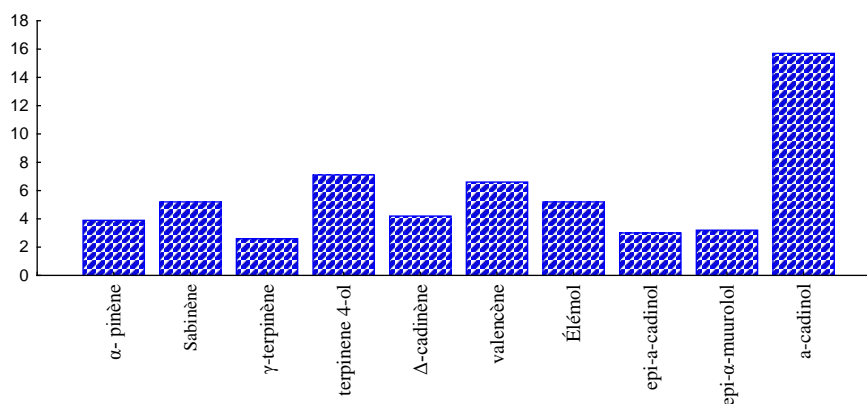


Figure 40: Les principaux composés de l'HE de *J. thurifera* L. récoltée de Chélia.

I-1-3- Analyse en composantes principales (ACP)

Pour comparer les profils de l'huile essentielle au sein des populations étudiées, nous avons considéré chaque composant comme une variable quantitative à expliquer. Des différences quantitatives et qualitatives entre la composition des HE des six populations étudiées ont été mises en évidence. Plusieurs composés ont montré des variations statistiquement significatives entre les six localités à savoir: le sabinène, l' α -cadinol, le valencène, l'élémol, l'acétate de linalyle, et le linalol (Figure 41).

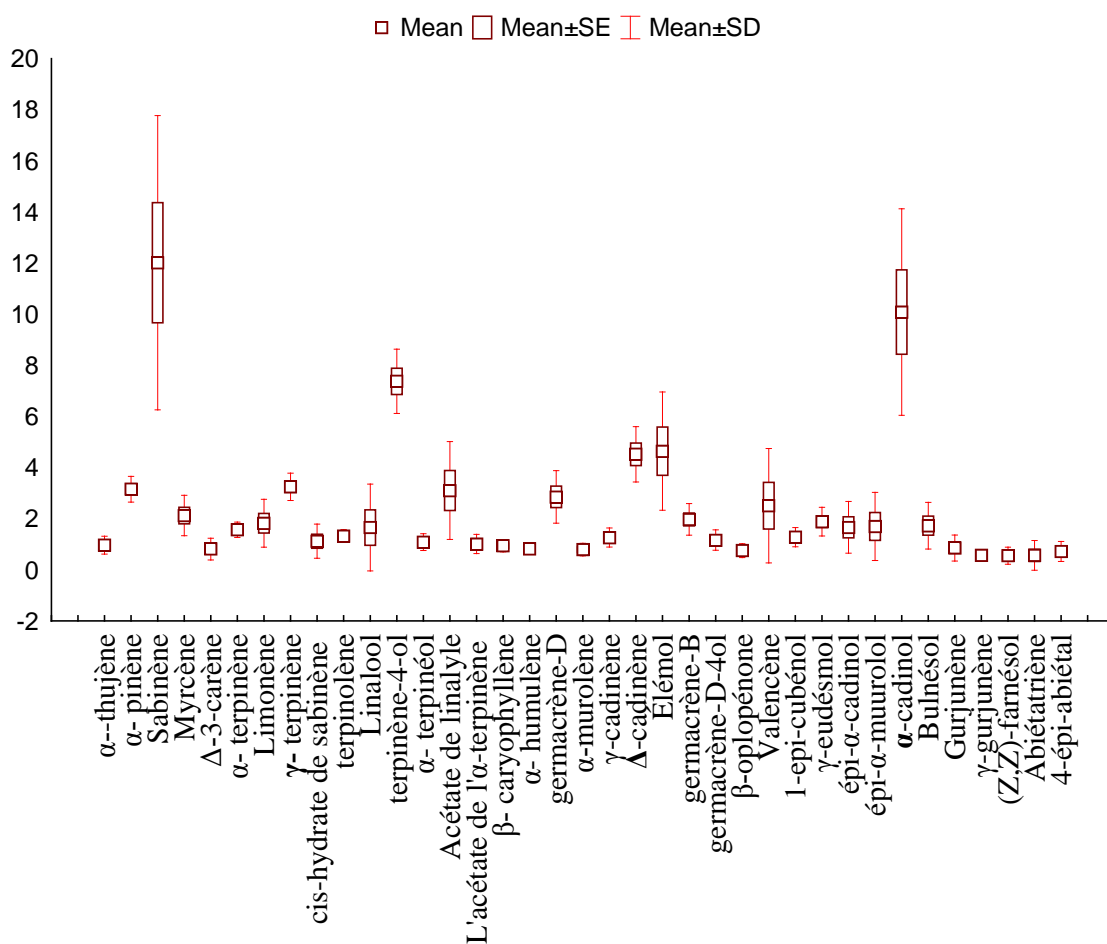


Figure 41: Variation de la concentration des terpènes chez *J. thurifera*.

La composition chimique d'HE des populations de T'kout 2 et Chélia, diffère considérablement de celle de reste des populations. Elles sont plus riches en α -cadinol et moins riches en sabinène.

a- Etude des variables

✚ Matrice des corrélations

L'examen de la matrice fait apparaître des coefficients de corrélation significatifs, 50,61 % des variables sont significativement corrélées (**Annexe A**).

Quelques constituants des HE qui ont montré des variations significatives entre les six populations sont fortement corrélés entre eux. Une corrélation négative significative a été observée entre le sabinène et le γ - eudésmol ($r = -0,927$), et le sabinène et l' α -cadinol ($r = -0,940$). Une corrélation positive significative a été observée entre le sabinène et le myrcène ($r = 0,993$), l' α -cadinol et le valencène ($r = 0,837$), le terpinène-4-ol et le cis-hydrat de sabinène ($r = 0,745$) (**Annexes B-F**).

Les valeurs propres représentant la variance des composants chimiques sur les axes sont élevées, 29,06 % pour le premier axe, 16,49 % pour l'axe deux et 13,11 % pour l'axe trois, donnant ainsi une contribution très importante à la variance totale. L'ensemble de l'information expliquée par les trois premiers axes issus de l'ACP est de 74,3%.

✚ Cercle des corrélations

La représentation du plan formé par les deux premiers axes principaux plan (1/2) (**Figure 42**) montre que l'ensemble des composants contribue fortement à la formation des deux axes. La partie positive de l'axe 1 est expliquée par les variables var 1 (α -thujène), var 5 (sabinène), var 7 (myrcène), var 9 (α - terpinène), var 15 (γ - terpinène), var 17 (terpinolène), var 18 (linalool), var 24 (α - terpinéol), var 28 (l'acétate de linalyle), var 36 (l'acétate de géranyle), et var 68 (bulnésol). Par contre sa partie négative est expliquée par var 59 (β -oplopénone), var 61 (valencène), var 64 (γ -eudésmol), var 65 (épi- α -cadinol), var 66 (épi- α -muurolol), var 67 (α -cadinol), var 77 (abiétatriène), et var 79 (4-épi-abiétal).

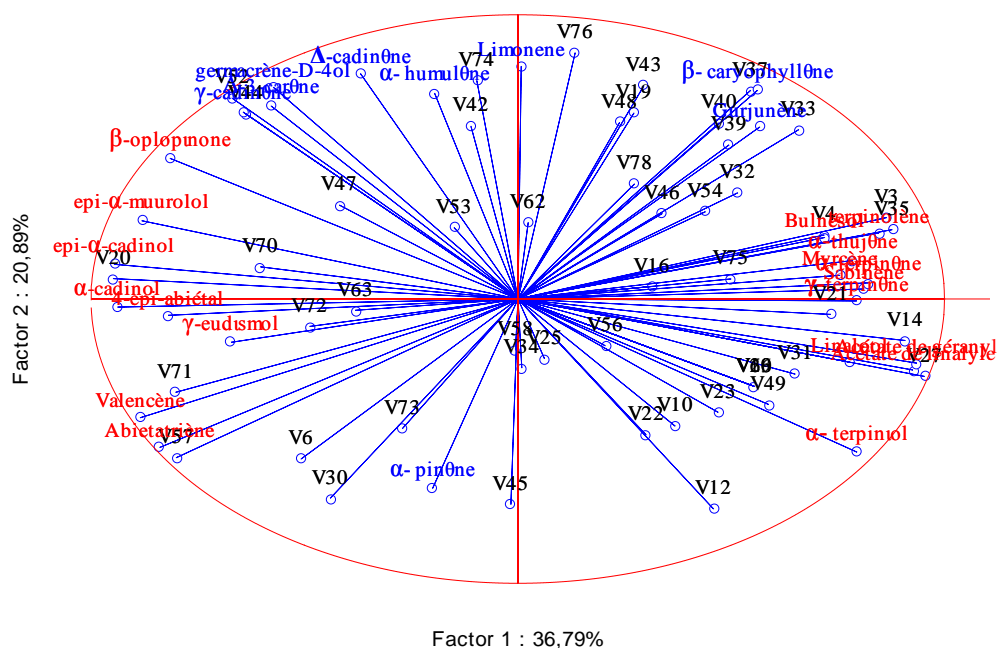


Figure 42: Projection des variables sur le plan (1x2) des populations de *J. thurifera*.

La partie positive de l'axe deux est expliquée par les variables; var 8 (Δ^3 -carène), var 11 (limonène), var 38 (β - caryophyllène), var 41 (α - humulène), var 50 (γ -cadinène), var 51 (δ -cadinène), var 55 (germacrène-B), et var 69 (gurjunène). Le composant var 2 (α - pinène) explique la partie négative de l'axe deux.

Les composantes: var 16 (cis- hydrate de sabinène), var 23 (terpinène-4-ol), var 34 (l'acétate de l' α -terpinène), var 46 (germacrène-D), expliquent la partie négative de l'axe trois (**Figure 43**). Tandis que les variables: var 54 (germacrène-B), et le var 63 (1-épi cubénol), expliquent l'axe quatre ; le premier composant explique sa partie positive et le deuxième explique sa partie négative.

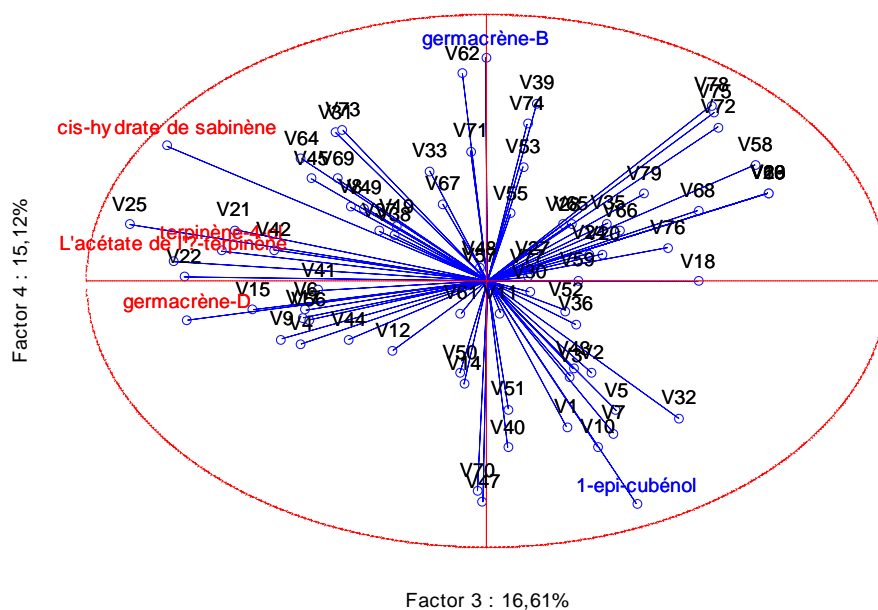


Figure 43: Projection des variables sur le plan (3x4) des populations de *J. thurifera*.

b- Etude des populations

La superposition du plan (1/2) des variables au plan (1/2) des individus (**Figure 44**) montre que trois populations se sont bien séparées;

- **La population de T'kout 1**, est localisée sur la partie positive de l'axe 1, et caractérisée par la composition chimique riche en monoterpènes tels que: l' α -thujène, le sabinène, le myrcène, l' α -terpinène, le γ -terpinène, le terpinolène, le linalool, l' α -terpinéol, l'acétate de linalyle, et l'acétate de géranyle.

- **La population de Chélia**, occupe la partie négative de l'axe 1 et caractérisée par la prévalence des sesquiterpènes et les diterpènes à savoir: le β -oplopénone, le valencène, le γ -eudésmol, l'épi- α -cadinol, l'épi- α -muurolol, l' α -cadinol, l'abiétatriène, et le 4-épi-abiétal.

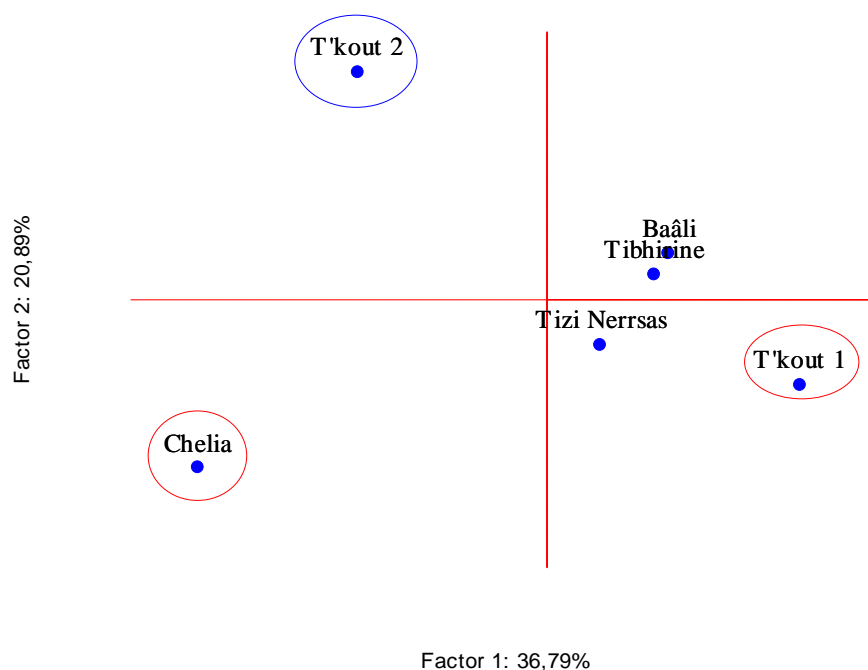


Figure 44: Projection des populations de *Juniperus thurifera* sur le plan (1/2).

• Dans la partie positive de l'axe 2, on retrouve **la population de T'kout 2** qui se caractérise par la teneur importante en Δ^3 -carène, limonène, β - caryophyllène, α -humulène, γ -cadinène, δ -cadinène, germacrène-D-4ol et le gurjunène.

• **La population de Tibhirine** s'isole dans la partie négative de l'axe trois, elle se caractérise généralement par la teneur élevée en *cis*- hydrate de sabinène, terpinène-4-ol, l'acétate de l' α -terpinyle, et le germacrène-D (**Figure 44**). Dans la partie négative de l'axe quatre on trouve **la population de Baâli** caractérisée par une teneur importante en 1-épi- cubénol et moins riche en germacrène-B (**Figure 45**).

La population de Tizi nerrsas se localise dans la partie positive de l'axe 5 elle est riche élémol et l' α -murolène.

La projection spatiale tridimensionnelle des populations basée sur les trois principaux axes confirme les résultats de l'ACP (**Figure 46**).

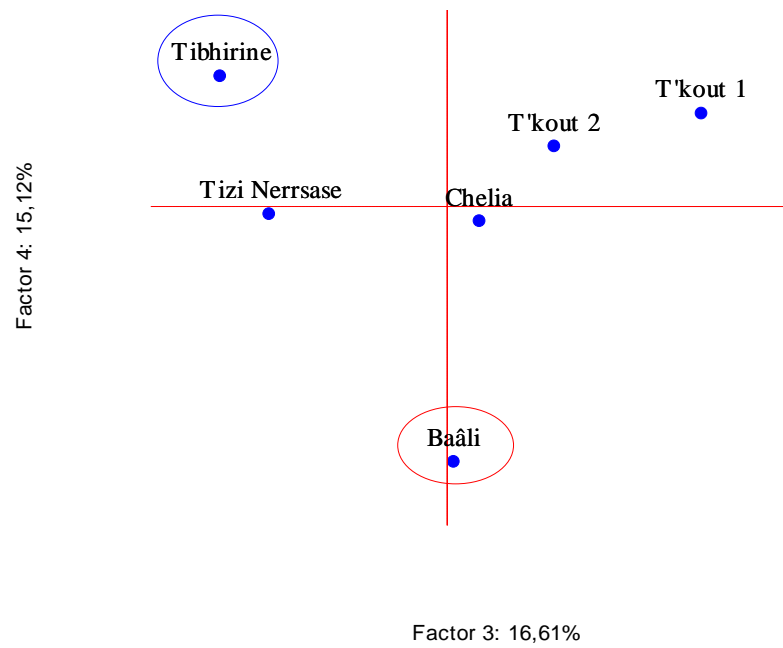


Figure 45: Projection des populations de *Juniperus thurifera* sur le plan (3/4).

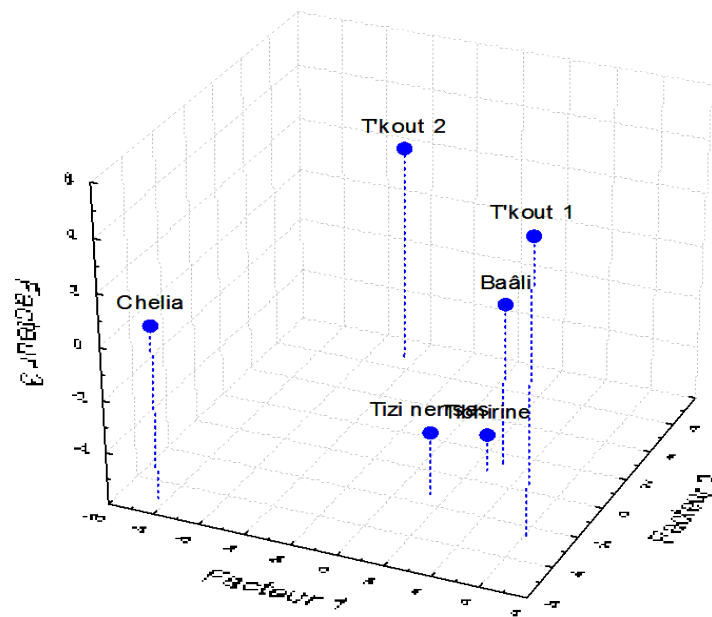


Figure 46 : Projection spatiale des populations de *Juniperus thurifera* basée sur les trois principaux axes.

I-1-4- L'analyse des clusters UPGMA

L'analyse des clusters UPGMA confirme la séparation des populations de *Juniperus thurifera*, en trois groupes (**Figure 47**). Cette séparation est basée sur la distance du linkage qui indique la présence de variabilité de la composition chimique des huiles essentielles entre les populations étudiées.

La première séparation est faite sur base de la teneur en monoterpènes et sesquiterpènes, il résulte deux grands groupes. Le premier est caractérisé par la prévalence de monoterpènes, surtout le sabinène (9-20 %) (T'kout 1, Baâli, Tizi Nerrsas, Tibhirine). A l'intérieur du premier groupe la séparation est faite sur base de la teneur en sabinène et l' α -cadinol. Par contre les huiles essentielles du deuxième groupe (Chélia et T'kout 2), sont caractérisées par la prévalence de sesquiterpène.

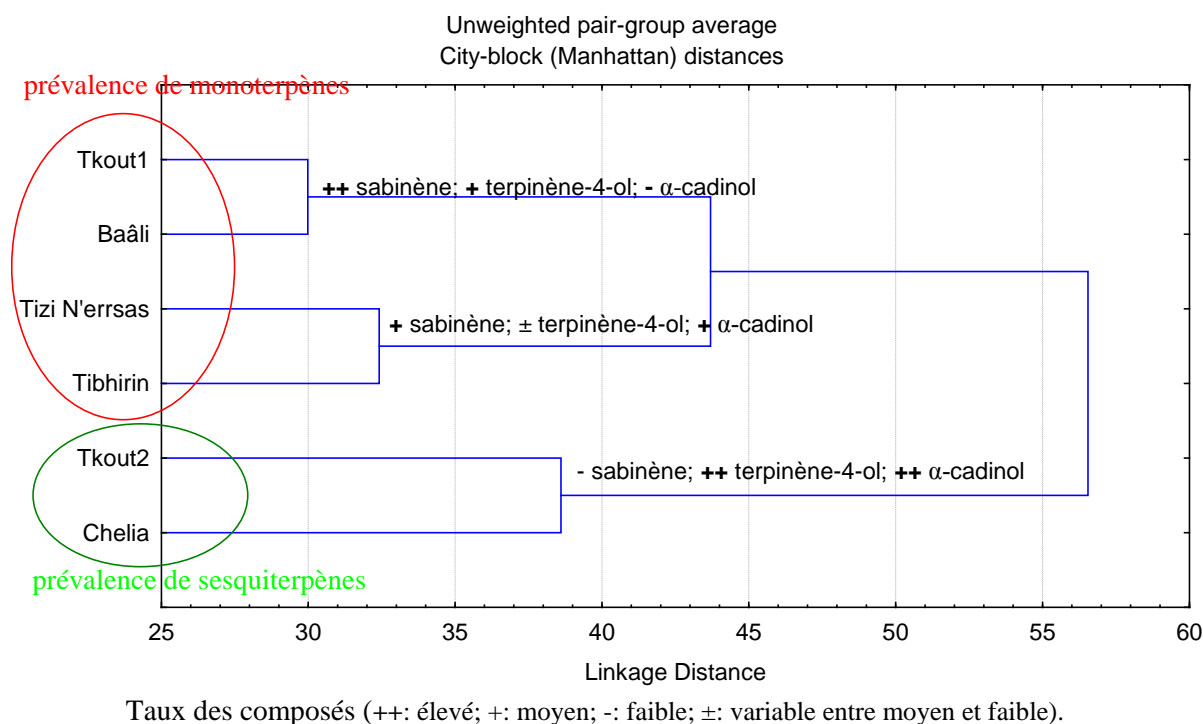


Figure 47: UPGMA cluster des six populations de *J. thurifera*.

La projection spatiale tridimensionnelle des populations basée sur les trois principaux composés (le sabinène, le terpinène-4-ol, et l' α -cadinole) (**Figure 48**), confirme les résultats de l'UPGMA et montre la nette séparation de nos populations en trois sous groupes.

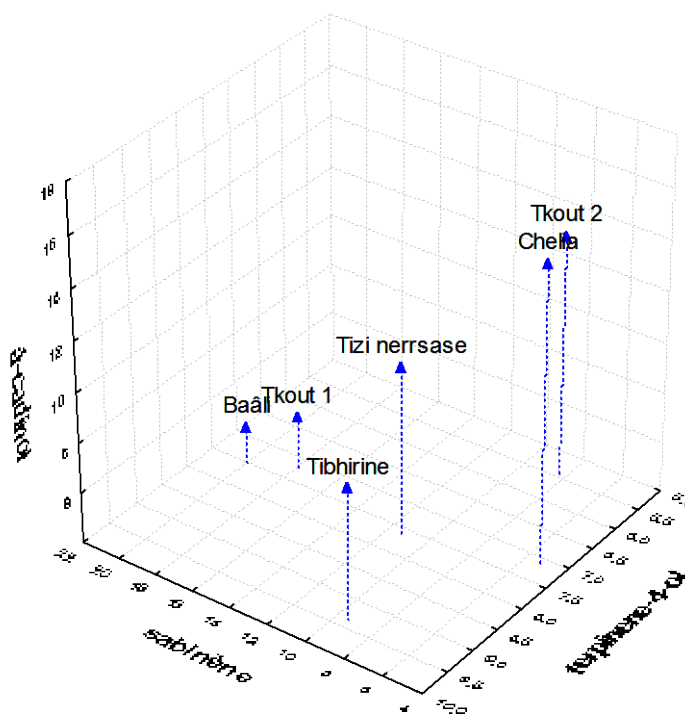


Figure 48 : Projection spatiale des populations de *Juniperus thurifera*, basée sur les trois principaux composés (sabinène, terpinène-4-ol, et α -cadinol).

- Le premier groupe est composé de la population de Baâli et T'kout 1 caractérisées par le taux élevé de sabinène et un taux faible de l' α -cadinol.
- Les populations de Tizi Nerrsas et Tibhirine forment le deuxième groupe qui se caractérise par la teneur faible en terpinene-4-ol et moyenne en α -cadinol et en sabinène.
- Le troisième groupe est formé par les populations de Chelia et T'kout 2 caractérisées par la présence de l' α -cadinol et terpinene-4-ol avec une quantité importante dans leur huiles.

I-2- Discussion

I-2-1- Rendements en huiles essentielles

Le rendement en huiles essentielles obtenu à partir des feuilles de *Juniperus thurifera* L. varie entre 0,4 % et 0,53 %. Il apparaît relativement faible par rapport à ceux obtenus par Achak *et al.* (2008) qui ont obtenu un rendement de 0,71 % à partir des feuilles fraîches de *J. thurifera* var. *africana*, tandis que les feuilles séchées de la même espèce ont donné 0,76 % d'huile. Les mêmes auteurs, mentionnent qu'il n'y avait pas de différence entre les populations dans le rendement en huiles essentielles extraites à partir des feuilles fraîches de *J. thurifera*. Par contre, ils ont remarqué que les rendements en HE obtenus à partir des feuilles séchées à température ambiante, augmentent avec l'altitude (1,03%, Ait Lkak, 2900 m; 0,67%, Plateau de Matat, 2200 m; 0,57%, Forêt Islane, 2000 m) (Achak *et al.*, 2008).

La variation inter-population de rendement en huile essentielle est un phénomène assez fréquent, rencontré dans plusieurs autres espèces (Zeraib, 2010; Lograda *et al.*, 2013a, b; Ramdani *et al.*, 2013a, b).

D'après Fluck (1963); Powell *et Adams* (1973) et Adams *et al.* (1992), la quantité et la qualité des huiles volatiles reflètent l'influence des variables génétiques ainsi que celle des facteurs climatiques et des conditions édaphiques.

I-2-2- Variabilité intra-spécifique de la composition chimique des HE de *J. thurifera*

Les résultats de l'analyse de la composition chimique des huiles essentielles extraites de *J. thurifera* montrent la richesse de ces huiles en monoterpènes et sesquiterpènes, et la présence de diterpènes en quantité plus ou moins faible.

De nombreux auteurs (San Feliciano *et al.*, 1986; 1991; 1993a, b; Barrero *et al.*, 2000), ont souligné que *J. thurifera* accumule des terpénoïdes, des phénylpropanoïdes et des lignanes.

Les huiles essentielles des populations algériennes montrent une similarité avec les populations marocaines et des différences dans leurs teneurs en sabinène, limonène, et terpinène-4-ol par rapport à celles d'Espagne et autres populations européennes (Adam *et al.*, 2003; Achak *et al.*, 2008; 2009; Bahri *et al.*, 2013).

Les résultats d'Adams (1999) montrent une grande quantité de limonène (51.5%) et des quantités modérées de linalool, pipéritone, acétate de linalil et l'acétate de l' α -terpinyl dans les huiles essentielles des feuilles de *J. thurifera* d'Espagne.

Les études de la variabilité de la composition chimique des huiles essentielles des populations marocaines et européennes (Espagne et France) de *J. thurifera*, montrent que les populations marocaines sont plus riches en sabinène, γ -terpinène, *cis*-hydrate de sabinène et terpinène-4-ol et plus pauvres en limonène, δ -2-carène et pipéritone par rapport aux populations européennes. Il est possible que la divergence dans la teneur en ces composés est contrôlée par seulement quelques gènes mais à effet majeur (Adams *et al.*, 2003).

La variabilité en Mono et sesquiterpénoïdes reflète l'hétérogénéité de la structure génétique de la population (Dodd *et Poveda*, 2003; Lima *et al.*, 2010; Shanjani *et al.*, 2010). Hannover (1992) démontre que les chémotypes terpéniques sont fortement contrôlés par des facteurs génétiques. Il a également signalé des cas de variation de l'environnement dans l'expression de terpène dans des conditions extrêmes de l'habitat.

I-2-3- Variabilité interspécifique de la composition chimique des HE de *J. thurifera*

L'outil statistique a permis de distinguer deux groupes de compositions chimiques. Une prévalence des hydrocarbures monoterpéniques comparés à d'autres composants a été notée dans les populations de Tkout 1, Baâli, Tibhirine, et Tizi Nerrsas, tandis que la tendance inverse pourrait être observée dans les populations de Tkout 2 et Chélia, qui ont été dominées par les hydrocarbures sesquiterpéniques.

La même variabilité a été observée par Achak *et al.* (2008) dans trois populations échantillonnées au Maroc. La chimio-variation observée semble être déterminée par l'environnement.

L'influence des facteurs environnementaux sur la composition chimique des huiles essentielles ont été également rapportés dans le genre *Juniperus* (Dodd *et Poveda*, 2003; Lima *et al.*, 2010; Shanjani *et al.*, 2010; Ložiene *et Labokas*, 2012; Lesjak *et al.*, 2013), la famille des *Cupressaceae* (Ramdani *et al.*, 2007; 2008; 2011; 2012; Ottavioli, 2009), et sont bien connus pour d'autres familles (Haider *et al.*, 2004; Karousou *et al.*, 2005; Cuardo *et al.*, 2006; Lei *et al.*, 2010; Djabou *et al.*, 2012a).

Les hydrocarbures Monoterpéniques et sesquiterpéniques sont fortement liés à la balance chimique dans les sols (matière organique, du phosphore et de la saturation de base) (Djabou *et al.*, 2012b; Lesjak *et al.*, 2013).

En effet, les sesquiterpènes (germacrène B, germacrène D, δ -cadinène et l' α -copaène) sont bien corrélés avec les éléments nutritifs dans le sol argileux (Mg, Ca, K, Zn, Mn, P, la matière organique, et la capacité d'échange cationique). Alors que les monoterpènes (β -bourbonène et l'élémol), les phénols totaux, et les tannins sont bien corrélés aux sols sableux riches en Al et Fe (Duarte *et al.*, 2010).

Une corrélation positive a été observée entre les sols acides et la concentration de β -eudésmol dans l'huile essentielle des racines de l'*Atractylodes lancea* (*Asteraceae*) (Yuan *et al.*, 2009), et des feuilles de *Myrtus cauliflora* (Duarte *et al.*, 2010).

Les résultats de notre travail confirment l'existence d'une forte relation entre la concentration des composants dominants qui créent la variabilité entre la composition chimique des huiles essentielles des populations échantillonnées (sabinène et myrcène; sabinène et γ -eudésmol; sabinène et α -cadinole; *cis*-hydrate de sabinène et terpinène 4-ol...).

La corrélation observée entre ces composants peut être reliée aux conditions édaphiques où les éléments nutritifs jouent un rôle des cofacteurs, ils inhibent ou excitent les enzymes synthétase des mono et sesquiterpènes (Picaud *et al.*, 2005, 2006; Duarate *et al.*, 2012).

La méthode d'extraction peut influencer la composition chimique des huiles essentielles. En effet, une variabilité importante a été enregistrée dans la composition chimique des huiles essentielles de *J. thurifera* var. *africana* extraites par trois méthodes différentes. Cette variabilité concerne l' α -pinène, le β -pinène, l' α -phellandrène, le terpinène-4-ol et l'acétate de bornyle (Bahri *et al.*, 2013).

L'hydrolyse d'esters est souvent la première réaction qui se produit durant le chauffage du végétal. Elle conduit à la formation d'acides organiques qui à leur tour catalysent les réactions de cyclisation et de déshydratation. La dégradation du sabinène donne un exemple des transformations chimiques de l'huile essentielle lors de l'hydrodistillation. Les fréquentes modifications chimiques du sabinène ont été étudiées par Koedam *et al.* (1980), ils ont constaté qu'en milieu acide dilué ce composé se transforme en terpinène-4-ol.

La matière chimique présente dans le végétal fait l'objet de réactions chimiques diverses: hydrolyses, déprotonations, hydratations et cyclisations pouvant être catalysées par des métaux présents à l'état de traces dans la plante, provoquant des transformations chimiques des constituants (Koedam, 1982).

Plusieurs travaux ont été conduits sur l'effet de séchage sur la composition chimique des huiles essentielles. Les composés sont remarquablement stables au cours des essais de séchage et de stockage chez *J. thurifera* (Achak *et al.*, 2008). Une différence significative a été enregistrée dans la teneur en α -pinène, sabinène, β -phellandrène, terpinène-4-ol, γ -cadinène, δ -cadinène, élémol, germacrène D-4-ol et 4-épi-abiétal chez les espèces *Juniperus pinchotii*, et *J. virginiana* (Adams, 2010).

D'après Teresa *et al.* (1980), les huiles essentielles des cônes de *J. thurifera* subsp. *thurifera* sont dominées par le limonène (85,5%). Akimov *et al.* (1976), ont indiqué que les huiles des feuilles de *J. thurifera* contiennent une faible teneur en monoterpènes (<2,6% d' α -pinène, le composé monoterpénique hydrocarboné dominant) et 86,7% des mono- et sesquiterpènes oxygénés.

CONCLUSION

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles extraites à partir des feuilles de *J. thurifera* récoltées dans six localités différentes dans les Aurès en Algérie, par la CPG et par la CPG/SM, a permis l'identification de 79 composés.

Les hydrocarbures monoterpéniques représentent la fraction majoritaire dans l'huile essentielle de *J. thurifera* avec un pourcentage de 29%, suivis par les sesquiterpènes oxygénés (27,13%), tandis que les diterpènes ne représentent que 1,75% de l'huile.

Les composés dominants de l'huile essentielle de *Juniperus thurifera* diffèrent d'une population à l'autre. Le sabinène est dominant dans l'huile des populations de T'kout 1 (17,9%), Tizi Nerrsas (11,3%) et Baâli (20%). Le composé majoritaire dans la population de Tibhirine est le terpinène-4-ol (9,4%), suivi par l' α -cadinol (9,2%) et le sabinène (9%).

Les deux populations Chélia et T'kout 2 sont caractérisées par la dominance de l' α -cadinol avec un pourcentage de 15,7% et 13,5 % respectivement, ainsi que par la présence de sabinène et de terpinène-4-ol avec un pourcentage élevé.

Cette variabilité a permis la discrimination de deux chimo-variétés principales. Le premier groupe (T'kout 1, Baâli, Tizi Nerrsas, Tibhirine) est caractérisé par la prévalence de monoterpènes, surtout le sabinène (9-20%). A l'intérieur du premier groupe deux sous groupes sont distingués, la séparation est faite sur la base de la teneur en sabinène et l' α -cadinol. Par contre les huiles essentielles du deuxième groupe (Chélia et T'kout 2), sont caractérisées par la prévalence de sesquiterpènes.

On peut relier la production des sesquiterpènes et des monoterpènes aux facteurs environnementaux, tels que le pH et la composition élémentaire du sol sur lequel le végétal se développe.

Les huiles essentielles des populations algériennes montrent une similarité avec les populations marocaines et des différences dans leurs teneurs en sabinène, limonène, et terpinène-4-ol par rapport à celles d'Espagne et autres populations européennes.

Cette différence reflète l'hétérogénéité de la structure génétique des populations de l'espèce *J. thurifera*.

II- COMPARAISON DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DES POPULATIONS DU *J. THURIFERA*

Les composés chimiques sont très utilisés en systématique des plantes, en partant d'analyses de la variation infra-spécifique pour arriver à la détermination des relations phylogénétiques entre familles et autres groupes taxonomiques de rang élevé.

Pour mieux caractériser les populations algériennes de *Juniperus thurifera*, nous avons effectué une comparaison entre la composition des huiles essentielles extraites de différentes régions et celles décrites dans la littérature, en se basant sur les travaux d'Adams (1999), Adams *et al.* (2003), Achak *et al.* (2009), Ottavioli (2009) et Bahri *et al.* (2013) (**tableau Annexe G**). Au total, Quarante-seize composés terpéniques ont été triés, dont 50 monoterpènes, 36 sesquiterpènes, et sept di terpènes. Pour comparer les profils terpéniques au sein des populations de *J. thurifera*, chaque composant a été considéré comme une variable quantitative à expliquer. Puis, soumise à une ACP et une UPGMA.

II-1- Résultats de l'analyse statistique

II-1-1- variabilité en composition chimique

La composition quantitative et même qualitative des huiles essentielles utilisées dans cette analyse diffèrent considérablement. Le coefficient de variabilité (CV), montre que tous les composants terpéniques montrent une grande variation inter population (**Tableau 05, Figure: 49**).

Tableau 05: Moyennes des composés de l'essence des populations de *J. thurifera* L.

code	Composants	Moyenne	ET	CV%
var. 1	tricyclène	tr	0,21	282,31
var. 2	α -thujène	0,58	0,81	138,91
var. 3	α- pinène	5,42	3,72	68,63
var. 4	fenchène	0,11	0,29	279,59
var. 5	camphène	0,08	0,20	249,47
var. 6	sabinène	9,89	14,18	143,41
var. 7	β -pinène	0,67	1,96	292,22
var. 8	myrcène	2,64	0,88	33,36
var. 9	δ-2-carène	1,26	1,24	98,88
var. 10	α -phellandrène	0,37	1,39	380,05
var. 11	Δ-3-carène	2,54	2,66	104,70
var. 12	α -terpinène	0,69	0,91	131,72
var. 13	p-cymène	0,48	0,93	193,52
var. 14	limonène	32,34	25,75	79,63
var. 15	β -phellandrène	0,23	0,23	100,27
var. 16	(Z)- β -ocimène	tr	0,08	414,88
var. 17	(E)- β -ocimène	0,12	0,17	142,27
var. 18	γ-terpinène	1,48	2,50	168,79
var. 19	<i>cis</i> hydrate de sabinène	0,44	0,72	162,44
var. 20	<i>trans</i> -linalool oxyde (furanoïde)	tr	0,13	395,52
var. 21	terpinolène	1,50	1,00	66,54
var. 22	<i>trans</i> hydrate de sabinène	0,31	0,87	281,71
var. 23	linalol	3,27	3,53	107,94
var. 24	<i>cis</i> -thujone	0,15	0,44	298,40
var. 25	<i>trans</i> -thujone	0,17	0,45	266,96
var. 26	<i>cis</i> -p-menth-2-en-1-ol	0,16	0,21	130,07
var. 27	<i>cis</i> -p-menthaP,8-dièn-1-ol	tr	0,01	299,67
var. 28	<i>trans</i> -limonène oxide	0,15	0,28	190,69
var. 29	<i>trans</i> -menth-2-en-1-ol	tr	0,13	142,30
var. 30	camphor	tr	0,17	475,27
var. 31	hydrate de camphène	tr	0,03	624,50
var. 32	citronellal	tr	0,00	435,74
var. 33	sabina kétone	tr	0,00	624,50
var. 34	bornéol	0,13	0,24	187,29
var. 35	terpinène-4-ol	2,33	2,95	126,68
var. 36	m-cymèn-6-01	tr	0,00	624,50
var. 37	p-cymèn-8-01	tr	0,18	253,93
var. 38	α -terpinéol	0,66	0,42	64,54
var. 39	verbanone	0,11	0,12	110,22
var. 40	<i>trans</i> pipéritol	tr	0,02	624,50
var. 41	<i>trans</i> carvéol	0,11	0,15	140,94
var. 42	nérol 1 (80)	tr	0,11	141,35

var. 43	citronéllol	0,11	0,19	181,38
var. 44	acétate de linalyle	2,98	3,55	119,31
var. 45	acétate de bornyle	1,11	3,09	279,83
var. 46	décan-2,4-dièn-1-ol	0,33	0,55	165,99
var. 47	Δ-élémente	tr	0,09	251,95
var. 48	acétate d'α-terpinyle	1,18	0,99	83,45
var. 49	acétate de néryle	0,10	0,12	118,53
var. 50	acétate de géranyle	0,21	0,25	118,91
var. 51	β-élémente	tr	0,13	209,10
var. 52	β-caryophyllène	0,18	0,35	191,79
var. 53	γ-élémente	tr	0,11	289,86
var. 54	cadina-3,5-diène	tr	0,06	248,56
var. 55	α-humulène	0,14	0,31	229,45
var. 56	<i>cis</i> muuro-la-4(14),5-diène	0,10	0,18	189,04
var. 57	γ-muuro-lène	tr	0,18	191,01
var. 58	germacrène-D	0,51	1,09	212,40
var. 59	<i>trans</i> muuro-la-4(14),5-diène	tr	0,15	195,71
var. 60	α- muuro-lène	0,27	0,53	194,97
var. 61	β-curcumène	tr	0,18	273,70
var. 62	γ- cadinène	0,56	0,63	112,94
var. 63	δ-cadinène	1,19	1,59	133,68
var. 64	α-cadinène	0,13	0,24	181,12
var. 65	élémol	3,44	4,33	125,75
var. 66	germacrène-B	0,42	0,74	175,92
var. 67	germacrène-D-4ol	0,57	0,70	122,46
var. 68	cédrol	0,66	1,33	200,16
var. 69	gérayl isovalérate	tr	0,07	319,86
var. 70	β-oplopénone	0,36	0,31	86,01
var. 71	épi-cédrol	0,22	0,67	310,94
var. 72	1,10-diépi-cubénol	0,20	1,06	521,04
var. 73	1-épi-cubénol	0,22	0,46	211,86
var. 74	γ-eudésmol	0,49	0,81	166,09
var. 75	épi-α-cadinol	0,78	0,79	101,48
var. 76	épi-α-muuro-lol	0,56	0,77	138,36
var. 77	β-eudésmol	0,33	0,86	261,71
var. 78	α-eudésmol	0,90	1,26	139,86
var. 79	α-cadinol	2,57	3,80	147,69
var. 80	bulnésol	0,31	0,72	234,35
var. 81	gurjunène	0,14	0,37	275,06
var. 82	γ-gurjunène	tr	0,22	249,90
var. 83	epi-α-bisabolol	0,16	0,31	200,26
var. 84	2-pentadécane	tr	0,10	310,35
var. 85	(Z,Z)-farnésol	tr	0,23	275,88
var. 86	Oplopénone	0,11	0,53	494,75
var. 87	8-α-acétoxy élémol	0,11	0,24	225,70
var. 88	oxyde de manoyl	tr	0,26	281,80

var. 89	oxyde de 13-épimanoyl	tr	0,12	290,44
var. 90	Abiétatriène	tr	0,01	299,67
var. 91	Abiétadiène	0,13	0,32	249,82
var. 92	phytol	tr	0,06	381,31
var. 93	abiéta-8(14),13(15)-dièn	tr	0,00	435,74
var. 94	4-épi-abiétal	0,12	0,30	254,68
var. 95	<i>trans</i> -tatorial	tr	0,02	624,50
var. 96	<i>trans</i> -ferruginol	tr	0,03	624,50

Les composants majeurs des huiles essentielles de *J. thurifera* sont mentionnés en gras.
tr : les composants qui ont une moyenne inférieurs de 0,1% (<0,1%)

Les principaux constituants responsables de cette variabilité sont: le limonène, le sabinène, le limonène, ‘ α -pinène, l’élémol et l’ α -cadinol (**Figure 48**).

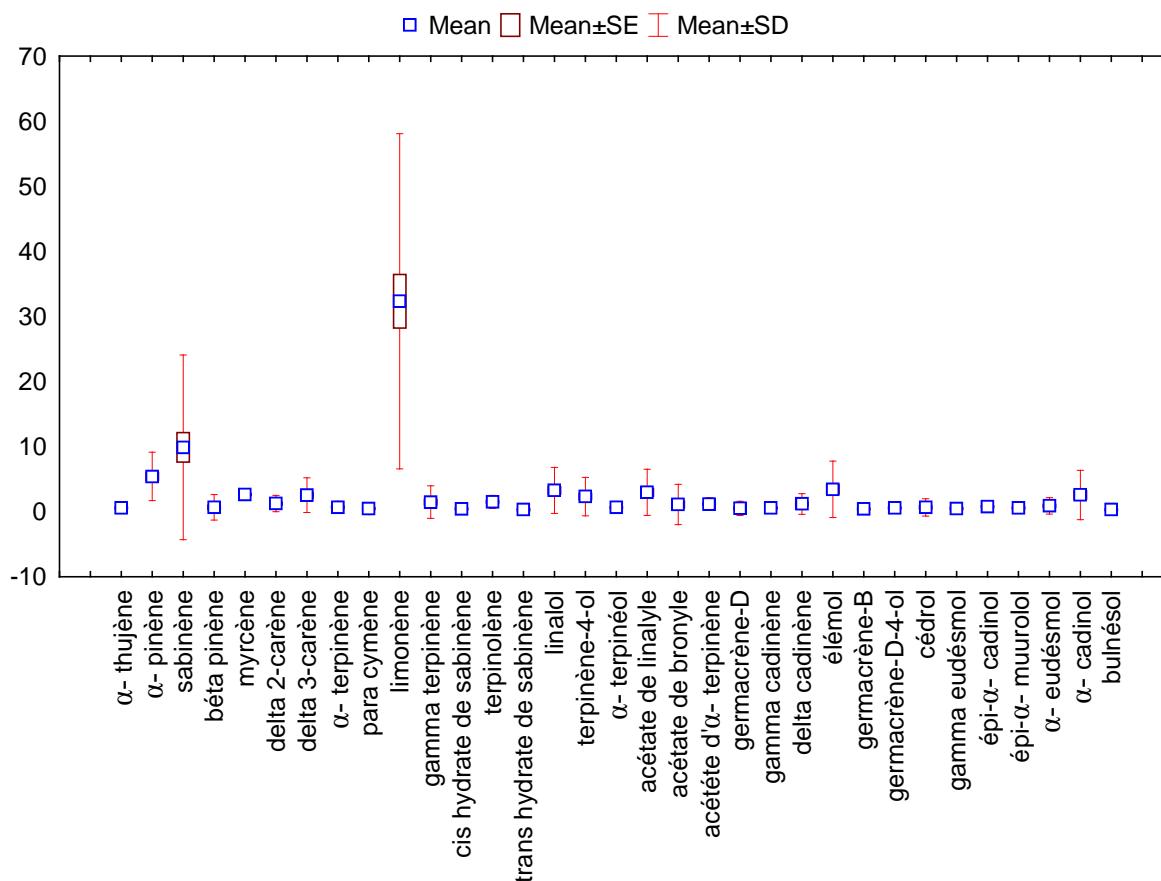


Figure 49: Variation de la concentration des composés de l’huile essentielle chez *J. thurifera*.

II-1-2- L'analyse en composantes principales

L'ACP effectuée sur la matrice de corrélation de quatre-vingt seize composants terpéniques est expliquée par 38 facteurs dont les trois premiers axes représentent 45,54 % de la variance des 39 populations, donnant ainsi une bonne contribution à la variance totale.

II-1-2-1 Etude des variables

a- Matrice de corrélation

L'examen de la matrice de corrélation fait apparaître des coefficients de corrélation un peut faible, 23,43% des variables sont significativement corrélées (Annexe H).

Les principaux constituants des huiles essentielles semblent être fortement corrélés entre eux. Une corrélation négative hautement significative ($r = -0,75$) a été observée entre le limonène et le sabinène (Figure 50).

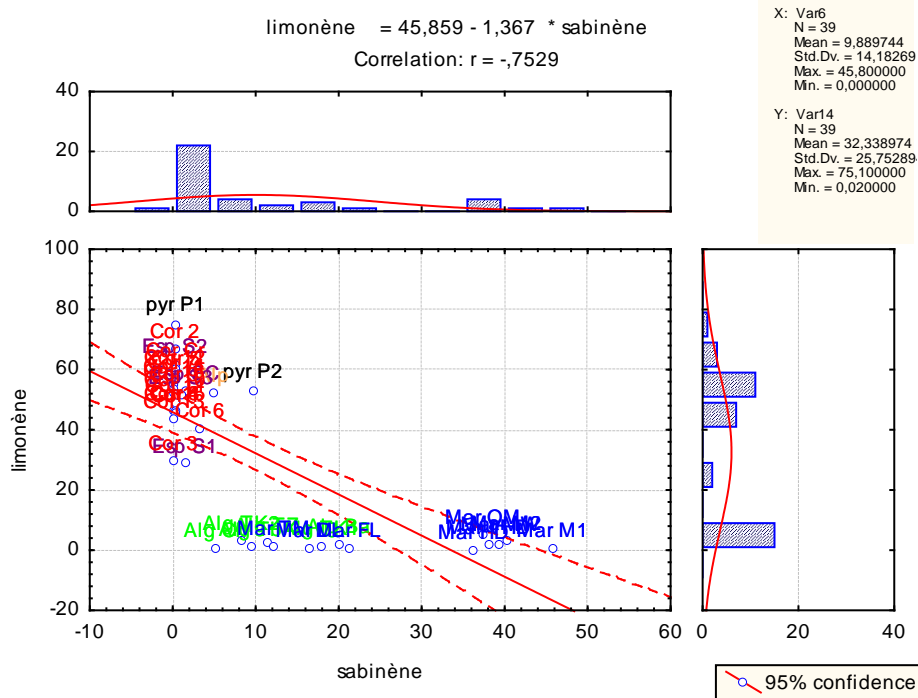


Figure 50: Courbe de corrélation de sabinène et limonène chez les populations de *J. thurifera*.

Les populations Européennes sont caractérisées par une forte teneur en limonène et faible en sabinène, s'opposent aux populations Marocaines qui ont le sabinène en forte concentration et le limonène en faible concentration. Les populations Algériennes s'éloignent un peu de la ligne de régression, elles sont caractérisées par une teneur moyenne en sabinène et faible en limonène.

La courbe de distribution de limonène est asymétrique. Les taxons à faible concentration (populations Nord Africaines) et à forte concentration (populations Européennes) sont plus représentés alors que les populations à moyenne teneur en limonène sont absentes. La courbe de distribution de sabinène est aplatie et dissymétrique à gauche. Les populations riches en ce produit sont bien représentées (populations européennes) par contre les populations à génotypes hétérozygotes (Algériennes) et les génotypes de pauvretés (Marocaines) sont faiblement représentés.

La même relation a été observé entre le sabinène et δ -2-carène avec un $r = -0,65$ (Figure 51).

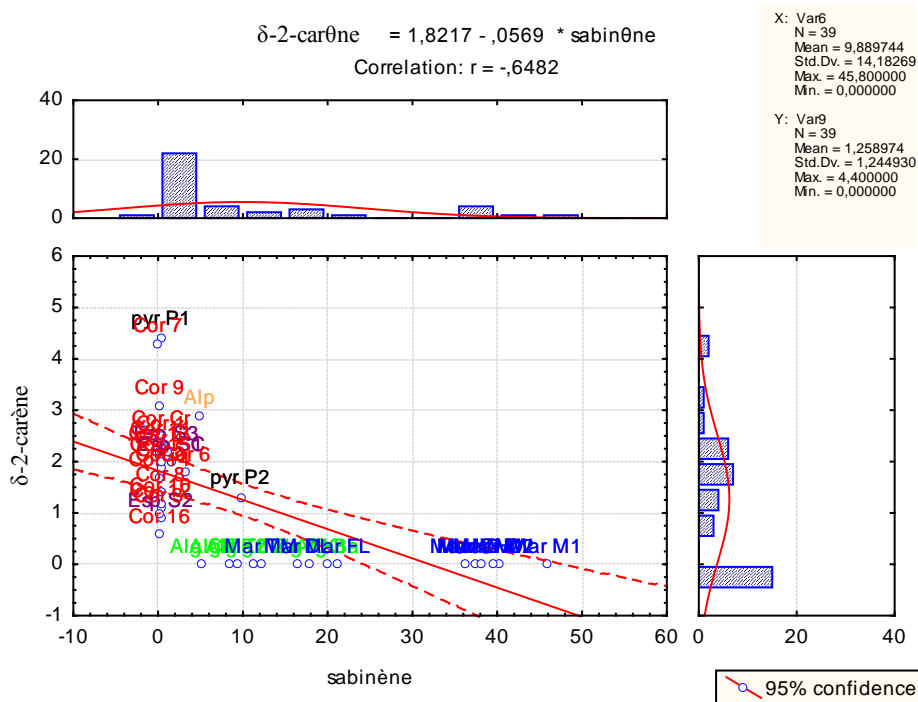


Figure 51: Courbe de corrélation de sabinène et δ -2-carène chez les populations de *J. thurifera*

Une corrélation hautement significative ($r = -0,76$) a été observé entre le limonène et le terpinène-4-ol (**Figure 52**).

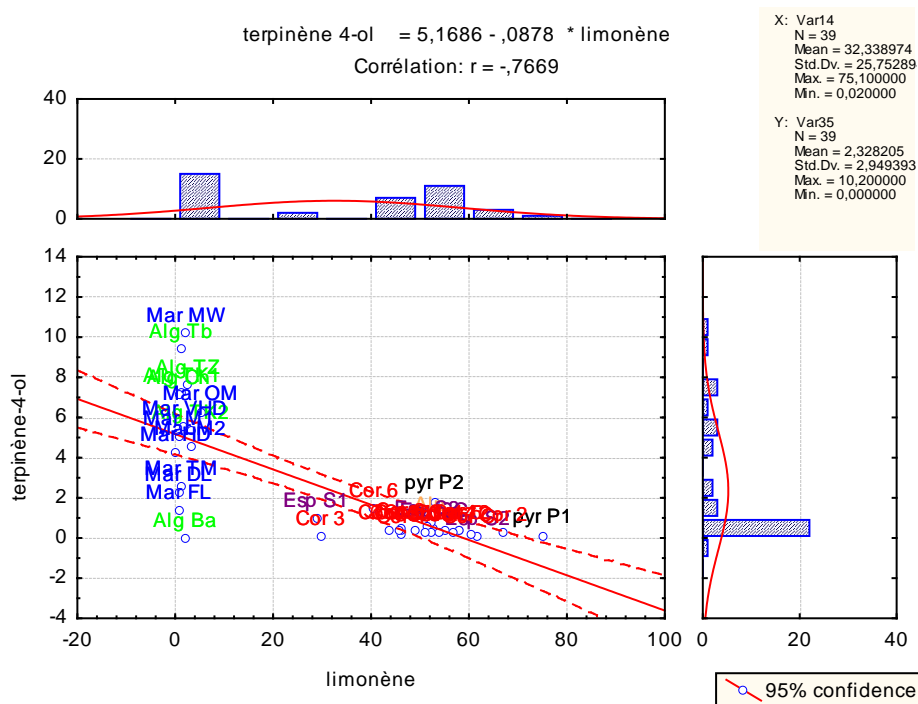


Figure 52: Courbe de corrélation de terpinène-4-ol et limonène chez les populations de *J. thurifera*

La courbe de distribution de terpinène-4-ol est aplatie et dissymétrique à droite, les populations a moyenne teneur en se composé sont très représentés, mais il existe une légère dissymétrie dans la distribution des génotypes. On remarque que les populations pauvres en terpinène-4-ol (les populations Européennes et quelques populations Nord Africaines) sont plus représentées que ceux riches en ce composé (les populations Nord Africaines).

Une corrélation positive hautement significative ($r = 0,83$) a été observée entre le δ -2- Carène et le limonène (**Figure 53**). Les populations Nord africaines sont caractérisées par une faible teneur en ces composés tandis que le contraire pour les populations Européennes.

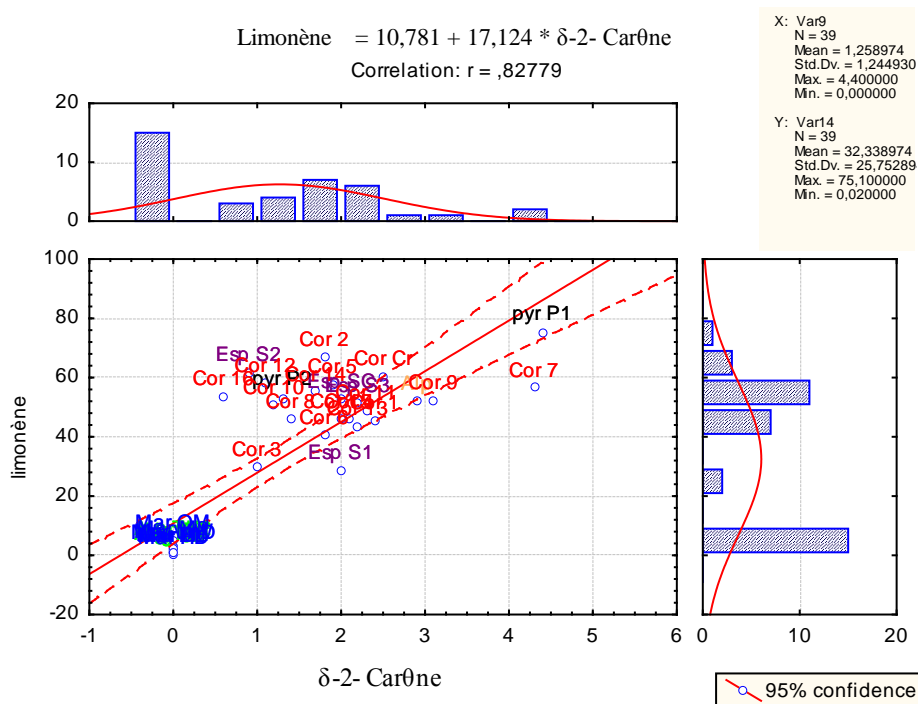


Figure 53: Courbe de corrélation de limonène et δ-2-carène chez les populations de *J. thurifera*.

On remarque aussi l'existence d'une corrélation négative hautement significative entre le limonène et γ-terpinène ($r = -0,68$) (**Figure 54**)

La courbe de distribution de γ-terpinène est trimodale et un peu dissymétrique à droite. Les populations pauvres et qui ont une teneur moyenne en ce composé sont bien représentées, par contre les populations riches en γ-terpinène sont faiblement représentés.

Une forte corrélation ($r = 0,85$) a été observé entre l'α-cadinol et el δ-cadinène. La courbe de distribution est dissymétrique à droite. Les populations pauvres en ces produits sont bien représentées (les populations Marocaines et Européennes) par contre les taxons riches et qui ont une teneur moyenne (populations Algériennes) sont faiblement représentés (**Figure 55**).

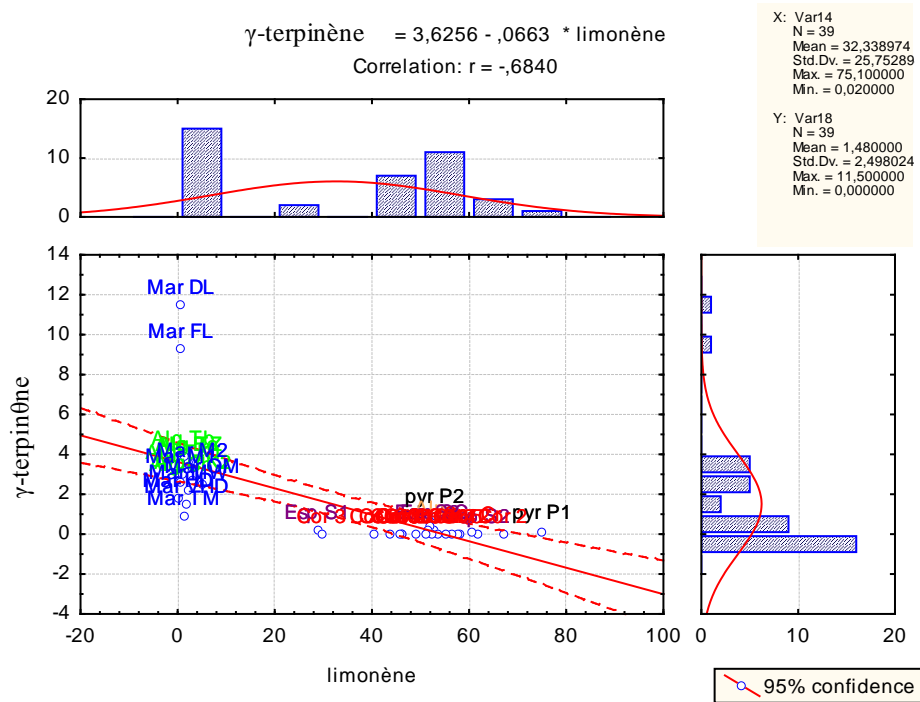


Figure 54 : Courbe de corrélation de limonène et γ -terpinène chez les populations de *J. thurifera*.

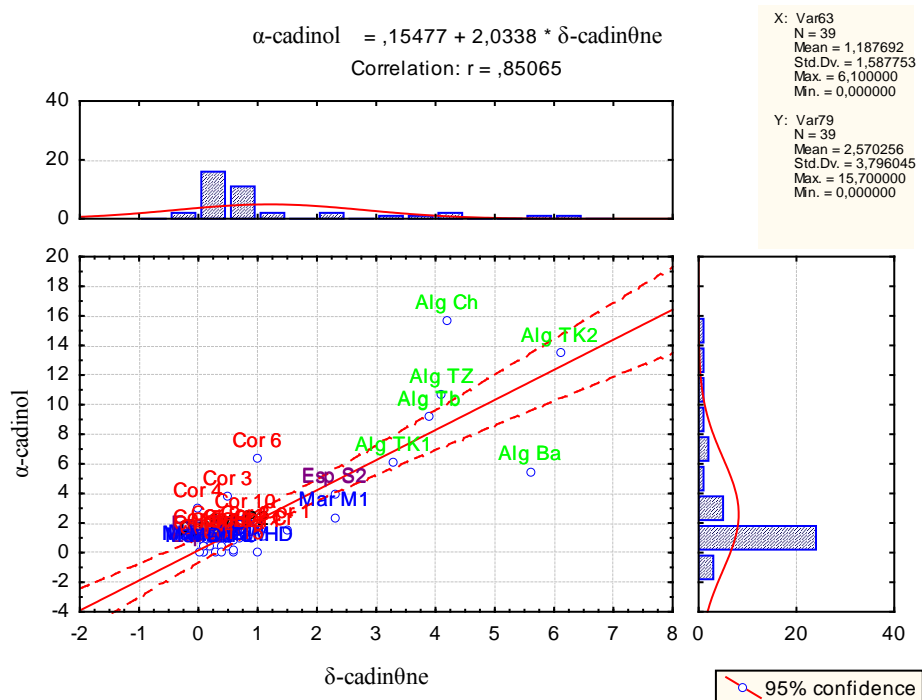


Figure 55: Courbe de corrélation de α -cadinol et δ -cadinène chez les populations de *J. thurifera*.

b- Cercle de corrélation

La représentation du plan formé par les deux premiers axes principaux plan (1/2) (**Figure 56**) montre que la partie positive de l'axe 1 est expliquée par cis-hydrate de sabinène, terpinène-4-ol, acétate de géranyle, β -caryophyllène, α -humulène, cis muurolo-4(14),5-diène, germacrène-D, α -muurolène, γ -cadinène, Δ -cadinène, germacrène-B, β -oplopénone, épi-cédrol, 1-épi-cubénol, γ -eudésmol, épi- α -cadinol, épi- α -muurolol, α -cadinol, bulnésol, gurjunène, abietadiene, et 4-épi-abiétal . Alors que sa partie négative est expliquée par les composants: δ -2-carène et le limonène.

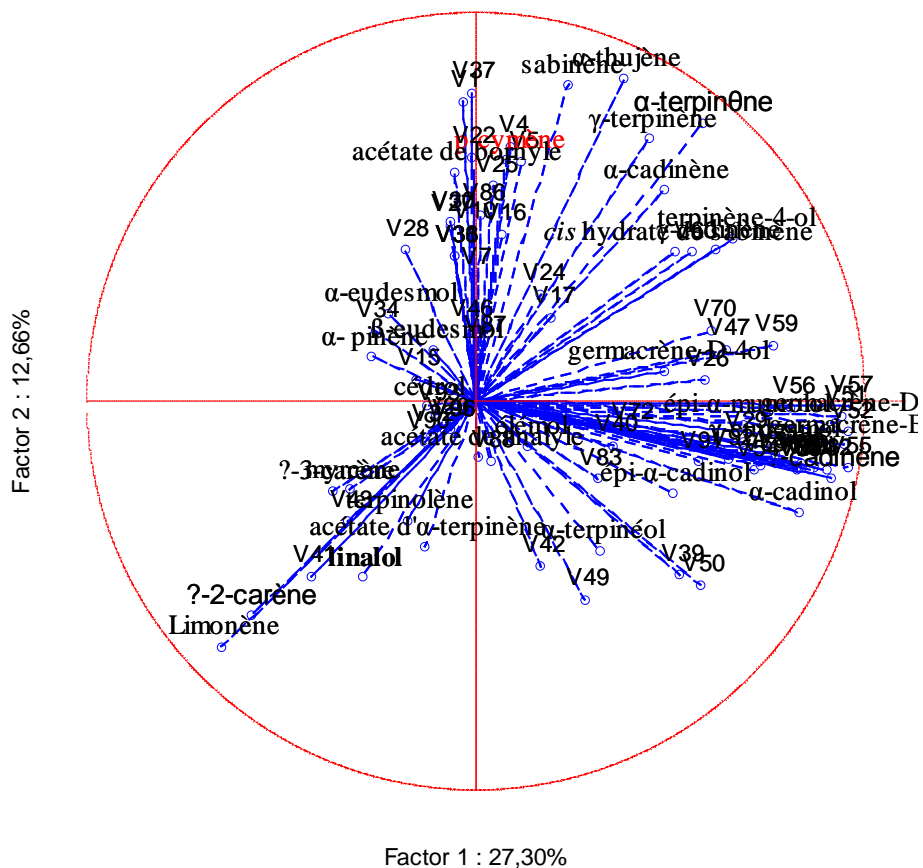


Figure 56 : Projection des variables sur le plan (1x2), des 39 populations de *Juniperus thurifera* L.

La partie positive de l'axe 2 est occupée par les composants: α -thujène, sabinène, α -phellandrène, α -terpinène, p-cymène, γ -terpinène, hydrate de *trans*-sabinène, et l'acétate de bornyle.

Le linalol, l' α -terpinéol et l'acétate de néryle, occupent la partie négative de l'axe deux.

II-1-3-2 Etude des populations

La superposition du plan 1x2 des variables au plan 1x2 des individus montre que nos populations se sont scindées en trois groupes bien distincts (**Figure 57**). Le premier groupe, localisé sur la partie positive de l'axe 1, est formé par les populations algériennes, caractérisées essentiellement par la teneur élevée de **terpinène-4-ol**, **Δ -cadinène**, et **α -cadinol**, en s'opposant au deuxième groupe, formé par le reste des populations, qui sont caractérisées par un taux élevé de **Δ -2-carène**, et le **limonène**.

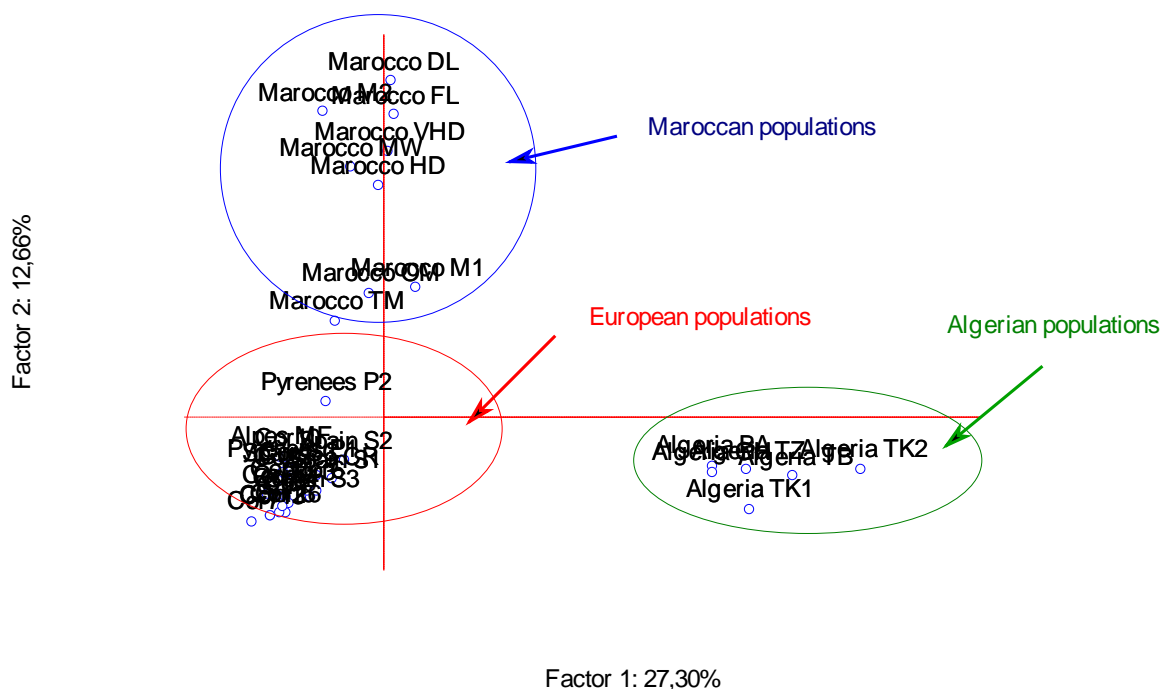


Figure 57: Projection des populations de *J. thurifera*, sur le plan (1x2) basée sur la teneur en composés terpéniques.

Les populations marocaines sont localisées dans la partie positive de l'axe 2, elles sont caractérisées par la présence de sabinène, γ -terpinène et l'acétate de bornyle, tandis que les populations européennes sont localisées dans la partie négative de l'axe 2, caractérisées par un taux élevé de linalol.

La projection spatiale tridimensionnelle des populations basée sur les trois principaux axes (**Figure 58**), confirme la nette séparation des populations de *J. thurifera* en trois sous groupes, confirmant la distinction des populations Algériennes des Marocaines.

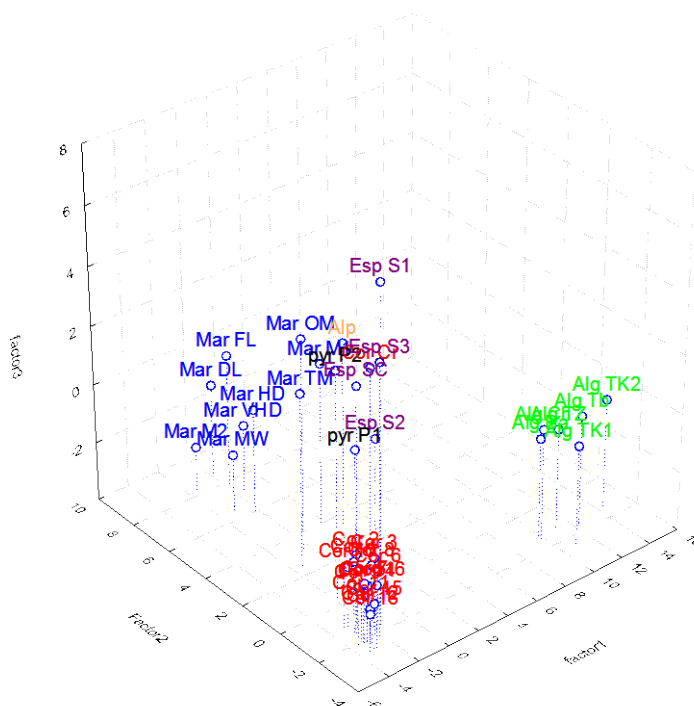


Figure 58: Projection spatiale des populations de *Juniperus thurifera*, basée sur les trois principaux Axes.

II-1-4- L'analyse des clusters UPGMA

L'analyse des clusters UPGMA confirme la séparation des populations de *Juniperus thurifera* L. en deux groupes bien distincts (**Figure 59**). Le premier groupe est représenté par les populations Nord africaines, et le second groupe par les populations européennes. Cette séparation, basée sur la distance du linkage, révèle la présence d'une variabilité importante au sein des populations de *J. thurifera*.

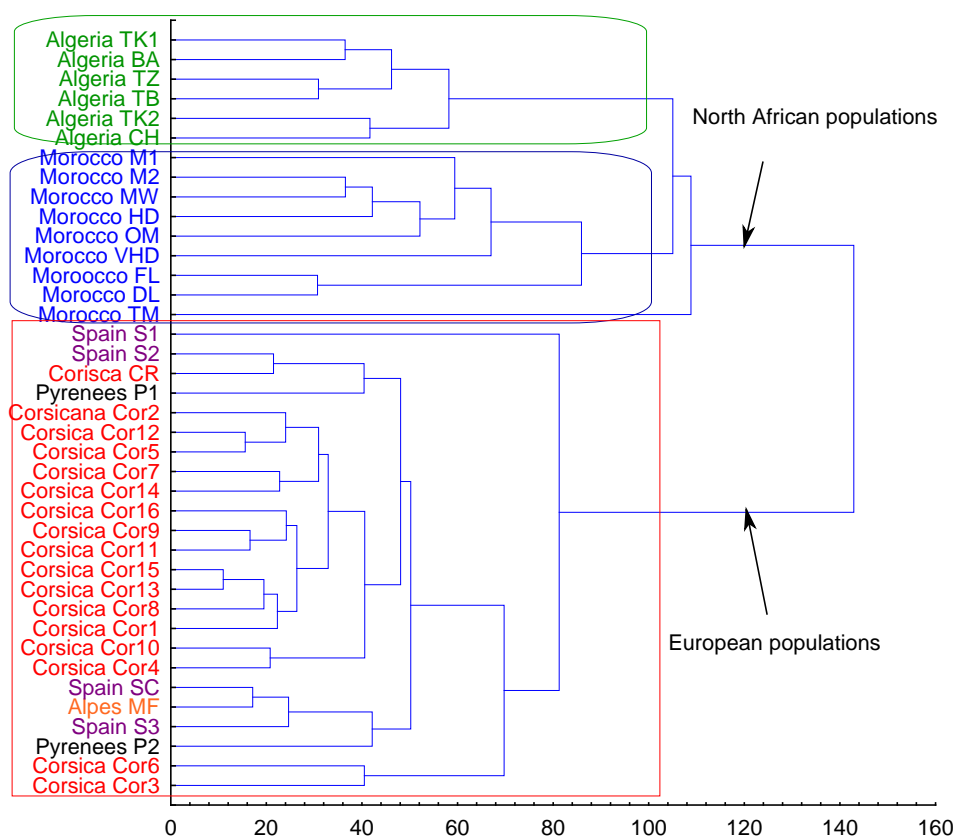


Figure 59: UPGMA cluster des populations de *J. thurifera* basée sur la teneur en composés terpéniques.

Le clade des populations Nord africaines est subdivisé en deux clades, confirmant ainsi la nette séparation des populations algériennes du reste des populations.

Le clade des populations algériennes est subdivisé en trois branches correspondant aux trois chimio-variétés distinguées dans la première partie de la première analyse.

II-2- Discussion

Juniperus thurifera (L., 1753) appartient à la famille des Cupressacées. La problématique liée à sa classification est ancienne d'autant plus que le genre *Juniperus* est très diversifié, issu d'une radiation tertiaire et constitue le genre de Gymnospermes le plus complexe au monde (Gauquelin *et al.*, 2012).

La composition chimique des huiles essentielles des feuilles est très utile pour la différenciation des populations, l'hybridation et l'affectation des individus aux espèces (Adams, 2010). Dans cette étude, on s'est basé sur la composition chimique des huiles essentielles de *J. thurifera* récoltée de différentes localités dans les Aurès en Algérie, dans le but de rechercher leur statut taxonomiques, ainsi que les relations de corrélation et de distinction avec les populations marocaines et les populations européennes.

L'analyse statistique (UPGMA) basée sur la composition chimique des huiles essentielles de trente-neuf populations qui représentent la totalité de l'aire de répartition de *J. thurifera* dans le monde, sépare les populations en deux clades: le clade des populations européennes (*Juniperus thurifera* subsp *thurifera*) qui se caractérisent par la teneur élevée en limonène (30-75%) et faible en sabinène (0-9,7%) (Adams *et al.*, 2003; Achak *et al.*, 2008; Ottavioli, 2009), et le clade des populations nord-africaines (*Juniperus thurifera* subsp *africana*) qui se caractérisent par une teneur élevée en sabinène et faible en limonène (Adams *et al.*, 2003; Achak *et al.*, 2008; Bahri *et al.*, 2013).

Adams *et al.*, (2003), ont démontré que les constituants majeurs des huiles essentielles confirment la différenciation entre les populations marocaines et européennes, tandis que les composés mineurs ne montrent pas beaucoup cette différenciation.

Cette distinction est accordée par d'autres auteurs à partir des études morphologiques (Maire, 1926 ; Gauquelin *et al.*, 1988; Romo *et Boratyński*, 2007; Boratyński *et al.*, 2013; Véla *et Schäfer*, 2013), phytochimiques (Gauquelin *et al.*, 1988, 1999; Akkad *et al.*, 2001; Adams *et al.*, 2001, 2003) et génétiques (Adams *et al.*, 2001; 2003; Jiménez *et al.*, 2003; Terrab *et al.*, 2008; Romo *et al.*, 2013; Teixeira *et al.*, 2014).

Les populations Algériennes très peu étudiés, ont le plus souvent été assimilées de manière péremptoire aux populations marocaines en leur appliquant ainsi sans vérification les conclusions taxonomiques et biogéographiques s'y rapportant (Véla *et Schäfer*, 2013).

L'ACP réalisée sur la matrice de corrélation des 39 populations, a montré que les populations de *J. thurifera* sont divisées en trois groupes distincts, confirmant la séparation des populations Algériennes des autres populations. La concentration de l' α -pinène et du sabinène était plus grande dans l'huile des populations Marocaines, tandis que, les concentrations du Δ -cadinène et l' α -cadinol étaient plus élevées dans l'huile des populations Algériennes.

Deux études seulement concernant les populations Algériennes, pour lesquelles les individus présentent une ressemblance morphologique avec la sous-espèce *africana* des Atlas marocains (Véla *et Schäfer*, 2013), alors que génétiquement sont plus proche de la sous-espèce *thurifera* de l'Europe (Terrab *et al.*, 2008). Dans cet amalgame, la taxonomie du *Juniperus thurifera* doit ainsi être clarifiée.

Terrab *et al.* (2008) en utilisant les marqueurs moléculaires (AFLP) à l'échelle des populations, ont pu mettre la population algérienne en position intermédiaire entre les populations européennes et marocaines, en se rapprochant plus vers les populations européennes.

Faut-il reconnaître que les populations algériennes forment un sous-groupe distinct des populations européennes et marocaines ou représentent-elles simplement une variation géographique interspécifique?

Compte tenu des données présentées dans cette étude, il apparaît que les populations algériennes ne sont pas liées à la subsp. *thurifera*, mais à la subsp. *africana*. Cependant, les terpènes ne sont généralement pas aussi un bon élément dans la prise de décisions phylogénétiques (Adams, 2010).

Farjon (2005), considère, les terpénoïdes (chimio-systématique), dans la classification des espèces comme une preuve non concluante, mais les données de séquences d'ADN peuvent certainement faire la différence (qui est la principale raison de leur supériorité).

Le nombre et la portée des différences terpéniques entre les populations algériennes et européennes indiquent une différenciation considérable. Des recherches supplémentaires, en utilisant la variabilité morphologique, sont nécessaires pour élucider ces relations inter-populations.

CONCLUSION

Les populations Algériennes situées à plus de 1 000 km à l'Est de celles du Maroc, et de 1000 km au sud de celles d'Europe sont souvent exclues des études menues sur cette espèce. Les deux seules travaux concernant les populations algériennes (Terrab *et al.*, 2008 et Véla *et Schäfer*, 2013), ont montré la distinction de ces populations, comme intermédiaires entre subsp. *africana* et subsp. *thurifera*.

Les résultats phytochimiques confirment la séparation des populations Algériennes des autres, et qu'elles sont plus similaires aux populations Marocaines. Donc, un troisième sous ensemble est né, constitué d'une population très isolée géographiquement et en position «intermédiaire», plutôt affine à la sous-espèce marocaine du point de vue morphologique et phytochimique, nettement intermédiaire avec la sous-espèce européenne du point de vue du polymorphisme génétique.

Compte tenu des résultats de cette étude, il semble que les populations algériennes sont beaucoup plus semblables aux populations marocaines, mais il est encore trop tôt pour préciser son statut taxonomique. Par conséquent, nous soutenons la proposition de Véla *et Schäfer* (2013), et le conflit entre les données chimiques et génétiques devrait être résolu sur le plan morphologique.

III- L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE

III-1 Résultats

III-1-1 Composition chimique des huiles essentielles testées

L'hydrodistillation des feuilles de *Juniperus thurifera* L., récoltées à partir des arbres femelles a donné un rendement de 0,45% en huile essentielle, caractérisée par une forte odeur et une couleur jaune claire. Tandis que, le rendement en huiles essentielles extraites à partir des arbres mâles est de 0,53 %, caractérisée par une couleur verte claire.

L'analyse de ces huiles essentielles par la CPG et par la CPG/SM a permis l'identification de 77 composants représentant 97,71 % de la composition chimique de l'huile essentielle, dont ≈ 80 % est représenté par les monoterpènes, où les hydrocarbures monoterpéniques étaient les plus abondants, 63,2 % dans les arbres femelles (AF) et 58,53 % dans les arbres mâles (AM) (**Figure 60**).

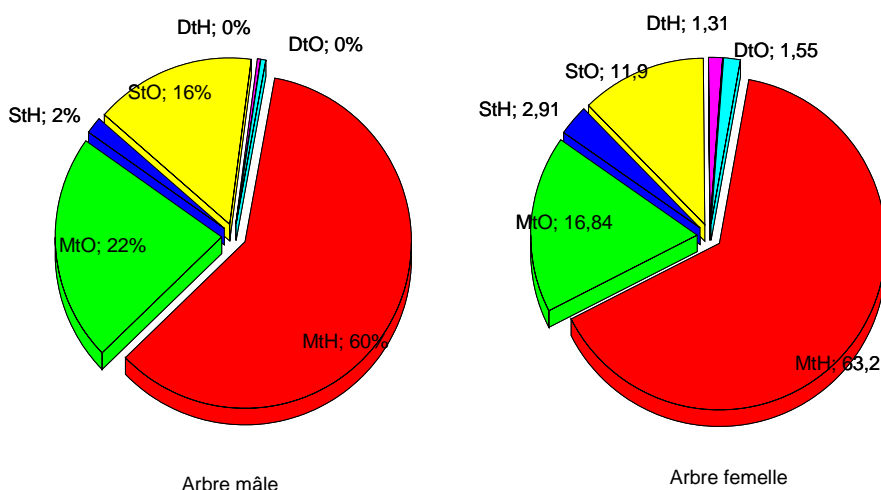


Figure 60: Les principales familles de composés de l'HE des arbres males et femelles.

Les hydrocarbures diterpéniques étaient présents en très faible quantités, 0,28% et 1,31%, les diterpènes oxygénés représentent 0,46 % et 1,51 %, et les hydrocarbures sesquiterpéniques représentent 1,61 % et 2,91 % de l'huile essentielle des arbres mâles et femelles respectivement (**Figure 60**).

Les sesquiterpènes oxygénés sont présents en quantité importante (15,26 % de la teneur totale en huile essentielle extraites des feuilles des arbres mâles), tandis que les huiles essentielles des feuilles des arbres femelles en contiennent 11,9 % de la teneur totale en huile essentielle, dont le composé principal est l'élémol avec un pourcentage de 8,28 % et 3,27 % de l'huile essentielle des arbres mâles et femelles respectivement (**Figure 61**).

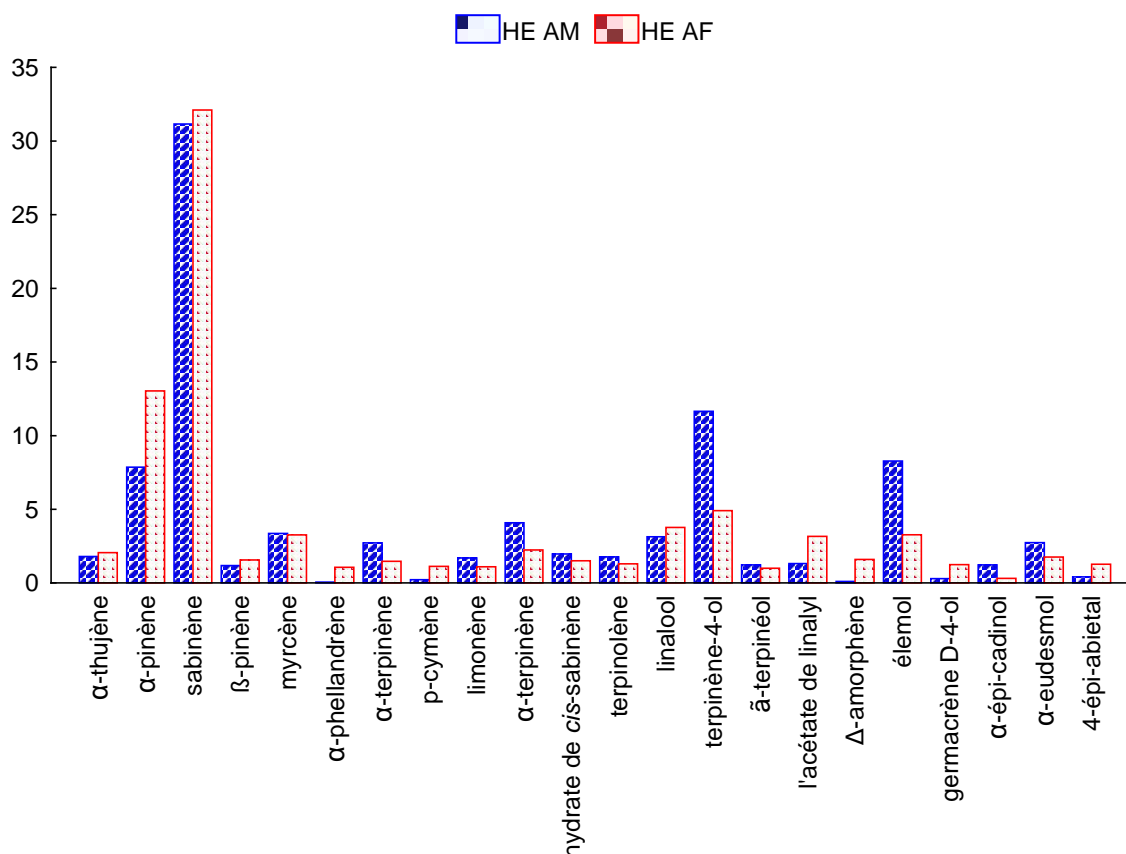


Figure 61: Principaux composants des HE testés dans l'activité antibactérienne.

Les hydrocarbures monoterpéniques sont représentés principalement par le sabinène (32,11 % dans les arbres femelles et 31,16 % dans les arbres mâles) et l' α -pinène (13,04 % dans les arbres femelles et 7,84 % dans les arbres mâles), tandis que le principal monoterpène oxygéné est le terpinèn-4-ol (4,91 % dans les arbres femelles et 11,65% dans les arbres mâles) (**Figure 61**).

L'huile des arbres femelle présentent des concentrations plus élevées en α -thujène, α -pinène, α -phellandrène, p-cymène, acétate de linalyle, Δ -amorphène, germacrène D-4-ol, et le 4-épi-abietal que celle des arbres mâles. Par contre, cette dernière est plus riche en α -terpinène, le γ -terpinène, le terpinène-4-ol, l'élémol, l' α -épi-cadinol et l' α -eudesmol. Cependant, les tendances de gradient de concentration pour les arbres mâles et femelles sont semblables pour le sabinène, le myrcène, le linalol, le β -pinène, le limonène, l'hydrate de cis-sabinène, le terpinolène, et l' α -terpinéol.

Certains composants détectés dans l'huile des arbres femelles sont absents dans l'huile des arbres mâles, y compris le β -phellandrène, l'isobutylbenzène, l' α -muroène, l'époxyde humulène II, le valencène, l' α -muurolol, le β -eudésmol et le phytol.

Le δ -2-carène, le p-cymène-7-ol, la verbénone, pipéritone, le cédrool, le 1-épi-cubénol, cubénol et γ -gurjunène, ont été détectés uniquement dans les huiles des arbres. Mais tous ces composants sont présents généralement en état de traces ne dépassant pas 0.7 % de la composition de l'huile.

Tableau 06: Composition chimique des HE des arbres males et femelles de *J. thurifera*.

Compound	Ki	Male (%)	Female (%)
α -thujène	924	1,8	2,06
α -pinène	932	7,86	13,04
Fenchène	946	0,03	0,1
Camphene	947	0,1	0,15
Sabinène	973	31,16	32,11
β -pinène	976	1,18	1,56
Myrcène	988	3,36	3,26

δ-2-carène	996	0,13	-
α-phellandrène	1006	0,06	1,06
α-terpinène	1015	2,72	1,47
p-cymène	1022	0,22	1,13
Limonène	1027	1,7	1,1
β-phellandrène	1028	-	0,33
(Z)-β-ocimène	1035	0,05	0,11
(E)-β-ocimène	1045	0,21	0,4
γ-terpinène	1057	4,09	2,24
Hydrate de <i>cis</i> -sabinène	1069	1,97	1,51
Terpinolène	1083	1,77	1,3
<i>p</i> -cymenène	1088	0,07	0,13
Linalool	1098	3,14	3,77
<i>cis</i> -thujone	1104	0,17	0,24
<i>trans</i> -thujone	1114	0,17	0,55
<i>cis</i> -p-menth-2-en-1-ol	1123	0,85	0,38
α-comphlénal	1129	0,07	0,22
<i>trans</i> -p-menth-2-en-1-ol	1142	0,52	0,2
Camphor	1144	0,05	0,14
E-tagetone	1147	0,1	0,18
terpinène-4-ol	1181	11,65	4,91
p-cymène-7-ol	1187	0,12	-
α-terpinéol	1195	1,23	1
Verbanone	1205	0,05	-
<i>Trans</i> -pipéritol	1209	0,31	0,2
nérol 1 (80)	1224	0,08	0,12
acétate de linalyl	1250	1,32	3,16
Pipéritone	1255	0,39	-
Pregeijerène	1280	0,59	0,14
acétate de bronyl	1284	0,15	0,2
isobutyl benzene	1287	-	0,07
2,4-decadien-1-ol	1312	0,45	0,15
acétate de terpényl	1350	0,48	0,58
géranyle isobutyrate	1357	0,11	0,28
acétate de géranyle	1377	0,21	0,63
β-caryophyllène	1418	0,04	0,1
α-humulène	1457	0,04	0,08
germacrène-D	1482	0,11	0,21
α-muuroolène	1497	-	0,36
γ-cadinène	1515	0,07	0,12
Δ-amorphène	1517	0,1	1,6
Elémol	1550	8,28	3,27
(E)-nérolidol	1560	0,3	0,33

germacrène D-4-ol	1579	0,29	1,24
Oxyde de Caryophyllène	1585	0,49	0,83
Aromadendr-9-ene	1592	0,13	0,12
Cédrol	1596	0,16	-
humulène époxyde II	1605	-	0,7
épi-cédrol	1613	0,2	0,73
Valencène	1618	-	0,15
1-epi-cubénol	1627	0,36	-
γ-eudésmol	1630	0,26	0,98
α-épi-cadinol	1635	1,23	0,31
Cubénol	1643	0,26	-
α-muurolol	1646	-	0,42
β-eudésmol	1649	-	0,05
α-eudésmol	1659	2,74	1,76
2,6-Dimethyl-1,5-heptadien-4-ol acetate	1666	0,17	0,58
Gurjunène	1668	0,24	0,15
γ-gurjunène	1678	0,42	-
epi-α-bisabolol	1686	0,3	0,22
2-pentadécane	1698	0,33	0,1
(Z,Z)-farnésol	1714	0,09	0,36
Cyclohexène, 1,5,5-triméthyl-6-(2-propénylidène)	1780	0,52	0,42
sandaracopimara-8(14), 15-diene	1962	0,13	0,59
manoyl oxide	1989	0,05	0,28
Abietatriène	2057	0,05	0,13
Abietatriène	2090	0,1	0,45
Phytol	2109	-	0,14
4-epi-abiétal	2299	0,41	1,27
Hydrocarbures monoterpéniques		58,53	63,2
Monoterpènes oxygénés		21,57	16,84
Hydrocarbures Sesquiterpéniques		1,61	2,91
Sesquiterpènes oxygénés		15,26	11,9
hydrocarbures Diterpéniques		0,28	1,31
Diterpènes oxygénés		0,46	1,55

III-1-2 L'activité antibactérienne des HE de *J. thurifera*

L'évaluation de l'activité antibactérienne de ces deux huiles essentielles a été effectuée par la méthode de diffusion sur disque en papier contre 14 souches bactériennes (**Tableau 07**). C'est la technique la plus utilisée dans l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles. Elle sert à prédire la sensibilité d'un germe aux substances étudiées.

Les huiles testées ont inhibées la croissance de la majorité des souches bactériennes, en produisant un diamètre de zone d'inhibition allant de 6 mm (pas d'inhibition) à 17 mm. La zone d'inhibition maximale a été enregistrée contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (17 mm) et *Escherichia coli* ATCC 25922 (16 mm). Par contre la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 est résistante aux deux huiles testées (**Figure 61**).

Il parait que l'activité antibactérienne des huiles testées est en fonction de la bactérie cible et de type de l'huile testée (extraite des arbres mâles ou femelles); l'analyse de la variance a fait ressortir une différence significative entre les résultats des essais antibactériens (**Tableau 08**).

L'huile essentielle des arbres femelles a montré un large spectre d'activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* clinique et *MRSA*) et à Gram négatif (*Escherichia coli* clinique, *Serratia marcescens*, *Proteus permeri*, *Meningo* sp. et *Shigella* sp). Par contre, les huiles essentielles des arbres mâles ont montré un large spectre d'activité antibactérienne contre *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella para*, et *Salmonella spomb*.

Généralement, il semble que les bactéries à gram positif sont plus sensibles que les bactéries à gram négatif.

Tableau 07: Zones d'inhibition (en mm) des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* L.

Souches bactériennes	HE des Feuille de l'arbre mâle		HE des Feuille de l'arbre femelle		Gent	
	Moyenne ± ET	Sensibilité	Moyenne ± ET	Sensibilité		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10.33±1.52	+	16±1	++	36	+++
<i>Staphylococcus aureus</i> (clinique)	12.66±1.15	+	13.33±1.15	+	35	+++
SARM	10.33±0.57	+	13.66±1.52	+	35	+++
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	15.66±0.57	++	7±0.57	-	27	+++
<i>Escherichia coli</i> (clinique)	6.00	-	11.33±0.57	+	23	+++
<i>Serratia marcescens</i>	6.00	-	10.33±0,57	+	6	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	6.00	-	8.33±0.57	-	6	-
<i>Proteus permeri</i>	6.00	-	11.33±1,54	+	17	++
<i>Acinetobacter baumannii</i>	6.00	-	9.66±0.57	+	8	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	6.00	-	6.00	-	32	+++
<i>Salmonella para</i>	12.66±0.57	+	9.66±0.57	+	20	+++
<i>Salmonella spomb</i>	13.66±0.57	+	11±0.57	+	16	++
<i>Meningo</i> sp.	6.00	-	10.66±0.57	+	6	-
<i>Shegnilla</i> sp.	8.33±0.57	-	10±1	+	27	+++

MRSA = Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; Gent. = Gentamicine; HE = huile essentielle; ET = Ecartype ;(-) = non sensible; (+)= sensible; (++) = très sensible; (+++) = extrêmement sensible.

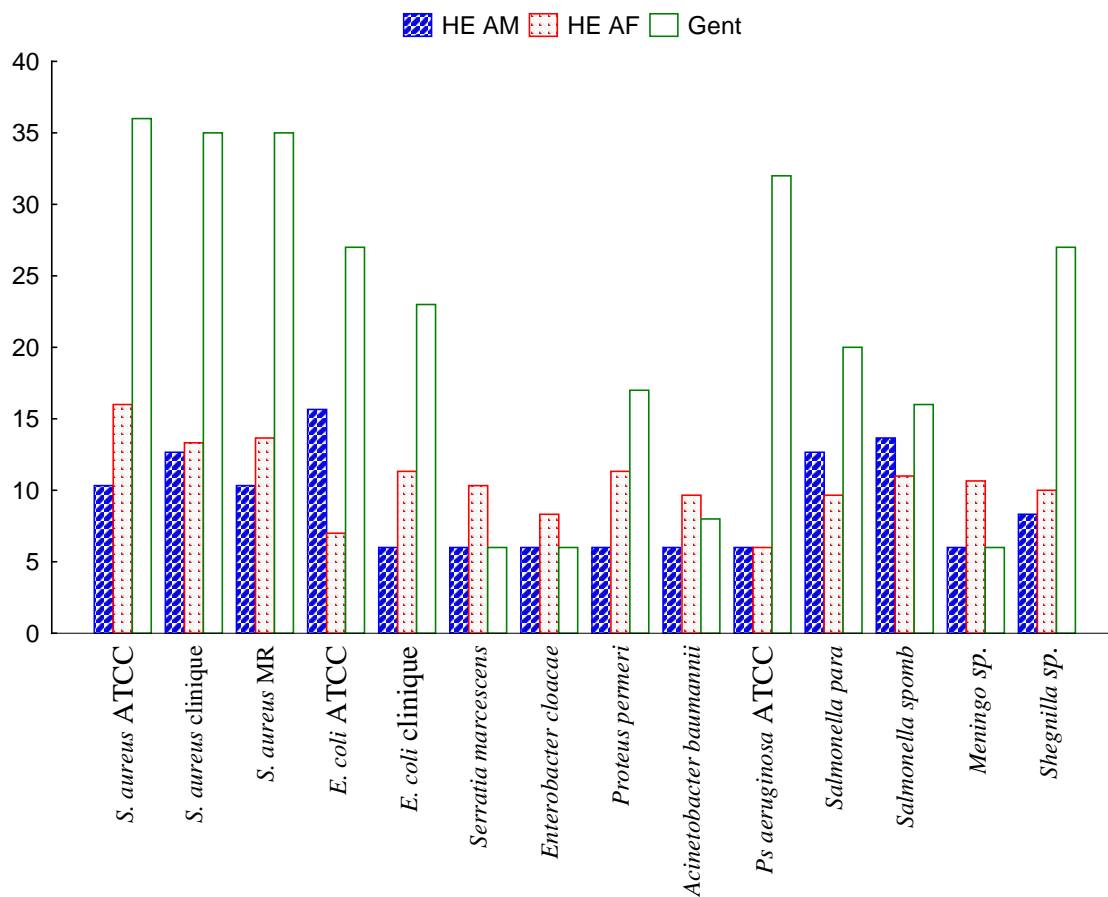


Figure 61: Diamètres des zones d'inhibition des tests de l'activité antibactérienne.

Tableau 08: L'analyse de la variance des deux facteurs contrôlés (type de l'huile essentielle et la souche bactérienne).

	ddl	SC	CM	F	P
Souche bactérienne	13	476,488	36,653	58,09***	0,000
Huile essentielle	1	63,440	63,440	100,55***	0,000
Interaction	13	337,726	25,979	41,17***	0,000
Erreur	56	35,333	0,631		
Total	83	912,988			

III-2- Discussion

III-2-1- Composition chimiques des HE testées

Les individus mâles ont un rendement plus élevé en huiles essentielles que les individus femelles. Ce résultat est similaire à celui obtenu par Asili *et al.* (2008a, 2010) à partir des espèces: *Juniperus communis* subsp. *hemisphaerica*, *Juniperus oblonga* et *Juniperus foetidissima*, et les travaux de Zheljazkov *et al.* (2013), à partir de l'espèce *Juniperus scopulorum* Sarg. Le même résultat a été trouvé à partir de la partie aérienne des individus mâles et d'autres femelles de *Baccharis trimera* (Less.) DC. (*Asteraceae*) (Lago *et al.*, 2008). Par contre, le rendement en huiles essentielles obtenus à partir des feuilles de l'arbre femelle de *Juniperus sabina*, et de *J. excelsa* est supérieur à celui obtenu à partir de feuilles de l'arbre mâle (Asili *et al.*, 2008b, 2010).

Les différences dans la croissance et la concentration de métabolites secondaires liées au sexe ont été documentées dans les plantes dioïques. Les individus mâles se développent généralement plus rapidement que les individus femelles, tandis que les individus femelles consacrent plus de ressources pour la reproduction et la défense chimique que les individus mâles, d'où leur croissance réduite (McGowan *et al.*, 2004; Massei *et al.*, 2006; Cepeda-Cornejo *et Dirzo*, 2010).

Les résultats de la présente étude confirment la prévalence d'hydrocarbures monoterpéniques par rapport à d'autres composants. Un résultat qui a été confirmé par les rares études phytochimiques antérieures menées sur la composition chimique des huiles essentielles extraites à partir des individus mâles et femelles des espèces du genre *Juniperus* L. (Afsharypuor *et al.*, 2007 ; Asili *et al.*, 2008a, b , 210; Emami *et al.*, 2011a).

III-2-2- L'activité antibactérienne des HE testées

Plusieurs études ont rapporté que les HE de *Juniperus thurifera* présentent une importante activité antibactérienne et antifongique (Barrero *et al.*, 2005; Mansouri *et al.*, 2010; Bahri *et al.*, 2013). Les mêmes résultats ont été trouvés chez d'autres espèces du genre *Juniperus* (Angioni *et al.*, 2003; Filipowicz *et al.*, 2003; Pepeljnjak *et al.* 2005; Asili *et al.*, 2008a-2008b-2010; Ennajar *et al.*, 2009; Ait-Ouazzou *et al.*, 2012; Taviano *et al.*, 2013; Lesjak *et al.*, 2014). Alors que les HE d'autres espèces du même genre n'inhibent pas la croissance des souches bactérienne (Ex: *Juniperus excelsa*) (Weli *et al.*, 2014).

Dans la présente étude les huiles essentielles obtenues ont été testées contre 14 souches bactériennes. Les résultats indiquent une action légèrement variable. Il est à noter que les HE des FF, semblent être préférentiellement plus actives, en exerçant une activité inhibitrice plus grande contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, les mêmes résultats sont observés par Balentine *et al.* (2006).

L'activité antibactérienne des substances actives d'origine végétale dépend surtout de la nature des bactéries à Gram positif ou à Gram négatif ; les bactéries Gram+ sont plus sensibles que les bactéries Gram- vis-à-vis des HE testés.

La membrane externe de lipopolysaccharides (LPS) des bactéries à Gram négatifs constitue une barrière d'imperméabilité aux substances hydrophobes, susceptibles d'entrer et d'empêcher la croissance des bactéries à Gram positifs. Dans ces dernières, la couche peptidoglycane se situe à l'extérieur, permettant ainsi à ces bactéries d'être plus disponibles à entrer en contact avec les huiles (Leclerc *et al.*, 1995; Chao *et al.*, 2000).

Elgayyar *et al.* (2001) et Delaquis *et al.* (2002) sont en désaccord avec ce rapport, car pour ces auteurs, il est très difficile de faire de telles généralisations du fait que chaque essence est unique dans sa composition et chaque bactérie à Gram positif diffère considérablement l'une de l'autre en structure et en fonctionnalité.

Conclusion

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles extraites à partir des feuilles des arbres mâles et autres femelles de *Juniperus thurifera* par la CPG et par la CPG/SM, a permis d'identifier 77 composés. Les monoterpènes représentent la partie principale des huiles ($\approx 80\%$ d'huile essentielle). Les composés majoritaires sont le sabinène, l' α -pinène, le terpinène-4-ol, l'élémol, le γ -terpinène et le linalol.

Les huiles essentielles de cette espèce ont été testées sur 14 souches bactériennes. Elles se sont révélées actives contre toutes les souches bactériennes testées à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Les huiles essentielles extraites des individus femelles ont montré une activité bactéricide supérieure à celles des individus mâles. Ceci confirme que le sexe affecte la composition chimique des huiles essentielles ainsi que leur activité biologique.

Conclusion générale

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le but de notre travail est la caractérisation du genévrier thurifère de l'Algérie à travers la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles, la recherche de leur statut taxonomique on se basant sur les marqueurs phytochimiques et la valorisation de cette espèce à partir de l'étude de l'activité antibactérienne des HE extraites des feuilles des individus males et autres femelles.

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles obtenues, par la CPG et par la CPG/SM, a permis l'identification de 79 composés. Les hydrocarbures monoterpéniques est la fraction majoritaire dans l'huile essentielle de *J. thurifera*, suivi par les sesquiterpènes oxygénés, tandis que les diterpènes ne représentent qu'une faible quantité.

L'analyse statistique a révélé la présence de deux chimio-types principales. Le premier groupe (T'kout 1, Baâli, Tizi Nerrsas, Tibhirine) est caractérisé par la prévalence de monoterpènes, surtout le sabinène (9 - 20 %). A l'intérieur du premier groupe la séparation s'est faite sur la base de la teneur en sabinène et l' α -cadinol. Par contre les huiles essentielles du deuxième groupe (Chélia et T'kout 2) sont caractérisées par la prévalence des sesquiterpènes et la dominance de l' α -cadinol. On peut relier cette chimio-variabilité aux facteurs environnementaux, tels que le pH et la composition élémentaire du sol sur lequel le végétal se développe.

D'un point de vue chimio-systématique, la comparaison des profils chromatographiques des six populations et celles décrites dans la littérature, en utilisant l'analyse en composantes principales (ACP), suivie d'une analyse des clusters UPGMA, a révélé des différences significatives entre les populations de *Juniperus thurifera*, et confirmé la nette séparation des populations algériennes des populations européennes et marocaines.

Les huiles essentielles de cette espèce ont été testées sur 14 souches bactériennes. Elles se sont révélées actives contre toutes les souches bactériennes testées à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Les huiles essentielles extraites des individus femelles ont montré une activité bactéricide supérieure à celles des individus mâles.

Nous espérons que les résultats du présent travail contribueront à faire progresser les connaissances systématiques de l'espèce *Juniperus thurifera*, et la caractérisation des populations Algériennes qui sont souvent exclues des études menées sur cette espèce.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdessemed K., 1984; Les problèmes de la dégradation des formations végétales dans l'Aurès (Algérie). Première partie: La dégradation, ses origines et ses conséquences. *Forêt Méditerranéenne*, VI (1): 19-26.
- Achak N., Roman A., Alifriqi M., Adams P. R., 2008 ; Effect of the leaf drying and sources on the essential oil composition of *Juniperus thurifera* L. Var. *africana* (Maire.) from Tensift Alhouz Marrekch (Morocco). *J. Essent. Oil Res.*, 20: 200-204.
- Achak N., Roman A., Alifriqi M., Adams P. R., 2009 ; Chemical studies of leaf essential oils of three species of *Juniperus* from Tensift Al Haouz-Marrakech Region (Morocco). *J. Essent. Oil Res.*, 21(4): 337-341.
- Adams R. P., 1999; Systematics of multi-seeded eastern hemisphere *Juniperus* based on leaf essential oils and RAPD DNA fingerprinting. *Biochem. Syst. Ecol.*, 27: 709-725.
- Adams R. P., 2001; Identification of Essential oil components by Gas chromatography/Mass spectroscopy. Third edition, (Ed.) Allured Publishing Corp., Carol Stream (Ill, USA.). 804 P.
- Adams R. P., 2010; Chemosystematics of *Juniperus*: effects of leaf drying on essential oil composition. *Phytologia*, 92(2): 186-198.
- Adams R. P., 2014; Junipers of the word: the genus *Juniperus*. 4ème édition, (Ed.) Trafford Publishing Co. Bloomington, IN. 415 P.
- Adams R. P., Bartel J. A., Price R. A., 2009; A new genus, *Hesperocyparis*, for the cypresses of the New World. *Phytologia*, 91: 160–185.
- Adams R. P., Mumba L. E., James S. A., Pandey R. N., Gauquelin T., Badri W., 2003; Geographic variation in the leaf oils and DNA Fingerprints (RAPDs) of *Juniperus thurifera* L. from Morocco and Europe. *J. Essent. Oil Res.*, 15: 148-154.
- Adams R. P., Pandey R. N., Gauquelin Th., Badri W., 2001; Systematics of *Juniperus thurifera* using DNA fingerprinting and leaf essential oils: Comparison of the Moroccan *J. thurifera* with populations from Spain and France. *2ème Colloque*

International : Le Genévrier thurifère et les Forêts d'altitude dans les montagnes du pourtour méditerranéen. 17-21 avril 2001.

Adams R. P., Schwarzbach A. E., 2013; Phylogeny of *Juniperus* using nrDNA and four cpDNA regions. *Phytologia*, 95(2): 179-187.

Adams R. P., Thappa R. K., Agarwal S. G., Kapahi B. K., Sarin Y. K., 1992; The volatile leaf oils of *Juniperus semiglobosa* Regel from India compared with *J. excelsa* M.-Bieb. from Greece. *J. Essent. Oil Res.*, 4(2): 143-149.

Afnor (association Française pour la normalisation), 2000; Huiles essentielles. Tom 1: Echantillonnage et méthodes d'analyse 471 P. Tom 2. Vol 1: Monographie relative aux huiles essentielles. éd. PARA Graphic, 323 P.

Afsharypuor S., Rahiminezhad M., Ghaemmaghami L., Soleimani M., Khanmohammadi M., Afsharipour N., 2007; Essential oil constituents of leaves of the male and female shrubs of *Juniperus chinensis* L. from Isfahan. *IJPS*, 3(3): 177-180.

Agence Nationale pour la Conservation de la Nature, 200; Rapport UICN pour l'Afrique du nord : étude d'élevage et du pastoralisme au sein du parc national de Belezma. Genévrier thurifère. *Ministère de l'Agriculture, République Algérienne*, 20P.

Ait-Ouazzou A., Lorán S., Arakrak A., Laglaoui A., Rota C., Herrera A., Pagán R., Conchello P., 2012; Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. *Food Res. Int.*, 45: 313–319.

Akimov A. P., Kuznetsov S. I., Nilov G. I., Chirkina N. N., Krylova A. P., Litvinenko R. M., 1976; Essential oils of Junipers from ancient Mediterranean region. Composition, properties and perspectives of use. *Tr. Nikitsk. Botan. Sad*, 69: 79-93.

Akkad S., Akssira M., Mellouki F., Barrero A. F., Quizel Del Moral J., Arteaga P., Mar Herrador M., Belgarrab A., 2001; Etude de la composition des huiles de *Juniperus thurifera* L. var. *africana* à l'aide du couplage GC-MS. *2ème Colloque International : Le Genévrier Thurifère et les Forêts d'altitude dans les montagnes du pourtour méditerranéen.* 17-21 avril 2001.

- Alviano D. S., Alviano C. S., 2009; Plant extracts: search for alternatives to treat microbial diseases. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 10: 106-21.
- Angioni A., Barra A., Russo M. T., Coroneo V., Dessì S., Cabras P., 2003; Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. *J. Agr. Food Chem.*, 51: 3073-3078.
- Anser A., 2002; L'Aurès Oriental : Un milieu en dégradation. *JARA*. 1: 24-32.
- Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A., Witier P., 1995; Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. (Ed. Masson, Paris). 500 P.
- Asili J., Emami S. A., Rahimizadeh M., Fazly-Bazzaz B. S., Hassanzadeh M. K., 2008a; Chemical and antimicrobial studies of *Juniperus communis* subsp. *hemisphaerica* and *Juniperus oblonga* essential oils. *J. Essent. Oil Bear. Pl.*, 11(1): 96-105.
- Asili J., Emami S. A., Rahimizadeh M., Fazly-Bazzaz B. S., Hassanzadeh M. K., 2008b; Chemical and antimicrobial studies of *Juniperus excelsa* subsp. *excelsa* and *Juniperus excelsa* subsp. *polycarpos* essential oils. *J. Essent. Oil Bear. Pl.*, 11(3): 292-302.
- Asili J., Emami S. A., Rahimizadeh M., Fazly-Bazzaz B. S., Hassanzadeh M. K., 2010; Chemical and antimicrobial studies of *Juniperus sabina* L. and *Juniperus foetidissima* Willd. essential oils. *J. Essent. Oil Bear. Pl.*, 13(1): 25–36.
- Badri W., 2003; Structure, Dynamique et Fonctionnement des peuplements à Genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) dans les Atlas marocains. Thèse de Doct. Sci. Univ. Kadi Ayyad, MARRAKECH.
- Bahri F., Harrak R., Achak N., Romane A., 2013; Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils isolated from *Juniperus thurifera* L. var. *Africana*. *Nat. Prod. Res.*, DOI: 10.1080/14786419.2012.755678.
- Balentine, C.W., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., Duong, D.Q., Pohlman, F.W. 2006. The preand post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Sci.*, 73: 413-421.
- Ballais J.-L., E.B., 1989; « Aurès », In : *Asarakae – Aurès*, Aix-en-Provence, Edisud, 7 : 1066-1095.

- Baradat Ph., Bernard-Dagan C., Fillon C., Marpeau A., Pauly G., 1972 ; Les terpènes du Pin maritime : aspects biologiques et génétiques. II. - Hérité de la teneur en monoterpènes. *Ann. Sci. for.*, 29 (3): 307-334.
- Baradat Ph., Bernard-Dagan C., Pauly G., 1975; Les terpènes du pin maritime : aspects biologiques et génétiques. III. - Hérité de la teneur en myrcène. *Ann. Sci. for.*, 31(1) : 29-54.
- Baradat Ph., Marpeau U.A., 1988 ; Le pin maritime *Pinus maritima* Ait., Biologie et génétique des terpènes pour la connaissance et l'amélioration de l'espèce. Thèse Doc., Univ. Bordeaux-1, 444p.
- Baradat Ph., Yazdani R., 1988; Genetic expression for monoterpenes in clones of *Pinus sylvestris* grown on different sites. *Scand. J. Forest Res.*, 3(1-4): 25-36.
- Barrero A. F., Alvarez-Manzaneda E., Lara A., 1996 ; Novel tricyclic sesquiterpenes from *Juniperus thurifera* L. chemical confirmation of the duprezianane skeleton. *Tetrahedron Lett.*, 37(21): 3757-3760.
- Barrero A. F., Quilez Del Moral J. F., Herrdor M. M., Akssira M., Bennamara A., Akkad S., Aitigri M., 2004; Oxygenated diterpenes and other constituents from Moroccan *Juniperus phoenicea* and *Juniperus thurifera* var. *Africana*. *Phytochemistry*, 65: 2507-2515.
- Barrero A. F., Quílez del Moral J. F., Lara A., Herrador M. M., 2005; Antimicrobial activity of sesquiterpenes from the essential oil of *Juniperus thurifera*. *Planta Med.*, 71(1): 67-71.
- Barrero A. F., Quílez del Moral J., Lara A., 2000 ; Sesquiterpenes from *Juniperus thurifera* L. Stereochemistry in Unusual Cedrane and Duprezianane Series. *Tetrahedron*, 56 (23): 3717-3723.
- Beghami Y., 2013; Ecologie et dynamique de la végétation de l'Aurès: Analyse spatio-temporelle et étude de la flore forestière et montagnard. Thèse Doc., Univ. Biskra. 255P.

- Bekkali F., Averbeck S., Averbeck D., . Idaomar M., 2008; Biological effects of essential oils. *Food Chem. Toxicol.*, 46(2): 446-475.
- Ben Messaoud H., 2010; Etude de la vulnérabilité à la désertification par des méthodes quantitatives numériques dans le massif des Aurès (Algérie). Thèse de Doc., Univ. Batna, 227p.
- Benabadji N., Bouazza M., 2000; Contribution à une étude bioclimatique de la steppe à *Artemisia herba alba* Asso. dans l'Oranie (Algérie occidentale). *Sécheresse*, 11(2) : 117-123.
- Berkane A., Yahiaoui A., 2007; L'érosion dans les Aurès. *Sécheresse*, 18(3): 213-216.
- Bernard-Dagan C., 1988; Biosynthèse of lower terpenoids: genetic and physiological controls in woody plants. In: Basic life Sciences, Vol. 44. Genetic manipulation of woody plants, Hannover J.W. and Keathley D.E. eds., pp.329-351.
- Bertaudière V., 1999 ; Dendroécologie du genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) dans la haute montagne méditerranéenne (Haut Atlas, Maroc) et dans une station xérothermique des Pyrénées centrales (France). *Thèse Doc., Univ. Paul Sabatier, Toulouse*. 234 p.
- Besombes C., 2008 ; Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo mécanique d'herbes aromatiques : applications généralisées. *Thèse Doc., Univ. La Rochelle*, 289P.
- Boratyński A., Jasinska A. K., Marcysiak K., Mazur M., Romo A. M., Boratyńska K., Sobierajska K., Iszkuło G., 2013; Morphological differentiation supports the genetic pattern of the geographic structure of *Juniperus thurifera* (Cupressaceae). *Plant Syst. Evol.*, 299: 773-784.
- Borel A., Polidori J. L., 1983; Le genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) dans le parc national du Mercantour (Alpes maritimes). *Bull. Soc. Bot. France*, 130: 227-242.
- Böszörményi A., Héthelyi É., Farkas Á., Horváth G., Papp N., Lemberkovics É., Szöke É., 2009; Chemical and Genetic Relationships among Sage (*Salvia officinalis* L.)

- Cultivars and Judean Sage (*Salvia judaica* Boiss.). *J. Agr. Food Chem.*, 57 (11): 4663–4667.
- Boudy P., 1952 ; Guide du forestier en Afrique du nord. (Ed.) Maison Rustique. Paris. 505P.
- Breitmaier E., 2006; Terpenes. (Ed.) Die Deutsche Bibliothek. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. 214 P.
- Bretting P. K., Widrechner M. P., 1995; Genetic Markers and Horticultural Germplasm Management. *HortScience*, 30(7) : 1349-1356.
- Bruneton J., 1999; Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. 3^{ème} Edition. (Ed.) Lavoisier Tech et Doc., 1120 P.
- Brunsfeld S. J., Soltis P. S., Soltis D. E., Gadek P. A., Quinn C. J., Strenge D. D., Ranker T. A., 1994; Phylogenetic relationships among the genera of Taxodiaceae and Cupressaceae: evidence from *rbcL* sequences. *Syst. Bot.*, 19: 253–262.
- Burt S. A., Reinders R. D., 2003; Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Lett. Appl. Microbiol.*, 36(3):162-167.
- Busson H., 1900; Les vallées de l'Aurès. In : *Annales de Géographie*, 9(43) : 43-55.
- Cepeda-Cornejo V., Dirzo R., 2010; Sex-related differences in reproductive allocation, growth, defense and herbivory in three dioecious Neotropical Palms. *PLoS One*, 5(3): e9824.
- Chao C., Saito S., Kang J., Anderson C.W., Appella E., Xu Y., 2000; p53 transcriptional activity is essential for p53-dependent apoptosis following DNA damage. *EMBO J.*, 19(18) : 4967–4975.
- Chaumont, Paquin C., 1971; "Carte pluviométrique de l'Algérie du Nord, échelle 1/500 000" (4 feuilles et notice). *Société de l'Histoire Naturelle de Afrique du Nord*, Alger.
- Chaw S. M., Parkinson C. L., Cheng Y., Vincent T. M., Palmer J. D., 2000; Seed plant phylogeny inferred from all three plant genomes: monophyly of extant gymnosperms and origin of Gnetales from conifers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 97: 4086-4091.

- Chaw S. M., Zharkikh A., Sung H. S., Lau T. C., LI W. H., 1997; Molecular phylogeny of extant gymnosperms and seed plant evolution: analysis of nuclear 18S rRNA sequences. *Mol. Biol. Evol.*, 14: 56–68.
- Chen F., Tholl D., Bohlmann J., Pichersky E., 2011 ; The family of terpene synthases in plants: a mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom. *Plant J.*, 66: 212-229.
- Christenhusz M. J. M., Reveal J. L., Farjon A., Gardner M. F., Mill R. R., Chase M. W., 2011; A new classification and linear sequence of extant gymnosperms. *Phytotaxa*, 19: 55–70.
- Connolly, J.D., Hill, R.A., 1991; Dictionary of Terpenoids.1st edition. (Ed.) Chapman and Hall, London. 2156 P.
- Conrad M., 1986; Essai sur la répartition de *Juniperus thurifera* L. en Corse, en 1985. *Le Monde des Plantes*, n°423-424: 1-2.
- Cosentino S., Tuberoso C. I. G., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E., Palmas F., 1999; In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett Appl Microbiol.*, 29(2): 130-5.
- Côte M., 1974 ; Les régions bioclimatiques de l'Est algérien (CURER). Univ. Constantine.
- Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R., Wyllie S.G., 2000; The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J. Appl. Microbiol.*, 88: 170–175.
- Cuardo M. A., Oliveira C. B. A., Jesus J. G., Santos S. C., Seraphin J. C., Ferri P. H., 2006; Environmental factors influence on chemical polymorphism of the essential oils of *Lychnophora ericoides*. *Phytochemistry*, 67: 2363-2369.
- Darriet-Giudicelli F., 2011; Caractérisation de nouvelles molécules et variabilité chimique de trois plantes du continuum Corse-Sardaigne: *chamaemelum mixtum*, *anthemis maritima* et *eryngium maritimum*. Thèse Doc., Univ. Pasqual Paoli, Corse, France.
- De Lartigue R.-J.-F., 1904; Monographie de l'Aurès, par le Lt-colonel de Lartigue, du 3 zouaves. *Ed. Marle-Audrino*, 493 P.

- Debreczy Z., Musial K., Price R. A., Rácz I., 2009; Relationships and nomenclatural status of the Nootka cypress (*Callitropsis nootkatensis*, Cupressaceae). *Phytologia*, 91(1):140-159.
- Degenhardt J., Köllner T. G., Gershenzon J., 2009; Monoterpene and sesquiterpene syntheses and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, 70: 1621–1637.
- Delaquis J. P., Stanich K., Girard B., Mazza G., 2002; Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int. J. Food Microbiol.*, 74 : 101-109.
- Desjobert J. M., Bianchini A., Tommy P., Costa J. et Bernardini A. F., 1997; Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis*, 25(6): 13- 16.
- Dewick P. M., 2002; The biosynthesis of C5–C25 terpenoid compounds. *Nat. Prod. Rep.*, 19: 181–222.
- Didry N., Dubreuil L., Pinkas M., 1993 ; Antimicrobial activity of thymol, carvacrol and cinnamaldehyde alone or in combination. *Pharmazie*, 48: 301–304.
- Djabou N., Allali H., Battesti M. J., Tabti B., Costa J., Muselli A., Varesi L., 2012a; Chemical and genetic differentiation of two Mediterranean subspecies of *Teucrium scorodonia* L. *Phytochemistry*, 74: 123–132.
- Djabou N., Battesti M. J., Allali H., Desjobert J. M., Varesi L., Costa J., Muselli A., 2011; Chemical and genetic differentiation of Corsican subspecies of *Teucrium flavum* L. *Phytochemistry*, 72: 1390–1399.
- Djabou N., Muselli A., Allali H., Dib M. E. A., Tabti B., Varesi L., Costa J., 2012b; Chemical and genetic diversity of two Mediterranean subspecies of *Teucrium polium* L. *Phytochemistry*, 83: 51–62.
- Dodd R. S., Poveda M. M., 2003; Environmental gradients and population divergence contribute to variation in cuticular wax composition in *Juniperus communis*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 31(11): 1257-1270.

- Dorman H. J. D., Deans S. G., 2000; Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, 88: 308–316.
- Duarte A., Santos S., Seraphin J., Ferri P., 2010; Environmental influence on phenols and essential oils of *Myrciaria cauliflora* leaves. *J. Braz. Chem. Soc.* 21: 1672–1680.
- Duarte A., Santos S., Seraphin J., Ferri P., 2012; Influence of Spatial, Edaphic and Genetic Factors on Phenols and Essential Oils of *Myrciaria cauliflora* Fruits. *J. Braz. Chem. Soc.*, 23(4): 737-746.
- Earle C. J., 2012; In: Earle, C.J. (Ed.), Gymnosperm Database. <http://www.geocities.com/~earlecj/pinophyta.htm>.
- Echeverrigaray S., Agostini G., Atti-Serfini L., Paroul N., Pauletti G. F., Atti dos Santos A. C., 2001; Correlation between the Chemical and Genetic Relationships among Commercial Thyme Cultivars. *J. Agr. Food Chem.*, 49(9): 4220–4223.
- Eckenwalder J. E., 1976; Re-evaluation of *Cupressaceae* and *Taxodiaceae*: A proposed merger. *Madroño*, 23: 237-256.
- Elgayyar M., Draughon F. A., Golden D. A., Mount J. R., 2001; Antimicrobial Activity of Essential Oils from Plants against Selected Pathogenic and Saprophytic Microorganisms. *J. Food Protect*, 64(7): 1019-1024.
- Emami S. A., Abedindo B. F., Hassanzadeh-Khayyat M., 2011a; Antioxidant activity of the essential oils of different parts of *Juniperus excelsa* M. Bieb. subsp. *excelsa* and *J. excelsa* M. Bieb. subsp. *polycarpus* (K. Koch) Takhtajan (Cupressaceae). *Iran. J. Pharm. Res*, 10 (4): 799-810.
- Ennajar M., Bouajila J., Lebrihi A., Mathieu F., Abderraba M., Raies A., Romdhane M., 2009; Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L. (Cupressaceae). *J. Food Sci.*, 74(7): M364-71. doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01277.x.
- Fady B., Arbez M., Marpeau A., 1992; Geographic variability of terpenes composition in *Abies cephalonica* Loudon and *Abies* species around the Aegean: hypotheses for their possible phylogeny from the Miocene. *Trees*, 6(3): 162-171.

- Farhat A., 2010 ; Vapo-Diffusion assistée par Micro-ondes : Conception, Optimisation et Application. Thèse Doc., Uni. Avignon et des pays de vaucluse, Uni.Gabès. 136 P.
- Farjon A., 2005: A monograph of *Cupressaceae* and *Sciadopitys*. (Ed.) Royal Botanic Gardens, Kew. Richmond, Surrey, UK. 643 P.
- Farjon A., 2010; A Handbook of the World's Conifers. (Ed.) E.J. Brill, Leiden/Boston. 304 P.
- Farjon A., Nguyen Tien Hiep D. K., Harder P. K. L., Averyanov L., 2002. A new genus and species in Cupressaceae (Coniferales) from Northern Vietnam, *Xanthocyparis vietnamensis*. *Novon*, 12: 179-189.
- Figueredo G., 2007; Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (*Lamiaceae*) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse Doc., Univ. Blaise Pascal, Clermont Ferrand, France. 218 P.
- Filipowicz N., Kamiński M., Kurlenda J., Asztemborska M., Ochocka J. R., 2003; Antibacterial and antifungal activity of juniper berry oil and its selected components. *Phytother Res.*, 17(3): 227-31.
- Fine D. H., Furgang D., Barnett M. L., 2001; Comparative antimicrobial activities of antiseptic mouthrinses against isogenic planktonic and biofilm forms of *actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Clin Periodontol.*, 28: 697-700.
- Fluck H., 1963; Chemical Plant Taxonomy. Ed. T. Swain. Academic press, New York, 543p.
- Gadek P. A., Alpers D. L., Heslewood M. M., Quinn C. J., 2000; Relationships within Cupressaceae *sensu lato*: a combined morphological and molecular approach. *Am. J. Bot.*, 87: 1044–1057.
- Gauquelin Th., Chondroyannis P., Boukhdoud N., Bouyssou M., Caroline BRUNEL, Danneyrolles V, Delforge Q., Guiraud M., Marchand C., Mathaux C., Orighoni H., Quent M., Sbeiti A., Sinet R., 2012 ; Le Genévrier thurifère, espèce partagée au Nord et au Sud de la Méditerranée. *Exemple d'une approche d'écologie globale à l'occasion du IVe colloque international de Saint-Crépin et Mont-Dauphin (5-8 octobre 2011). forêt méditerranéenne, XXXIII(3) : 1-13.*

- Gauquelin T., Bertaudiere V., Cambecedes C., Largier G., 2003; Le Jeneverier thurifere (*Juniperus thurifera* L.) dans les Pyrénées: état de conservation et perspectives. *Acta Bot. Barc.*, 49: 83-94.
- Gauquelin T., Bertaudiere V., Montes N., Badri W., Asmode J. F., 1999; Endangered stands of thuriferous Juniper in the western Mediterranean basin : Ecological status, conservation and management. *Biodivers. Conserv.*, 8: 1479-1498.
- Gauquelin, T., Idrissi Hassni M., Leberton P., 1988; Le genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.)(Cupressacées), analyse biométrique et biochimique, propositions systématiques. *Ecologia Mediterranea*, 14: 31-42.
- Gausсен H., 2014; GYMNOSPERMES: *Encyclopædia Universalis* [en ligne], consulté le 4 août 2014. URL: <http://www.universalis.fr/encyclopedie/gymnospermes/>.
- Golmakani M.T., Rezaei K., 2008a; Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chem.*, 109, 925-930.
- Golmakani M.T., Rezaei K., 2008b; Microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from *Zataria multiflora* boiss. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.*, 110, 448-454.
- Gouat P., Gouat J., 1983; L'habitat du goundi (*Ctenodactylus gundi*) dans le massif de l'Aurès (Algérie). *Mammalia*, 47(4): 507-518.
- Guestem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A. M., 2001; Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, Botanique, Pharmacognosie, phytothérapie. (Ed.) Tec. et Doc. Paris, 273 P.
- Guignard J. L., 2000; Biochimie végétale. 2^{ème} Ed. de l'Abrégé Dunod, Paris. PP 177-185.
- Guignard J. L., Cosson L., et Henry M., 1985; Abrégé de phytochimie, Ed. Masson, Paris, PP155-174.
- Gutierrez J., Barry-Ryan C., Bourke P., 2008; The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *Int. J. Food Microbiol.*, 124 (1):91-97.

- Haider F., Dwivedi P., Singh S., Naqvi A. A., Bagachi G., 2004; Influence of transplanting time on essential oil yield and composition in *Artemisia annua* plants grown under the climatic conditions of subtropical north India. *Flavour Frag. J.*, 19: 51-53.
- Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V., 1999; Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.*, 86: 985–990.
- Hammer, K.A., Carson, C.F., 2011. Antibacterial and antifungal activities of essential oils. In: Thormar, H. (Ed.), *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*. (Ed.) John Wiley & Sons, Ltd, UK, pp. 255–306.
- Hannover J. W., 1992; Applications of terpen analysis in forest genetics. *New Forests*, 6: 159-178.
- Hart J. A., 1987; A cladistic analysis of conifers: preliminary results. *J. Arnold Arbor.*, 68: 269–307.
- Helander I. M., Alakomi H.L., Latva-Kala K.,[‡] Mattila-Sandholm T., Pol I., Smid E. J., Leon G. M. Gorris L. G. M., Wright A. V., 1998; Characterization of the Action of Selected Essential Oil Components on Gram-Negative Bacteria. *J. Agr. Food Chem.*, 46 (9): 3590–3595.
- Hernandez E. G., Martinez C. L., Villanova R., 1987; Determination by gas chromatography of terpenes in the berries of the species *Juniperus oxycedrus* L., *J. thurifera* L., and *J. sabina* L. *J. Chromatogr. A*, 396: 416-420.
- Hussein A.M.S., 1990; Antibacterial and antifungal activities of some Libyan aromatic plants. *Planta Med.*, 56: 644 – 649.
- Inouye S., Takizwa T., Yamaguchi H., 2001 ; Antibacterial Activity of Essential oils and Their Major Constituents Against Respiratory Tract Pathogens by Gaseous Contact. *J. Antimicrob. Chemoth.*, 47: 565-573.
- Iriti M., Colnaghi G., Chemat F., Smadja J., Faoro F., Visinoni F.A., 2006; Histo- cytochemistry and scanning electron microscopy of lavender glandular trichomes following conventional and microwave-assisted hydrodistillation of essential oils: a comparative study. *Flavour Frag. J.*, 21 :704-712.

- Jay J.M., 1996; Microorganisms in fresh ground meats: the relative safety of products with low versus high numbers. *Meat Sci.*, 43: 59 – 66.
- Jimeénez J. F., Werner O., Sanáchez-Goómez P., Fernández S., Guerra J., 2003; Genetic variations and migration pathway of *Juniperus thurifera* L. (Cupressaceae) in the western Mediterranean region. *Isr. J. Plant Sci.*, 51: 11–22.
- Judd W. S., Campbell Ch. S., Kellogg E. A., 2002; Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. (Ed.) De Boek University. 912P.
- Kalemba D., Kunicka A., 2003 ; Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Med Chem.*, 10(10): 813-29.
- Karousou R., Koureas D. N., Kokkini S., 2005; Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. *Phytochemistry*, 66: 2668-2673.
- Keskitalo M., Pehua E., Simonb J. E., 2001; Variation in volatile compounds from tansy (*Tanacetum vulgare* L.) related to genetic and morphological differences of genotypes. *Biochem. Syst. Ecol.*, 29: 267-285.
- Kim H. K., Kim Y. E., Do J. R., Lee Y. Ch., Lee B.Y., 1995; Antioxidative Activity and Physiological Activity of Some Korean Medicinal Plants. *Korean J. Food Sci. Tech.*, 27(1): 80-85.
- Koedam A., 1982; The influence of some distillation conditions on essential oil composition *in* : aromatics plants: basic and applied aspects. (Ed.) Martinus Nijhoff Publishers. Netherlands, 229-236.
- Koedam A., Scheffer J.J.C., Baerheim Svendsen A., 1980; Monoterpenes In the volatile leaf of *Abies X arnoldiana* Nitz. *J. Agr. Food Chem.*, 28: 862-866.
- Kosar M., Özek T., Göger F., Kürkcüoglu M., Can Baser K.H., 2005; Comparison of Microwave-Assisted Hydrodistillation and Hydrodistillation Methods for the Analysis of Volatile Secondary Metabolites. *Pharm. Biol.*, 43, 491-495.
- Kurkin V.A., 2003; Phenylpropanoids from medicinal plants: Distribution, classification, structural analysis, and Biological activity. *Chem. Nat. Compd.*, 39, 123–153.

- Kusumi J., Tsumura Y., Yoshimaru H., Tachida H., 2000; Phylogenetic relationships in Taxodiaceae and Cupressaceae sensu stricto based on matK gene, chlL gene, trnL-trnF IGS region, and trnL intron sequences. *Am. J. Bot.*, 87: 1480–1488.
- Lago J. H. G., Romoff P., Fávero O. A., Souza F. O., Soares M. G., Baraldi P. T., Corrêa A. G., 2008. Chemical composition of male and female *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae) essential oils. *Biochem. Syst. Ecol.*, 36: 737-740.
- Lahlou M., 2004; Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother. Res.*, 18(6): 435-448.
- Lamarti A., Badoc A., Deffieux G., Carde J.-P., 1994; Biogénèse des monoterpènes, II- La chaîne isoprénique. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 133: 79 – 99.
- Lambert R.J.W., Skandamis P.N., Coote P.J., Nychas G.J.E., 2001; A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.*, 91: 453–462.
- Lapie Maige, 1914; Flore forestière illustrée de l'Algérie. (Ed.) Paris. E. Orlhac Ed., 360 p.
- Lawrence B. M., 1995; Essential oils. (Ed.) Allured Publishing Corporation, Carol Stream.
- Leclerc H., Gaillard J.-L., Simonet M., 1995 ; Microbiologie générale. La bactérie et le monde bactérien. (Ed.) Doin Editeurs. 535 P.
- Le-Houerou H. N., 1995; Considérations biogéographiques sur les steppes arides du nord de l'Afrique. *Sécheresse*, 6(2): 167-182.
- Le-Houerou H. N., Claudin J., Pouget M., 1977; *Etude bioclimatique des steppes algériennes avec une carte bioclimatique au 1/1000.000*. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afri. Nord.* 63(3-4): 33-75.
- Lei H., Wang Y., Liang F., Su W., Feng Y., Guo X., Wang N., 2010; Composition and variability of essential oils of *Platycladus orientalis* growing in China. *Biochem. Syst. Ecol.*, 38: 1000-1006.
- Lesjak M. M., Beara I. N., Orcić D. Z., Knežević N., Petarbi Natasća D. S., Svircićev D., Emilijaa Neda M., Mimica-Dukića., 2014; Phytochemical composition and

- antioxydant, anti-inflammatoire et antimicrobienne de *Juniperus macrocarpa* Sibth. et Sm. *J.Funct. Foods*, 7: 257–268.
- Lesjak M. M., Beara I. N., Orčić D. Z., Ristić J. D., Anačkov G. T., Božin B. N., Mimica-Dukić N. M., 2013; Chemical characterisation and biological effects of *Juniperus foetidissima* Willd. *Food Sci. Tech.*, 53(2): 530-539.
- Lima A. S., Trindade H., Figueiredo A. C., Barroso J. G., Pedro L. G., 2010; Volatile and molecular analysis of *Juniperus brevifolia* (Seub.) Antoine, an Azorean endemic species. *Biochem. Syst. Ecol.*, 38: 621-629.
- Little D. P., Schwarzbach A. E., Adams R. P., Hsieh C. F., 2004; The circumscription and phylogenetic relationships of *Callitropsis* and the newly described genus *Xanthocyparis* (Cupressaceae). *Am. J. Bot.*, 91: 1872–1881.
- Lograda T., Ramdani M., Abderazak K., Chalard P., Figueredo G., 2013a; Variation of essential oils composition of *Pituranthos scoparius* in Algeria. *GJRMPIM*, 2(1): 1-9.
- Lograda T., Ramdani M., Chalard P., Figueredo G., 2013b; Characteristics of essential oils of *Rosmarinus officinalis* from eastern Algeria. *GJRMPIM*, 2(12): 794-807.
- Ložiene K., Laboks J., 2012; Effects of abiotic environmental conditions on amount and enantiomeric composition of α -pinene in *Juniperus communis* L. *Biochem. Syst. Ecol.*, 44: 36-43.
- Maire R., 1926; Contribution à l'étude de la flore de l'Afrique du Nord, Fascicule 10. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord.*, 17: 125-126.
- Maire R., 1967; La flore de l'Afrique du Nord, Encyclopédie biologique. (Ed). Paul Lechevalier. Paris, France.
- Mangena T., Muyima N.Y.O., 1999; Comparative evaluation of the antimicrobial activities of Essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Lett. Appl. Microb.*, 28: 291-296.
- Mann J., 1987; Secondary metabolism, 2nd Edition. (Ed.) Oxford, Clarendon Press. 390 P.

- Mansouri N., Santrani B., Ghanmi M., El-Ghadraoui L., Aafi A., Frah A., 2010; Valorisation des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* et de *Juniperus oxycedrus* du Maroc. *Phytothérapie*, 8: 166-170.
- Mao K., Hao G., Liu J., Adams R. P., Milne R. I., 2010; Diversification and biogeography of *Juniperus* (Cupressaceae): variable diversification rates and multiple intercontinental dispersals. *New Phytologist*, 188: 254–272.
- Marino M., Bersani C. Comi G., 1999; Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Thymus vulgaris* L. Measured Using a Bioimpedometric Method. *J. Food Protect.*, 62(9): 1017 -1023.
- Marpeau-Bezard A., Baradat Ph., Bernard-Dagan C., 1975; Les terpènes de pin maritime: Aspects Biologiques et genetiques. IV. Héridité de la teneur en deux sesquiterpènes: le longifolène et le Caryophyllène. *Ann. Sci. Forest.*, 32(4): 185-203.
- Marpeau-Bezard A., Baradat Ph., Bernard-Dagan C., 1983; Les terpènes de pin maritime: Aspects Biologiques et genetiques. V. Héridité de la teneur en limonène. *Ann. Sci. Forest.*, 40(2): 197-216.
- Martínez-Natarén D. A., Parra-Tabla V., Ferrer-Ortega M. M., Calvo-Irabién L. M., 2014 ; Genetic diversity and genetic structure in wild populations of Mexican oregano (*Lippia graveolens* H.B.K.) and its relationship with the chemical composition of the essential oil. *Plant. Syst. Evol.*, 300 : 535-547.
- Masada Y., 1976; Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. (Ed.) Halsted, Nueva York, 334P.
- Massei G., Watkins R., Hartley S. E., 2006; Sex-related growth and secondary compounds in *Juniperus oxycedrus macrocarpa*. *Acta Oecol.*, 29: 135-140.
- Matovská k., Lehotay S. J., 2004; Evaluation of common organic solvents for gas chromatographic analysis and stability of multiclass pesticide residues. *J. Chromatogr. A*, 1040(2) : 259-272.
- McGowan G. M., Joensalo J., Naylor R., 2004; Differential grazing of female and male plants of prostrate juniper (*Juniperus communis* L.). *Bot. J. Scotland*, 56(1): 39-54.

- Meharzi M. –K., 1994; Le rôle de l'orographie dans la répartition spatiale des précipitations dans le massif de l'Aurès. *Méditerranée*, 3-4:73-78.
- Meharzi M. –K., 2010 ; Forêts, géosystèmes et dynamique du milieu: le cas de l'Aurès. Thèse Doc., Univ. Constantine, 258p.
- Mendes M. D., Trindade H., Figueiredo A. C., Barroso J. G., Fontinha S. S., Pedro L. G., 2009; Volatile and molecular characterization of two Portuguese endemic species: *Angelica lignescens* and *Melanoselinum decipiens*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 37: 98–105.
- Miller Ch. N., 1977; Mesozoic conifers. *Bot. Rev.*, 43(2): 217-280.
- Misset N. Th., 1975. Utilisation des métabolismes secondaires en chimie taxonomique, à l'exception des flavonoïdes., Colloque inter. CNRS, 235: 387-408.
- Mitard A. E., 1941; Aperçu des grands traits géographiques de l'Aurès, Algérie. In : *Revue de Géographie Alpine*, 29(4): 557-578.
- Montes N., 1999 ; Potentialités, dynamique et gestion d'une formation arborée à Genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) des Atlas marocains : le cas de la vallée de l'Azzaden. Thèse, Doc., Univ. Paul Sabatier, Toulouse. 203 p.
- Moreira M.R., Ponce A.G., del Valle C.E., Roura S.I., 2005; Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT - Food Sci. Technol.*, 38(5): 565–570.
- Nist, 2002; Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, vers. 2.0. *fiveash data, USA*.
- Ottavioli J., 2009; Contribution de la RMN 13C à l'analyse d'huiles essentielles et d'oléorésines: caractérisation de genévriers et du pin maritime de Corse. Thèse Doc., Univ. Pascal Paoli, Corse, France.
- Outtarar B., Simard R.E., Holley R.A., Piette G.J. , Bégin A., 1997 ; Antimicrobial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms *Int. J. Food Microbiol.*, 37: 155 – 162.

- Padrini F., Luncheroni M. T., 1996; Le grand livre des huiles essentielles-Guide pratique pour retrouver vitalité-Bien-être et beauté avec les essences et l'aromassage énergétiques avec plus de 100 photographies. (Ed.) de Vecchi, Paris, PP 11-15.
- Pepeljnjak S., Kosalec I., Kalodera Z., Blazević N., 2005; Antimicrobial activity of juniper berry essential oil (*Juniperus communis* L., Cupressaceae). *Acta Pharm.*, 55(4):417-22.
- Pibiri M.C., 2006; Assainissement microbiologique de l'air et des systems de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doct., Univ. Lausanne, 161p.
- Picaud S., Olofsson L., Brodelius M., Brodelius P. E., 2005; Expression, purification, and characterization of recombinant amorpho-4,11-diene synthase from *Artemisia annua* L. *Arch. Biochem. Biophys.* 436(2):215-26.
- Picaud S., Olsson M. E., Brodelius M., Brodelius P. E., 2006; Cloning, expression, purification and characterization of recombinant (+)-germacrene D synthase from *Zingiber officinale*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 452(1):17-28.
- Pilger R., 1926; Coniferae. In A. Engler [ed.], Die Naturlichen Pflanzenfamilien, 2nd edition, (Ed.) Dunker and Humblot, Berlin, Germany.
- Pittermann J., Stuart S. A., Dawson T. E., Moreau A., 2012; Cenozoic climate change shaped the evolutionary ecophysiology of the *Cupressaceae* conifers. *PNAS*, 109(24): 9647–9652.
- Ponce A. G., Fritz R., del Valle C., Roura S. I., 2003; Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Sci. Technol.*, 36: 679-684.
- Powell R.A., Adams R.P., 1973; Seasonal variation in the volatile terpenoids of *Juniperus scopulorum* (Cupressaceae). *Am. J. Bot.*, 60:1041-1051.
- Prat D., Rampant P. F., Prado E., 2006; Analyse du génome et gestion des ressources génétiques forestières. (Ed.) Editions Quae, 456 p

- Price R. A., Lowenstein J. M., 1989; An immunological comparison of *Sciadopityaceae*, *Taxodiaceae* and *Cupressaceae*. *Syst. Bot.*, 14: 141–149.
- Quezel P., Gast M., 1998; « Genévrier », in *Encyclopédie berbère*, 20 | Gauda – Girrei, Aix-en-Provence, Ed. isud (« Volumes », 20: 3016-3023.
- Quezel P., Santa S., 1962; Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. (Ed.) CNRS. Paris, France.
- Quinn C. J., Price R. A., Gadek P. A., 2002; Familial concepts and relationships in the conifers based on *rbcL* and *matK* sequences comparisons. *Kew Bull.*, 57: 513–531.
- Rafii Z. A., Dodd R. S., Zavarine E.; 1996. Genetic Diversity in Foliar Terpenoids Among Natural Populations of European Black Pine. *Biochem. Syst. Ecol.*, 24(4): 325-339.
- Rai H. S., Reeves P., Peakall A. R., Olmstead R. G., Graham S.W., 2008; Inference of higher-order conifer relationships from a multi-locus plastid data set. *Botany*, 86: 658–669.
- Ramdani M., Lograda T., 2008; Foliar sesquiterpene variations in natural populations of *Cupressus dupreziana* in Tassili n'Ajjer (Algeria). *Asian J. Plant Sc.*, 7: 1-5.
- Ramdani M., Lograda T., Chalard P., Chalchat J.C., Figueredo G., 2011; Chemical Variability of Essential Oils in Natural Populations of *Cupressus dupreziana*. *Nat. Prod. Commun.*, 6: 87-92.
- Ramdani M., Lograda T., Chalard P., Figueredo G., Chalchat J.C., Zeraib A., 2012; Essential oils variability in natural Hahadjerine population of *Cupressus dupreziana* in Tassili n'Ajjer (Algeria). *J Forest Res.*, 1:101. doi:10.4172/jfor.1000101.
- Ramdani M., Lograda T., Silini H., Zeraib A., Chalard P., Figueredo G., Bouchaala M., Zerrar S., 2013a; Antibacterial activity of Essential oils of *Juniperus phoenicea* from Eastern Algeria. *J. App. Pharm. Sci.*, 3(11): 22-28.
- Ramdani M., Lograda T., Zeraib A., Chalard P., Figueredo G., Bouchaala M., Zerrar S., 2013b; Characteristics of essential oils of *juniperus phoenicea* from eastern Algeria. *GJRMI*, 2(9): 613-623.

- Ramdani M., Rached O., Lograda T., Aggun A., 2007; Genetic diversity in foliar terpenoids among natural populations of *Cupressus duperziana* in Tassili n'Ajjer (Algeria). *Asian J. Plant Sc.*, 6(8): 1211-1216.
- Rameau J. C., Mansion D., Dumé G., 2008; Flore forestière française: Région Méditerranéenne. (Ed.) Inst. pour le développement forestière. PP 267, 304, 305.
- Raut J. Sh., Karuppayil S. M., 2014; A status review on the medicinal properties of essential oils. *Ind. Crop. Prod.*, 62: 250–264.
- Raven P. H., Johnson G. B., Mason K. A., Losos J. B., Singer S. S., 2011; Biologie. De Boek. PP 603.
- Rezvanpanah S., Rezaei K., Hadi Razavi S., Moini S., 2008 ; Use of Microwave-assisted Hydrodistillation to Extract the Essential Oils from *Satureja hortensis* and *Satureja Montana*. *Food Sci. Technol. Res.*, 14, 311-314.
- Rodrigues L., Póvoa O., Berg C., Figueiredo A.C., Moldão M., Monteiro A., 2013 ; Genetic diversity in *Mentha cervina* based on morphological traits, essential oils profile and ISSRs markers. *Biochem. Syst. Ecol.* 51: 50–59.
- Romo A. M., Hidalgo O., Boratyński A., Sobierajska K., Jasińska A. K., et al., 2013; Genome size and ploidy levels in highly fragmented habitats: the case of western Mediterranean *Juniperus* (Cupressaceae) with special emphasis on *J. thurifera* L. *Tree Genet. Genomes*, 9: 587–599.
- Romo A., Boratynski A., 2007; Nomenclatural note on *Juniperus thurifera* subsp *africana* (Cupressaceae). *Ann. Bot. Fenn.*, 44: 72-75.
- Ruiz de la Torre J., 2006; Flora Mayor. (Ed.) Organismo Autónomo Parques Nacionales, Madrid, 1759 P.
- Ruzicka L., 1953; The isoprene rule and the biogenesis of terpenic compounds. *Experienta*, 9(10): 357-367.

- Rydin C., Källersjö M., Friis E. M., 2002; Seed plant relationships and the systematic position of Gnetales based on nuclear and chloroplast DNA: conflicting data, rooting problems, and the monophyly of conifers. *Int. J. Plant Sci.*, 163: 197-214.
- San Feliciano A., Medarde M., Lopez J.L., Miguel del Corral J.M., Barrero A.F., 1986: Two new cinnamyl isovalerate derivatives from *Juniperus thurifera* leaves. *J. Nat. Prod.*, 49 : 677–679.
- San Feliciano A., Medarde M., Lopez J.L., Miguel del Corral J.M., Puebla P., Barrero A.F., 1988; Terpenoids from leaves of *Juniperus thurifera*. *Phytochemistry*, 27: 2241–2248.
- San Feliciano A., Miguel del Corral J. M., Lopez J. L., De Pascual-Teresa B., 1992a; 8-hydroxy-labdanes from *Juniperus thurifera*. *Phytochemistry*, 31(5): 1713–1717.
- San Feliciano A., Miguel del Corral J. M., Lopez J. L., De Pascual-Teresa B., 1992b; Labdane acids from polar extracts of *Juniperus thurifera*. *Phytochemistry*, 31(5): 1719–1722.
- San Feliciano A., Miguel del Corral J. M., Lopez J. L., De Pascual-Teresa B., 1993; Further diterpene acids from *Juniperus thurifera*. *Phytochemistry*, 33(5): 1165–1167.
- Santoni V., Kieffer S., Desclaux D., Masson F., Rabilloud T., 2000; Membrane proteomics: use of additive main effects with multiplicative interaction model to classify plasma membrane proteins according to their solubility and electrophoretic properties. *Electrophoresis*, 21(16):3329-44.
- Santos F. S. R., Novales M. G. M., 2012; Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotech.*, 23:136–41.
- Schmidt M., Schneider-Poetsch H. A.W., 2002; The evolution of gymnosperms redrawn by phytochrome genes: the Gnetales appear at the base of the gymnosperms. *J. Mol. Evol.*, 54: 715–724.
- Schulz Ch., Stützel T., 2007; Evolution of *taxodiaceous Cupressaceae (Coniferopsida)*. *Org. Divers. Evol.*, 7(2):124–135.
- Sell C.S., 2006; The Chemistry of Fragrance. From Perfumer to Consumer. 2nd edition. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. 329 p.

- Shanjani P. S., Mirza M., Calagari M., Adams R. P., 2010; Effects drying and harvest season on the essential oil composition from foliage and berries of *Juniperus excelsa*. *Ind. Crop. Prod.*, 32(2): 83-87.
- Smith-Palmer A., Stewart J. et Fyfe L., 1998; Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett. In Appl. Microbiol.*, 26: 118-122.
- Stashenko E.E., Jaramillo B.E., Martinez J.R., 2004a; Analysis of volatile secondary metabolites from Colombian *Xylopia aromatica* (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography. *J. Chromatogr. A*, 1025, 105-113.
- Stashenko E.E., Jaramillo B.E., Martinez J.R., 2004b ; Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. *J. Chromatogr A*, 1025, 93-103.
- Stefanovic´ S., Jager M., Deutsch J., Broutin J., Masselot M., 1998; Phylogenetic relationships of conifers inferred from partial 28S rRNA gene sequences. *Am. J. Bot.*, 85: 688–697.
- Svoboda k. P., Svoboda T G., 2000; Secretory structures of Aromatic and medicinal plant: a review and atlas of micrographs. *In*. Polly M. Syred. (Ed). Microscopix Publications, Middle Travelly, Beguildy, Knighton. Powys LD7 1 UM. U.K. 60 P.
- Svoboda k. P. Greenaway R. I., 2003; Investigation of valatile oil gland of *satureja hortensis* L. (*Summer savory*) and phytochemical comparison of different varieties. *Int. Jour. Arom.*, 13 (4): 196-202.
- Tagu D., 1999; Principes des techniques de biologie moléculaire. (Ed.) INRA, 132 p.
- Taviano M. F. , Marino A., Trovato A., Bellinghieri V., Melchini A., Dugo P., Cacciola F., Donato P., Mondello L., Güvenç A., De Pasquale R., Miceli N., 2013; *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus* and *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *macrocarpa* (Sibth. & Sm.) Ball. “berries” from Turkey: Comparative evaluation of phenolic profile, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities. *Food Chem. Toxicol.*, 58: 22-29.

- Teixeira H., Rodríguez-Echeverría S., Nabais C., 2014; Genetic Diversity and Differentiation of *Juniperus thurifera* in Spain and Morocco as Determined by SSR. *PLoS One*, 9(2): e88996. doi:10.1371/journal.pone.0088996.
- Temagoult O., 1988; Inventaire et répartition du Genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.). Memoire Ing. I.N.E.S Agronomie, BATNA. 61 P.
- Teresa J.P., Barrero A.F., Feliciano A.S., Caballero M.C., 1980 ; Componentes de las arcestidas de *J. thurifera* Linnaeus aceite esencial, *Rivista Italiana EPPOS*, 62: 116-120.
- Terrab A., Schönswetter P., Talavera S., Vela E., Stuessy T. F., 2008; Range-wide phylogeography of *Juniperus thurifera* L., a presumptive keystone species of western Mediterranean vegetation during cold stages of the Pleistocene. *Mol. Phylogent. Evol.*, 48: 94–102.
- Thi N.D.T., Anh T.H, Thach L.N., 2008; The essential oil composition of *Eryngium foetidum* L. in South Vietnam extracted by hydrodistillation under conventional heating and microwave irradiation. *J. essent. oil bear. pl.*, 11, 154-161.
- Tikhonova I. V., Aniskina A. A., Loskutov S. R., 2014 ; Correlations between the Contents of Volatile Compounds in Needle Samples from Scots Pine Populations of Southern Siberia. *Russ. J. Ecol.*, 45(4): 256–262.
- Trombetta D., Castelli F., Sarpietro M. G., Venuti V., Cristani M., Daniele C., Saija A., Mazzanti G., Bisignano G., 2005 ; Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes. *Antimicrob. Agents Ch.*, 49(6): 2474–2478.
- Tsumura Y., Yoshimura K., Tomaru N., Ohba K., 1995; Molecular phylogeny of conifers using RFLP analysis of PCR-amplified specific chloroplast genes. *Theor. Appl. Genet.*, 91: 1222-1236.
- Véla E., Schäfer P. A., 2013; Typification de *Juniperus thurifera* var. *africana* Maire, délimitation taxonomique et conséquences nomenclaturales sur le Genévrier thurifère d'Algérie. *Ecologia mediterranea*, 39 (1): 69-80.
- Vigan M., 2010; Essential oils: renewal of interest and toxicity, *Euro. J. Dermatol.*, 20(6): 685-92.

- Vila R.; Mundina M., Tomi F., FurSan R., Zacchino S., Casanova J., Canigüreal S., 2002; Composition and antifungal activity of the essential oil of *Solidago chilensis*. *Planta Med.*, 68:164-167.
- Weli A. M., Al-Hinaia S. R. K., Hossaina M. M., Al-Sabahi J. N., 2014; Composition of essential oil of Omani *Juniperus excelsa* fruit and antimicrobial activity against food borne pathogenic bacteria. *JTUSCI*, 8: 225–230.
- Yang Zu-Yu, Ran J. H., Wang X. Q., 2012; Three genome-based phylogeny of Cupressaceae *s.l.*: Further evidence for the evolution of gymnosperms and Southern Hemisphere biogeography. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 64(3): 452–470.
- Yuan Y., Liu Y. J., Huang L. Q., Cui G. H., Fu G. F., 2009; Soil acidity elevates some phytohormone and β -Eudesmol contents in Roots of *Atractylodes lancea*. *Russ. J. Plant Physiol.*, 56:133-137.
- Zaika L. L., 1988; Spices and Herbs - Their antimicrobial activity and its determination. *J. Food Safety*, 9(2): 97-118.
- Zeraib A., 2010; Monographie du genre *Moricandia* DC. de l'est algérien. Mémoire de Mag., Univ. Ferhat Abbès, Sétif, 103 P.
- Zeraib A., Ramdani M., Lograda T., Chalard P., Figueredo G., 2011; Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Moricandia arvensis* L. (DC.). *Asian J. Plant Sc.*, 10(6): 342-346.
- Zheljazkov V. D., Astatkie T., Jeliaskova E., 2013; Year-round variations in essential oil content and composition of male and female juniper. *HortScience*, 48(7): 883-886.

Annexes

Annexe A: Matrice de corrélation des composants de l'huile essentielle de six populations Algériennes de *J. thurifera* L.

	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V15	V16	V17	V18	V19	V20	V21	V22	V23	V24	V25	V26	V27	V28
V1	1,00																											
V2	-0,10	1,00																										
V3	0,95	-0,19	1,00																									
V4	0,57	-0,10	0,67	1,00																								
V5	0,97	0,07	0,95	0,56	1,00																							
V6	-0,58	0,66	-0,66	-0,07	-0,52	1,00																						
V7	0,98	0,07	0,94	0,55	0,99	-0,51	1,00																					
V8	-0,56	-0,58	-0,47	-0,21	-0,69	-0,01	-0,64	1,00																				
V9	0,65	-0,20	0,70	0,94	0,61	-0,14	0,59	-0,33	1,00																			
V10	0,55	0,77	0,47	0,36	0,68	0,21	0,68	-0,83	0,32	1,00																		
V11	0,28	-0,82	0,30	-0,02	0,10	-0,72	0,16	0,57	0,00	-0,53	1,00																	
V12	0,30	0,63	0,23	0,47	0,40	0,48	0,36	-0,79	0,55	0,75	-0,77	1,00																
V13	0,36	0,14	0,42	-0,09	0,50	-0,48	0,42	-0,67	0,00	0,31	-0,24	0,22	1,00															
V14	0,90	0,02	0,87	0,73	0,90	-0,32	0,88	-0,71	0,85	0,61	-0,05	0,63	0,38	1,00														
V15	0,55	-0,20	0,60	0,92	0,51	-0,07	0,48	-0,31	0,99	0,26	-0,07	0,58	-0,01	0,80	1,00													
V16	-0,19	-0,44	-0,06	0,51	-0,25	0,15	-0,30	0,25	0,57	-0,41	-0,09	0,19	-0,23	0,13	0,67	1,00												
V17	0,68	-0,39	0,75	0,91	0,61	-0,33	0,59	-0,21	0,97	0,17	0,20	0,36	0,03	0,81	0,95	0,57	1,00											
V18	0,64	0,28	0,72	0,37	0,80	-0,39	0,73	-0,81	0,39	0,65	-0,31	0,49	0,86	0,70	0,35	-0,17	0,37	1,00										
V19	0,04	-0,26	0,30	0,66	0,08	-0,14	0,07	0,36	0,40	-0,10	0,15	-0,14	-0,17	0,07	0,40	0,44	0,46	0,12	1,00									
V20	-0,74	0,21	-0,78	-0,80	-0,72	0,33	-0,68	0,52	-0,94	-0,34	0,02	-0,56	-0,31	-0,93	-0,93	-0,47	-0,93	-0,59	-0,22	1,00								
V21	0,31	-0,26	0,42	0,82	0,30	-0,01	0,24	-0,21	0,90	0,07	-0,16	0,53	0,04	0,63	0,95	0,84	0,87	0,29	0,44	-0,85	1,00							
V22	-0,04	0,24	-0,04	0,59	-0,02	0,61	-0,06	-0,27	0,64	0,25	-0,60	0,78	-0,22	0,37	0,72	0,71	0,49	0,03	0,15	-0,52	0,78	1,00						
V23	0,06	0,19	0,11	0,69	0,10	0,46	0,05	-0,33	0,72	0,28	-0,59	0,78	-0,06	0,47	0,80	0,75	0,60	0,21	0,30	-0,63	0,87	0,97	1,00					
V24	0,53	0,27	0,55	0,33	0,66	-0,20	0,57	-0,89	0,48	0,57	-0,47	0,70	0,81	0,74	0,48	0,08	0,42	0,89	-0,13	-0,71	0,48	0,33	0,46	1,00				
V25	-0,33	0,01	-0,27	0,50	-0,34	0,62	-0,37	0,15	0,49	-0,11	-0,41	0,45	-0,47	0,05	0,59	0,85	0,39	-0,29	0,34	-0,29	0,71	0,91	0,87	-0,02	1,00			
V26	0,36	0,14	0,42	-0,09	0,50	-0,48	0,42	-0,67	0,00	0,31	-0,24	0,22	1,00	0,38	-0,01	-0,23	0,03	0,86	-0,17	-0,31	0,04	-0,22	-0,06	0,81	-0,47	1,00		

Annexes

	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V15	V16	V17	V18	V19	V20	V21	V22	V23	V24	V25	V26	V27	V28
V27	0,72	-0,03	0,75	0,53	0,78	-0,42	0,71	-0,76	0,69	0,45	-0,18	0,58	0,71	0,88	0,68	0,21	0,68	0,84	0,02	-0,89	0,64	0,31	0,46	0,93	0,00	0,71	1,00	
V28	0,62	-0,06	0,69	0,46	0,70	-0,45	0,62	-0,71	0,60	0,36	-0,20	0,50	0,79	0,78	0,60	0,23	0,61	0,87	0,07	-0,82	0,61	0,25	0,42	0,94	-0,02	0,79	0,98	1,00
V29	0,36	0,14	0,42	-0,09	0,50	-0,48	0,42	-0,67	0,00	0,31	-0,24	0,22	1,00	0,38	-0,01	-0,23	0,03	0,86	-0,17	-0,31	0,04	-0,22	-0,06	0,81	-0,47	1,00	0,71	0,79
V30	-0,49	0,91	-0,55	-0,29	-0,32	0,83	-0,34	-0,32	-0,39	0,45	-0,88	0,49	0,01	-0,30	-0,33	-0,24	-0,57	0,01	-0,26	0,42	-0,28	0,30	0,22	0,08	0,20	0,01	-0,25	-0,23
V31	0,13	-0,38	0,21	0,36	0,12	-0,18	0,03	-0,25	0,57	-0,20	-0,16	0,36	0,37	0,44	0,65	0,76	0,58	0,30	0,06	-0,70	0,80	0,54	0,63	0,61	0,48	0,37	0,69	0,72
V32	0,78	0,13	0,83	0,48	0,84	-0,49	0,86	-0,38	0,35	0,62	0,21	0,09	0,32	0,58	0,22	-0,44	0,38	0,65	0,37	-0,36	0,00	-0,29	-0,15	0,29	-0,48	0,32	0,40	0,36
V33	0,37	-0,79	0,56	0,52	0,30	-0,72	0,27	0,20	0,54	-0,39	0,52	-0,26	0,22	0,36	0,54	0,55	0,70	0,26	0,59	-0,59	0,60	-0,02	0,15	0,20	0,08	0,22	0,48	0,52
V34	-0,13	-0,39	-0,25	0,07	-0,30	0,22	-0,30	0,18	0,32	-0,40	0,08	0,15	-0,42	0,08	0,39	0,62	0,30	-0,50	-0,32	-0,28	0,45	0,53	0,40	-0,09	0,58	-0,42	0,03	-0,05
V35	0,69	-0,44	0,81	0,42	0,71	-0,83	0,65	-0,37	0,51	0,08	0,29	0,03	0,70	0,66	0,47	0,14	0,63	0,74	0,26	-0,72	0,45	-0,14	0,06	0,65	-0,28	0,70	0,82	0,86
V36	0,83	0,09	0,85	0,56	0,90	-0,42	0,85	-0,82	0,68	0,61	-0,16	0,59	0,69	0,93	0,63	0,03	0,66	0,90	0,03	-0,85	0,53	0,22	0,37	0,90	-0,12	0,69	0,97	0,93
V37	0,33	-0,60	0,56	0,73	0,29	-0,48	0,28	0,30	0,61	-0,21	0,44	-0,19	-0,06	0,33	0,60	0,53	0,73	0,18	0,88	-0,51	0,60	0,10	0,26	0,00	0,24	-0,06	0,28	0,30
V38	0,36	-0,58	0,58	0,74	0,32	-0,50	0,31	0,28	0,61	-0,18	0,44	-0,19	-0,03	0,34	0,59	0,50	0,73	0,22	0,88	-0,51	0,59	0,08	0,25	0,02	0,21	-0,03	0,30	0,32
V39	0,12	-0,64	0,37	0,27	0,14	-0,67	0,08	0,22	0,23	-0,43	0,36	-0,37	0,41	0,10	0,25	0,42	0,40	0,33	0,61	-0,33	0,39	-0,19	0,02	0,20	-0,04	0,41	0,37	0,49
V40	0,81	-0,28	0,82	0,60	0,73	-0,55	0,78	-0,04	0,53	0,29	0,59	-0,09	-0,10	0,58	0,41	-0,18	0,61	0,25	0,39	-0,45	0,16	-0,21	-0,13	-0,01	-0,28	-0,10	0,26	0,16
V41	-0,20	-0,25	-0,04	0,43	-0,24	0,12	-0,20	0,69	0,16	-0,26	0,30	-0,34	-0,66	-0,26	0,15	0,32	0,20	-0,40	0,83	0,14	0,15	0,08	0,10	-0,62	0,37	-0,66	-0,46	-0,46
V42	-0,27	-0,24	-0,08	0,51	-0,29	0,20	-0,27	0,63	0,25	-0,28	0,15	-0,21	-0,60	-0,22	0,28	0,52	0,28	-0,35	0,87	0,04	0,33	0,27	0,30	-0,50	0,55	-0,60	-0,36	-0,34
V43	0,48	-0,14	0,63	0,54	0,50	-0,43	0,54	0,13	0,30	0,24	0,42	-0,23	-0,04	0,26	0,19	-0,18	0,37	0,29	0,74	-0,17	0,04	-0,29	-0,16	-0,12	-0,25	-0,04	0,06	0,05
V44	-0,36	-0,33	-0,36	-0,11	-0,50	0,13	-0,41	0,87	-0,26	-0,49	0,56	-0,64	-0,87	-0,57	-0,29	-0,01	-0,20	-0,83	0,27	0,53	-0,33	-0,25	-0,36	-0,97	0,08	-0,87	-0,83	-0,86
V45	-0,35	0,03	-0,45	-0,21	-0,37	0,40	-0,43	-0,19	0,05	-0,21	-0,45	0,40	0,05	-0,02	0,16	0,48	-0,03	-0,18	-0,54	-0,14	0,32	0,56	0,46	0,28	0,50	0,05	0,17	0,17
V46	0,32	-0,68	0,28	0,51	0,11	-0,20	0,13	0,27	0,66	-0,33	0,50	-0,01	-0,46	0,38	0,66	0,61	0,72	-0,32	0,14	-0,56	0,61	0,37	0,33	-0,13	0,44	-0,46	0,18	0,08
V47	0,14	0,24	0,03	0,04	0,08	0,20	0,18	0,22	-0,12	0,28	0,28	-0,16	-0,62	-0,11	-0,22	-0,52	-0,16	-0,36	0,04	0,34	-0,45	-0,23	-0,35	-0,59	-0,21	-0,62	-0,54	-0,65
V48	0,36	-0,91	0,37	0,01	0,18	-0,81	0,20	0,38	0,15	-0,56	0,92	-0,62	-0,03	0,13	0,10	0,09	0,35	-0,16	0,01	-0,22	0,05	-0,45	-0,42	-0,19	-0,33	-0,03	0,10	0,09
V49	0,30	-0,38	0,24	0,18	0,22	-0,25	0,16	-0,35	0,49	-0,14	-0,01	0,34	0,34	0,51	0,55	0,51	0,51	0,22	-0,33	-0,68	0,61	0,40	0,42	0,58	0,25	0,34	0,67	0,65
V50	-0,27	-0,11	-0,26	-0,13	-0,35	0,10	-0,26	0,73	-0,36	-0,26	0,48	-0,62	-0,73	-0,55	-0,42	-0,28	-0,31	-0,64	0,31	0,61	-0,51	-0,41	-0,49	-0,91	-0,13	-0,73	-0,83	-0,85
V51	0,09	-0,27	0,09	0,00	-0,02	-0,23	0,08	0,60	-0,18	-0,18	0,70	-0,64	-0,57	-0,27	-0,28	-0,37	-0,09	-0,43	0,31	0,37	-0,44	-0,54	-0,58	-0,76	-0,34	-0,57	-0,58	-0,63
V52	-0,34	-0,23	-0,30	-0,38	-0,40	-0,12	-0,32	0,77	-0,58	-0,43	0,58	-0,84	-0,49	-0,68	-0,64	-0,39	-0,48	-0,57	0,23	0,73	-0,67	-0,68	-0,73	-0,87	-0,38	-0,49	-0,82	-0,78
V53	-0,44	0,22	-0,20	0,15	-0,28	0,23	-0,32	0,26	-0,15	-0,03	-0,32	-0,09	0,01	-0,37	-0,11	0,17	-0,16	0,10	0,73	0,28	0,03	0,05	0,17	-0,14	0,23	0,01	-0,24	-0,11
V54	-0,06	-0,64	0,17	0,15	-0,04	-0,53	-0,12	0,20	0,19	-0,54	0,21	-0,28	0,43	0,03	0,25	0,57	0,33	0,24	0,43	-0,32	0,46	-0,03	0,14	0,26	0,11	0,43	0,38	0,51

Annexes

	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V15	V16	V17	V18	V19	V20	V21	V22	V23	V24	V25	V26	V27	V28
V56	0,27	-0,48	0,10	0,01	0,08	-0,18	0,09	-0,03	0,33	-0,26	0,34	0,07	-0,17	0,31	0,34	0,28	0,36	-0,26	-0,52	-0,40	0,29	0,20	0,10	0,07	0,14	-0,17	0,24	0,13
V57	-0,76	0,64	-0,87	-0,61	-0,68	0,83	-0,67	0,07	-0,66	0,03	-0,59	0,12	-0,29	-0,66	-0,60	-0,23	-0,80	-0,45	-0,44	0,73	-0,51	0,11	-0,05	-0,33	0,16	-0,29	-0,63	-0,61
V58	-0,04	-0,19	-0,07	-0,69	-0,02	-0,51	-0,05	-0,17	-0,52	-0,27	0,15	-0,34	0,68	-0,17	-0,51	-0,36	-0,42	0,23	-0,55	0,20	-0,42	-0,60	-0,56	0,27	-0,66	0,68	0,17	0,27
V59	-0,50	-0,22	-0,52	-0,66	-0,58	-0,06	-0,50	0,75	-0,78	-0,55	0,52	-0,86	-0,44	-0,82	-0,81	-0,43	-0,68	-0,68	-0,08	0,86	-0,80	-0,72	-0,81	-0,87	-0,42	-0,44	-0,87	-0,83
V60	0,36	0,14	0,42	-0,09	0,50	-0,48	0,42	-0,67	0,00	0,31	-0,24	0,22	1,00	0,38	-0,01	-0,23	0,03	0,86	-0,17	-0,31	0,04	-0,22	-0,06	0,81	-0,47	1,00	0,71	0,79
V61	-0,67	0,39	-0,85	-0,73	-0,70	0,66	-0,65	0,23	-0,71	-0,15	-0,25	-0,10	-0,44	-0,69	-0,67	-0,32	-0,80	-0,67	-0,62	0,77	-0,63	-0,07	-0,28	-0,52	0,02	-0,44	-0,73	-0,75
V62	-0,48	-0,15	-0,20	0,15	-0,36	0,04	-0,43	0,35	-0,04	-0,36	-0,19	-0,18	0,12	-0,33	0,04	0,50	0,01	0,07	0,71	0,09	0,28	0,12	0,26	-0,03	0,35	0,12	-0,06	0,09
V63	0,21	0,56	0,03	-0,21	0,22	0,20	0,30	-0,18	-0,31	0,56	0,01	0,03	-0,22	-0,04	-0,41	-0,83	-0,39	-0,06	-0,31	0,39	-0,66	-0,35	-0,45	-0,27	-0,48	-0,22	-0,36	-0,45
V64	-0,84	-0,22	-0,88	-0,54	-0,93	0,44	-0,92	0,60	-0,46	-0,73	-0,02	-0,32	-0,49	-0,73	-0,35	0,36	-0,46	-0,82	-0,28	0,52	-0,15	0,13	-0,02	-0,54	0,40	-0,49	-0,61	-0,57
V65	-0,81	0,09	-0,82	-0,80	-0,80	0,30	-0,76	0,62	-0,92	-0,48	0,07	-0,63	-0,35	-0,97	-0,90	-0,35	-0,90	-0,65	-0,17	0,99	-0,79	-0,49	-0,60	-0,74	-0,22	-0,35	-0,90	-0,82
V66	-0,70	0,04	-0,68	-0,75	-0,69	0,15	-0,64	0,63	-0,91	-0,45	0,18	-0,72	-0,28	-0,93	-0,91	-0,43	-0,86	-0,56	-0,06	0,97	-0,83	-0,63	-0,70	-0,74	-0,35	-0,28	-0,87	-0,78
V67	-0,90	-0,01	-0,94	-0,76	-0,94	0,44	-0,91	0,66	-0,79	-0,61	0,02	-0,51	-0,49	-0,95	-0,73	-0,07	-0,79	-0,82	-0,29	0,88	-0,58	-0,23	-0,38	-0,74	0,06	-0,49	-0,88	-0,82
V68	0,50	-0,07	0,70	0,38	0,64	-0,62	0,57	-0,41	0,31	0,28	0,00	0,08	0,77	0,48	0,27	-0,03	0,38	0,87	0,46	-0,47	0,28	-0,18	0,05	0,63	-0,31	0,77	0,68	0,76
V69	0,22	-0,66	0,45	0,69	0,18	-0,43	0,14	0,30	0,63	-0,33	0,35	-0,14	-0,01	0,30	0,64	0,71	0,74	0,15	0,81	-0,55	0,72	0,22	0,38	0,08	0,38	-0,01	0,34	0,38
V70	-0,03	0,28	-0,21	-0,23	-0,11	0,32	0,00	0,22	-0,31	0,19	0,21	-0,17	-0,64	-0,26	-0,39	-0,57	-0,36	-0,52	-0,27	0,49	-0,59	-0,24	-0,42	-0,63	-0,22	-0,64	-0,64	-0,76
V71	-0,93	0,15	-0,97	-0,78	-0,92	0,52	-0,92	0,40	-0,77	-0,51	-0,28	-0,27	-0,21	-0,87	-0,67	0,01	-0,80	-0,60	-0,38	0,77	-0,46	-0,07	-0,20	-0,43	0,13	-0,21	-0,65	-0,56
V72	-0,65	0,28	-0,54	-0,66	-0,49	0,11	-0,53	0,15	-0,80	-0,21	-0,30	-0,34	0,34	-0,69	-0,75	-0,31	-0,78	0,02	-0,02	0,70	-0,56	-0,43	-0,39	-0,11	-0,30	0,34	-0,37	-0,20
V73	-0,74	0,37	-0,65	-0,06	-0,62	0,73	-0,68	0,07	-0,13	-0,12	-0,74	0,33	-0,10	-0,39	0,00	0,50	-0,24	-0,16	0,15	0,21	0,24	0,59	0,57	0,03	0,69	-0,10	-0,18	-0,10
V74	-0,31	-0,55	-0,05	0,00	-0,30	-0,40	-0,31	0,69	-0,19	-0,63	0,45	-0,72	-0,03	-0,44	-0,18	0,24	-0,03	-0,14	0,71	0,25	-0,03	-0,39	-0,27	-0,39	-0,06	-0,03	-0,28	-0,14
V75	0,14	-0,13	0,34	0,02	0,28	-0,55	0,20	-0,28	0,00	-0,02	-0,08	-0,07	0,85	0,16	0,02	0,04	0,09	0,71	0,28	-0,23	0,15	-0,25	-0,03	0,58	-0,30	0,85	0,54	0,68
V76	0,26	-0,60	0,41	0,01	0,22	-0,83	0,24	0,40	-0,11	-0,34	0,77	-0,76	0,17	-0,08	-0,19	-0,22	0,09	0,12	0,46	0,07	-0,23	-0,75	-0,61	-0,24	-0,59	0,17	-0,04	0,02
V77	-0,74	0,60	-0,86	-0,73	-0,67	0,72	-0,65	0,09	-0,76	-0,01	-0,50	0,01	-0,23	-0,70	-0,71	-0,35	-0,88	-0,46	-0,52	0,79	-0,63	-0,04	-0,20	-0,35	0,01	-0,23	-0,65	-0,63
V78	0,00	-0,34	0,23	-0,08	0,10	-0,64	0,04	0,10	-0,17	-0,29	0,21	-0,44	0,63	-0,10	-0,17	0,00	-0,02	0,44	0,42	0,00	-0,03	-0,49	-0,28	0,22	-0,39	0,63	0,23	0,39
V79	-0,80	0,34	-0,76	-0,76	-0,70	0,35	-0,69	0,37	-0,92	-0,26	-0,22	-0,42	-0,06	-0,89	-0,88	-0,39	-0,93	-0,35	-0,12	0,93	-0,74	-0,43	-0,48	-0,47	-0,23	-0,06	-0,72	-0,61

Annexes

	V28	V29	V30	V31	V32	V33	V34	V35	V36	V37	V38	V39	V40	V41	V42	V43	V44	V45	V46	V47	V48	V49	V50	V51	V52	V53	V54	V55	V56
V28	1,00																												
V29	0,79	1,00																											
V30	-0,23	0,01	1,00																										
V31	0,72	0,37	-0,29	1,00																									
V32	0,36	0,32	-0,24	-0,31	1,00																								
V33	0,52	0,22	-0,82	0,59	0,23	1,00																							
V34	-0,05	-0,42	-0,23	0,54	-0,68	0,09	1,00																						
V35	0,86	0,70	-0,64	0,56	0,52	0,80	-0,17	1,00																					
V36	0,93	0,69	-0,22	0,49	0,59	0,38	-0,13	0,79	1,00																				
V37	0,30	-0,06	-0,66	0,31	0,41	0,88	-0,08	0,57	0,26	1,00																			
V38	0,32	-0,03	-0,66	0,30	0,44	0,88	-0,12	0,59	0,28	1,00	1,00																		
V39	0,49	0,41	-0,60	0,50	0,18	0,90	-0,19	0,74	0,26	0,77	0,77	1,00																	
V40	0,16	-0,10	-0,62	-0,22	0,82	0,42	-0,22	0,45	0,41	0,58	0,60	0,16	1,00																
V41	-0,46	-0,66	-0,18	-0,30	0,15	0,28	-0,14	-0,22	-0,43	0,65	0,64	0,23	0,35	1,00															
V42	-0,34	-0,60	-0,13	-0,10	0,03	0,33	-0,04	-0,19	-0,37	0,69	0,67	0,30	0,22	0,97	1,00														
V43	0,05	-0,04	-0,38	-0,37	0,85	0,41	-0,62	0,35	0,21	0,70	0,72	0,37	0,82	0,63	0,52	1,00													
V44	-0,86	-0,87	-0,21	-0,57	-0,14	-0,07	0,10	-0,55	-0,78	0,18	0,16	-0,15	0,22	0,74	0,61	0,29	1,00												
V45	0,17	0,05	0,25	0,65	-0,80	-0,17	0,76	-0,17	-0,02	-0,44	-0,46	-0,21	-0,71	-0,54	-0,37	-0,93	-0,38	1,00											
V46	0,08	-0,46	-0,69	0,45	-0,14	0,52	0,77	0,20	0,10	0,47	0,45	0,13	0,41	0,24	0,27	0,01	0,28	0,22	1,00										
V47	-0,65	-0,62	0,07	-0,86	0,38	-0,44	-0,23	-0,50	-0,33	-0,10	-0,09	-0,58	0,52	0,44	0,25	0,47	0,67	-0,61	0,01	1,00									
V48	0,09	-0,03	-0,95	0,20	0,08	0,66	0,29	0,50	0,06	0,42	0,42	0,46	0,48	0,03	-0,05	0,19	0,26	-0,15	0,62	-0,05	1,00								
V49	0,65	0,34	-0,37	0,89	-0,31	0,41	0,69	0,50	0,51	0,04	0,03	0,22	-0,13	-0,56	-0,43	-0,52	-0,56	0,72	0,55	-0,69	0,37	1,00							
V50	-0,85	-0,73	-0,08	-0,80	0,11	-0,19	-0,23	-0,53	-0,71	0,13	0,12	-0,20	0,31	0,73	0,56	0,48	0,94	-0,63	0,01	0,80	0,12	-0,79	1,00						
V51	-0,63	-0,57	-0,37	-0,74	0,38	0,02	-0,27	-0,22	-0,43	0,28	0,28	-0,07	0,62	0,64	0,44	0,66	0,84	-0,78	0,14	0,82	0,38	-0,66	0,92	1,00					
V52	-0,78	-0,49	-0,16	-0,76	0,08	-0,10	-0,35	-0,39	-0,72	0,09	0,08	0,00	0,20	0,58	0,40	0,42	0,84	-0,64	-0,16	0,61	0,25	-0,76	0,93	0,87	1,00				
V53	-0,11	0,01	0,35	-0,15	0,11	0,09	-0,58	-0,11	-0,24	0,36	0,36	0,38	-0,19	0,59	0,65	0,40	0,12	-0,37	-0,50	-0,07	-0,49	-0,59	0,25	0,05	0,27	1,00			
V54	0,51	0,43	-0,50	0,70	-0,12	0,83	0,05	0,66	0,20	0,60	0,60	0,94	-0,13	0,06	0,19	0,04	-0,26	0,13	0,16	-0,79	0,40	0,43	-0,39	-0,32	-0,17	0,29	1,00		
V55	-0,65	-0,41	-0,40	-0,40	-0,19	0,19	-0,09	-0,21	-0,74	0,21	0,20	0,29	0,04	0,50	0,39	0,22	0,78	-0,38	0,05	0,24	0,50	-0,43	0,73	0,68	0,89	0,19	0,21	1,00	

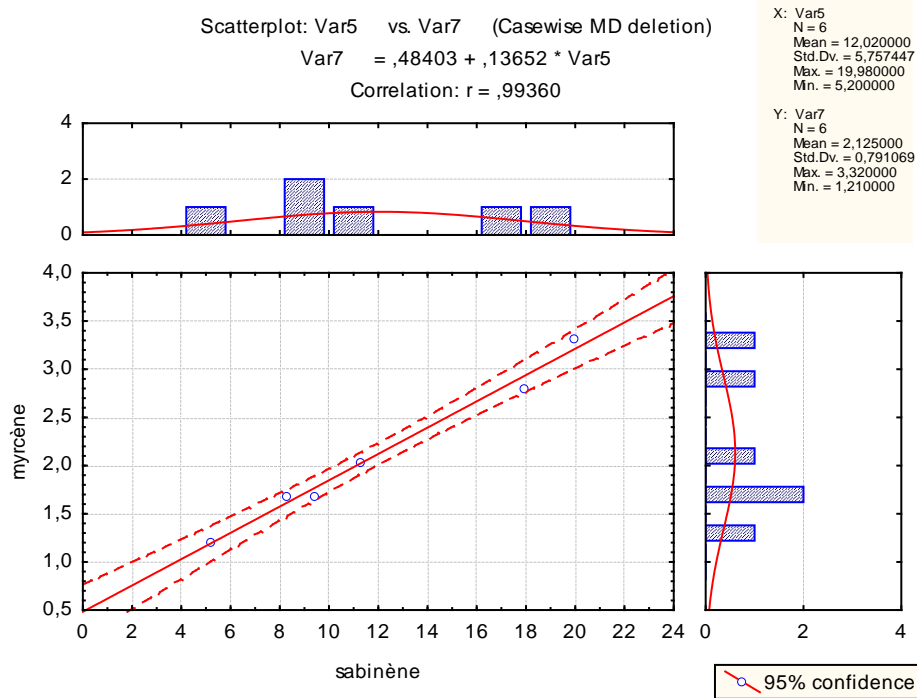
Annexes

	V28	V29	V30	V31	V32	V33	V34	V35	V36	V37	V38	V39	V40	V41	V42	V43	V44	V45	V46	V47	V48	V49	V50	V51	V52	V53	V54	V55	V56
V56	0,13	-0,17	-0,48	0,46	-0,36	0,16	0,86	0,13	0,14	-0,12	-0,14	-0,16	0,07	-0,39	-0,38	-0,48	-0,03	0,57	0,76	-0,15	0,58	0,77	-0,30	-0,16	-0,35	-0,89	0,00	-0,11	1,00
V57	-0,61	-0,29	0,86	-0,40	-0,57	-0,88	0,02	-0,88	-0,63	-0,79	-0,80	-0,68	-0,74	-0,13	-0,12	-0,57	0,15	0,35	-0,53	0,17	-0,70	-0,38	0,18	-0,16	0,14	0,17	-0,53	0,00	-0,25
V58	0,27	0,68	-0,14	0,17	-0,16	0,06	-0,12	0,35	0,10	-0,37	-0,36	0,26	-0,35	-0,72	-0,74	-0,39	-0,43	0,22	-0,35	-0,52	0,32	0,32	-0,41	-0,32	-0,06	-0,29	0,36	0,15	0,15
V59	-0,83	-0,44	-0,08	-0,70	-0,19	-0,24	-0,19	-0,49	-0,83	-0,19	-0,20	-0,11	-0,06	0,32	0,16	0,09	0,77	-0,37	-0,20	0,47	0,26	-0,61	0,80	0,70	0,93	0,10	-0,19	0,89	-0,18
V60	0,79	1,00	0,01	0,37	0,32	0,22	-0,42	0,70	0,69	-0,06	-0,03	0,41	-0,10	-0,66	-0,60	-0,04	-0,87	0,05	-0,46	-0,62	-0,03	0,34	-0,73	-0,57	-0,49	0,01	0,43	-0,41	-0,17
V61	-0,75	-0,44	0,60	-0,47	-0,63	-0,85	0,22	-0,90	-0,73	-0,83	-0,85	-0,76	-0,60	-0,17	-0,22	-0,62	0,35	0,35	-0,29	0,31	-0,36	-0,29	0,32	0,05	0,29	-0,16	-0,60	0,20	0,06
V62	0,09	0,12	0,07	0,27	-0,14	0,43	-0,28	0,13	-0,17	0,51	0,50	0,68	-0,32	0,47	0,60	0,19	0,00	-0,08	-0,24	-0,48	-0,21	-0,18	-0,01	-0,17	0,09	0,87	0,69	0,25	-0,60
V63	-0,45	-0,22	0,33	-0,87	0,44	-0,69	-0,41	-0,44	-0,13	-0,46	-0,44	-0,72	0,34	-0,02	-0,21	0,27	0,27	-0,49	-0,35	0,86	-0,25	-0,63	0,50	0,53	0,40	-0,18	-0,89	-0,03	-0,22
V64	-0,57	-0,49	0,16	0,11	-0,96	-0,23	0,61	-0,61	-0,78	-0,34	-0,38	-0,18	-0,72	0,04	0,10	-0,70	0,40	0,62	0,15	-0,20	0,01	0,12	0,15	-0,12	0,19	-0,05	0,07	0,43	0,29
V65	-0,82	-0,35	0,35	-0,61	-0,45	-0,49	-0,19	-0,69	-0,90	-0,44	-0,45	-0,23	-0,49	0,18	0,10	-0,21	0,56	-0,09	-0,48	0,26	-0,15	-0,61	0,60	0,35	0,74	0,29	-0,20	0,70	-0,35
V66	-0,78	-0,28	0,25	-0,68	-0,27	-0,39	-0,35	-0,58	-0,84	-0,32	-0,32	-0,12	-0,35	0,25	0,14	-0,02	0,58	-0,28	-0,51	0,31	-0,08	-0,70	0,67	0,47	0,83	0,35	-0,15	0,76	-0,44
V67	-0,82	-0,49	0,33	-0,36	-0,74	-0,48	0,19	-0,77	-0,94	-0,48	-0,51	-0,31	-0,64	0,12	0,09	-0,48	0,56	0,25	-0,22	0,12	-0,11	-0,34	0,47	0,18	0,55	0,12	-0,16	0,62	-0,05
V68	0,76	0,77	-0,26	0,29	0,66	0,59	-0,61	0,84	0,70	0,53	0,56	0,72	0,33	-0,06	-0,03	0,53	-0,56	-0,41	-0,26	-0,41	0,08	0,08	-0,40	-0,19	-0,25	0,36	0,57	-0,22	-0,41
V69	0,38	-0,01	-0,64	0,53	0,19	0,92	0,09	0,59	0,25	0,96	0,96	0,82	0,38	0,55	0,64	0,48	0,08	-0,19	0,53	-0,33	0,42	0,24	-0,05	0,07	-0,06	0,33	0,74	0,17	-0,01
V70	-0,76	-0,64	0,19	-0,84	0,11	-0,64	-0,04	-0,67	-0,47	-0,40	-0,40	-0,77	0,28	0,21	0,03	0,14	0,64	-0,34	-0,01	0,94	-0,07	-0,58	0,73	0,69	0,57	-0,26	-0,89	0,24	0,03
V71	-0,56	-0,21	0,51	-0,13	-0,84	-0,50	0,19	-0,67	-0,77	-0,60	-0,62	-0,26	-0,89	-0,13	-0,08	-0,69	0,21	0,49	-0,37	-0,19	-0,30	-0,15	0,12	-0,20	0,24	0,17	-0,03	0,36	-0,09
V72	-0,20	0,34	0,48	-0,26	-0,22	-0,26	-0,56	-0,21	-0,40	-0,31	-0,31	0,17	-0,63	-0,09	-0,08	-0,15	-0,08	-0,06	-0,85	-0,27	-0,38	-0,44	0,06	-0,14	0,32	0,60	0,21	0,32	-0,67
V73	-0,10	-0,10	0,66	0,28	-0,61	-0,24	0,14	-0,43	-0,31	-0,16	-0,18	-0,03	-0,79	0,12	0,30	-0,46	-0,13	0,52	-0,28	-0,42	-0,70	-0,03	-0,21	-0,55	-0,26	0,58	0,17	-0,18	-0,34
V74	-0,14	-0,03	-0,40	-0,02	0,05	0,59	-0,34	0,22	-0,33	0,64	0,64	0,78	0,07	0,62	0,61	0,47	0,39	-0,45	-0,06	-0,16	0,33	-0,33	0,39	0,37	0,57	0,65	0,67	0,73	-0,45
V75	0,68	0,85	-0,15	0,41	0,28	0,53	-0,50	0,73	0,47	0,33	0,35	0,78	-0,09	-0,23	-0,15	0,18	-0,61	-0,12	-0,40	-0,69	0,06	0,17	-0,51	-0,40	-0,24	0,40	0,75	-0,08	-0,39
V76	0,02	0,17	-0,69	-0,22	0,51	0,61	-0,49	0,51	0,01	0,58	0,60	0,67	0,55	0,35	0,22	0,70	0,30	-0,74	0,00	0,10	0,65	-0,28	0,39	0,60	0,59	0,20	0,44	0,65	-0,24
V77	-0,63	-0,23	0,81	-0,46	-0,55	-0,89	-0,02	-0,85	-0,65	-0,84	-0,85	-0,67	-0,72	-0,20	-0,21	-0,57	0,16	0,31	-0,57	0,18	-0,61	-0,39	0,20	-0,11	0,21	0,10	-0,53	0,08	-0,23
V78	0,39	0,63	-0,31	0,20	0,25	0,60	-0,55	0,63	0,18	0,45	0,46	0,87	-0,01	0,04	0,06	0,34	-0,25	-0,33	-0,35	-0,52	0,25	-0,05	-0,16	-0,07	0,14	0,49	0,78	0,32	-0,45
V79	-0,61	-0,06	0,57	-0,54	-0,34	-0,53	-0,42	-0,59	-0,72	-0,47	-0,47	-0,16	-0,61	0,07	0,03	-0,20	0,27	-0,09	-0,75	0,09	-0,41	-0,64	0,39	0,12	0,56	0,50	-0,13	0,47	-0,60

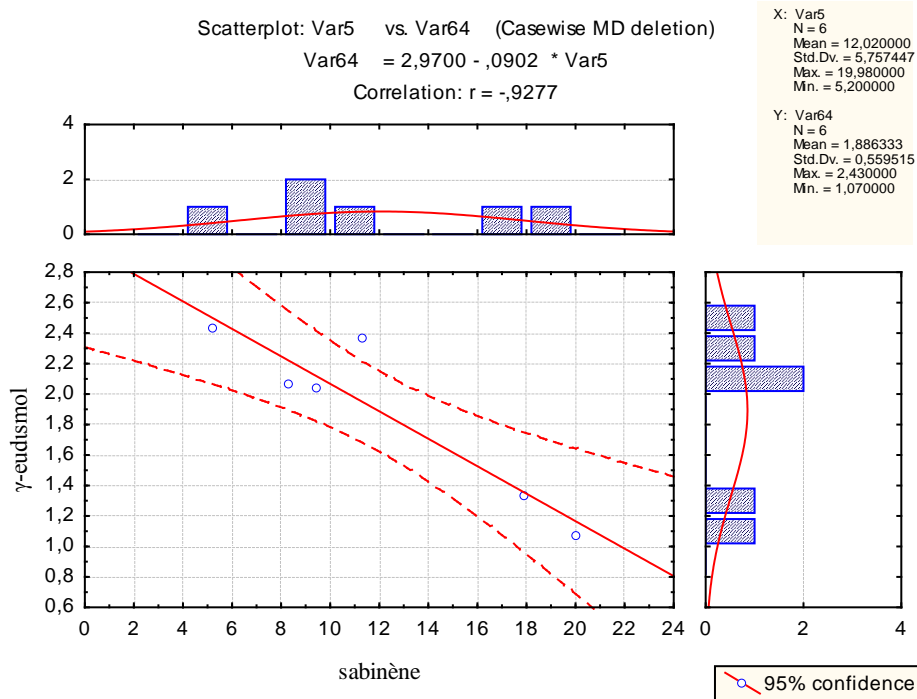
	V57	V58	V59	V60	V61	V62	V63	V64	V65	V66	V67	V68	V69	V70	V71	V72	V73	V74	V75	V76	V77	V78	V79
V57	1,00																						
V58	-0,03	1,00																					
V59	0,33	0,18	1,00																				
V60	-0,29	0,68	-0,44	1,00																			
V61	0,91	0,07	0,53	-0,44	1,00																		
V62	-0,03	-0,08	-0,01	0,12	-0,31	1,00																	
V63	0,33	-0,18	0,35	-0,22	0,41	-0,63	1,00																
V64	0,57	0,10	0,43	-0,49	0,68	0,15	-0,33	1,00															
V65	0,69	0,21	0,88	-0,35	0,74	0,17	0,25	0,62	1,00														
V66	0,56	0,23	0,92	-0,28	0,61	0,21	0,30	0,47	0,98	1,00													
V67	0,74	0,15	0,76	-0,49	0,84	0,12	0,06	0,87	0,92	0,83	1,00												
V68	-0,64	0,25	-0,42	0,77	-0,84	0,42	-0,27	-0,73	-0,48	-0,34	-0,71	1,00											
V69	-0,74	-0,29	-0,28	-0,01	-0,80	0,59	-0,68	-0,17	-0,46	-0,38	-0,42	0,49	1,00										
V70	0,39	-0,35	0,55	-0,64	0,59	-0,62	0,87	0,05	0,41	0,41	0,35	-0,65	-0,57	1,00									
V71	0,82	0,30	0,50	-0,21	0,80	0,22	-0,12	0,86	0,81	0,69	0,92	-0,57	-0,46	0,07	1,00								
V72	0,51	0,49	0,42	0,34	0,32	0,54	-0,04	0,25	0,70	0,72	0,52	0,17	-0,28	-0,20	0,65	1,00							
V73	0,60	-0,21	-0,19	-0,10	0,31	0,63	-0,42	0,52	0,25	0,13	0,39	-0,18	0,01	-0,35	0,61	0,45	1,00						
V74	-0,30	0,07	0,44	-0,03	-0,35	0,77	-0,42	0,11	0,33	0,45	0,20	0,37	0,63	-0,33	0,09	0,43	0,08	1,00					
V75	-0,40	0,55	-0,28	0,85	-0,61	0,58	-0,49	-0,37	-0,21	-0,11	-0,38	0,89	0,38	-0,81	-0,15	0,49	0,07	0,47	1,00				
V76	-0,62	0,26	0,44	0,17	-0,51	0,24	-0,04	-0,34	0,10	0,29	-0,15	0,52	0,46	-0,09	-0,34	0,15	-0,58	0,75	0,44	1,00			
V77	0,99	0,11	0,43	-0,23	0,94	-0,09	0,38	0,57	0,76	0,64	0,78	-0,63	-0,81	0,43	0,84	0,56	0,49	-0,28	-0,37	-0,53	1,00		
V78	-0,42	0,52	0,08	0,63	-0,55	0,66	-0,45	-0,24	0,05	0,18	-0,16	0,79	0,46	-0,66	-0,06	0,57	-0,03	0,75	0,92	0,71	-0,36	1,00	
V79	0,74	0,27	0,68	-0,06	0,65	0,34	0,22	0,45	0,92	0,91	0,78	-0,23	-0,48	0,21	0,80	0,89	0,42	0,32	0,05	0,03	0,79	0,22	1,00

Cor > 0.38 corrélation significative ; V1 à V79 représentant les constituants des huiles essentielles des six localités échantillonnées.

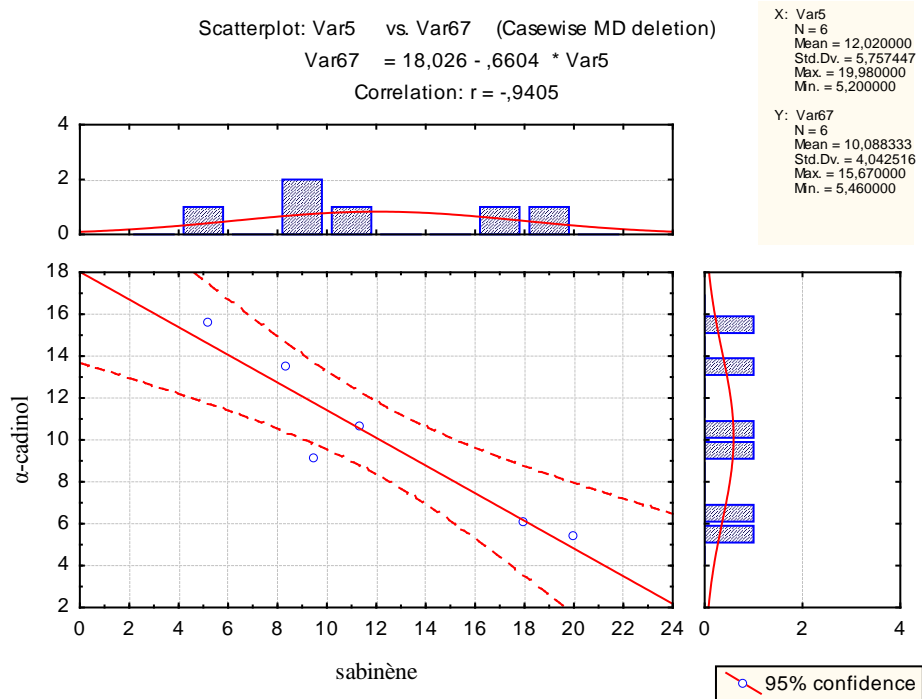
Annexe B : Courbe de corrélation de sabinène et myrcène chez les populations de *Juniperus thurifera* Algériennes.



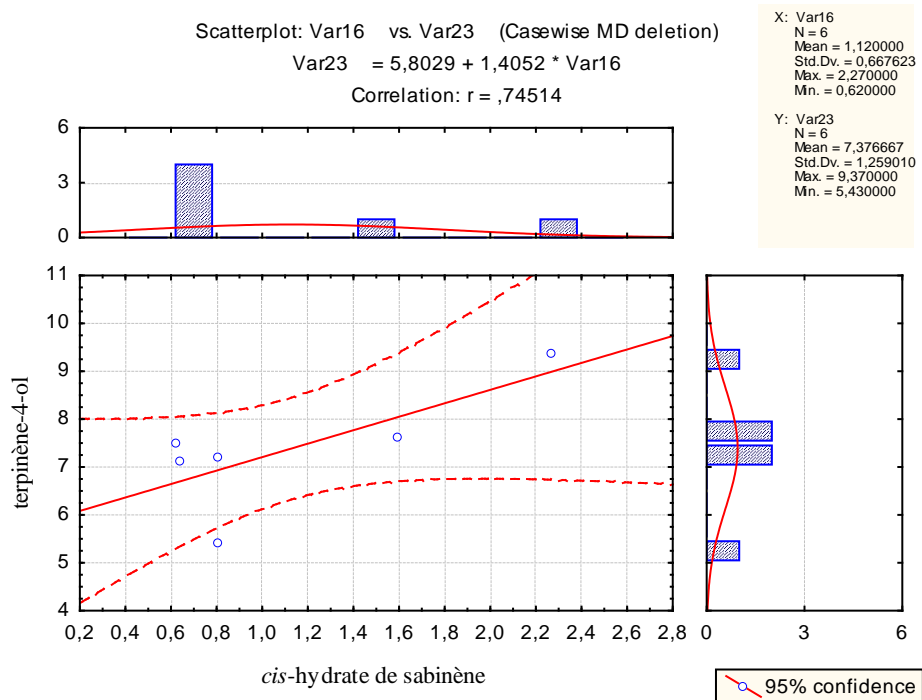
Annexe C: Courbe de corrélation de sabinène et γ -eudésmol chez les populations de *Juniperus thurifera* Algériennes.



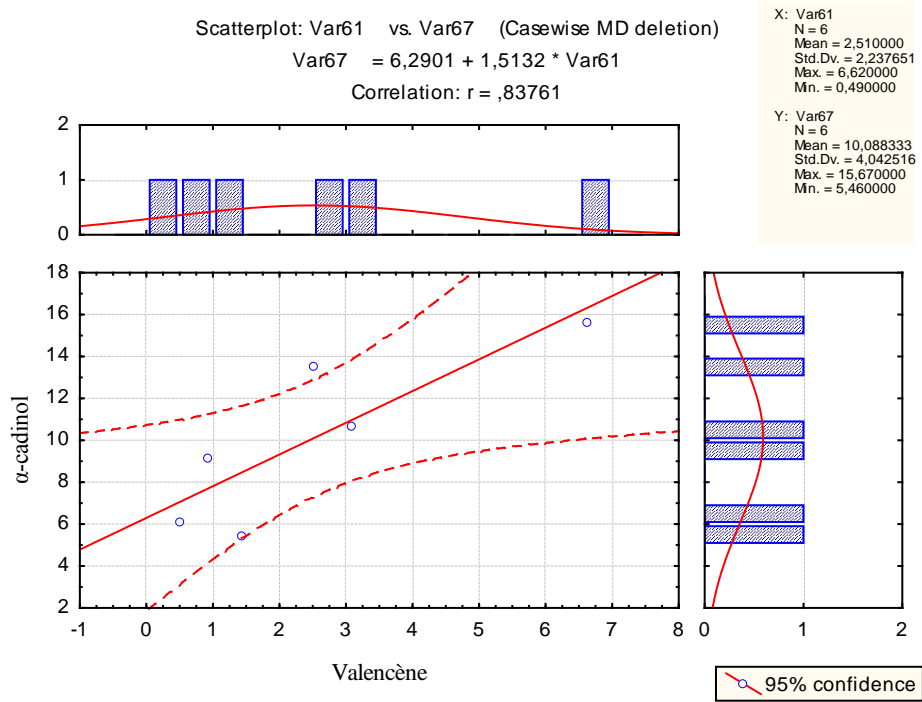
Annexe D: Courbe de corrélation de sabinène et α -cadinol chez les populations de *Juniperus thurifera* Algériennes.



Annexe E: Courbe de corrélation de cis-hydrate de sabinène et terpinène 4-ol chez les population de *Juniperus thurifera* Algériennes.



Annexe F: Courbe de corrélation de valencène et α -cadinole chez les populations de *Juniperus thurifera* Algériennes.



Annexe G: Données de la composition chimique des huiles essentielles de *J. thurifera* utilisées dans l'étude chimio-systématique.

		Tk1	TZ	Tk2	BA	TB	CH	M1	M2	TM	OM	S1	S2	SC	P1	P2	MF	CR	S3	VHD	HD
var 1	tricyclène	0	0	0	0	0	0	0,02	0,8	0,02	0,02	0	0	0	0,02	0	0	0,02	0,02	0,1	0,6
var 2	α -thujène	1,2	1,1	0,8	1,5	0,8	0,5	2,25	2,3	0,7	1,3	0,02	0	0,1	0,1	0,5	0,3	0,02	0,02	1,5	1,1
var 3	α -pinène	3,3	2,6	2,6	3,5	3,1	3,9	4,6	4,2	17,1	4,0	0,5	6,3	2	3,2	2,5	4,9	6,8	2,2	1,1	6,6
var 4	fenchène	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0,02	0,02	0,1	0,02	0	0	0	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
var 5	camphène	0,1	0,1	0,1	0,01	0,1	0,1	0,02	0,7	0,1	0,02	0	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
var 6	sabinène	17,9	11,3	8,3	20	9,4	5,2	45,8	40,2	12,2	37,4	1,5	0,3	1,5	0,4	9,7	4,9	0,3	1	38	36,2
var 7	béta pinène	0,3	0,30	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,2	1,2	0,3	0,02	0,5	0,1	0,3	0,2	0,02	0,5	0,2	12,5	0,02
var 8	myrcène	2,8	2,1	1,7	3,3	1,7	1,2	3,9	3,8	1,8	1,8	1,5	4	2,5	4,4	2,8	2,3	2,6	3,4	3,3	2,3
var 9	delta-2-carène	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,9	2	4,4	1,3	2,9	2,5	2,2	0	0
var 10	α -phellandrene	0	0	0	0	0	0	0,1	0,02	0	0,02	0,02	0	0,02	0,02	2	0,02	0,02	0,02	7,4	4,5
var 11	delta-3-carène	0,2	0,9	1,5	0,5	1	0,8	0	1,7	3,1	2	0	0	0,5	0	0	0,8	0,02	1,1	3,5	1,2
var 12	α -terpinène	1,6	1,7	1,3	1,9	1,9	1,2	1,8	2	0,5	1,6	0,1	0,02	0,1	0,1	0,5	0,2	0,02	0,1	3,3	2,2
var 13	para cymène	0,5	0,3	0,2	0,7	0,4	0,5	0,4	1,9	0,4	2,6	0,02	0,02	0,02	0,1	0,02	0,02	0,02	0,02	0,4	3,6
var 14	limonène	1,4	2,5	3,2	2	1,2	0,7	0,8	3,1	1,3	5,2	28,8	61,8	52,8	75,1	53	52,1	60,6	51,5	1,8	0,02
var 15	béta phellandrène	0,2	0,2	0,02	0,2	0,2	0,2	0,8	1	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0	0,02	0,02	0,02	0	0,02	0,02
var 16	(Z)-béta-ocimène	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0	0,02	0	0,02	0,02	0	0	0,02	0,02
var 17	(E)-béta-ocimène	0,3	0,2	0	0,3	0,2	0	0,3	0,1	0	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,8	0,4	0,1	0,3	0,02	0,02
var 18	gamma terpinène	3,2	3,6	2,7	3,6	3,9	2,6	3	3,3	0,9	2,5	0,2	0,02	0,2	0,1	0,9	0,4	0,1	0,2	1,5	1,8
var 19	cis hydrate de sabinène	0,8	1,6	0,8	0,6	2,3	0,6	2,4	2,2	0,4	2,3	0,3	0	0,1	0,02	0,4	0,3	0,02	0,1	0,7	0,3
var 20	trans-linalool oxide (furanoid)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,7	0	0	0	0	0,02	0	0,4	0,02	0,1
var 21	terpinolène	1,3	1,5	1,1	1,5	1,6	0,9	1,4	1,3	0,7	1,1	0,8	0,9	0,8	0,9	1,3	0,8	1,1	1	2,3	1,3
var 22	trans-sabinene hydrate	0	0	0	0	0	0	0	0	0,02	1,2	0,02	0,02	0	0,02	1,3	0,02	0	0	4,9	1
var 23	linalol	4,6	0,4	0,3	2,5	1,6	0,4	1,6	1,8	1,2	3,7	13,4	0,8	5,7	0,02	1,6	2,6	1,1	7,1	0	0
var 24	cis-thujone	0,2	0	0,4	0,3	0,6	0	0,1	0	2,6	0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0,02
var 25	trans-thujone	0	0	0,3	0	0	0,3	0,1	0,1	2,2	0,1	0	0	0,02	0	0	0	0	0	0,2	0,02
var 26	cis-p-menth-2-en-1-ol	0,4	0,5	0,3	0,4	0,6	0,3	0,4	0,3	0	0,6	0,6	0	0,2	0,02	0,2	0,3	0,3	0,4	0,02	0,4
var 27	cis-p-menthaP,8-dien-1-ol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0	0	0,02	0,02
var 28	trans-limonene oxide	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1	0,02	0	0	0,3	0,02
var 29	trans-menth-2-en-1-ol	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	0,3	0,2	0,1	0	0,3	0,4	0	0,1	0	0,1	0,1	0,2	0,3	0,02	0,02
var 30	camphor	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0,02	0	0	0	0	0	0,02	0,02

Annexes

var 31	camphene hydrate	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 32	citronella1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0,02	0	0	0	0
var 33	sabina ketone	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 34	borneol	0	0	0	0	0	0	0	0,7	0	0	0	0,02	0	0,02	0,02	0	0	0	0,02	0,02	0
var 35	terpinène-4-ol	7,2	7,6	5,4	0	9,4	7,1	5,1	4,6	2,6	6,3	1	0,1	0,5	0,1	1,8	0,8	0,2	0,6	5,6	4,3	0
var 36	m-cymen-6-01	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 37	p-cymen-8-01	0	0	0	0	0	0	0,02	0,1	0,02	0,2	0,02	0,02	0,02	0	0,02	0,02	0,02	0,02	0,6	0,02	0
var 38	α - terpinéol	1,6	1,1	0,6	1,1	1,1	0,9	0,2	0,1	0,1	0,3	1,4	0,2	0,6	0,1	0,3	0,3	0,2	0,7	0,02	0,4	0
var 39	verbanone	0,2	0,3	0,2	0,3	0,4	0,3	0	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0	0	0	0	0
var 40	<i>trans</i> -pipéritol	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 41	<i>trans</i> -carveol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 42	nerol 1 (80)	0,3	0,2	0	0,2	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 43	citronellol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1	0	0,4	0	0,2	0,6	0,1	0,4	0	0	0
var 44	acétate de linalyle	6,2	3,4	1,2	3,2	3,7	1	0,8	2,2	2,6	7,7	13,6	3,3	13,7	0,3	3,5	13,2	2,4	7,6	1,4	1,5	0
var 45	acétate de bornyle	0,2	0	0	0,1	0,2	0,4	0,02	10,8	0,3	0,6	0	0,1	0,3	0,3	0,4	0,5	0,3	0,3	0,4	14,6	0
var 46	décan-2,4-dièn-1-ol	0,3	0	0,2	0,5	0,1	0	1,9	0,7	0,7	0,8	2,2	0,02	1	0	0,9	0,9	0,5	1,2	0	0	0
var 47	delta élémène	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,4	0,02	0
var 48	acétate d'alpha terpinène	0,7	1,7	0,8	0,8	1,1	1	0,2	0,4	0,6	0,5	4,2	1,5	3,6	2	1,1	3,8	1,9	3,2	0,4	0,5	0
var 49	acétate denéryle	0,4	0,3	0	0,3	0,3	0	0	0	0	0	0,2	0,02	0	0	0	0,02	0	0,2	0	0	0
var 50	acétate de géranyle	1	0,6	0,3	0,8	0,6	0,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3	0	0	0
var 51	béta élémène	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0,02	0
var 52	béta caryophyllène	0,9	0,9	1,1	1	1,2	0,5	0,1	0,02	0,02	0,2	0,02	0,1	0	0,02	0,02	0,02	0,2	0	0,2	0,3	0
var 53	gamma élémène	0,4	0,2	0,4	0,1	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 54	cadina-3,5-diène	0,1	0,1	0,2	0,3	0,1	0	0	0	0	0	0,1	0	0	0,1	0	0	0	0	0	0	0
var 55	α - humulène	0,6	0,7	1	0,9	1,1	0,7	0	0	0	0	0	0	0	0,1	0	0,02	0,02	0	0,02	0,02	0
var 56	<i>cis</i> -muuro1a-4(14),5-diène	0,1	0,3	0,6	0,5	0,7	0,3	0,2	0	0	0	0	0,1	0	0,4	0	0	0,02	0	0,2	0,1	0
var 57	gamma muuro1ène	0,3	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,2	0,02	0	0,02	0	0,1	0	0	0,02	0	0,02	0	0	0	0
var 58	germacrène-D	1,9	4,4	2,7	3,2	3,3	1,6	0,3	0,02	0	0,1	0	0,2	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0	0,2	0,5	0
var 59	<i>trans</i> muuro1a-4(14),5-diène	0,2	0,3	0,4	0,5	0,2	0,4	0,02	0	0,02	0,02	0	0	0	0	0	0,02	0,02	0	0,3	0,5	0
var 60	α - muuro1ène	0,8	1,1	1,1	0,8	0,7	0,4	0,5	0,02	0,02	0,02	0	0,6	0	0,02	0,1	0,02	0,2	0,1	0	0	0
var 61	béta curcumène	0,6	0,8	0,2	0,3	0,4	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 62	gamma cadinène	0,7	1,1	1,8	1,5	1,2	1,4	1,1	0,02	0,02	0,4	1	0,4	0,1	1	0,2	0,02	0,4	0	1	0,5	0
var 63	delta cadinène	3,3	4,1	6,1	5,6	3,9	4,2	2,3	0,1	0,6	0,5	0,1	2,3	0,4	0,2	0,7	0,1	1,1	0,1	0,1	1	0

var 64	α -cadinène	0,2	0,3	0,5	0,3	0,3	0,3	0,2	0,02	0,02	0,02	0	0,2	0	0	0,02	0,02	0,02	0,02	1,2	0,5
var 65	élémol	4,7	0,7	5,9	3,9	7,6	5,2	2,9	0,5	14,7	2	3,2	1,3	0,3	0,3	2,8	0,4	1,2	1,2	0,3	0,7
var 66	germacrène-B	2,5	2,1	2,3	1,2	2,6	1,2	0,5	0,02	0,1	0,4	0,3	0,4	0,2	0,02	0,2	0,1	0,8	0,2	0,2	0,6
var 67	germacrène-D-4ol	0,8	1,1	2	0,9	1,1	1,1	3,7	0,2	1,3	0,4	0,5	1,5	0,4	0,02	0,7	0,2	0,4	0,6	0,02	0,02
var 68	cédrol	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,8	0	0,1	4,4	1,9	0	0	0	0,2	0,1	0,02	0,3	0,02	0,02	0,5
var 69	gérayl isovalérate	0,3	0,2	0,2	0	0	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 70	béta oplopénone	0,5	0,7	1,2	0,7	0,5	0,9	0,5	0,3	0,02	0,3	0,1	0,6	0,5	0,2	0,5	0,02	0,02	0,2	0,02	0,7
var 71	épicedrol	0,5	3,1	2,5	1,4	0,91	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 72	1,10-diépi-cubénol	0,2	0,2	0,4	0,2	0,3	6,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 73	1-épi-cubénol	0,1	1,1	1,3	1,8	0,8	1,6	0,3	0	0	0	0,3	0,4	0,02	0,02	0,3	0,02	0,2	0,2	0	0
var 74	gamma eudesmol	1,3	2,4	2,1	1,1	2,1	2,4	0,3	0	3	0,5	0,8	0,2	0,1	0,02	0,5	0,02	0,5	0,3	0	0
var 75	épi- α -cadinol	1	1,2	2,9	0,8	1,2	3	0,8	0	1,1	0,2	0,02	2,4	0,1	0,3	0,5	0,02	0,6	0,3	0,02	0,02
var 76	épi- α -muurolol	0,9	0,7	3,7	0,8	1	3,2	0,8	0	1,1	0,3	0,02	0,02	0,1	0	0,5	0	0,6	0,3	0,2	0,02
var 77	beta-eudesmol	0	0	0	0	0	0	0,5	0,02	5,1	1	1,4	0,5	0,4	0,3	1	0,3	1,1	0,6	0,02	0,1
var 78	α -eudesmol	0	0	0	0	0	0	2,4	0,2	6,1	0,6	1,7	0,02	0,5	0,4	1	0,1	1,2	0,7	0,02	0,1
var 79	α -cadinol	6,1	10,7	13,5	5,5	9,2	15,7	2,4	0,2	0,02	0,5	0	4	0,4	0,5	1	0,6	1,1	0,8	0,1	0,02
var 80	bulnesol	3,2	0,9	1,8	1,9	2	0,6	0	0,02	1	0,1	0,02	0	0	0	0,1	0,02	0,02	0,3	0	0
var 81	gurjunene	0,9	0,9	1,1	0,8	1,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 82	γ -gurjunene	0,3	0,6	0,6	0,8	0,4	0,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 83	épi- α -bisabolol	0,3	0,4	0,4	0,1	0,4	0,6	0	0,02	0,02	0,02	0,4	1,4	0	0	0,3	0,1	1,1	0,5	0	0
var 84	2-pentadécanone	0,3	0	0,4	0	0,2	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 85	(Z,Z)-farnesol	0,5	0,4	0,3	0,2	1	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 86	Oplopenone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 87	8- α -acetoxyyl elemol	0,1	0	0,2	0	0,1	0	0,3	0,3	0,4	1,1	0,9	0	0,02	0,4	0,02	0,02	0,02	0,3	0	0
var 88	manoyloxyde	0,4	0	0,2	0	0,2	0	0	0	0	0	0,1	0,02	1,1	0,02	0,02	1,2	0,1	0,3	0	0
var 89	13-épimanoyl oxyde	0,3	0,2	0,6	0,3	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0	0
var 90	Abietatriene	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0	0,02	0,02	0	0	0,02	0	0
var 91	Abietadiene	0,3	0,4	0,5	0,2	0,3	1,8	0	0	0	0	0	0,1	0,02	0,5	0,5	0,02	0,1	0,2	0	0
var 92	phytol	0,3	0	0,2	0	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 93	abieta-8(14),13(15)-dien	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0,02	0	0	0	0	0
var 94	4-épi-abiétal	0,7	0,3	1,1	0,4	0,6	1,3	0	0,02	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0,2	0	0	0
var 95	trans-tatorial	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1	0	0	0
var 96	trans-ferruginol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0

Annexes

var 31	camphene hydrate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 32	citronella1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 33	sabina ketone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 34	borneol	1,1	0,2	0,2	0	0,6	0,3	0,1	0	0,1	0,1	0	0,3	0	0,4	0,4	0,4	0	0	0
var 35	terpinène-4-ol	10,2	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	0,4	0,4	1,5	0,1	1,4	2,3
var 36	m-cymen-6-01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 37	p-cymen-8-01	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,8
var 38	α - terpinéol	1,2	0,8	0,9	0,7	0,8	0,6	1,3	0,5	0,3	0,3	0,7	1,3	0,1	0,9	1,2	0,9	0,8	0,4	0,6
var 39	verbanone	0	0	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0	0,2	0,2	0,1	0,2	0	0,2	0	0
var 40	trans-pipéritel	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 41	trans-carveol	0	0	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3	0,4	0,3	0,5	0,3	0	0,02
var 42	nerol 1 (80)	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0	0,5	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0	0	0
var 43	citronellol	0	0	0,2	0	0,9	0	0,2	0,2	0,1	0,1	0	0,1	0,2	0,02	0	0	0,3	0	0
var 44	acétate de linalyle	1,1	0,6	2,5	0,9	1,3	1,4	2,9	0,7	0,3	0,4	0,5	2,4	2	1,7	0,9	1,2	1	0,8	1
var 45	acétate de bornyle	8,8	0	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,7	0,2	0,2	0,2	0,7	1,1
var 46	décan-2,4-dièn-1-ol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
var 47	delta élémène	0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 48	acétate d'alpha terpinène	0,2	1,5	0,8	1,3	1,2	0,3	0,5	0,5	0,5	0,5	0,8	0,8	1,6	1	1,5	1	1,1	0,3	0,7
var 49	acétate denéryle	0	0,02	0,2	0	0,1	0,3	0,3	0,1	0	0	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0	0
var 50	acétate de géranyle	0	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,5	0,1	0,1	0	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,3	0,4	0,02	0,02
var 51	béta élémène	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0,02
var 52	béta caryophyllène	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 53	gamma élémène	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 54	cadina-3,5-diène	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 55	α - humulène	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 56	cis-muuro1a-4(14),5-diène	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 57	gamma muurolène	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0,2
var 58	germacrène-D	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,9
var 59	trans muuro1a-4(14),5-diène	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 60	α - muurolène	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,3	1,8
var 61	béta curcumène	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
var 62	gamma cadinène	0,2	0	0	0	0,1	0,4	0,3	0,1	0,3	0,6	0,1	0,2	0,4	0	0,2	0,2	0,3	2	2,6
var 63	delta cadinène	0,3	0,6	0,1	0	0,1	0,6	0,4	0,3	0,8	0,9	0	0,6	0,8	1,5	0,6	1	0,5	0,4	0,02

Annexe H: Matrice de corrélation des composants de l'huile essentielle de 39 populations de *J. thurifera* L.

	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V15	V16	V17	V18	V19	V20	V21	V22	V23	V24	V25	V26	V27	V28	
V1	1,00																												
V2	0,60	1,00																											
V3	0,11	-0,07	1,00																										
V4	0,50	0,62	0,15	1,00																									
V5	0,72	0,42	0,05	0,31	1,00																								
V6	0,49	0,89	-0,12	0,34	0,48	1,00																							
V7	-0,01	0,17	-0,09	-0,05	-0,08	0,31	1,00																						
V8	-0,18	-0,16	-0,02	-0,46	-0,23	-0,03	0,14	1,00																					
V9	-0,35	-0,69	-0,04	-0,35	-0,38	-0,65	-0,17	0,43	1,00																				
V10	0,22	0,22	-0,17	-0,07	0,22	0,44	0,80	0,08	-0,23	1,00																			
V11	-0,17	-0,31	0,26	-0,13	-0,20	-0,26	0,10	0,14	0,20	-0,03	1,00																		
V12	0,49	0,82	-0,21	0,36	0,54	0,84	0,44	-0,23	-0,73	0,53	-0,34	1,00																	
V13	0,42	0,60	-0,02	0,35	0,48	0,74	-0,03	-0,12	-0,45	0,26	-0,09	0,50	1,00																
V14	-0,42	-0,81	0,06	-0,42	-0,45	-0,75	-0,19	0,49	0,83	-0,25	0,26	-0,86	-0,52	1,00															
V15	0,28	0,17	0,23	-0,12	0,08	0,11	-0,12	0,35	0,04	-0,24	0,29	-0,03	-0,09	-0,01	1,00														
V16	0,58	0,46	0,12	0,64	-0,01	0,13	-0,01	-0,30	-0,21	0,00	-0,15	0,21	0,00	-0,26	0,07	1,00													
V17	0,08	0,37	-0,26	0,24	0,02	0,28	-0,13	-0,02	-0,18	0,03	-0,50	0,26	0,05	-0,15	-0,23	0,26	1,00												
V18	0,65	0,76	0,02	0,80	0,47	0,49	-0,02	-0,50	-0,58	0,01	-0,33	0,67	0,24	-0,68	0,04	0,69	0,34	1,00											
V19	0,19	0,65	-0,24	0,02	0,24	0,70	0,04	-0,06	-0,56	0,04	-0,31	0,66	0,41	-0,66	0,24	-0,04	0,30	0,37	1,00										
V20	-0,02	-0,13	-0,26	-0,07	-0,02	-0,08	-0,05	-0,12	0,12	0,02	-0,19	-0,10	-0,03	0,01	-0,24	-0,02	0,07	-0,11	-0,07	1,00									
V21	-0,25	-0,29	0,03	-0,35	-0,24	-0,19	0,14	0,40	0,19	0,08	0,49	-0,21	-0,13	0,33	0,26	-0,26	-0,32	-0,39	-0,13	-0,15	1,00								
V22	0,29	0,43	-0,14	0,30	0,14	0,52	0,84	-0,10	-0,32	0,84	-0,05	0,61	0,24	-0,35	-0,25	0,28	0,16	0,32	0,11	-0,04	-0,04	1,00							
V23	-0,27	-0,43	-0,24	-0,30	-0,28	-0,38	-0,18	0,10	0,33	-0,23	0,21	-0,45	-0,27	0,34	0,01	-0,14	-0,17	-0,38	-0,24	0,48	0,10	-0,28	1,00						
V24	0,04	0,27	0,46	0,29	0,09	0,18	0,02	-0,30	-0,35	-0,08	-0,04	0,16	0,15	-0,41	-0,20	0,10	-0,01	0,22	0,12	-0,08	-0,22	0,01	-0,22	1,00					
V25	0,31	0,41	0,46	0,63	0,32	0,27	0,06	-0,47	-0,39	-0,03	-0,07	0,27	0,19	-0,46	-0,20	0,30	0,02	0,51	0,01	-0,09	-0,34	0,21	-0,30	0,85	1,00				
V26	0,04	0,31	-0,41	-0,15	0,17	0,38	-0,16	-0,21	-0,35	0,01	0,00	0,46	0,26	-0,49	-0,17	-0,07	0,42	0,21	0,69	0,42	-0,24	-0,06	0,02	-0,05	-0,20	1,00			
V27	0,18	0,33	-0,09	0,19	0,20	0,48	0,45	-0,02	-0,15	0,65	-0,04	0,39	0,56	-0,24	-0,31	0,00	0,09	0,00	0,04	0,02	-0,04	0,54	-0,25	0,03	0,06	0,04	1,00		

Annexes

	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V15	V16	V17	V18	V19	V20	V21	V22	V23	V24	V25	V26	V27	V28
V28	0,28	0,38	0,13	0,65	-0,17	0,16	0,10	-0,10	-0,08	0,04	0,07	0,04	0,29	-0,10	0,07	0,60	0,01	0,32	-0,14	-0,11	0,00	0,29	-0,01	0,10	0,26	-0,39	0,29	1,00
V29	-0,15	0,23	-0,43	-0,13	-0,02	0,21	-0,12	-0,24	-0,32	-0,12	-0,48	0,37	0,06	-0,45	-0,20	-0,06	0,38	0,21	0,60	0,44	-0,22	-0,11	0,08	-0,01	-0,17	0,93	-0,14	-0,35
V30	0,56	0,46	-0,06	0,10	0,50	0,45	-0,03	0,20	-0,21	-0,02	-0,04	0,27	0,43	-0,24	0,48	-0,04	0,01	0,13	0,41	-0,04	-0,05	-0,01	-0,11	0,00	0,04	0,08	0,10	0,09
V31	0,58	0,35	-0,05	-0,05	0,52	0,35	-0,04	0,22	-0,17	-0,04	-0,05	0,24	0,25	-0,19	0,55	-0,04	-0,02	0,12	0,40	-0,04	-0,03	-0,06	-0,07	-0,06	-0,03	0,11	-0,05	-0,09
V32	-0,07	-0,12	0,03	-0,07	-0,07	-0,12	-0,05	-0,05	0,27	-0,06	-0,19	-0,15	-0,12	0,22	-0,21	-0,03	0,19	-0,12	-0,09	-0,04	-0,13	-0,08	-0,09	-0,08	-0,09	0,16	0,30	-0,12
V33	0,58	0,35	-0,05	-0,05	0,52	0,35	-0,04	0,22	-0,17	-0,04	-0,05	0,24	0,25	-0,19	0,55	-0,04	-0,02	0,12	0,40	-0,04	-0,03	-0,06	-0,07	-0,06	-0,03	0,11	-0,05	-0,09
V34	0,12	0,21	-0,08	0,22	0,08	0,20	-0,07	0,24	0,09	-0,11	0,33	-0,07	0,44	0,01	0,32	-0,10	-0,18	-0,11	0,03	-0,12	0,05	-0,07	0,11	0,01	0,02	-0,29	0,22	0,49
V35	0,13	0,66	-0,23	0,27	0,22	0,66	0,17	-0,28	-0,66	0,21	-0,26	0,71	0,57	-0,77	-0,08	0,07	0,20	0,41	0,75	-0,09	-0,16	0,28	-0,36	0,24	0,18	0,53	0,34	0,15
V36	0,58	0,35	-0,05	-0,05	0,52	0,35	-0,04	0,22	-0,17	-0,04	-0,05	0,24	0,25	-0,19	0,55	-0,04	-0,02	0,12	0,40	-0,04	-0,03	-0,06	-0,07	-0,06	-0,03	0,11	-0,05	-0,09
V37	0,56	0,65	0,03	0,80	0,23	0,49	0,46	-0,33	-0,38	0,37	-0,09	0,55	0,29	-0,44	-0,11	0,67	0,18	0,72	0,09	-0,05	-0,25	0,75	-0,31	0,15	0,50	-0,15	0,35	0,62
V38	-0,26	-0,09	-0,25	0,06	-0,22	-0,22	-0,26	-0,19	-0,07	-0,29	0,26	-0,10	-0,02	-0,09	-0,03	0,04	-0,07	0,00	-0,06	0,24	0,02	-0,30	0,43	-0,10	-0,20	0,16	-0,14	0,09
V39	-0,24	-0,14	-0,14	-0,22	-0,13	-0,26	-0,15	-0,10	-0,11	-0,24	0,22	0,03	-0,19	-0,14	0,23	-0,17	-0,23	-0,01	0,15	-0,23	0,31	-0,33	0,12	-0,08	-0,27	0,12	-0,30	-0,10
V40	-0,06	0,13	-0,09	0,00	0,02	0,09	-0,03	0,03	-0,17	-0,04	-0,14	0,16	0,00	-0,20	-0,02	0,16	0,18	0,11	0,08	-0,04	-0,03	-0,06	0,06	0,02	-0,06	0,19	-0,05	-0,09
V41	-0,24	-0,51	0,03	-0,25	-0,29	-0,47	-0,11	0,12	0,41	-0,19	0,55	-0,55	-0,30	0,45	0,32	-0,15	-0,51	-0,42	-0,45	-0,18	0,36	-0,25	0,41	-0,24	-0,27	-0,56	-0,24	0,12
V42	-0,26	-0,21	0,03	-0,19	-0,20	-0,26	-0,11	0,13	0,10	-0,19	0,42	-0,13	-0,21	0,10	0,24	-0,09	-0,17	-0,12	-0,06	-0,18	0,39	-0,26	0,18	-0,11	-0,27	-0,07	-0,24	-0,07
V43	-0,19	-0,35	-0,21	-0,19	-0,20	-0,33	-0,12	0,07	0,55	-0,11	-0,02	-0,38	-0,25	0,41	-0,08	-0,09	0,12	-0,30	-0,28	0,12	-0,11	-0,16	0,28	-0,19	-0,21	-0,07	0,08	-0,06
V44	-0,15	-0,10	-0,34	-0,16	-0,11	-0,05	-0,12	-0,16	0,09	-0,09	-0,31	-0,07	-0,06	0,04	-0,39	-0,02	0,40	-0,10	0,11	0,54	-0,26	-0,08	0,39	-0,06	-0,14	0,54	0,13	-0,27
V45	0,65	0,47	0,01	0,20	0,67	0,59	-0,06	0,03	-0,30	0,33	-0,08	0,39	0,83	-0,36	0,11	0,03	-0,02	0,15	0,23	0,03	-0,10	0,14	-0,24	0,03	0,08	0,15	0,55	0,20
V46	0,03	0,21	-0,21	0,01	0,14	0,28	-0,13	-0,11	-0,08	-0,09	-0,43	0,14	-0,02	-0,19	-0,08	-0,06	0,48	0,13	0,33	0,61	-0,32	-0,03	0,23	0,09	0,13	0,55	-0,07	-0,30
V47	-0,07	0,31	-0,32	-0,02	0,00	0,32	0,68	-0,05	-0,41	0,56	-0,13	0,65	0,01	-0,48	-0,20	0,01	0,05	0,21	0,36	-0,08	0,06	0,55	-0,24	0,07	-0,05	0,29	0,30	-0,06
V48	-0,24	-0,40	-0,33	-0,24	-0,24	-0,42	-0,18	-0,03	0,46	-0,17	-0,24	-0,37	-0,34	0,37	-0,37	-0,06	0,22	-0,28	-0,22	0,60	-0,19	-0,24	0,34	-0,20	-0,26	0,31	0,01	-0,30
V49	-0,30	-0,22	-0,27	-0,21	-0,23	-0,29	-0,16	0,01	-0,02	-0,23	0,16	-0,11	-0,25	0,01	0,03	-0,09	-0,07	-0,11	-0,01	0,15	0,08	-0,31	0,56	-0,12	-0,32	0,17	-0,28	-0,10
V50	-0,29	-0,09	-0,21	-0,17	-0,18	-0,20	-0,15	-0,05	-0,21	-0,23	0,07	0,07	-0,20	-0,15	0,04	-0,06	-0,04	0,03	0,07	-0,12	0,11	-0,30	0,18	-0,06	-0,27	0,20	-0,29	-0,21
V51	-0,12	0,34	-0,30	0,06	0,02	0,21	0,17	-0,20	0,00	0,11	-0,25	0,58	0,07	-0,58	-0,18	0,00	0,14	0,34	0,43	-0,11	-0,05	0,10	-0,26	0,15	-0,02	0,48	0,05	-0,11
V52	-0,10	0,31	-0,28	0,00	0,07	0,21	0,00	-0,21	-0,49	0,02	-0,31	0,54	0,13	-0,57	-0,19	-0,03	0,17	0,32	0,50	-0,10	-0,08	-0,04	-0,26	0,14	-0,07	0,61	0,00	-0,20
V53	-0,13	0,18	-0,23	-0,01	0,03	0,06	-0,07	-0,20	-0,36	-0,09	-0,22	0,36	-0,04	-0,42	-0,12	0,03	0,14	0,26	0,42	-0,09	-0,05	-0,13	-0,13	0,15	-0,07	0,47	-0,12	-0,19
V54	-0,14	0,18	-0,29	-0,03	-0,05	0,05	-0,08	-0,03	-0,21	-0,11	-0,29	0,31	-0,04	-0,32	-0,19	-0,04	0,16	0,20	0,23	0,12	-0,09	-0,14	-0,05	0,10	-0,10	0,46	-0,14	-0,22

Annexes

	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V15	V16	V17	V18	V19	V20	V21	V22	V23	V24	V25	V26	V27	V28
V55	-0,15	0,22	-0,27	-0,01	0,01	0,07	-0,07	-0,24	-0,42	-0,10	-0,27	0,43	0,01	-0,50	-0,14	-0,04	0,12	0,30	0,43	-0,11	-0,08	-0,14	-0,23	0,14	-0,06	0,53	-0,11	-0,20
V56	-0,12	0,30	-0,30	0,02	0,00	0,21	0,09	-0,05	-0,33	0,06	-0,31	0,48	0,10	-0,44	-0,18	-0,09	0,10	0,26	0,46	-0,12	-0,09	0,02	-0,35	0,15	-0,05	0,44	0,06	-0,13
V57	-0,01	0,36	-0,22	0,16	0,11	0,16	-0,10	-0,33	-0,52	-0,13	-0,35	0,52	-0,03	-0,59	-0,07	0,11	0,19	0,52	0,46	-0,14	-0,18	-0,09	-0,31	0,13	0,07	0,50	-0,18	-0,15
V58	-0,02	0,33	-0,24	0,10	0,08	0,15	-0,06	-0,27	-0,48	-0,06	-0,30	0,52	0,02	-0,56	-0,11	0,08	0,19	0,44	0,46	-0,11	-0,11	-0,07	-0,27	0,12	-0,02	0,54	-0,10	-0,14
V59	0,10	0,35	-0,23	-0,02	0,25	0,37	0,22	-0,19	-0,52	0,42	-0,25	0,65	0,35	-0,61	-0,25	-0,04	0,02	0,26	0,28	-0,05	-0,07	0,23	-0,33	0,07	-0,03	0,46	0,35	-0,14
V60	0,39	0,50	0,00	0,68	0,38	0,21	-0,10	-0,47	-0,47	-0,13	-0,35	0,51	-0,03	-0,51	-0,10	0,50	0,31	0,88	0,20	-0,12	-0,36	0,14	-0,34	0,16	0,44	0,17	-0,17	0,11
V61	-0,13	0,22	-0,24	-0,02	0,02	0,08	-0,07	-0,17	-0,38	-0,10	-0,25	0,40	-0,02	-0,44	-0,07	0,02	0,20	0,29	0,42	-0,09	-0,04	-0,13	-0,15	0,05	-0,10	0,52	-0,13	-0,20
V62	0,36	0,52	-0,14	0,56	0,22	0,27	0,09	-0,47	-0,46	0,07	-0,39	0,59	0,00	-0,58	-0,13	0,54	0,19	0,81	0,25	0,02	-0,35	0,29	-0,29	0,09	0,31	0,26	-0,07	0,18
V63	-0,19	0,20	-0,21	-0,09	-0,01	0,09	-0,11	-0,15	-0,45	-0,12	-0,27	0,38	-0,03	-0,46	-0,07	-0,10	0,12	0,24	0,38	-0,17	-0,11	-0,20	-0,25	0,09	-0,08	0,47	-0,18	-0,28
V64	0,34	0,53	-0,19	0,30	0,28	0,52	0,71	-0,20	-0,54	0,74	-0,21	0,81	0,19	-0,61	-0,22	0,29	0,06	0,51	0,25	-0,07	-0,12	0,78	-0,42	0,07	0,21	0,15	0,46	0,13
V65	-0,16	-0,12	0,24	-0,05	-0,07	-0,14	-0,08	-0,44	-0,19	-0,16	-0,05	-0,10	-0,15	-0,20	-0,01	-0,07	-0,18	-0,03	-0,04	-0,07	-0,26	-0,17	-0,18	0,42	0,29	-0,10	-0,22	-0,13
V66	-0,10	0,26	-0,28	-0,02	0,07	0,16	-0,06	-0,26	-0,46	-0,03	-0,37	0,48	0,04	-0,53	-0,19	0,03	0,21	0,33	0,51	-0,05	-0,14	-0,09	-0,22	0,12	-0,07	0,65	-0,08	-0,25
V67	-0,06	0,36	0,00	0,02	-0,08	0,28	-0,11	-0,06	-0,43	-0,16	-0,33	0,28	-0,14	-0,42	0,17	0,11	0,28	0,30	0,49	-0,04	-0,25	-0,14	-0,24	0,25	0,17	0,35	-0,25	-0,17
V68	-0,05	-0,11	0,17	-0,04	-0,05	-0,08	-0,05	-0,37	-0,12	-0,10	0,17	-0,14	-0,01	-0,10	-0,06	-0,03	-0,24	-0,08	-0,09	-0,12	-0,17	-0,07	-0,07	0,38	0,33	-0,20	-0,13	-0,03
V69	-0,11	0,16	-0,21	-0,02	0,04	0,05	-0,06	-0,18	-0,32	-0,08	-0,21	0,28	-0,04	-0,38	-0,10	0,07	0,09	0,21	0,24	-0,08	-0,08	-0,11	-0,12	0,02	-0,04	0,35	-0,11	-0,17
V70	0,24	0,33	-0,12	0,27	0,27	0,19	-0,20	-0,23	-0,44	-0,05	-0,38	0,38	0,13	-0,38	-0,03	0,24	0,18	0,50	0,22	-0,15	-0,16	-0,02	-0,39	-0,01	0,09	0,24	-0,11	0,00
V71	-0,12	0,19	-0,23	-0,01	0,01	0,05	-0,06	-0,17	-0,33	-0,09	-0,19	0,34	-0,04	-0,38	-0,12	-0,06	0,09	0,25	0,36	-0,08	-0,04	-0,12	-0,20	0,07	-0,06	0,42	-0,11	-0,17
V72	-0,07	0,00	-0,09	-0,06	0,02	-0,05	-0,03	-0,29	-0,20	-0,05	-0,13	0,12	0,00	-0,24	-0,03	-0,04	-0,11	0,10	0,07	-0,05	-0,10	-0,07	-0,15	-0,04	0,04	0,15	-0,07	-0,10
V73	-0,17	0,17	-0,27	-0,07	-0,04	0,04	-0,09	-0,19	-0,38	-0,10	-0,33	0,34	-0,06	-0,41	-0,14	-0,10	0,17	0,24	0,31	0,01	-0,13	-0,15	-0,21	0,04	-0,07	0,50	-0,16	-0,25
V74	-0,20	0,13	0,03	-0,08	-0,02	0,03	-0,07	-0,39	-0,44	-0,14	-0,27	0,28	-0,06	-0,51	-0,24	-0,09	0,06	0,19	0,39	0,02	-0,20	-0,17	-0,19	0,57	0,34	0,47	-0,20	-0,29
V75	-0,22	-0,12	0,04	-0,06	-0,07	-0,22	-0,13	-0,31	-0,27	-0,23	-0,19	-0,01	-0,24	-0,18	-0,06	-0,08	-0,16	0,08	0,00	-0,22	-0,20	-0,24	-0,32	0,11	0,09	-0,03	-0,32	-0,19
V76	-0,11	0,10	-0,03	0,07	0,08	0,00	-0,06	-0,46	-0,38	-0,13	-0,18	0,25	-0,10	-0,44	-0,11	-0,04	-0,08	0,28	0,17	-0,15	-0,22	-0,10	-0,28	0,23	0,25	0,19	-0,21	-0,18
V77	-0,10	0,03	0,37	-0,02	-0,04	0,08	0,00	-0,16	-0,11	-0,04	-0,14	-0,07	0,04	-0,14	-0,30	-0,06	0,10	-0,09	0,06	0,20	-0,24	-0,02	-0,02	0,81	0,65	0,08	-0,04	-0,13
V78	0,08	0,03	0,46	0,24	0,15	0,02	-0,07	-0,38	-0,11	-0,15	-0,08	-0,07	-0,13	-0,16	-0,03	0,07	-0,06	0,17	-0,11	0,06	-0,29	-0,03	-0,07	0,62	0,71	-0,22	-0,22	-0,03
V79	-0,24	0,03	-0,22	-0,14	-0,07	-0,09	-0,11	-0,30	-0,35	-0,17	-0,24	0,23	-0,13	-0,36	-0,05	-0,11	-0,04	0,15	0,29	-0,16	-0,10	-0,23	-0,27	-0,01	-0,12	0,35	-0,21	-0,24
V80	-0,15	0,23	-0,13	-0,02	0,01	0,11	-0,07	-0,16	-0,42	-0,11	-0,26	0,38	-0,02	-0,49	-0,15	0,04	0,20	0,27	0,35	-0,07	-0,10	-0,14	-0,12	0,33	0,07	0,48	-0,14	-0,23
V81	-0,13	0,21	-0,24	-0,01	0,02	0,07	-0,07	-0,19	-0,38	-0,10	-0,23	0,41	-0,03	-0,44	-0,11	-0,01	0,17	0,29	0,47	-0,09	-0,03	-0,13	-0,16	0,17	-0,09	0,53	-0,12	-0,20

Annexes

	V29	V30	V31	V32	V33	V34	V35	V36	V37	V38	V39	V40	V41	V42	V43	V44	V45	V46	V47	V48	V49	V50	V51	V52	V53	V54	V55	V56	V57
V65	-0,02	-0,14	-0,11	-0,14	-0,11	-0,17	0,00	-0,11	-0,15	0,06	0,09	0,05	0,21	-0,07	-0,11	-0,18	-0,18	-0,06	-0,02	-0,16	0,13	0,21	0,09	0,08	0,14	0,05	0,13	0,05	0,10
V66	0,72	-0,11	-0,09	0,01	-0,09	-0,29	0,64	-0,09	-0,13	0,34	0,50	0,46	-0,41	0,22	-0,25	0,10	-0,06	-0,01	0,64	-0,03	0,34	0,59	0,89	0,95	0,92	0,65	0,91	0,75	0,86
V67	0,39	-0,13	-0,09	-0,09	-0,09	-0,31	0,32	-0,09	-0,05	-0,12	0,05	0,05	-0,31	-0,10	-0,23	-0,03	-0,21	0,39	0,14	-0,11	-0,07	0,06	0,32	0,37	0,34	0,27	0,37	0,41	0,55
V68	-0,19	-0,09	-0,07	-0,09	-0,07	-0,07	-0,10	-0,07	-0,05	-0,05	0,03	-0,07	0,25	-0,14	-0,02	-0,14	-0,07	-0,10	-0,17	-0,15	0,05	0,02	-0,17	-0,16	-0,14	-0,17	-0,14	-0,19	-0,15
V69	0,44	-0,07	-0,05	-0,07	-0,05	-0,17	0,49	-0,05	-0,13	0,36	0,36	0,70	-0,23	0,25	-0,18	0,06	-0,10	-0,10	0,52	-0,06	0,31	0,56	0,64	0,67	0,75	0,44	0,62	0,36	0,63
V70	0,25	-0,04	-0,03	-0,26	-0,03	-0,14	0,34	-0,03	0,12	0,11	0,07	0,07	-0,30	-0,08	-0,41	-0,15	0,11	-0,05	0,19	-0,16	-0,15	0,19	0,48	0,50	0,41	0,38	0,53	0,45	0,66
V71	0,46	-0,07	-0,05	-0,08	-0,05	-0,18	0,39	-0,05	-0,13	0,25	0,48	0,07	-0,23	0,21	-0,18	-0,01	-0,11	-0,10	0,57	-0,01	0,30	0,49	0,77	0,79	0,70	0,71	0,77	0,66	0,78
V72	0,30	-0,04	-0,03	-0,05	-0,03	-0,11	0,31	-0,03	-0,08	0,12	0,32	0,00	-0,14	-0,09	-0,11	-0,09	-0,05	-0,11	-0,01	-0,04	-0,11	0,12	0,26	0,23	0,03	0,00	0,38	0,26	0,44
V73	0,63	-0,10	-0,08	-0,05	-0,08	-0,26	0,35	-0,08	-0,18	0,24	0,52	-0,04	-0,34	0,06	-0,20	0,00	-0,15	0,04	0,36	0,02	0,18	0,44	0,78	0,77	0,49	0,73	0,85	0,75	0,88
V74	0,59	-0,13	-0,10	-0,07	-0,10	-0,29	0,52	-0,10	-0,21	0,19	0,40	0,17	-0,36	0,06	-0,25	0,07	-0,18	0,08	0,39	0,00	0,17	0,37	0,66	0,70	0,60	0,47	0,73	0,57	0,72
V75	0,13	-0,21	-0,16	-0,14	-0,16	-0,21	0,16	-0,16	-0,20	0,07	0,27	0,05	0,07	-0,05	-0,27	-0,29	-0,28	-0,24	0,12	-0,19	0,05	0,27	0,38	0,38	0,36	0,22	0,47	0,37	0,55
V76	0,33	-0,15	-0,12	-0,08	-0,12	-0,20	0,37	-0,12	-0,06	0,08	0,33	0,07	-0,13	-0,07	-0,26	-0,21	-0,19	-0,04	0,27	-0,20	-0,06	0,24	0,56	0,55	0,50	0,37	0,64	0,52	0,72
V77	0,08	-0,05	-0,06	0,10	-0,06	-0,13	0,02	-0,06	-0,04	-0,25	-0,35	-0,06	-0,28	-0,28	-0,05	0,21	-0,05	0,39	-0,15	0,11	-0,23	-0,31	-0,17	-0,13	-0,14	-0,08	-0,16	-0,14	-0,17
V78	-0,21	-0,12	-0,09	-0,05	-0,09	-0,17	-0,18	-0,09	0,14	-0,22	-0,35	-0,12	0,06	-0,24	-0,10	-0,10	-0,16	0,32	-0,29	-0,13	-0,15	-0,26	-0,33	-0,33	-0,25	-0,23	-0,31	-0,31	-0,19
V79	0,50	-0,14	-0,10	-0,11	-0,10	-0,22	0,47	-0,10	-0,26	0,29	0,58	0,15	-0,11	0,13	-0,24	-0,13	-0,20	-0,21	0,40	-0,08	0,23	0,51	0,74	0,75	0,64	0,48	0,83	0,67	0,84
V80	0,59	-0,09	-0,07	-0,09	-0,07	-0,23	0,48	-0,07	-0,16	0,39	0,49	0,66	-0,31	0,34	-0,21	0,10	-0,13	-0,01	0,57	-0,10	0,46	0,72	0,84	0,86	0,89	0,71	0,83	0,62	0,73
V81	0,60	-0,08	-0,06	-0,09	-0,06	-0,20	0,52	-0,06	-0,15	0,37	0,60	0,34	-0,26	0,34	-0,21	0,05	-0,12	-0,09	0,65	-0,06	0,46	0,65	0,90	0,94	0,94	0,73	0,91	0,79	0,81
V82	0,62	-0,09	-0,07	-0,09	-0,07	-0,22	0,44	-0,07	-0,16	0,35	0,63	0,16	-0,29	0,21	-0,23	-0,03	-0,13	-0,10	0,48	-0,06	0,30	0,61	0,88	0,87	0,64	0,76	0,93	0,76	0,92
V83	0,42	-0,10	-0,07	0,34	-0,07	-0,26	0,09	-0,07	-0,16	-0,04	0,00	0,08	-0,36	-0,15	-0,08	0,17	-0,14	0,11	0,10	0,29	-0,02	0,02	0,22	0,30	0,23	0,14	0,28	0,23	0,32
V84	0,47	-0,07	-0,05	-0,08	-0,05	-0,18	0,52	-0,05	-0,13	0,27	0,44	0,42	-0,23	0,07	-0,18	-0,03	-0,10	-0,11	0,40	-0,10	0,09	0,41	0,67	0,67	0,71	0,39	0,74	0,57	0,72
V85	0,63	-0,08	-0,06	-0,09	-0,06	-0,20	0,63	-0,06	-0,15	0,37	0,64	0,29	-0,26	0,22	-0,21	0,01	-0,11	-0,14	0,45	-0,05	0,31	0,54	0,76	0,78	0,70	0,40	0,85	0,69	0,79
V86	-0,15	-0,04	-0,03	-0,05	-0,03	-0,11	-0,05	-0,03	0,57	-0,10	-0,19	-0,03	-0,14	-0,15	-0,11	-0,12	-0,02	0,16	-0,08	-0,17	-0,18	-0,16	-0,07	-0,11	-0,07	-0,08	-0,09	-0,11	0,12
V87	0,49	0,10	0,13	-0,08	0,13	-0,14	0,19	0,13	-0,01	-0,09	-0,29	0,00	-0,32	-0,27	-0,12	0,44	-0,01	0,60	-0,08	0,23	-0,11	-0,24	-0,09	-0,01	0,00	0,14	-0,05	0,01	-0,06
V88	0,21	-0,06	-0,06	0,50	-0,06	-0,19	-0,03	-0,06	-0,11	-0,01	-0,14	0,19	-0,26	-0,11	0,48	0,77	-0,09	0,32	0,04	0,66	-0,05	-0,03	0,05	0,06	0,16	0,03	0,06	-0,02	0,00
V89	0,48	-0,07	-0,06	-0,08	-0,06	-0,19	0,37	-0,06	-0,14	0,29	0,45	0,35	-0,25	0,21	-0,19	0,02	-0,12	-0,05	0,59	-0,08	0,29	0,56	0,85	0,86	0,88	0,82	0,84	0,71	0,78
V90	0,02	-0,07	-0,05	-0,08	-0,05	-0,16	-0,19	-0,05	-0,11	-0,27	-0,31	-0,05	-0,24	-0,24	0,08	0,07	-0,09	0,12	-0,14	0,27	-0,14	-0,18	-0,16	-0,14	-0,12	0,00	-0,12	0,06	-0,12
V91	0,44	-0,09	-0,07	-0,05	-0,07	-0,21	0,37	-0,07	-0,15	0,11	0,34	0,09	-0,29	-0,08	-0,14	-0,07	-0,11	-0,08	0,14	0,04	-0,06	0,21	0,44	0,43	0,26	0,24	0,57	0,48	0,60
V92	0,38	-0,06	-0,04	-0,06	-0,04	-0,14	0,42	-0,04	-0,11	0,33	0,30	0,80	-0,19	0,26	-0,15	0,09	-0,08	-0,05	0,52	-0,10	0,32	0,54	0,62	0,65	0,87	0,45	0,59	0,40	0,51

¹Department of Molecular Biology, Abbes LAGHROUR University, Khenchela, Algeria

²Laboratory of Natural Resources Valorization, Ferhat Abbas University, Setif, Algeria

³Blaise Pascal University, Clermont Ferrand, France

⁴LEXVA Analytique, Beaumont, France

Characterization and chemosystematics of Algerian thuriferous juniper (*Juniperus thurifera* L.)

Azzeddine Zeraib^{1,2*}, Messaoud Ramdani², Lamia Boudjedjou², Pierre Chalard³, Gille Figuredo⁴

(Received December 15, 2013)

Summary

Leaf essential oils (EO) of *Juniperus thurifera* L. collected at six locates from Aures Mountains in Algeria, were analyzed by gas chromatography (GC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). The main components identified were: sabinene (5.2-19.78 %), terpinene-4-ol (5.43-9.37 %), elemol (0.69-7.61 %), Δ -cadinene (3.26-6.11 %). Terpenoids data of our samples and those reported in other works realized by various authors were subjected to Principal Component Analysis (PCA), and Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means (UPGMA) cluster was carried. This analysis revealed significant differences between *Juniperus thurifera* populations, and confirmed the clear separation of Algerian populations to the European and Moroccan populations. Algerian thuriferous juniper is more similar to *J. thurifera* from Moroccan populations, and different from that of essential oils obtained from European populations.

Introduction

Thuriferous juniper (*Juniperus thurifera* L.), is an evergreen and a dioecious shrub or tree with scale leaves and bluish black berries at maturity, occurring from Algeria and Morocco over the Iberian Peninsula and the Pyrenees to the French and Italian Alps and to Corsica (GAMISANS et al., 1994; GAUQUELIN et al., 1988; GAUQUELIN et al., 2003). In Algeria, the thuriferous juniper is extremely rare and only localized in the Aures mountains with a number of scattered and often very large trees that are probably the remains of formerly more extensive stands (VELA and SCHÄFER, 2013).

Juniperus thurifera is a morphologically variable species, perhaps as a result of long-term isolation of disjunct populations. MAIRE (1926) was the first to distinguish the North African and European populations of *J. thurifera*. Later, based on morphometric characters such as the size of the cones and the number of seeds per cone. GAUQUELIN et al. (1988) recognized both entities as subspecies; *J. thurifera* subsp. *africana* (Maire) Gauquelin in North Africa, and *J. thurifera* subsp. *thurifera* in the European range of the species. Of the latter, there are 3 varieties: var. *thurifera* on the Iberian Peninsula, var. *gallica* De Coincy in the Alps and var. *corsicana* Gauquelin in Corsica (GAUQUELIN et al., 2003). The distinction of North African and European populations of *J. thurifera* is validated by ROMO and BORATYNSKY (2007).

Studies based on essential oils composition, random amplified polymorphic DNA (RAPD) and morphometric data (ADAMS, 1999; ADAMS et al., 2003; BARRERO et al., 2004; ACHAK et al., 2008; 2009; BAHRI et al., 2013; BORATYNSKY et al., 2013), supported the clear differentiation of *J. thurifera* subsp. *africana* from Morocco against the European populations, but without studying the Algerian ones, which are generally empirically assimilated to the Moroccan taxon. The study achieved by TERRAB et al. (2008), based on genetic polymorphism (AFLP), has shown that The Algerian population was genetically more closely related to the European than to the Moroccan

ones, probably due to dispersal events from Europe to Algeria, and the Moroccan populations should be recognized as a distinct subspecies (*J. thurifera* L. subsp. *africana* (Maire) Romo and Boratynsky). A taxonomic synthesis, completed by a brief morphological study of fruits based on herbarium samples was performed by VELA and SCHÄFER (2013), concludes with the desirable distinction of a Moroccan taxon (subsp. *africana*) and an Algerian one (*Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* Vela & P. Schäf.). It is distinguishable as intermediate between subsp. *thurifera* and subsp. *africana*, more similar to the first one following molecular properties but sharing partial polymorphism with the second and more similar to the latter one following some morphological elements as fruit size average but with a variation amplitude partially sharing numerical values with the first. But above all, the polymorphism of Algerian populations is very poorly known and would be deeply studied in the future (VELA and SCHÄFER, 2013).

The aim of the present study was to characterize the Algerian Thuriferous juniper and sought its taxonomic status. We are based on the chemical composition of the essential oils isolated from the leaves of *Juniperus thurifera* L. collected at different locations in Aures mountains (Algeria), and compare these data with other studies on the chemical variability of essential oils from European and Moroccan populations.

Material and methods

Plant material

Leaves of *juniperus thurifera* L. were collected in March, 2010, from different localities around the Aures Mountains, in Algeria (Tkout1 at 1450 m of altitude, Tkout2 at 1700 m, Baâli at 1750 m, Tizi nerrsas at 1500 m, Tibhirin at 1500 m, and Chelia at 1700 m of altitude). A voucher specimen is deposited in the herbarium of the Laboratory of Natural Resource Valorization, Faculty of Biology, Farhat Abbes University, Setif, Algeria.

Isolation and analysis of the essential oils

The plant material was submitted to hydro distillation for 3 h, according to TUMEN et al. (2010). The prepared volatile oils were dehydrated over anhydrous sodium sulphate and stored in sealed glass vials at 4-5 °C prior to analysis. Yield based on dry weight of the sample was calculated.

The essential oils were analyzed on a Hewlett-Packard gas chromatograph Model 5890, coupled to a Hewlett-Packard model 5971, equipped with a DB5 MS column (30 m X 0.25 mm; 0.25 μ m), programming from 50 °C (5 min) to 300 °C at 5 °C/min, with a 5 min hold. Helium was used as the carrier gas (1.0 mL/min); injection in split mode (1:30); injector and detector temperatures, 250 and 280 °C, respectively. The mass spectrometer worked in EI mode at 70 eV; electron multiplier, 2500 V; ion source temperature, 180 °C; MS data were acquired in the scan mode in the *m/z* range 33-450. The identification of the components was based on comparison of their mass spectra with those of NIST mass spectral library (NIST, 2002) and those described by ADAMS (2001) as well as on comparison of

* Corresponding author

their retention indices either with those of authentic compounds or with literature values (ADAMS, 2001).

Statistical analysis

To examine the phytochemical diversity based on the content (%) of chemical constituents in essential oil among the studied six populations; these were first subjected to Principal Components Analysis (PCA) to examine the relationships among the compounds and identify the possible structure of the population. Cluster analysis (UPGMA) was carried out on the original variables and on the Manhattan distance matrix to seek for hierarchical associations among the populations. Statistical analyses were carried out using STATISTICA 8 software.

Results and discussion

Variability of Algerian *J. thurifera* essential oils

Volatile oil yield of the leaves of the investigated *J. thurifera* populations is summarized in (Tab. 1). The yield varied from 0.40 to 0.53 % in different populations of *J. thurifera*. Maximum essential oil yield was noticed in Tkout1 population (0.53 %), followed by Tizi nersas (0.48 %), the minimum essential oils yield was noticed in Chelia population (0.40 %), which is very low compared to the yield obtained by ACHAK et al. (2008; 2009) and BAHRI et al. (2013) from the same species.

Inter-population variation of essential oil yield is quite common phenomenon and encountered earlier in several other plant species. These variations might be due to climatic conditions of the growing site, pedoclimatic variation or due to difference in the genetic makeup of the *J. thurifera* populations.

The volatile oils of all six *Juniperus thurifera* populations were characterized and identified by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. The relative percentages of the constituents are listed in the Tab. 1. Seventy nine constituents, representing 90.2-98.7 % of the total oil composition, were identified. Seventeen constituents were monoterpene hydrocarbons accounting (18.6-40.1 %) of the EO, 17 constituents were oxygenated monoterpenes (10.3-24 %), 22 constituents were sesquiterpene hydrocarbons (15.1-23.8 %), 18 constituents were oxygenated sesquiterpenes (18-36.8 %), two constituents were diterpene hydrocarbons (0.2-1.7 %), and three constituents were oxygenated diterpenes (0.5-1.8 %).

The main components identified were: Sabinene (5.2-20 %), terpinene-4-ol (5.4-9.4 %), Elemol (0.7-7.6 %), Δ -cadinene (3.3-6.1 %), linalyl acetate (0.9-6.2 %), γ -terpinene (2.6-3.9 %), α -pinene (2.6-

3.9 %) and myrcene (1.2-3.3 %). Leaf EO of *Juniperus thurifera* in deferent regions of Morocco are rich in sabinene (12.2 % to 45.8 %), α -pinene (4 % to 17.1 %) and terpinene-4-ol (2.6 % to 16.9 %) (ADAMS et al., 2003; ROMAN et al., 2008; 2009; BAHRI et al., 2013). The major constituent of the volatile oils obtained from branches of Moroccan *Juniperus thurifera* is β -pinene (36.26 %) (MANSOURI et al., 2010).

Twenty-two compounds showed statistically significant variations among the six locations, the components identified (sabinene, α -cadinol, valencene, elemol, linalyl acetate, and linalool) show a significant variability of terpenoid (Fig. 1).

The principal component analysis (PCA) performed on the correlation matrix of the 79 variables showed that the first three axes explained 74.3 % of the observed variation. This analysis allowed recognizing two distinct EO types based on the content of sabinene, linalyl acetate, linalool, γ -terpinene, myrcene, bulnesol, valencene, γ -eudesmol, epi- α -cadinol, epi- α -muurolol, and 4-epi-abietal.

The first group was represented by four populations (Tkout1, Baâli, Tizi nersas, Tibhirine), located on the positive part of axis one, characterized by high concentrations of sabinene, linalyl acetate, linalool, γ -terpinene, myrcene, and bulnesol. This group is opposed to the second group, formed by two populations (Chelia and Tkout2), which is characterized by high concentrations of valencene, γ -eudesmol, epi- α -cadinol, epi- α -muurolol, and 4-epi-abietal (Fig. 2).

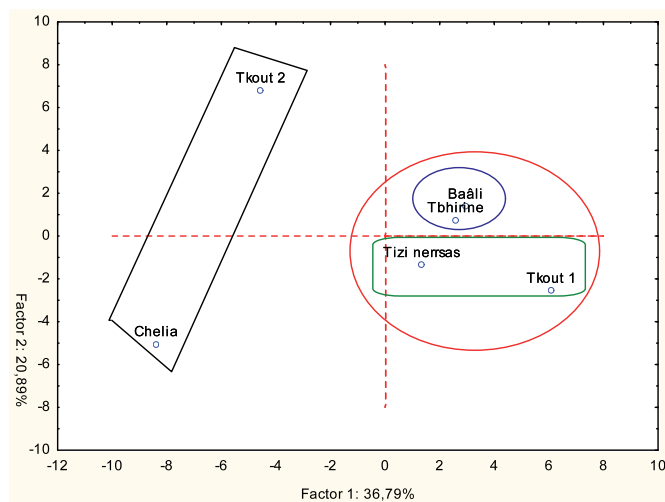


Fig. 2: Projection of Algerian *Juniperus thurifera* populations on the factor plane (1x 2).

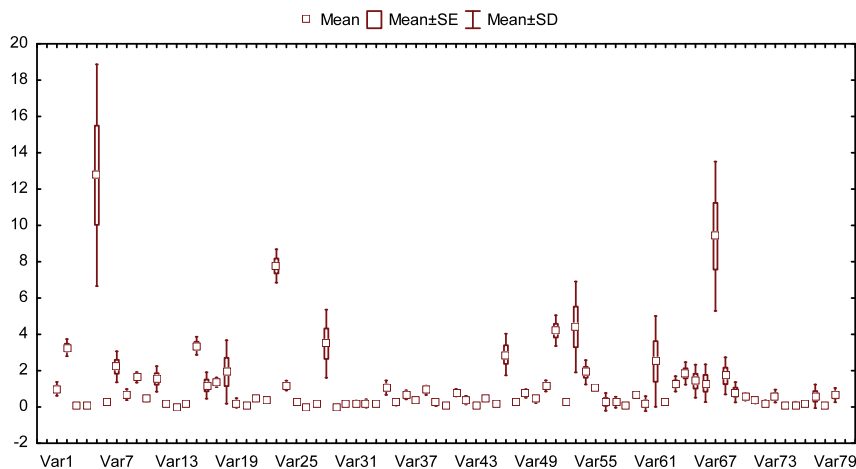


Fig. 1: Chemical Variability of main compounds of *Juniperus thurifera* (Var 1 to Var 79 are mentioned in the Tab. 1).

Tab. 1: Composition of the leaf essential oils of *J. thurifera* from Aures mountains in Algeria.

	Compound	Ki	Tk1	Tk2	Tz	Ba	Tb	Ch
Var1	α -thujene	924	1.2	0.8	1.1	1.5	0.8	0.5
Var2	α-pinene	932	3.3	2.6	2.62	3.47	3.1	3.9
Var3	fenchene	946	0.1	tr	0.1	0.1	0.1	-
Var4	camphene	947	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	tr
Var5	sabinene	975	17.9	8.3	11.3	20.0	9.0	5.2
Var6	β -pinene	979	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4
Var7	myrcene	991	2.8	1.7	2.0	3.3	1.7	1.2
Var8	Δ -3-carene	1011	0.2	1.5	0.9	0.5	1.0	0.8
Var9	α -terpinene	1018	1.6	1.3	1.7	1.8	1.9	1.2
Var10	p-cymene	1026	0.5	0.2	0.3	0.7	0.4	0.5
Var11	limonene	1031	1.4	3.2	2.5	2.0	1.2	0.7
Var12	β -phellandrene	1031	0.2	-	0.2	0.2	0.2	0.2
Var13	(Z)- β -ocimene	1040	0.10	-	-	-	-	-
Var14	(E)- β -ocimene	1050	0.3	-	0.2	0.3	0.2	-
Var15	γ-terpinene	1062	3.2	2.6	3.5	3.6	3.9	2.6
Var16	cis-sabinene hydrate	1068	0.8	0.8	1.6	0.6	2.3	0.6
Var17	terpinolene	1088	1.3	1.2	1.5	1.5	1.5	0.9
Var18	linalool	1096	4.6	0.3	0.4	2.5	1.6	0.4
Var19	cis-thujone	1100	0.1	0.4	-	0.3	0.6	-
Var20	trans-thujone	1111	-	0.27	-	-	-	0.3
Var21	cis-p-menth-2-en-1-ol	1122	0.4	0.3	0.5	0.4	0.6	0.3
Var22	trans-menth-2-en-1-ol	1141	0.3	0.2	0.3	0.3	0.4	0.3
Var23	terpinene-4-ol	1177	7.2	5.4	7.6	7.5	9.4	7.1
Var24	α -terpineol	1195	1.6	0.6	1.1	1.1	1.1	0.9
Var25	verbanone	1205	0.2	0.2	0.3	0.3	0.4	0.3
Var26	trans piperitol	1209	0.1	-	-	-	-	-
Var27	nerol 1 (80)	1224	0.3	-	0.2	0.2	0.2	-
Var28	linalyl acetate	1249	6.2	1.2	3.4	3.1	3.7	0.9
Var29	pregeijerene	1280	0.12	-	-	-	-	-
Var30	bornyl acetate	1284	0.1	-	-	0.1	0.1	0.4
Var31	isobutyl benzene	1287	0.3	-	0.3	-	0.3	-
Var32	decan-2,4-dien-1-ol	1312	0.3	0.2	-	0.5	0.1	-
Var33	δ -elemene	1338	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	-
Var34	α -terpinene acetate	1343	0.7	0.8	1.7	0.8	1.1	0.1
Var35	neryl acetate	1362	0.4	-	0.3	0.2	0.2	-
Var36	geranyl acetate	1381	1.0	0.3	0.6	0.8	0.6	0.3
Var37	β -elemene	1391	0.3	0.4	0.3	0.4	0.4	0.2
Var38	β -caryophyllene	1419	0.9	1.1	0.9	1.0	1.2	0.5
Var39	γ -elemene	1429	0.4	0.4	0.2	0.1	0.4	-
Var40	cadina-3,5-diene	1448	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	-
Var41	α -humulene	1454	0.5	1.0	0.8	0.9	1.1	0.7
Var42	cis muurola-4(14),5-diene	1460	0.1	0.5	0.2	0.4	0.7	0.3
Var43	cadina-1(6),4-diène	1460	0.1	0.2	-	0.2	0.1	-
Var44	γ -muurolene	1477	0.3	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5
Var45	curcumene	1478	0.2	-	0.3	-	0.2	0.2
Var46	germacrene-D	1480	1.9	2.7	4.4	3.1	3.3	1.6

Var47	trans muurola-4(14),5-diene	1494	0.2	0.4	0.3	0.5	0.2	0.4
Var48	α -muurolene	1500	0.8	1.1	1.1	0.8	0.6	0.4
Var49	β -curcumene	1516	0.5	0.2	0.7	0.2	0.4	0.2
Var50	γ -cadinene	1514	0.7	1.8	1.0	1.5	1.2	1.4
Var51	Δ-cadinene	1523	3.3	6.1	4.1	5.6	3.9	4.1
Var52	α -cadinene	1539	0.2	0.4	0.2	0.3	0.3	0.3
Var53	elemool	1550	4.7	5.8	0.7	3.9	7.6	5.2
Var54	germacrene-B	1561	2.5	2.3	2.0	1.2	2.6	1.2
Var55	germacrene-D-4ol	1576	0.8	1.9	1.1	0.9	1.1	1.1
Var56	Caryophyllene Oxide	1585	0.1	-	1.1	0.2	-	-
Var57	cedrol	1596	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.8
Var58	humulene epoxyde II	1607	0.2	0.2	0.1	-	-	0.1
Var59	β -oplopenone	1608	0.5	1.2	0.7	0.6	0.5	0.9
Var60	epi-cedrol	1613	0.92	-	-	-	-	-
Var61	valencen	1619	0.5	2.5	3.1	1.4	0.9	6.6
Var62	1,10-diepi-cubenol	1627	0.3	0.3	0.2	0.2	0.4	0.3
Var63	1-epi-cubenol	1629	1.1	1.3	1.0	1.8	0.8	1.6
Var64	γ -eudesmol	1632	1.3	2.1	2.4	1.1	2.	2.4
Var65	epi- α -cadinol	1640	0.9	2.9	1.1	0.8	1.2	3.0
Var66	epi- α -muurolol	1642	0.9	3.7	0.7	0.8	1.0	3.1
Var67	α-cadinol	1663	6.1	13.5	10.6	5.5	9.2	15.7
Var68	bulnesol	1666	3.2	1.8	0.9	1.9	2.0	0.6
Var69	gurjunene	1670	0.8	1.1	0.9	0.8	1.6	-
Var70	γ -gurjunene	1678	0.3	0.6	0.6	0.8	0.4	0.7
Var71	epi- α -bisabolol	1686	0.3	0.4	0.4	0.1	0.4	0.6
Var72	2-pentadecanone	1698	0.3	0.3	-	-	0.2	0.4
Var73	(Z,Z)-farnesol	1714	0.5	0.3	0.4	0.2	1.0	0.9
Var74	8- α -acetoxyl elemol	1789	0.1	0.2	-	-	0.1	-
Var75	manoyl oxide	1989	0.4	0.2	-	-	0.2	-
Var76	13-epi-manoyl oxide	1992	0.3	0.6	0.1	0.3	0.2	-
Var77	Abietatriene	2090	0.3	0.5	0.4	0.2	0.3	1.7
Var78	phytol	2109	0.2	0.2	-	-	0.1	-
Var79	4-epi-abietal	2299	0.7	1.1	0.3	0.4	0.6	1.3
Monoterpene hydrocarbons			35.3	24.5	29.8	40.1	27.9	18.6
Oxygenated monoterpenes			24.0	10.3	16.7	18.3	20.6	12.3
Sesquiterpene hydrocarbons			15.1	23.8	21.9	20.2	20.4	19.5
Oxygenated sesquiterpenes			22.4	36.2	21.7	18.0	27.7	36.8
Diterpene hydrocarbons			0.5	0.7	0.4	0.2	0.4	1.7
Oxygenated diterpenes			1.4	1.8	0.5	0.6	1.0	1.3
Yield (%)			0.53	0.46	0.48	0.45	0.46	0.40
Total %			98.7	97.3	91.0	97.4	98.0	90.2

(Tk1: Tkout 1, Tk2: Tkout 2, Tz: Tizi nerrsas, Tb: Tibhirin, Ch: Chelia, Ba: Baâli).

Mono and sesquiterpenoids variability reflects the heterogeneity of the genetic structure of population (DODD and POVEDA, 2003; LIMA et al., 2010; SHANJANI et al., 2010). HANNOVER (1992) provides evidence that terpene chemotypes are strongly controlled by genetic factors; he also reported instances of environmental variation in terpene expression under extreme habitat conditions. A prevalence of monoterpene hydrocarbons compared to other

components was noted in Tkout1, Baâli, Tibhirin, and Tizi nerrsas populations, while its reverse trend could be seen in Tkout2 and Chelia populations, which were dominated by sesquiterpene hydrocarbons (Tab. 1). Monoterpenes and sesquiterpene hydrocarbons were strongly related to chemical balance in soils (organic matter, phosphor and base saturation). The chemovariation observed appears to be environmentally determined (LESJAK et al., 2013).

Influence of environmental factors in the chemical composition of essential oils have also been reported in the genus *Juniperus* (DODD and POVEDA, 2003; LIMA et al., 2010; SHANJANI et al., 2010; LOŽIENE and LABOKAS, 2012; LESJAK et al., 2013), *Cupressaceae* family (OTTAVIOLI, 2009), and are well known for other family (HAIDER et al., 2004; KAROUSOU et al., 2005; CUARDO et al., 2006; LEI et al., 2010; DJABOU et al., 2012).

The dendrogram based on UPGMA clustering (Manhattan distance), shows the presence of two groups (Fig. 3) that confirms result obtained from PCA analyses. The first cluster is divided into two sub-groups based on the content of terpinene-4-ol, germacrene-D, α -terpinene acetate, cis-sabinene hydrate. The first sub-group formed by Tkout1 and Baali, characterized by low concentration of these constituents unlike for Tizi nerssas and Tibhirin populations.

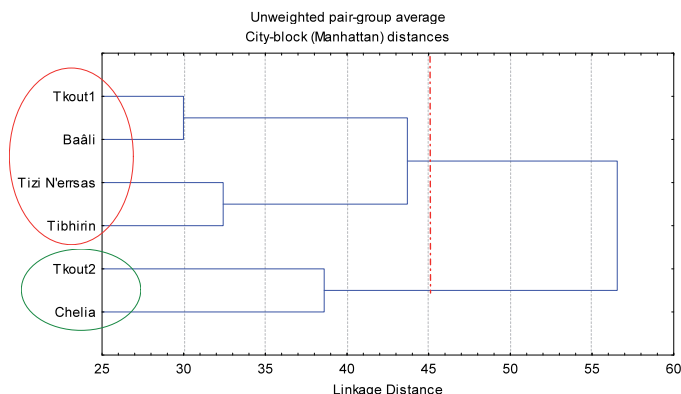


Fig. 3: Dendrogram of Algerian *Juniperus thurifera* populations, based on Manhattan Similarity distance.

Characterization and chemosystematics

Leaf essential oils are extremely useful for the analyses of populational differentiation, hybridization and introgression and in assigning individual plants to a species (ADAMS, 2010).

To compare the Algerian thuriferous juniper with other populations, terpenoids data of our samples and those reported in the work of ADAMS (1999), ADAMS et al. (2003), ACHAK et al. (2009), OTTAVIOLI (2009) and BAHRI et al. (2013) were subjected to PCA, and UPGMA cluster was carried. This analysis revealed significant differences between *Juniperus thurifera* populations.

The PCA performed on the correlation matrix of the 96 variables based on the oil composition resulted in 38 factors of which the first three accounted for 47.4 % of the variance among the 39 populations, shows that *J. thurifera* populations are divided into three distinct groups (Fig. 4). The Algerian populations separated by 27.30 % of the variance in the chemical composition of essential oils. However, the Moroccan populations accounted for about 12.66 % of the variance (Fig. 4).

The UPGMA based on the Unweighted pair-group average distance and the City-block (Manhattan) (Fig. 5), has divided 39 populations of *J. thurifera* into two clads, confirmed the separation of the North African populations from the European populations.

Then, some qualitative differences in chemical composition can be deduced. The leaf essential oil composition of European populations was higher in limonene (30-75 %) and lower in sabinene (0-9.7 %) (ADAMS et al., 2003; ACHAK et al., 2008; OTTAVIOLI, 2009). However, the composition of the oils from Algerian populations was similar to those reported for oils of *J. thurifera* from Moroccan populations (ADAMS et al., 2003; ACHAK et al., 2008; BAHRI et al., 2013). The concentration of α -pinene and sabinene were greater in the

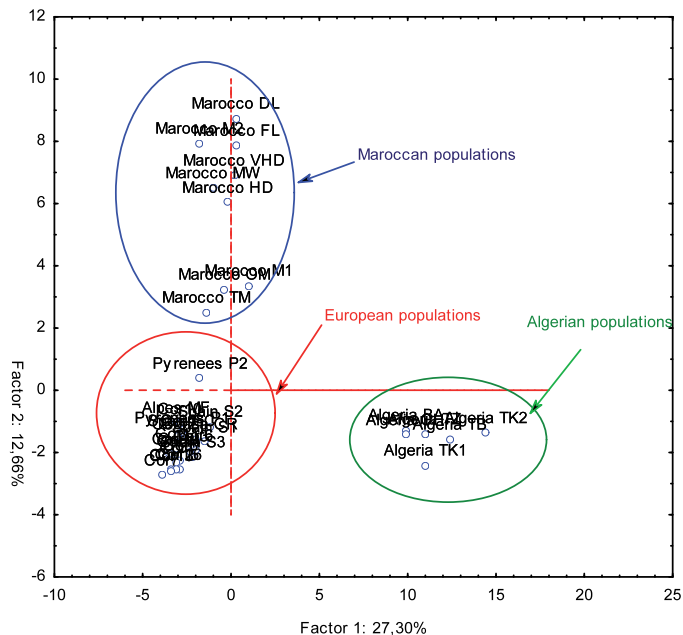


Fig. 4: Projection of *Juniperus thurifera* populations on the factor plane (1x 2).

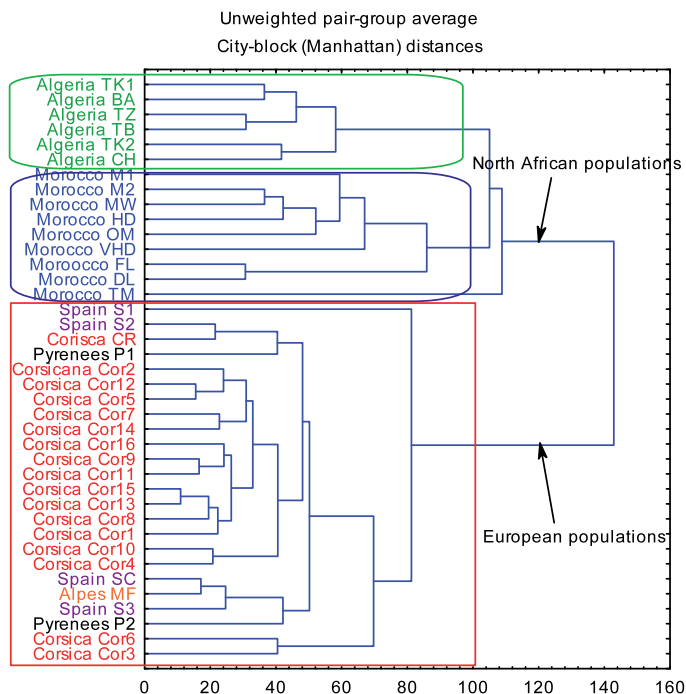


Fig. 5: Dendrogram of *Juniperus thurifera* populations, based on Manhattan Similarity distance (ADAMS, 1999: Spain S3 = 2 Km e Ruidera); (ADAMS et al., 2003: Spain SC = Consuegra, Spain S1 and S2 = Ruidera); Morocco M1 and M2 = Atlas Mts, Morocco TM = Tizi-n-Tichka, Morocco OM = Oukaimeden; Pyrenees P1 and P2 = Pyrenees, France; Corsica CR = Corse, Island); (ACHAK et al., 2009: Morocco FL = fresh leaves; Morocco DL = dried leaves, Ait Lkak Oukaimeden, Atlas Mts), (OTTAVIOLI, 2009: Corsica Cor 1-16 = Corse) and (BAHRI et al., 2013: Morocco VHD and MW= Morocco)

oil of the Moroccan populations, conversely, the concentrations of Δ -cadinene and α -cadinol were greater in the oil of Algerian population.

Should be recognized that Algerian populations as sub-group distinctive from the European and Moroccan populations or do they merely represent geographical interspecific variation?

Algerian *Juniperus thurifera* is distinguishable as intermediate between subsp. *africana* and subsp. *thurifera*. More similar to the first one following some morphological elements as fruit size average but with a variation amplitude partially sharing numerical values with the latter (VELA and SCHÄFER, 2013). The results of the present study confirmed this similarity between Moroccan populations subsp. *africana* and Algerian populations called *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* VÉLA & P. SCHÄF.

In view of the data presented in this study, it is apparent that Algerian populations is not related to subsp. *thurifera* (*sensu stricto*), but to subsp. *africana*.

However, Terpenes are generally not as useful in making phylogenetic decisions because several terpenes may be controlled by a single enzyme (ADAMS, 2010). FARJON (2005) considered species based on the chemistry of terpenes analysis as based on inconclusive evidence, but DNA sequence data certainly can (which is the main reason for their superiority).

The study achieved by TERRAB et al. (2008), based on genetic polymorphism, has shown that Algerian populations are distinct from the Moroccan ones and more related to European populations.

Intra- and inter-population morphological variability throughout this vast territory fragmented (Spain, Pyrenees, Alps, Corsica and Morocco) has recently been investigated by BORATYŃSKI et al. (2013) and gives results congruous with genetic pattern obtained on the same whole Europe/Morocco (TERRAB et al., 2008), the Algerian population excluded.

Finally, it is true that adding up the number of terpene differences may or may not give a good estimation of divergence. But, the number and scope of terpene differences between the Algerian and European populations indicate considerable differentiation. Additional research, using morphological variability, should help in elucidating these relationships.

Conclusions

In brief, essential oils analysis carried out on six populations of *J. thurifera* showed both inter-population variability in their terpenoid content, with abundance of sabinene, terpinene-4-ol, elemol... The PCA and UPGMA analysis allowed recognizing two distinct EO types based on the content of monoterpene and sesquiterpene hydrocarbons, the chemovariation observed appears to be environmentally determined. VÉLA and SCHÄFER (2013), proposed to call the Algerian population by *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca* VÉLA & P. SCHÄF, in the varietal rank, which will allow us to consider now as belonging European subset (subsp. *thurifera*) or Moroccan subset (subsp. *africana*) or equal with both. In view of the results of this study, it seems that the Algerian populations are much more similar to the Moroccan populations, but it is still early to specify its taxonomic status. Therefore, we support the proposition of VÉLA and SCHÄFER (2013), and the conflict between chemical and genetical data should be resolved on the morphological level.

Acknowledgments

The authors are thankful to Mr. Fercha Azzeddine, teacher in the Department of Biology, Abbès Laghrou University, Khenchela, Algeria, for the preliminary examination of this work.

This study was supported, in part, by the chemistry of heterocyclic compounds and carbohydrates laboratory, higher National School of

Chemistry, Clermont Ferrand, France. And the Ministry of Higher Education and Scientific Research of the Algerian People's Democratic Republic.

References

- ACHAK, N., ROMAN, A., ALIFRIQI, M., ADAMS, P.R., 2008: Effect of the leaf drying and sources on the essential oil composition of *Juniperus thurifera* L. Var. *africana* (Maire.) from Tensift Alhouz Marrekch (Morocco). J. Ess. Oil Res. 20, 200-204.
- ACHAK, N., ROMAN, A., ALIFRIQI, M., ADAMS, P.R., 2009: chemical studies of leaf essential oil of three species of *Juniperus* from Tensift Alhouz Marrekch (Morocco). J. Ess. Oil Res. 21, 337-341.
- ADAMS, P., 1999: Systematics of multi-seeded eastern hemisphere *Juniperus* based on leaf essentials and RAPD DNA fingerprinting. Biochem. Syst. Ecol. 27, 709-725.
- ADAMS, R.P., MUMBA, L.E., JAMES, S.A., PANDEY, R.N., GAUQUELIN, T., BADRI, W., 2003: Geographic variation in the leaf oils and DNA Fingerprints (RAPDs) of *Juniperus thurifera* L. from Morocco and Europe. J. Ess. Oil Res. 15, 148-154.
- ADAMS, R.P., 2001: Identification of Essential oil components by Gas chromatography/Mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, USA.
- ADAMS, R.P., KAUFFMAN, M.E., 2010: Geographic variation in the leaf essential oils of *Juniperus grandis* (Cupressaceae) and comparison with *J. occidentalis* and *J. osteosperma*. Phytologia. 92(2), 167-185.
- BAHRI, F., HARRAK, R., ACHAK, N., ROMANE, A., 2013: Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils isolated from *Juniperus thurifera* L. var. *Africana*. Nat. Prod. Res. DOI: 10.1080/14786419.2012.755678.
- BARRERO, A.F., QUILEZ DEL MORAL, J.F., HERRDOR, M.M., AKSSIRA, M., BENNAMARA, A., AKKAD, S., AITIGRI, M., 2004: Oxygenated diterpenes and other constituents from Moroccan *Juniperus phoenicea* and *Juniperus thurifera* var. *Africana*. Phytochemistry 65, 2507-2515.
- BORATYŃSKI, A., JASINSKA, A.K., MARCYSIAK, K., MAZUR, M., ROMO, A.M., BORATYŃSKA, K., SOBIERAJSKA, K., ISZKUŁO, G., 2013: Morphological differentiation supports the genetic pattern of the geographic structure of *Juniperus thurifera* (Cupressaceae). Plant Syst. Evol. 299, 773-784.
- CUARDO, M.A., OLIVEIRA, C.B.A., JESUS, J.G., SANTOS, S.C., SERAPHIN, J.C., FERRI, P.H., 2006: Environmental factors influence on chemical polymorphism of the essential oils of *Lychnophora ericoides*. Phytochemistry 67, 2363-2369.
- DJABOU, N., MUSELLI, A., ALLALI, H., DIB, M.A., TABTI, B., VARESI, L., COSTA, J., 2012: Chemical and genetic diversity of two Mediterranean subspecies of *Teucrium polium* L. Phytochemistry 83, 51-62.
- DODD, R.S., POVEDA, M.M., 2003: Environmental gradients and population divergence contribute to variation in cuticular wax composition in *Juniperus communis*. Biochem. Syst. Ecol. 31(11), 1257-1270.
- FARJON, A., 2005: A monograph of Cupressaceae and *Sciadopitys*. Royal Botanic Gardens, Kew. Richmond, Surrey, UK.
- GAMINSAS, J., JEANMONOD, D., REGATO, P., GRUBER, M., 1994: Le Génévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) en Corse. Candollea 49, 600-607.
- GAUQUELIN, T., BERTAUDIÈRE, V., CAMBECEDES, C., LARGIER, G., 2003: Le Jeneverier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) dans les pyrenees: état de conservation et perspectives. Acta Bot. Barc. 49, 83-94.
- GAUQUELIN, T., IDRISSE HASSANI, M., LEBRETON, P., 1988: Le génévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) (Cupressacées), analyse biométrique et biochimique, propositions systématiques. Oecologia Mediterranea 14, 31-42.
- HAIDER, F., DWIVEDI, P., SINGH, S., NAQVI, A.A., BAGACHI, G., 2004: Influence of transplanting time on essential oil yield and composition in *Artemisia annua* plants grown under the climatic conditions of subtropical north India. Flavour Frag. J. 19, 51-53.
- HANNOVER, J.W., 1992: Applications of terpene analysis in forest genetics. New Forests 6, 159-178.

- KAROUSOU, R., KOUREAS, D.N., KOKKINI, S., 2005: Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. *Phytochemistry* 66, 2668-2673.
- LEI, H., WANG, Y., LIANG, F., SU, W., FENG, Y., GUO, X., WANG, N., 2010: Composition and variability of essential oils of *Platycladus orientalis* growing in China. *Biochem. Syst. Ecol.* 38, 1000-1006.
- LESJAK, M.M., BEARA, I.N., ORČIĆ, D.Z., RISTIĆ, J.D., ANAČKOV, G.T., BOŽIN, B.N., MIMICA-DUKIĆ, N.M., 2013: Chemical characterisation and biological effects of *Juniperus foetidissima* Willd. *Food Sci. Tech.* 53(2), 530-539.
- LIMA, A.S., TRINDADE, H., FIGUEIREDO, A.C., BARROSO, J.G., PEDRO, L.G., 2010: Volatile and molecular analysis of *Juniperus brevifolia* (Seub.) Antoine, an Azorean endemic species. *Biochem. Syst. Ecol.* 38, 621-629.
- LOŽIENE, K., LABOKAS, J., 2012: Effects of abiotic environmental conditions on amount and enantiomeric composition of α -pinene in *Juniperus communis* L. *Biochem. Syst. Ecol.* 44, 36-43.
- MAIRE, R., 1926: Contribution à l'étude de la flore de l'Afrique du Nord, Fascicule 10. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord.* 17, 125-126.
- MANSOURI, N., SATRANI, B., GHANMI, M., EL-GHADRAOUI, L., AAFI, A., FRAH, A., 2010: Valorisation des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* et de *Juniperus oxycedrus* du Maroc. *Phytothérapie* 8, 166-170.
- NIST., 2002: Mass spectral search program for the NIST/EPA/NIH Mass spectral Library. Vers.2.0. Fireash data, USA.
- OTTVIOLO, J., 2009: Contribution de la RMN 13C à l'analyse d'huiles essentielles et d'oléorésines: caractérisation de genévriers et du pin maritime de Corse. Thèse de Doctorat, Université de Corse Pascal Paoli, Corse.
- ROMO, A., BORATYNSKI, A., 2007: Nomenclatural note on *Juniperus thurifera* subsp *africana* (Cupressaceae). *Ann. Bot. Fennici* 44, 72-75.
- SHANJANI, P.S., MIRZA, M., CALAGARI, M., ADAMS, R.P., 2010: Effects drying and harvest season on the essential oil composition from foliage and berries of *Juniperus excelsa*. *Industrial Crops and Products* 32(2), 83-87.
- TERRAB, A., SCHÖNSWETTER, P., TALAVERA, S., VELA, E., STUESSY, T.F., 2008: Range-wide phylogeography of *Juniperus thurifera* L., a presumptive keystone species of western Mediterranean vegetation during cold stages of the Pleistocene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 48, 94-102.
- TUMEN, I., HAFIZOGLU, H., PRANOVICH, A., REUNANEN, M., 2010: Chemical constituents of cones and leaves of cypress (*Cupressus sempervirens* L.) grown in Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin* 19 (10), 2268-2276.
- VELA, E., SCHÄFER, P.A., 2013: Typification de *Juniperus thurifera* var. *africana* Maire, délimitation taxonomique et conséquences nomenclaturales sur le Genévrier thurifère d'Algérie. *Ecologia mediterranea* 39(1), 69-80.

Address of the corresponding author:

A. Zeraib, Department of Molecular Biology, Abbes LAGHROUR University, 40000 Khenchela, Algeria. Laboratory of Natural Resources Valorization, Ferhat Abbas University, 19000 Setif, Algeria.
E-mail: azzeraib@yahoo.fr

RESEARCH ARTICLE

Azzeddine Zeraib^{1,2}
Messaoud Ramdani²
Lamia Boudjedjou²
Pierre Chalard³
Gilles Figuredo⁴

Chemical composition and antibacterial activity of *Juniperus thurifera* L. essential oils

Authors' addresses:

¹ Department of Molecular Biology,
Abbes Laghrour University,
40000 Khenchela, Algeria.

² Laboratory of Natural Resource
Valorization, Ferhat Abbas University,
19000 Setif, Algeria.

³ Blaise Pascal University, BP 10448,
F-63000 Clermont Ferrand, France.

⁴ LEXVA Analytique,
63110 Beaumont, France.

Correspondence:

Azzeddine Zeraib
Department of Biology Molecular,
Abbes Laghrour University, 40000
Khenchela, Algeria.
Tel.: +213 778 168 697
e-mail: azzeraib@yahoo.fr

Article info:

Received: 5 April 2014
Accepted: 9 June 2014

ABSTRACT

The qualitative and quantitative composition of the essential oils obtained from male and female leaves of *Juniperus thurifera* L., (growing in Algeria) has been investigated for the first time. The essential oils were obtained by hydrodistillation (0.45% from female trees and 0.53% from male trees, v/w dried material) and analyzed by gas chromatography (GC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Seventy-seven compounds were identified, representing more than 97% of the oils. The major components were Sabinene, α -pinene and terpinene-4-ol. The concentrations of the oil constituents: α -thujene, α -pinene, α -phellandrene, p-cymene, linalyl acetate, Δ -amorphene, germacrene D-4-ol, and 4-epi-abietal were greater in the oil of the female tree than in the oil of the male tree. Conversely, the concentrations of α -terpinene, γ -terpinene, terpinene-4-ol, elemol, α -epi-cadinol and α -eudesmol were greater in the oil of the male tree than in the oil of the female tree. However, the concentration gradient trends for both female and male trees were similar for sabinene, myrcene, linalool, β -pinene, limonene, *cis*-sabinene hydrate terpinolene, α -terpineol. The antimicrobial activity of male and female *J. thurifera* essential oils was evaluated against 14 bacteria. The results showed a variable degree of antibacterial activity depending from the type of the oil (extracted from male or female trees). Essential oils of female trees were most effective.

Key words: Cupressaceae, *Juniperus thurifera* L., sex of the trees, essential oil, antimicrobial activity

Introduction

The genus *Juniperus* L. (Cupressaceae) contains more than 67 species. It is quite widespread in the northern hemisphere, although *J. procera* Hochst. ex Endl. also grows southward along the rift mountains in East Africa in the southern hemisphere. The genus *Juniperus* is divided into three sections: *Caryocedrus* (one species, *J. drupacea* Labill.); *Juniperus* ("*Oxycedrus*, 9 or 10 species) and *Sabina* (the remaining, approximately 50 species) (Adams & Demeke, 1993; Adams, 1998, 2000, 2008). The flora of Algeria lists two sections and five *Juniperus* species; Sect. *Oxycedrus* (*J. communis* L., *J. oxycedrus* L.), and *Sabina* (*J. thurifera* L., *J. phonicea* L., *J. sabina* L.) (Quezel & Santa,

1963; Maire, 1967; Adams et al., 2003). All over the world plants from this genus have always been regarded as a well-known traditional remedy due to their numerous therapeutic properties, such as anti-inflammatory, diuretic, antiseptic (bacterial and fungal), hypoglycaemic, hypotensive, analgesic and abortifacient (Stassi et al., 1996; Milos & Radonic, 2000; Lesjak et al., 2011; Öztürk et al., 2011).

Thuriferous juniper (*Juniperus thurifera* L.) grows in the western part of the Mediterranean basin (France, Spain, Italia, Algeria and Morocco). It is a dioecious tree or shrub, with scale leaves and bluish black berries at maturity (Gauquelin, 2003). African subpopulations of *Juniperus thurifera* have been described as distinct species (*Juniperus africana* (Maire) Villar or more recently as a subspecies (*J. thurifera*

RESEARCH ARTICLE

subsp. *africana* (Maire) Romo and Boratynski (Romo & Boratynski, 2007). Genetic analysis also indicates that the Moroccan and Algerian subpopulations are genetically distinct and have been isolated from other subpopulations for several millennia (Terrab *et al.*, 2008).

Gender-related differences in growth and concentration of secondary metabolites have been documented in dioecious plants. Males usually grow faster than females, whilst females allocate more resources to reproduction and chemical defenses than males, hence their growth is reduced (McGowan *et al.*, 2004; Massei *et al.*, 2006; Cepeda-Cornejo & Dirzo, 2010). These physiological differences could also affect the secondary metabolism, as the production of volatile compounds (Gobbo-Neto & Lopes, 2007). In fact, a variation in the essential oil composition and phenolic component from male and female specimens was previously observed (Elmqvist *et al.* 1991; Riddle *et al.* 1996; Koztowska *et al.*, 2005; Massei *et al.*, 2006; Afsharypuor *et al.*, 2007; Lago *et al.*, 2008; Eiter *et al.*, 2010; Iszkuło *et al.*, 2011).

In recent years, essential oils and plant extracts have attracted a great deal of scientific interest due to their potential as a source of natural antioxidants and biologically active compounds, such as antibacterial, antifungal and insecticidal substances (Celiktas *et al.*, 2007; Hammami *et al.*, 2011).

The hypothesis of this study was that the essential oil content and composition may be different in male and in female trees. Several works studied the chemical composition of the essential oils of *Juniperus thurifera* L. and their antimicrobials activity in different regions of the Mediterranean basin as France, Spain, the Pyrenees, the Corsicana and to Morocco (Hernandez *et al.*, 1987; Adams, 1999; Adams *et al.*, 2003; Barrero *et al.*, 2004; Achak *et al.*, 2008; Achak *et al.*, 2009; Mansouri *et al.*, 2010; Bahri *et al.*, 2013). But any work has not reported the effect of the sex of the trees on chemical composition of essential oils of *Juniperus thurifera* L.

Therefore, the objective of this study was to evaluate the variations in the yields, essential oil composition and their antibacterial activity within single male and female trees of Algerian thuriferous juniper (*Juniperus thurifera* L.).

Materials and Methods

Plant material

The leaves of male and female trees of *J. thurifera*, were collected from Aures Mountains (Algeria), at 1550 m of

altitude. A voucher specimen of each plant (sexes) is deposited in the herbarium of the Laboratory of Natural Resource Valorization, Faculty of Biology, Farhat Abbas University, Setif, Algeria.

The essential oils were extracted by hydrodistillation using Clevenger-type apparatus for three hours according to Tumen *et al.* (2010). The prepared volatile oils were dehydrated over anhydrous sodium sulphate and stored in sealed glass vials at 4-5°C prior to analysis.

Essential oil analysis

The essential oil analysis is performed on a chromatography's type Hewlett-Packard HP 7890 equipped with a capillary column DB-5 (length: 30 m, and 0.25 mm internal diameter, film thickness is 0.25 mm) coupled to a mass spectrometer (MS) type with a Hewlett Packard 5975 detector impact of electrons, 70 eV. The analytical conditions are as follows: injector temperature: 250°C, detector temperature: 280°C oven programming: 50 ° C for five min, 5°C / min from 50° to 300°C and isothermal 300°C for five min. The carrier gas is helium at a rate of one ml/min. Injector split mode 1:100. The GC analysis was carried out using an Agilent 6890N GC system equipped with a FID detector operated at a temperature of 300°C. To obtain the same elution order of peaks detected by GC/MS, simultaneous injection on the GC was performed using the same column and appropriate chromatographic conditions as those described for the GC/MS system.

Identification of the essential oil components was carried out by comparing their mass spectra and their KI (Kovats index) with those databases (Adams, 2001) and that established by the laboratory. The relative concentrations of the separated compounds based on percentage were computed from chromatograms obtained with the GC/FID system.

Antibacterial activity

Gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* clinical and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) and Gram negative bacteria (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* clinical, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus permeri*, *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella para*, *Salmonella spomb*, *Shigella* sp. and *Meningo* sp.) were used in this study.

The antimicrobial activity was tested by the agar-well diffusion method according to Mighri *et al.* (2010) with slight

RESEARCH ARTICLE

modifications. All bacterial cultures were first grown on Muller-Hinton at 37°C for 18-24 h prior to inoculation on to the nutrient agar. One or several colonies of similar morphology of the respective bacteria were transferred into API Suspension medium and adjusted to 0.5 McFarland turbidity standards with a densimat.

The inoculums of the respective bacteria were streaked onto Muller-Hinton agar plates using a sterile swab. A sterile filter disc (diameter 6 mm, Whatman paper No. 3) was placed. The disc was impregnated by the tested essential oils (30 µL/disc). The standard discs (6 mm diameter) of the antibiotics gentamycin (10 µg) were served as positive antibacterial control. The treated Petri dishes were placed at 4°C for 1–2 h and then incubated at 37°C for 18–24 h. Antimicrobial activity was evaluated by measuring the zone of growth inhibition around the discs after 24 h of incubation at 37°C. Each experiment was carried out in triplicate and the mean diameter of the inhibition zone was recorded.

The sensitivity to the different oils was classified by the diameter of the inhibition halos as follows: not sensitive (-) for diameter less than 8 mm; sensitive (+) for diameter 9-14 mm; very sensitive (++) for diameter 15-19 mm and extremely sensitive (+++) for diameter larger than 20 mm (Ponce *et al.*, 2003).

Statistical analysis

Variance analyses were used to test the significant difference among the results from the antibacterial assays (Minitab13). Means and standard errors (SE) of the samples were calculated. Three replicates were performed for each treatment.

Results and Discussion**Chemical composition of essential oils**

The hydrodistillation of leaf female trees of *J. thurifera* L. yielded 0.45% of essential oil (calculated on the basis of the mass of dry plant material), characterized by a strong odor and faint yellow color. However, the yield of the essential oil extracted from the leaves of male trees is 0.53% (v/w, dried material); characterized by a faint green color.

A total of 77 compounds were characterized and identified by gas chromatography (GC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS), representing more than 97.71% of the total oils (Table 1). The monoterpenes represented the main portion of the oils (≈80 % of the total essential oils), where monoterpene hydrocarbons

were most abundant, 63.2% in female trees and 58.53% in male trees. The main monoterpenes hydrocarbons were sabinene (32.11% in female trees, 31.16% in male trees) and α-pinene (13.04% in female trees, 7.84% in male trees), while the main oxygenated monoterpene was terpinen-4-ol (4.91% in female trees, 11.65% in male trees). Diterpene hydrocarbons were present in smaller amounts, 0.28% and 1.31%, oxygenated Diterpenes, 0.46% and 1.51%, and sesquiterpene hydrocarbons, 1.61% and 2.91% for essential oil of male and female trees respectively. Oxygenated sesquiterpenes were present in a high percentage in essential oil of male trees, amounting to 15.26% of the total essential oil content, while the essential oils of female trees contain 11.9% of the total essential oil content, with elemol as the main compound, 8.28% and 3.27% for essential oil of male and female trees respectively.

The concentrations of the oil constituents: α-thujene, α-pinene, α-phellandrene, p-cymene, linalyl acetate, Δ-amorphene, germacrene D-4-ol, and 4-epi-abietal were greater in the oil of the female tree than in the oil of the male tree. Conversely, the concentrations of α-terpinene, γ-terpinene, terpinene-4-ol, elemol, α-epi-cadinol and α-eudesmol were greater in the oil of the male tree than in the oil of the female tree. However, the concentration gradient trends for both female and male trees were similar for sabinene, myrcene, linalool, β-pinene, limonene, *cis*-sabinene hydrate terpinolene, α-terpineol,

Certain components detected in the female tree were not detected in the male trees, including β-phellandrene, isobutyl benzene, α-muuroloène, epoxyde humulene II, valencene, α-muurolol, β-eudesmol and phytol. While the components, δ-2-carene, p-cymene-7-ol, verbanone, piperitone, cedrol, 1-epi-cubenol, cubenol and γ-gurjunene, were detected in the male tree and were not detected in the female trees.

Frequently, in dioecious plants, female plants allocate more resources to reproduction than male plants. Therefore it is expected that asymmetrical allocation to reproduction may lead to a reproduction-growth tradeoff, whereby female plants grow less than male plants, but invest more in defenses and thus experience lower herbivory than male plants (Cepeda-Cornejo & Dirzo, 2010). Typically, males allocate more resources to growth and females to high concentrations of secondary metabolites. Contrary to predictions, in this study the males had also higher yield in essential oils than females. This result is similar to that obtained by Asili *et al.* (2008a, 2010) for *Juniperus communis* subsp. *hemisphaerica*, *Juniperus oblonga* and *Juniperus foetidissima*, and

RESEARCH ARTICLE

Zheljazkov et al. (2013) for *Juniperus scopulorum* Sarg. The yield in essential oils obtained from the female leaves of *Juniperus sabina*, and *J. excelsa* subsp. *polycarpos* is higher to that obtained from male leaves (Asili et al., 2008b, 2010).

The results of the present study confirmed the prevalence of monoterpene hydrocarbons compared to other components. There are few previous reports on the phytochemical studies of the male and female essential oil of *Juniperus* species growing in other parts of the world indicated this results. Monoterpene hydrocarbons represented the most abundant constituents of the oil of both male and female leaves of shrubs of *J. communis* subsp. *hemisphaerica* (60.2 and 60.6% respectively, *J. oblonga*, (57.4 and 63.6%

respectively) (Asili et al., 2008a), *J. excelsa* subsp. *polycarpos* (81.57 and 66.42 % respectively) (Asili et al., 2008b; Emami et al., 2011), *J. chinensis* L. (60.2 and 60.6% respectively, *J. oblonga*, (37.2 and 42.7% respectively) (Afsharypuor et al., 2007), *J. sabina* (63.8 and 62.2% respectively) and *J. foetidissima* (75.9 and 68.3% respectively) (Asili et al., 2010).

A correlation between the chemical composition of the essential oil and the sex of the tree has been observed in several species of the genus *Juniperus* L. (Riddle et al., 1996; Afsharypuor et al., 2007; Zheljazkov et al., 2013) and are well known for other family (Lago et al., 2008; Eiter et al., 2010; Gourine et al., 2010; Iszkuło et al., 2011).

Table 1. Chemical composition of male and female *J. thurifera* essential oils.

Compound	Ki	Male (%)	Female (%)
α -thujene	924	1,8	2,06
α -pinene	932	7,86	13,04
fenchene	946	0,03	0,1
camphene	947	0,1	0,15
sabinene	973	31,16	32,11
β -pinene	976	1,18	1,56
myrcene	988	3,36	3,26
δ -2-carene	996	0,13	-
α -phellandrene	1006	0,06	1,06
α -terpinene	1015	2,72	1,47
p-cymene	1022	0,22	1,13
limonene	1027	1,7	1,1
β -phellandrene	1028	-	0,33
(Z)- β -ocimene	1035	0,05	0,11
(E)- β -ocimene	1045	0,21	0,4
γ -terpinene	1057	4,09	2,24
cis-sabinene hydrate	1069	1,97	1,51
terpinolene	1083	1,77	1,3
p-cymenene	1088	0,07	0,13
linalool	1098	3,14	3,77
cis-thujone	1104	0,17	0,24
trans-thujone	1114	0,17	0,55
cis-p-menth-2-en-1-ol	1123	0,85	0,38
α -comphlenal	1129	0,07	0,22
trans-p-menth-2-en-1-ol	1142	0,52	0,2
camphor	1144	0,05	0,14
E-tagetone	1147	0,1	0,18
terpinene-4-ol	1181	11,65	4,91
p-cymene-7-ol	1187	0,12	-
α -terpineol	1195	1,23	1
verbanone	1205	0,05	-
Trans-piperitol	1209	0,31	0,2
nerol 1 (80)	1224	0,08	0,12

RESEARCH ARTICLE

Compound	Ki	Male (%)	Female (%)
linalyl acetate	1250	1,32	3,16
piperitone	1255	0,39	-
pregeijerene	1280	0,59	0,14
bronyl acetate	1284	0,15	0,2
isobutyl benzene	1287	-	0,07
2,4-decadien-1-ol	1312	0,45	0,15
terpenyl acetate	1350	0,48	0,58
geranyle isobutyrate	1357	0,11	0,28
geranyle acetate	1377	0,21	0,63
β -caryophyllene	1418	0,04	0,1
α -humulene	1457	0,04	0,08
germacrene-D	1482	0,11	0,21
α -muurolene	1497	-	0,36
γ -cadinene	1515	0,07	0,12
Δ -amorphene	1517	0,1	1,6
elemol	1550	8,28	3,27
(E)-nerolidol	1560	0,3	0,33
germacrene D-4-ol	1579	0,29	1,24
Oxyde de Caryophyllene	1585	0,49	0,83
Aromadendr-9-ene	1592	0,13	0,12
cedrol	1596	0,16	-
humulene epoxyde II	1605	-	0,7
epi-cedrol	1613	0,2	0,73
valencene	1618	-	0,15
1-epi-cubenol	1627	0,36	-
γ -eudesmol	1630	0,26	0,98
α -epi-cadinol	1635	1,23	0,31
cubenol	1643	0,26	-
α -muurolol	1646	-	0,42
β -eudesmol	1649	-	0,05
α -eudesmol	1659	2,74	1,76
2,6-Dimethyl-1,5-heptadien-4-ol acetate	1666	0,17	0,58
gurjunene	1668	0,24	0,15
γ -gurjunene	1678	0,42	-
epi- α -bisabolol	1686	0,3	0,22
2-pentadecanone	1698	0,33	0,1
(Z,Z)-farnésol	1714	0,09	0,36
Cyclohexene, 1,5,5-trimethyl-6-(2-propenylidene)	1780	0,52	0,42
sandaracopimara-8(14), 15-diene	1962	0,13	0,59
manoyl oxide	1989	0,05	0,28
Abietatriène	2057	0,05	0,13
Abietatriène	2090	0,1	0,45
phytol	2109	-	0,14
4-epi-abietal	2299	0,41	1,27
Monoterpenes hydrocarbones		58,53	63,2
Oxygenated monoterpenes		21,57	16,84
Sesquiterpene hydrocarbons		1,61	2,91
Oxygenated sesquiterpenes		15,26	11,9
Diterpene hydrocarbons		0,28	1,31
Oxygenated Diterpenes		0,46	1,55

RESEARCH ARTICLE

Antibacterial activity

The antibacterial activity of both essential oils was evaluated by paper disc diffusion method against 14 bacteria. A zone of inhibition around the discs shows a bactericidal or bacteriostatic activity, while the absence of inhibition zone proved no effect of the tested oils against the microorganisms. We consider that essential oil has bacteriostatic action if the diameter of inhibition is >12 mm (Sağdaç, 2003). The results of the inhibition trials are reported in Table 2. The results showed that the oils inhibited the growth of bacterial strains produced a zone diameter of inhibition from 6 mm (no inhibition) to 17 mm. The maximum zone of inhibition was recorded against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (17 mm) and *Escherichia coli* ATCC 25922 (16 mm). On the other hand, the oil was ineffective against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

The variance analyses showed significant difference among the results from the antibacterial assays (Table 3). The zone diameter of inhibition depended on susceptibility of the

tested bacteria, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* (clinical), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* (clinical), *Salmonella para*, *Salmonella spomb*, MRSA, are very sensitive again the essential oils, conversely, *Meningo* sp. *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae* and *Proteus permeri* are not sensitive. *Shigella* sp. seems sensitive to the essential oils of *J. thurifera*. It is revealed that the *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was very sensitive to the essential oil of Moroccan *J. thurifera*, and two *Pseudomonas* strains proved resistant (Bahri et al., 2013).

The zone diameter of inhibition depended also on the essential oils type (from male or female trees). The essential oils of female trees showed a broad spectrum of antibacterial activity against Gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* clinical and MRSA) and Gram negative bacteria (*Escherichia coli* clinical, *Serratia marcescens*, *Proteus permeri*, *Meningo* sp. and *Shigella* sp).

Table 2. Inhibition diameter (mm) of leaf essential oil of *Juniperus thurifera*.

Bacteria	EO male leaves		EO female leaves		Gent.	
	means ± sd		means ± sd			
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10.33±1.52	+	16±1	++	36	+++
<i>Staphylococcus aureus</i> (clinical)	12.66±1.15	+	13.33±1.15	+	35	+++
MRSA	10.33±0.57	+	13.66±1.52	+	35	+++
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	15.66±0.57	++	7±0.57	-	27	+++
<i>Escherichia coli</i> (clinical)	0.00	-	11.33±0.57	+	23	+++
<i>Serratia marcescens</i>	0.00	-	10.33±0.57	+	0	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	0.00	-	8.33±0.57	-	0	-
<i>Proteus permeri</i>	0.00	-	11.33±1,54	+	17	++
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0.00	-	9.66±0.57	+	8	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0.00	-	0.00	-	32	+++
<i>Salmonella para</i>	12.66±0.57	+	9.66±0.57	+	20	+++
<i>Salmonella spomb</i>	13.66±0.57	+	11±0.57	+	16	++
<i>Meningo</i> sp.	0.00	-	10.66±0.57	+	0	-
<i>Shegnilla</i> sp.	8.33±0.57	-	10±1	+	27	+++

MRSA = Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; Gent. = Gentamicine; EO = Essential oil; sd = standard deviation ;(-) = not sensitive; (+)= sensitive; (++) = very sensitive; (+++) = extremely sensitive.

Table 3. Variance analysis of two factors controlled.

	dl	SC	CM	F	P
Strains	13	476,488	36,653	58,09***	0,000
Essential oils	1	63,440	63,440	100,55***	0,000
Interaction	13	337,726	25,979	41,17***	0,000
Error	56	35,333	0,631		
Total	83	912,988			

RESEARCH ARTICLE

Conversely, the essential oils of male trees showed a broad spectrum of antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella para*, and *Salmonella spomb*. This variability in the antibacterial activity of male and female *J. thurifera* essential oils is due to their different chemical composition.

The inhibitory action of the essential oil could be attributed to the occurrence of high proportions of monoterpenes and sesquiterpenes in the oil (Cakir et al., 2004). Antimicrobial properties of action might be related to these compounds which have a high potential in strongly inhibiting microorganism pathogens. The following components present are believed to play an important role as antibacterial agents, linalool, α -cadinol, globulol and viridiflorol, pulegone, epi- α -cadinol, terpinen-4-ol, germacrene A and *para*-methyl anisole corresponding to the amounts present in the essential oil (Hammami et al., 2011).

Conclusion

Analysis of the chemical composition of the essential oil of male and female *Juniperus thurifera* leaves has allowed identifying 77 compounds. The monoterpenes represented the main portion of the oils ($\approx 80\%$ of the total essential oils), The majority compounds are the sabinene, α -pinene, terpinene-4-ol, elemol, γ -terpinene and linalool. The essential oil was found to be active against all the bacterial strains except the *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

The sex of the tree affected the chemical composition of essential oil and their antibacterial activity. Female trees grow less than male trees, but invest more in defenses than male trees. Consequently, the essential oil of female trees had the best bactericidal activity than the essential oils of female trees.

Acknowledgement

This study was supported in part by the Chemistry of heterocyclic compounds and carbohydrates Laboratory, Higher National School of Chemistry, Clermont Ferrand (France) and the Ministry of Higher Education and Scientific Research of the Algerian People's Democratic Republic.

References

- Achak N, Roman A, Alifriqi M, Adams PR. 2008. Effect of the leaf drying and sources on the essential oil composition of *Juniperus thurifera* L. Var. *africana* (Maire.) from Tensift Alhouz Marrekch (Morocco). J. Essent. Oil Res., 20: 200-204.
- Achak N, Roman A, Alifriqi M, Adams PR. 2009. Chemical studies of leaf essential oils of three species of *Juniperus* from Tensift Al Haouz-Marrakech Region (Morocco). J. Essent. Oil Res., 21(4): 337-341.
- Adams RP, Demeke T. 1993. Systematic relationships in *Juniperus* based on random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). Taxon, 42: 553-572.
- Adams RR. 1998. The leaf essential oils and chemotaxonomy of *Juniperus* sect. *Juniperus*. Biochem. Syst. Ecol., 26: 637-645.
- Adams RP. 1999. Systematics of multi-seeded eastern hemisphere *Juniperus* based on leaf essentials and RAPD DNA fingerprinting. Biochem. Syst. Ecol., 27: 709-725.
- Adams RP. 2000. Systematics of *Juniperus* section *Juniperus* based on leaf essential oils and RAPD DNA fingerprinting. Biochem. Syst. Ecol., 28: 515-528.
- Adams RP. 2001. Identification of essential oils components by Gas Chromatography-Mass spectroscopy. - Illinois USA, Allured Publishing Corporation Carol Stream.
- Adams RP, Mumba LE, James SA, Pandey RN, Gauquelin T, Badri W. 2003. Geographic variation in the leaf oils and DNA Fingerprints (RAPDs) of *Juniperus thurifera* L. from Morocco and Europe. J. Essent. Oil Res., 15: 148-154.
- Adams RP. 2008. The Junipers of the World: The Genus *Juniperus*. - Victoria, BC, Canada: 2nd Ed. Trafford Publ.
- Afsharypour S, Rahiminezhad M, Ghaemmaghami L, Soleimani M, Khanmohammadi M, Afsharipour N. 2007. Essential oil constituents of leaves of the male and female shrubs of *Juniperus chinensis* L. from Isfahan. Iranian J. of Pharmaceutical Sci., 3(3): 177-180.
- Asili J, Emami SA, Rahimizadeh M, Fazly-Bazzaz BS, Hassanzadeh MK. 2008a. Chemical and antimicrobial studies of *Juniperus communis* subsp. *hemisphaerica* and *Juniperus oblonga* essential oils. J. Essent. Oil Bearing Plants, 11(1): 96-105.
- Asili J, Emami SA, Rahimizadeh M, Fazly-Bazzaz BS, Hassanzadeh MK. 2008b. Chemical and antimicrobial studies of *Juniperus excelsa* subsp. *excelsa* and *Juniperus excelsa* subsp. *polycarpus* essential oils. J. Essent. Oil Bearing Plants, 11(3): 292-302.
- Asili J, Emami SA, Rahimizadeh M, Fazly-Bazzaz BS, Hassanzadeh MK. 2010. Chemical and antimicrobial studies of *Juniperus sabina* L. and *Juniperus foetidissima* Willd. essential oils. J. Essent. Oil Bearing Plants, 13(1): 25-36.
- Bahri F, Harrak R, Achak N, Romane A. 2013. Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils isolated from *Juniperus thurifera* L. var. *africana*. Nat. Prod. Res., 27(19): 1789-1794.
- Barrero AF, Quilez del Moral JF, Herrador MM, Akssira M, Bennamara A, Akkad S, Aitigri M. 2004. Oxygenated diterpenes and other constituents from Moroccan *Juniperus phoenicea* and *Juniperus thurifera* var. *africana*. Phytochemistry, 65: 2507-2515.

RESEARCH ARTICLE

- Cakir A, Kordali S, Zengin H, Izumi S, Hirata T. 2004. Composition and antifungal activity of essential oils isolated from *Hypericum hyssopifolium* and *Hypericum heterophyllum*. *Flav. Frag. J.*, 19(1): 62–68.
- Celiktas OY, Hames Kocabas EE, Bedir E, Verdar SO, Baser KHC. 2007. Antimicrobial activities of methanolic extract and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100: 553-559.
- Cepeda-Cornejo V, Dirzo R. 2010. Sex-related differences in reproductive allocation, growth, defense and herbivory in three dioecious. *Neotropical Palms*, 5(3): e9824.
- Eiter LC, Fadamiro H, Setzer WN. 2010. Seasonal variation in the leaf essential oil composition of *Zanthoxylum clava-herculis* growing in Huntsville, Alabama. *Nat. Prod. Comm.*, 5(3): 457-460.
- Elmqvist T, Cates RG, Harper JK, Gardfjell H. 1991. Flowering in males and females of Utah willow, *Salix regida*, and effects on growth, tannins, phenolic glycosides and sugars. *Oikos*, 61: 65-72.
- Emami SA, Abedindo BF, Hassanzadeh-Khayyat M. 2011. Antioxidant activity of the essential oils of different parts of *Juniperus excelsa* M. Bieb. subsp. *excelsa* and *J. excelsa* M. Bieb. subsp. *polycarpus* (K. Koch) Takhtajan (Cupressaceae). *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 10 (4): 799-810.
- Gauquelin T, Bertaudière V, Cambecedes C, Largier G. 2003. Le Jeneverier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) dans les pyrenées: état de conservation et perspectives. *Acta. Bot. Barc.*, 49: 83-94.
- Gobbo-Neto L, Lopes NP. 2007. Plantas medicinais: Factores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim. Nova*, 30: 374-381.
- Gourine N, Yousfi M, Bombarda I, Nadjemi B, Gaydou E. 2010. Seasonal variation of chemical composition and antioxidant activity of essential oil from *Pistacia atlantica* Desf. *Leaves. J. Am. Oil Chem. Soc.*, 87: 157–166.
- Hammami I, Triki MA, Rebai A. 2011. Chemical compositions, antibacterial and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Geranium sanguineum* L. flowers. *Arch. Appl. Sci. Res.*, 3 (3):135-144.
- Hernandez EG, Martinez CL, Villanova R. 1987. Determination by gas 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.
- Iszkulo G, Jasińska AK, Romo A, Tomaszewski D, Szymt J. 2011. The greater growth rate of male over female of the dioecious tree *Juniperus thurifera* only in worse habitat conditions. *Dendrobiology*, 66: 15-24.
- Kozłowska M, Bednorz L, Grzeškowiak M. 2005. Variability of *Juniperus communis* subsp. *communis* based on phenolics accumulation and glucosidase activity. *Dendrobiology*, 54: 29-33.
- Lago JHG, Romoff P, Fávero OA, Souza FO, Soares MG, Baraldi PT, Corrêa AG. 2008. Chemical composition of male and female *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae) essential oils. *Biochem. Syst. Ecol.* 36: 737-740.
- Lesjak MM, Beara IN, Orčić DZ, Anačkov GT, Balog KJ, Francišković MM, Neda M, Mimica-Dukić NM. 2011. *Juniperus sibirica* Burgsdorf. as a novel source of antioxidant and anti-inflammatory agents. *Food Chemistry*, 124: 850–856.
- Maire R, 1967. La flore de l'Afrique du Nord, Encyclopédie biologique. - Paris, France: Editions Paul Lechevalier.
- Mansouri N, Satrani B, Ghanmi M, El ghadraoui L, Aafi A, Farah A. 2010. Valorisation des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* et de *Juniperus oxycedrus* du Maroc. *Phytothérapie*, 8: 166-170.
- Massei G, Watkins R, Hartley SE. 2006. Sex-related growth and secondary compounds in *Juniperus oxycedrus macrocarpa*. *Acta Oecologica*, 29: 135-140.
- McGowan GM, Joensalo J, Naylor R. 2004. Differential grazing of female and male plants of prostrate juniper (*Juniperus communis* L.). *Botanical Journal of Scotland*, 56(1): 39-54.
- Mighri H, Hajlaoui H, Akrouf A, Najjaa H, Neffati M. 2010. Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie*, 13(3): 380–386.
- Milos M, Radonic A. 2000. Gas chromatography mass spectral analysis of free and glycosidically bound volatile compounds from *Juniperus oxycedrus* L. growing wild in Croatia. *Food Chemistry*, 68: 333-338.
- Öztürk M, Tümen I, Uğur A, Aydoğmus F, Topcu G. 2011. Evaluation of fruit extracts of six Turkish *Juniperus* species for their antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(5): 867–876.
- Ponce AG, Fritz R, del Valle C, Roura SI. 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel- Wissenschaft und-Technologie*, 36: 679-684.
- Quezel P, Santa S. 1962. Nouvel Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. -Paris, France: Centre National de la Recherche Scientifique.
- Riddle RR, Charles A, Taylor JR, Kothmann MM, Huston JE. 1996. Volatile oil contents of ashe and redberry juniper and its relationship to preference by Angora and Spanish goats. *Journal of Range Manage*, 49:35-41.
- Romo A, Boratynski A. 2007. Nomenclatural note on *Juniperus thurifera* subsp *africana* (Cupressaceae). *Ann. Bot. Fennici*, 44: 72–75.
- Sağdaç O. 2003. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *LWT - Food Science and Technology*, 36(5): 467–473.
- Stassi V, Verekokidou E, Loukis A, Harvala C, Philianos S. 1996. The antimicrobial activity of the essential oils of four *Juniperus* species growing wild in Greece. *Flav. Fragr. J.*, 11: 71-74.
- Terrab A, Schönswetter P, Talavera S, Vela E, Stuessy TF. 2008. Range-wide phylogeography of *Juniperus thurifera* L., a presumptive keystone species of western Mediterranean vegetation during cold stages of the Pleistocene. *Mol. Phyl. Evol.*, 48: 94–102.
- Tumen I, Hafizoglu H, Pranovich A, Reunanen M. 2010. Chemical constituents of cones and leaves of cypress (*Cupressus sempervirens* L.) grown in Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 19 (10): 2268–2276.
- Zheljzakov VD, Astatkie T, Jeliazkova E. 2013. Year-round variations in essential oil content and composition of male and female juniper. *Hort Science*, 48(7): 883-886.

Résumé

Les huiles essentielles des feuilles de *Juniperus thurifera* récoltées de six localités dans le massif de l'Aurès, ont été analysées par CPG et par CPG/SM, dans le but de caractériser les populations Algériennes et de rechercher leurs statu taxonomique. Les données terpéniques des HE de nos échantillons et celles décrites dans la littérature, ont été soumis à une analyse en composantes principales (ACP), suivie d'une analyse des clusters UPGMA. Cette analyse a révélé des différences significatives entre les populations de *Juniperus thurifera*, et confirmé la nette séparation des populations algériennes des populations européennes et marocaines. La composition chimique des HE de Genévrier thurifère algérienne est plus similaire aux populations marocaines, et différentes de celle des populations européennes. Compte tenu des résultats de cette étude, il semble que les populations algériennes sont beaucoup plus semblables aux populations marocaines, mais il est encore trop tôt pour préciser son statu taxonomique. Par conséquent, nous soutenons la proposition de nommer la population Algérienne: *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*, Vela et Schäfer dans le clade variétal. L'activité antimicrobienne des HE de *J. thurifera* extraites des individus mâles et femelles a été évaluée contre 14 bactéries. L'action bactéricide des huiles essentielles testées dépend de la souche bactérienne et de type d'huile testée (extraite d'individu mâle ou femelle).

Mots clés: *Juniperus thurifera* L.; huiles essentielles; Chimio-systématique; Algérie.

ملخص

الزيوت الأساسية المستخلصة من أوراق عرعار البخور *Juniperus thurifera* التي تم جمعها من ستة مواقع في جبال الأوراس، وتحليلها بواسطة GC و GC/MS، من أجل تمييز و تصنيف العشيرة المتواجدة بالجزائر. التحليل الإحصائي للمكونات الأساسية (PCA) و تحليل مجموعات UPGMA لبيانات التربينات المتحصل عليها في دراستنا و تلك الموجودة في الدراسات السابقة كشف عن وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين عشائر عرعار البخور وأكد انفصال العشيرة الجزائرية عن العشائر الأوروبية والمغربية. التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية المستخلصة من أوراق عرعار البخور مماثل للتركيب الكيميائي لزيوت العشائر المغربية ومختلف عن تركيب الزيوت الأوروبية. و بالنظر إلى نتائج هذه الدراسة، يبدو أن العشائر الجزائرية أقرب إلى العشائر المغربية لكن لا يزال من السابق لأوانه تأكيد وضعها التصنيفي. ولذلك، فإننا نؤيد اقتراح تصنيف العشيرة الجزائرية: *Juniperus thurifera* var. *aurasiaca*, تم تقييم نشاط مضادات الميكروبات للزيوت الأساسية المستخلصة من الأفراد الذكور والإناث ضد 14 نوع من البكتيريا. تم التوصل إلى أن النشاط ضد البكتيري للزيوت الأساسية يتعلق بالسلالة البكتيرية ونوع الزيت الأساسي (المستخرج من أفراد إناث أو ذكور).

الكلمات المفتاحية: *Juniperus thurifera* الزيوت الأساسية الجزائرية ; Chimio-systématique

Abstract

Leaf essential oils of *Juniperus thurifera* L. collected at six locates from Aures Mountains in Algeria, were analyzed by GC and GC/MS, with the aim to characterize the Algerian populations and search their taxonomic status. Terpenoids data of our samples and those reported in other works realized by various authors were subjected to Principal Component Analysis (PCA), and Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means (UPGMA) cluster was carried. This analysis revealed significant differences between *Juniperus thurifera* populations, and confirmed the clear separation of Algerian populations to the European and Moroccan populations. Algerian thuriferous juniper is more similar to *J. thurifera* from Moroccan populations, and different from that of essential oils obtained from European populations. The antimicrobial activity of male and female *J. thurifera* essential oils was evaluated against 14 bacteria. The results showed a variable degree of antibacterial activity depending from the type of the oil (extracted from male or female trees). Essential oils of female trees were most effective.

Key words: *Juniperus thurifera* L.; Essential oils; Chemo-systematic; Algeria.