

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط

UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : S.N. V

Filière : Sciences Biologiques

Option: Biochimie appliquée

THEME

Étude de l'impact de l'environnement et du climat sur le contenu et la teneur en extraits lipidiques et polyphénols et de leur Activité Antioxydante, des feuilles du Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*) collectées à partir de deux sites de la Wilaya de Laghouat.

Présenté par :

M^{lle} KHADIR Khadidja

M^{lle} BOUGHILAS Wissem

Soutenu publiquement, le 03 novembre 2020, devant le jury composé de :

YOUSFI MOHAMED	Président	« Professeur »
BOUBRIMA YUCEF	Examinateur	« M.A-A »
GUENANE HAMID	Encadreur	« M.C-B »
KHADIR HABIB	Co-Encadreur	« Pharmacien .M.A »

Année Universitaire 2019/2020

Remerciements

Nous aimerons remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail de fin d'études.

Avant tout, nous remercions particulièrement le Professeur Mohammed Fousfi de nous avoir donné la chance de mener notre travail de fin d'études dans son laboratoire, ainsi que pour ses conseils avisés. Nous remercions également Monsieur Hamid Guenane d'avoir accepté de nous encadrer sur ce sujet, aussi bien que notre rapporteur Monsieur Habib khadir et tous les membres de notre jury de consacrer de leur temps à évaluer notre travail.

Ensuite, nous tenons à remercier du fond du cœur toute l'équipe du Laboratoire de Recherche de Chimie des Produits Naturels et Organique pour son accueil, sa bonne humeur et son aide. Un immense merci à Monsieur Mohamed Harrat qui a eu la patience de répondre à chacune de nos questions avec bienveillance et un immense savoir.

Merci encore à vous tous pour votre temps, vos conseils précieux et votre bonne humeur.

Nous n'oublions évidemment pas nos collègues et nos amis pour leur encouragement durant ce travail.

Enfin, nous remercions nos familles qui sont les principales sources de courage et qui nous donne le sourire comme rien ni personne d'autre.

Wissem-Khadidja

Dédicaces

C'est grâce à Dieu, le tout puissant qui m'a donné la santé, le courage et la volonté pour achever ce modeste travail que je dédie :

À mes très chers parents, pour l'amour qu'ils m'ont toujours donné, leur encouragement et toute l'aide qu'ils m'ont apportée durant mes études. Aucun mot, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération, et mon amour pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon instruction et mon bien-être.

Trouvez ici, chère mère et cher père, dans ce modeste travail, le fruit de tant de dévouements et de sacrifices ainsi que l'expression de ma gratitude et de mon profond amour. Quisse Dieu vous accorder la santé, le bonheur, prospérité et longue vie, que je puisse un jour vous donner au moins le minimum de ça, car quoi que je fasse, je ne pourrais jamais vous le rendre tout.

À ma sœur adorée Meriem et son mari Aziz

À mes très chers frères Bilel, Mohamed

Pour leur permanente présence à mes côtés, pour leur encouragement et leur soutien, qu'ils trouvent ici l'expression de ma grande gratitude, et je leur souhaite tout le bonheur et la réussite dans leur vie

À mon binôme et mon amie Khadija et sa famille,

Pour son entente et sa sympathie et sa compréhension tout au long de ce travail, je vous prie de trouver dans ce travail l'expression de mon estime et mon profond respect.

À ma précieuse amie depuis l'enfance Roumaïssa

Les mots ne sont pas suffisants pour te décrire comme tu le mérites. Ton aide et ton support dans tous les moments les plus heureux, comme les plus difficiles. Je suis très heureuse de t'avoir dans ma vie.

À mes chères copines Fasmine et Nafissa

En souvenir de nos éclats de rire et des bons moments, en souvenir de tout ce qu'on a vécu ensemble, j'espère de tout mon cœur que notre amitié durera éternellement.

À tous mes amis que j'ai involontairement oublié de citer et qui n'en demeurent pas moins cher.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible

Je vous dis Merci

... Wissem

Dédicaces

Aux deux personnes les plus précieuses dans ma vie, et mes constructeurs. Sans vous je ne devrais jamais être ce que je suis aujourd'hui.

Je dédie, non seulement ce travail mais tout mon cursus, mes efforts et les 19 ans de mes études à mes chers parents. Mon père, mon ami, mon mentor et mon protecteur, ma mère, ma sœur d'âme, mon refuge et ma voix de sagesse. Que je puisse vous rendre heureuse et fière de moi. Je vous aime.

À mes deux chers frères Sid Ahmed et Mohammed, et ma petite sœur adorable Fatma, qui ont rempli ma vie de joie, de la folie et de l'ambiance, que Dieu vous protège et vous accorde de la bonne santé et le bonheur.

À mon binôme et mon amie Wissem

Pour sa patience et sa compréhension durant notre travail, et surtout pour être mon amie qui me conçoit et qui me pousse à avancer et continuer dans les pires moments de fatigue et frustration. J'étais fortunée de t'avoir comme mon binôme. Je te souhaite tout le bonheur et la réussite dans ta vie.

Aux meilleurs copines dans le monde, Roumaïssa, Fasmine et Hafissa

Je n'ai vraiment pas de mots pour exprimer ma joie de posséder une telle amitié avec vous, chacune d'entre vous à son rôle dans mon bien être mental et psychologique, vous êtes tellement adorables, sage, humoreuses, encourageantes, et extrêmement cool, je vous adore mes sœurs, merci d'être là pour moi et que notre amitié dure à l'infinie.

À mes chères Misso et Amoula, pour leur sincérité et leur attention à moi, merci beaucoup pour toujours m'entendre et me conseiller comme des sœurs, je vous aime énormément.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible

Je vous dis Merci.

... Khadidja

Étude de l'impact de l'environnement et du climat sur le contenu et la teneur en extraits lipidiques et polyphénols et de leur Activité Antioxydante, des feuilles du Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*) collectées à partir de deux sites de la Wilaya de Laghouat.

Remerciements

Dédicaces

Résumés

Liste des Abréviations

Listes des Figures

Listes des Tableaux

Introduction Générale

Synthèse Bibliographique

Rapport sur le Travail expérimental

Résumé

Le Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) occupe de plus en plus un espace important dans la recherche scientifique. Connu comme étant une espèce très répandue dans le sud algérien (régions arides et semi arides), cet arbre peut supporter les stress environnementaux divers (vents, sécheresse, UV, ...etc).

L'objectif de ce travail est de mettre en évidence l'impact des conditions climatiques et environnementales sur l'activité métabolique de la plante, et de là, leurs influences sur les teneurs en ses différents métabolites. Nous allons réaliser une étude comparative entre les résultats obtenus dans notre étude, à savoir la détermination des teneurs en composés phénoliques et en extraits lipidiques en cette année de sécheresse (2019), et entre ceux obtenus précédemment par nos collègues en 2018 dans des conditions climatiques caractérisées par une pluviométrie plus importante.

Les résultats obtenus avec les feuilles de *Pistacia atlantica* collectées à partir des deux mêmes régions de Laghouat, étudiées en 2018 à savoir Aflou (El Ghaïcha) et Hassi R'Mel (Tilghimt), montrent des rendements plus faibles en composés phénoliques (32,90 % ; 29,85 %) respectivement, et en extraits lipidiques (4,94 % ; 5,75 %) respectivement.

L'activité antioxydante des polyphénols qui est directement proportionnelle à la teneur en ces derniers était logiquement plus faible que celle obtenue en 2018, teneur moyenne en phénols totaux, (79,97 mg EAG/ g MS, 65,65 mg EAG/ g MS) respectivement. Nous notons malgré les teneurs faibles en polyphénols des proportions relatives plus importantes en flavonoïdes et en tannins condensés (6,20 % ; 16,20 % pour El Ghaïcha, et 6,24 % ; 15,04 % pour Tilghimt). Ceci serait en réponse au stress hydrique et thermique montrant par-là l'impact des conditions climatiques sur le métabolisme de ces métabolites.

Mots clés : *Pistacia atlantica*, lipides, composés phénoliques, facteurs environnementaux, activité antioxydante.

Abstract

The Atlas Pistachio tree (*Pistacia atlantica* Desf.) occupies more and more an important space in scientific research. Known as a widespread species in southern Algeria (arid and semi-arid regions), this tree can withstand various environmental stresses (wind, drought, UV, ...etc).

The objective of this work is to highlight the impact of climatic and environmental conditions on the metabolic activity of the plant, and hence their influence on the levels of its various metabolites. We will carry out a comparative study between the results obtained in our study, namely the determination of the contents of phenolic compounds and lipidic extracts in this year of drought (2019), and between those previously obtained by our colleagues in 2018 under climatic conditions characterized by a higher rainfall.

The results obtained with *Pistacia atlantica* leaves collected from the same two regions of Laghouat, studied in 2018, namely Aflou (El Ghaïcha) and Hassi R'Mel (Tilghimt), show lower yields of phenolic compounds (32,90%; 29,85%) and lipid extracts (4,94%; 5,75%) respectively.

The antioxidant activity of polyphenols, which is directly proportional to their content, was logically lower than that obtained in 2018, average grade of total phenol content, (79.97 mg EAG/ g DM, 65.65 mg EAG/ g DM) respectively. Despite the low polyphenol contents, we note higher relative proportions of flavonoids and condensed tannins (6.20%; 16.20% for El Ghaïcha, and 6.24%; 15.04% for Tilghimt). This would be in response to hydric and thermal stress, thus showing the impact of climatic conditions on the metabolism of these metabolites.

Keywords: *Pistacia atlantica*, lipids, phenolic compounds, environmental factors, antioxidant activity.

ملخص

يحتل الفستق الاطلسي (البطم الاطلسي) مساحة مهمة في البحث العلمي بشكل متزايد. تُعرف هذه الشجرة بأنها نوع واسع الانتشار في جنوب الجزائر (المناطق القاحلة وشبه القاحلة)، ويمكن لهذه الشجرة أن تتحمل الضغوط البيئية المختلفة (الرياح والجفاف والأشعة فوق البنفسجية وما إلى ذلك).

الهدف من هذا العمل هو تسليط الضوء على تأثير الظروف المناخية والبيئية على نشاط التمثيل الغذائي للنبات، وبالتالي تأثيرها على مستويات مستقلبته المختلفة. سنجري دراسة مقارنة بين النتائج التي تم الحصول عليها في دراستنا، وهي تحديد المحتوى من المركبات الفينولية ومستخلصات الدهون في عام الجفاف هذا (2019)، وبين تلك التي حصل عليها زملاؤنا سابقًا في عام 2018 في ظل الظروف المناخية. تتميز بارتفاع هطول الأمطار.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من أوراق البطم الاطلسي، والتي تم جمعها من نفس منطقتي الأغواط، والتي تمت دراستها في 2018، وهما أفلو (الغيشة) وحاسي الرمل (تيلغيمت)، إنتاجية أقل من المركبات الفينولية (32,90٪؛ 29,85٪) على التوالي، ومستخلصات الدهون (4,94٪؛ 5,75٪) على التوالي.

كان النشاط المضاد للأكسدة للبوليفينول الذي يتناسب طرديًا مع محتوى هذه الأخيرة أقل منطقيًا مما تم الحصول عليه في عام 2018، متوسط محتوى الفينولات الكلية، (79,97 / EAG g، 65,65 / EAG g) على التوالي. على الرغم من انخفاض محتوى البوليفينول، إلا أننا نلاحظ ارتفاع نسب الفلافونويد والتانات المكثفة (6.20٪، 16.20٪ للغيشة، 6,24٪، 15,04٪ للتلغمت) و هذا استجابة لضغط المياه والإجهاد الحراري، مما يظهر تأثير الظروف المناخية على استقلاب هذه المستقلبات.

كلمات البحث :

البطم الأطلسي، دهون، مركبات فينولية، عوامل بيئية، نشاط مضاد للأكسدة.

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

Introduction.....01

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le Pistachier de l'Atlas..... 04

I.1 Présentation de *Pistacia atlantica* Desf05

I.2 Description botanique06

I.3 Systématique de l'espèce07

I.4 Importance et utilisations de *Pistacia atlantica* Desf.08

I.4.1 Importance économique.....08

I.4.2 Utilisation locale.....08

I.4.3 Utilisation en médecine traditionnelle08

I.5 Qualité et valeur santé du fruit (valeur alimentaire)09

Chapitre II : Généralités Biochimiques..... 10

II.1 Lipides.....11

II.1.1 Définition des lipides11

II.1.2 Acides gras11

II.1.3 Classification des lipides.....12

II.1.4 Localisation et rôle biologique des lipides dans les plantes12

II.1.4.1 Localisation12

II.1.4.2 Rôle.....13

II.2 Composés phénoliques14

II.2.1 Définition14

II.2.2 Classification des composés phénoliques.....14

II.2.2.1 Les Flavonoïdes16

II.2.2.2 Les Tannins16

II.2.3 Localisation et rôle biologique des composés phénoliques dans les plantes16

II.2.3.1 Localisation.....16

II.2.3.2 Rôle17

II.3 Compositions des fruits et des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i>	18
• En lipides	18
• En composés phénoliques.....	18
Chapitre III : Influence de l'environnement sur la synthèse des composés phénoliques et lipidiques	19
III.1 Lumière	20
III.2 Température	21
III.3 Période de l'année.....	22
III.4 Nutrition minérale.....	22
III.5 Pluviométrie et stress hydrique :	24

Deuxième partie : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes	27
I.1 Cadre de l'étude	28
I.2 Matériel biologique	28
I.2.1 La collecte.....	28
I.3 Produits chimiques.....	29
I.4 Matériel et équipements.....	29
I.5 Méthodes	30
I.5.1 Extraction des huiles.....	31
I.5.2 Analyse des acides gras	32
I.5.2.1 Préparation des esters méthyliques d'acide gras (EMAG)	32
I.5.2.2 Analyse des esters d'acides gras par Chromatographie en Phase Gazeuse	33
I.5.3 Extraction des polyphénols	33
I.5.3.1 Calcul des rendements d'extraction en extraits phénoliques	33
I.5.3.2 Analyse quantitative des polyphénols	34
I.5.3.2.1 Dosage des phénols totaux.....	34
I.5.3.2.2 Dosage des flavonoïdes.....	35
I.5.3.2.3 Dosage des tannins condensés.....	36
I.5.4 Activité antioxydante.....	37
• Activité antioxydant par le test de piégeage du radical DPPH.....	37
Chapitre II : Résultats et discussion	39
II.1 Extraits lipidiques.....	40
II.1.1 Teneur en huiles	40
II.1.2 Analyse des acides gras par CPG.....	42

II.2 Extraits méthanoliques (composés phénoliques).....	44
II.2.1 Rendement d'extraction	44
II.2.2 Dosage des composés phénoliques	46
II.2.3 Dosage des flavonoïdes.....	48
II.2.4 Dosage des tannins condensés	50
II.3 Evaluation du pouvoir antioxydant	52
• En résumé	53
Conclusion	56
Références Bibliographiques	59
Annexe	69

Liste des abréviations

% : Pourcentage
 Σ : somme
°C : Degré Celsius
 μg : microgramme
4CL : 4 CoA Ligase
AG : Acide gras
AGI : Acides gras insaturés
AGS : Acides gras saturés
ANS : anthocyane synthase
AS : Asparagine Synthétase
C4H Cinnamate 4-Hydroxylase
CAT : Catalase
CHI : Chalcone Isomérase
CHS Chalcone Synthase
Cm : Centimètre
CPG : Chromatographie en phase gazeuse
CPSase : Carbamoylphosphate Synthétase
DFR : Dihydroflavonol réductase
DPPH: 2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl
EAG: Equivalent en Acide Gallique
EC : Equivalent en Catéchine
EC50 : Efficient Concentration
EMAG : esters méthyliques d'acide gras
EQ : Equivalent en Quercitine
F3OH : Flavanone-3 hydroxylase
F5H : Férulate 5-hydroxylase
FGT : Flavonoïde glucosyl transférase
FID : détecteur à ionisation de flamme
FLS : Flavonol synthase
FS : Flavone synthase
FT : Flavoïde de Tilghimt
g : gramme
G1 : Arbre 1 d'El Ghaïcha

G2 : Arbre 2 d'El Ghaïcha
GDH : Glutamate Déshydrogénase
GOGAT: glutamine 2-oxoglutarate aminotransférase
GS : Glutamine Synthase, : Glutamine Synthase
HQT : Hydroxycinnamoyl-CoA quinate hydroxycinnamoyl tranférase
m : Mètre
mg : milligrammes
min Minute
ml : Millilitre
mm : Millimètre
mM : millimole
mmol/L : millimole par litre
MS : Matière Seche
ND : Non déterminé
NiR : Nitrite Réductase
Nm : Nanomètre
NR Nitrate Réductase, Nitrate Réductase
OMT: O-méthytransférase
P. atlantica: Pistacia atlantica
PAL: Phenylalanine Ammonia Liase
POD Peroxydase,; peroxydases
PPO : Polyphénols Oxydases
SOD : Superoxyde Dismutase
T1: Arbre 1 de Tilghimt
T2 : Arbre 2 de Tilghimt
Tan G : Tannins d'El
Ghaïcha Tan T : Tannins de
Tilghimt UV : ultraviolet
µl : Microlitre
µm : Micromètre

Liste des figures

Figure 1: Photographie illustrant l'arbre de Pistachier de l'Atlas.	6
Figure 2: les feuilles de <i>Pistacia atlantica</i>	6
Figure 3: Structure d'un acide gras	11
Figure 4 : Classification des lipides	12
Figure 5: Représentation simplifiée de la voie de biosynthèse des polyphénols végétaux.....	21
Figure 6 : Schéma de l'assimilation de l'azote chez les plantes.....	23
Figure 7 : Régulation de la Glutamine Synthétase.....	23
Figure 8 : Capture d'écran prise à partir de Google maps représentant localisation	28
Figure 9 : Les quatre échantillons pris à partir des deux sites.....	29
Figure 10 : schéma représentatif de la démarche expérimentale des composés phénoliques	30
Figure 11: Extraction par la méthode de soxhlet.....	31
Figure 12 : Principe d'action de réactif de folin-Ciocalteu avec l'acide gallique.....	34
Figure 13 : Principe de réaction entre les flavonoïdes et $AlCl_3$	35
Figure 14 : La réaction du dosage de la vanilline avec les tannins condensés, la pointe.....	36
Figure 15: Réaction de test DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl).....	37
Figure 16 : valeurs individuelles et moyennes des rendements d'extraction des huiles à partir des feuilles de <i>P. atlantica</i> des deux sites (EL Ghaïcha et Tilghimt).	41
Figure 17: Les valeurs individuelles et les moyennes des rendements d'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles de <i>P. atlantica</i> des deux sites (EL Ghaïcha et Tilghimt).	45
Figure 18 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.....	46
Figure 19 : les teneurs individuelles et moyennes des phénols totaux à partir des feuilles de <i>P. atlantica</i> des deux sites (El Ghaïcha-Tilghimt).	46
Figure 20 : Droite d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.	48

Figure 21: les teneurs individuelles et moyennes des flavonoïdes à partir des feuilles de <i>P. atlantica</i> des deux sites (El Ghaïcha-Tilghimt).....	48
Figure 22: Taux des flavonoïdes par rapport aux phénols totaux des années 2019 et 2018 pour les deux sites (El Ghaïcha et Tilghimt).	49
Figure 23 : Droite d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins.....	50
Figure 24: les teneurs individuelles et les moyennes en tannins condensés pour les feuilles.....	51
Figure 25: taux des tannins condensés par rapport aux phénols totaux de 2019 et 2018 pour les deux sites (El Ghaïcha et Tilghimt).....	51
Figure 26 : la courbe d'étalonnage de la vitamine C établie par le test DPPH.	52
Figure 27: Les valeurs individuelles et moyennes des EC50 obtenues pour les extraits des deux sites déterminés par le test DPPH.	52
Figure 28 : relation entre EC50 et teneurs en phénols totaux pour les extraits phénoliques de feuilles de <i>P. atlantica</i>	54

Liste des tableaux

Tableau 1 : Systématique de <i>Pistacia atlantica</i> Desf.	07.
Tableau 2 : Principales classes des composés phénoliques.	15.
Tableau 3 : les données GPS et l'étage bioclimatique de deux sites étudiés.....	29.
Tableau 4 : les teneurs d'huiles des extrais huileux de El Ghaïcha et Tilghimt. ...	40.
Tableau 5 : Composition en acides gras des huiles brutes de <i>P. atlantica</i> en (%).	42.
Tableau 6 : les teneurs des extrais phénoliques brutes d'El Ghaïcha et Tilghimt.	44.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction

Les écosystèmes sont des entités complexes caractérisées par des flux de matières et d'énergie et de multiples interactions entre composantes vivantes et non-vivantes. Au cœur des écosystèmes, les sols et les plantes sont à la fois sous l'influence de paramètres abiotiques, tel le climat, la roche mère et la topographie, et de celle des organismes vivants (paramètres biotiques) (**Chapin *et al.*, 2011**).

L'ensemble de ces influences biotiques et abiotiques ont de multiples implications en termes de genèse, d'organisation spatiale et de fonctionnement des sols, ainsi que de structuration des communautés de plantes. Enfin, les sols et les plantes sont intimement liés et interdépendants.

A l'échelle de la planète, le climat est le principal déterminant de la distribution des communautés végétales. Ainsi, la combinaison d'un petit nombre de variables bioclimatiques permet de prédire la distribution de types de végétation dans les différents continents de façon très réaliste (**Prentice *et al.*, 1992**). C'est notamment le cas des indices de température (sommées de température, basses températures hivernales et hautes températures estivales) et de disponibilité en eau (capacité au champ des différents types de sol estimée à partir de leur texture).

D'autres part, l'ensemble des plantes partagent de nombreuses fonctions, parmi lesquelles la synthèse de composés carbonés organiques et le relargage d'oxygène dans l'atmosphère. Pour caractériser et comparer de manière standardisée les interactions de l'ensemble de ces plantes avec leur environnement et le sol en particulier, il est possible de recourir à des mesures quantitatives ou qualitatives communes à une majorité de plantes, tels que les *traits fonctionnels d'une espèce ou d'un genre donné* (**Garnier *et al.*, 2013**).

Ainsi, les végétaux produisent des métabolites primaires qui entrent dans le fonctionnement vital de la cellule, comme des acides gras, des lipides et, des acides aminés constituant des protéines végétales. Les plantes synthétisent également de nombreux composés qualifiés de « Secondaires » dont toutes les fonctions n'ont pas encore été identifiées mais qui sont fondamentaux, notamment pour l'adaptation des plantes à leur environnement, et qui peuvent constituer les traits fonctionnels, dont la mesure quantitative et qualitative, signalera l'impact de l'environnement, en particulier le climat et la nature du sol, sur leur diversité et leur teneur.

Plusieurs familles de composés font partie de ce métabolisme secondaire, dont les composés phénoliques ou polyphénols et quelques extraits lipidiques.

Chez les végétaux, ces polyphénols sont, entre autres, impliqués dans les mécanismes de résistance aux stress biotiques et abiotiques. Par ailleurs, des études récentes sur l'effet bénéfique de la consommation de fruits et légumes chez l'homme, ont suggéré l'implication de ces composés dans la prévention et la lutte contre certaines maladies. Il est donc important de comprendre les conditions de synthèse et d'accumulation de ces composés, pour améliorer la composition des végétaux aussi bien pour des raisons agronomiques qu'alimentaires ou même médicales.

Dans l'étude qui suit, nous poursuivons une étude déjà faite auparavant, sur la composition et l'activité antioxydante des extraits phénoliques du Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*) ainsi que leur teneur en composés lipidiques, poussant dans deux sites, assez lointain l'un de l'autre, un échantillon provenant de la région de Tilghimt / Hassi R'Mel (altitude basse) et l'autre de la région d'El Ghaïcha /Aflou (haute altitude), dans des conditions climatiques différentes de celle du présent travail. L'objectif, étant cette fois-ci d'étudier l'impact des nouvelles conditions climatiques et leur effet sur la composition, la teneur et, *in fine*, sur l'activité antioxydante des deux échantillons prélevés à partir des deux mêmes sites.

En effet, il existe très peu de données pour expliquer l'effet de l'environnement sur la synthèse et le stockage des métabolites secondaires végétaux (**Dumas *et al.*, 2003**). Or c'est une approche envisageable pour moduler de façon raisonnable les teneurs en polyphénols ou autres composants de la plante comme les extraits lipidiques. En effet les variations de conditions environnementales comme l'intensité de la lumière ou les apports en minéraux conduisent à des augmentations plus modérées, comme par exemple le doublement des teneurs en flavonoïdes (**Carpena *et al.*, 1982 ; Lopez Andreu *et al.*, 1988 ; Awad et De Jager, 2002 ; Dumas *et al.*, 2003**). Il s'agit d'un ordre de variation qui peut être rencontré au sein d'un même génotype (**Martinez-Valverde *et al.*, 2002**), ce qui permettrait d'éviter des teneurs anormalement élevées pouvant conduire à la toxicité éventuelle de ces molécules.

Ce manque de connaissances sur l'effet des facteurs environnementaux, s'applique en particulier à notre plante. Il n'existe pratiquement pas de travaux qui permettent de relier la teneur en polyphénols aux conditions environnementales imposées à la plante.

Première partie :
Synthèse bibliographique

Chapitre I :
Généralités sur
le Pistachier de l'Atlas

I.1 Présentation de *Pistacia atlantica* Desf.

Le genre *Pistacia* fut décrit par Linné en 1753. Originnaire de l'Asie Occidentale et de la petite Asie, ce genre pousse généralement à l'état sauvage dans plusieurs régions chaudes et arides au Liban, Palestine, Syrie, Iran, Iraq, Europe du sud et dans les pays arides de l'Asie et de l'Afrique. Il a été introduit en Europe dès le début de l'ère chrétienne. La première fois qu'il fût introduit aux U.S.A. c'était en 1890 et son essai fût dans la station pilote en Californie en 1904 (Debbache, 1998).

Le Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.), elbetoum, botma, betouma ou btouma en arabe local et lgth en berbère. Le nom commun de cette espèce se rapporte aux montagnes d'Atlas ou cette espèce se développe.

Comprenant 11 espèces, le genre *Pistacia* de la famille des Anacardiaceae est largement répandu de l'Asie du Sud-Ouest à l'Afrique du Nord-Ouest.

P. atlantica est l'une des espèces sauvages les plus répandues en Algérie, et qui est la plante la plus caractéristique entre les espèces des régions arides et semi-arides du pays (Yousfi *et al.*, 2010).

C'est un bel arbre qui existe à l'état disséminé dans la région de Djelfa (Senlba, Ain ouessara, Mesaad), Laghouat (partie sud : Hassi R'Mel), et Ghardaïa (dans l'oued M'Zab) (Monjauze, 1980).

I.2 Description botanique

C'est une espèce ligneuse et spontanée pouvant atteindre 10 m de haut. L'arbre possède un tronc individualisé et à frondaison hémisphérique (Figure 1) (Quézel et Santa, 1963).



Figure 2: Photographie illustrant l'arbre de Pistachier de l'Atlas. (*Pistacia atlantica* (Photo prise par Guenane H le 17 octobre 2009).



Figure 3: les feuilles de *Pistacia atlantica* (Mifsud, 2010)

I.3 Systématique de l'espèce

Systématiquement, *Pistacia atlantica* Desf. est classée dans le règne végétal de la manière suivante dans le tableau 1 (Al-Saghir et Porter, 2012) :

Tableau 1 : Systématique de *Pistacia atlantica* Desf.

Règne	Végétale
Sous-règne	Viridiplantae
Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiacees
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia atlantica</i> Desf.

La fiche descriptive de la plante peut être donnée de la manière suivante :

Nom en arabe : فستق الأطلسي.

Catégorie : arbre dioïque.

Port : arrondie à ramification étalée, jeune, le rameau est rougeâtre.

Feuillage : caduc, composé, imparipenné ; 3 à 5 folioles ovales-acuminées, tomenteux puis coriace à l'âge adulte.

Floraison : en été, en panicule de petites fleurs apétales (1 à 3) et 1 à 5 sépales ; pollinisation effectuée par le vent. Fruits récoltés en septembre-octobre.

Couleur : vert brunâtre.

Croissance : lente et ne commence à produire les fruits qu'à partir de 5-7ans.

Hauteur : 10 à 12 m.

Plantation : à l'automne ou au printemps.

Multiplication : par bouture.

Sol : tous terrain mais bien drainé.

Emplacement : au soleil.

Pays d'origine : Méditerranée orientale (Crimée, Grèce et Turquie).

Entretien : arroser pour augmenter la production, tailler pour faciliter la récolte.

I.4 Importance et utilisations de *Pistacia atlantica* Desf.

I.4.1 Importance économique

Le pistachier de l'atlas est assez important sur le plan écologique, géographique aussi bien économique. Cet arbre a un rôle de protection et de production au même temps, ainsi qu'un intérêt médicinale et pharmaceutique établi (Faouzi *et al.*, 2015).

Le bétoum est largement utilisé comme :

- Essence de reboisement et aussi une source de fourrage pour le bétail. (Faouzi *et al.*, 2015).
- Il présente une aptitude à constituer une barrière contre l'avancée du désert et a une résistance à la sécheresse (Faouzi *et al.*, 2015).
- Et comme un support contre les vents (un brise-vent) (Belhadj, 2001).

I.4.2 Utilisation locale

- Dans la région de Djelfa, Laghouat et Ghardaïa, l'huile de ces fruits comestibles a un goût proche de celui du beurre, elle est souvent mélangée aux dattes écrasées et peut-être consommée à toute heure de la journée avec du petit lait.
- Les graines sont séchées, écrasées ou moulues et ramassées avec de l'eau sucrée et consommées en boulettes ou bien séchées et croquées telles quelles comme des cacahuètes.
- Aussi utilisée comme porte-greffe pour le *Pistacia vera*, pour le fourrage, artisanat et du feu, et son bois donne du bon charbon (Belhadj, 2001).

I.4.3 Utilisation en médecine traditionnelle

Les espèces du genre *Pistacia* sont très appréciées dans la médecine traditionnelle et pharmaceutique depuis l'antiquité.

Grâce à leurs activités biologiques multiples :

- Elles sont employées dans le traitement de l'eczéma, des infections de la gorge, la lithiase rénale, l'asthme, les maux d'estomac et comme un stimulant digestif et énergétique.
- A côté de leurs capacité thérapeutique, le pistachier a un usage antiseptique, antifongique et dans les maladies abdominales.
- Un des éléments de l'arbre, la résine, est utilisée comme antiseptique du système respiratoire, et aussi comme un chewing-gum pour la sècheresse des lèvres (**Duru et al., 2003**).
- Les feuilles, chez les marocains, sont employées pour traiter les infections de l'œil (par décoction), dans la maladie (Evil eye) (**El-Hilaly et al., 2003**).

I.5 Qualité et valeur santé du fruit (valeur alimentaire)

- Les graines de *Pistacia* présentent une teneur considérable de protéines et de glucides, en plus, elles fournissent une excellente huile alimentaire de l'ordre de 40% (**Benhassainni, 1998**).
- Sa composition riche en métabolites divers (primaires et secondaire) est particulièrement intéressante pour la valorisation de cette espèce dans la lutte contre la malnutrition protéino-énergétique et les carences nutritionnelles en général (**Benhassainni, 2004**).
- La fraction d'acides gras insaturés est elle aussi majoritaire et confère à l'huile de fruits de bétoum une valeur nutritionnelle élevée. En effet, plus une huile est riche en acides gras insaturés (polyinsaturés), moins elle est stable du point de vue oxydatif, mais bien meilleur sur le plan nutritionnel (**Benhassainni et al., 2007**).

Chapitre II:
Généralités Biochimiques

II.1 Lipides

II.1.1 Définition des lipides

Les lipides forment un groupe de composés de nature chimique très variés. Ils ont la propriété d'être insoluble dans l'eau, mais soluble dans les solvants organiques : benzène, éther, chloroforme et mélange de chloroforme et méthanol. Cette propriété est commune entre tous les lipides (**Brisson, 1982**).

La variabilité de leurs natures chimiques revient à la diversité de structure des acides gras qui rentrent dans la majorité des corps lipidiques.

II.1.2 Acides gras

- Ils sont les principaux composés des huiles et des graisses alimentaires.
- Exclusivement formés de carbone, d'hydrogène et d'oxygène, la longueur d'une chaîne d'acide gras varie entre 4 et 26 atomes de carbones où le nombre est toujours paire en général, autant d'origine végétal qu'animal (**Brisson, 1982**).

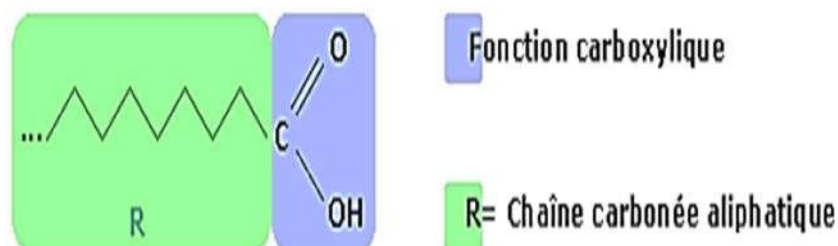


Figure 4: Structure d'un acide gras (**El Atyqy, 2007**).

II.1.3 Classification des lipides

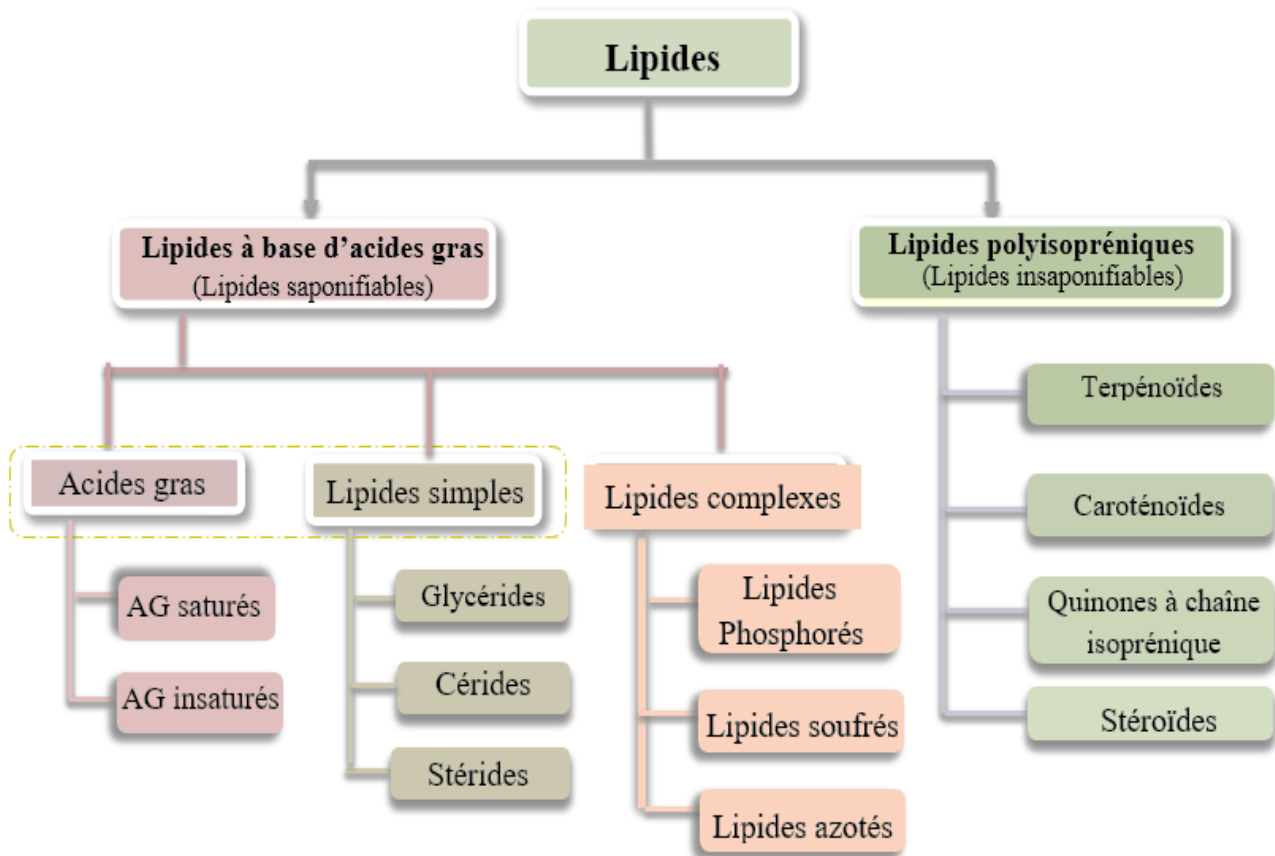


Figure 5 : Classification des lipides (El Atyqy, 2007).

II.1.4 Localisation et rôle biologique des lipides dans les plantes

II.1.4.1 Localisation

On trouve les lipides principalement dans les membranes cellulaires (lipides constitutifs) et les tissus végétaux. Notre étude concerne les plantes, donc nous allons désigner les lipides des membranes végétales, qui sont présents chez les plantes oléagineuses : plantes productrices d'huiles (riches en matière lipidique), plus précisément stockés dans les graines et les fruits.

On peut distinguer les graines oléagineuses produite par des plantes, comme les graines de lin, de tournesol ou de colza.

Exemple:

- Les graines de lin : très riches en C18:3 (45-70 % d'acide linoléique ALA), le principal oméga-3, conférant à son huile des propriétés siccatives.
- L'huile de tournesol : forte teneur en acide gras de type oméga-6.
- Colza : oméga-9.

Les fruits oléagineux plutôt produit par les arbres (la palme ou l'olive).

- L'huile de palme : est constituée majoritairement d'acides gras saturés (acide palmitique à 43,5 %).

« Selon l'organisme producteur, chaque huile possède un profil spécifique en acide gras ».

(Vijay *et al.*, 2016 ; Afriyanti *et al.*, 2016).

II.1.4.2 Rôle

Les lipides remplissent trois fonctions générales :

✓ Stockage d'énergie

Les lipides sont utilisés pour le stockage d'énergie, principalement sous forme d'esters de triacylglycérol et d'esters de stéroïde, en gouttelettes lipidiques, grâce à leur état relativement réduit (Pierre *et al.*, 2007).

✓ Fonction de barrière

- La matrice des membranes cellulaires est formée par des lipides polaires, qui se composent d'une portion hydrophobe et d'une portion hydrophile.
- Toute cellule vivante dispose d'une membrane plasmique, permettant de séparer le cytoplasme et ses éventuels organites du milieu extracellulaire (Lombard, 2014).
- Les lipides fournissent des membranes ayant un potentiel de bourgeonnement, de tubulure, de fission et de fusion, les caractéristiques qui sont essentielles pour la division cellulaire, la reproduction biologique et le trafic membranaire intracellulaire (Van Meer, Voelker et Feigenson, 2008).

✓ Signalisation cellulaire

En raison de leur localisation dans les membranes biologiques et leur capacité à franchir aisément les membranes, les lipides peuvent transmettre des signaux entre différentes cellules. Ils peuvent aussi être liés à des protéines, porteuses du signal (**Pierre et al., 2007**).

II.2 Composés phénoliques

II.2.1 Définition

Les composés phénoliques représentent une large gamme de structures chimiques identifiés comme métabolites secondaires. Ils sont présents chez tous les végétaux supérieurs et sont caractérisés par une répartition qualitative et quantitative très inégale selon les espèces, les organes, et les stades physiologiques (**Macheix, 2013**).




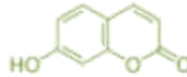
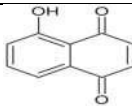
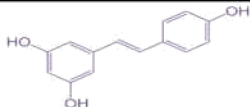
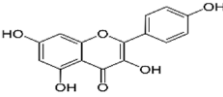
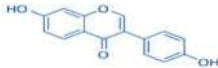
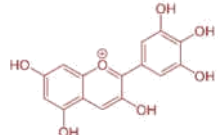
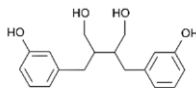
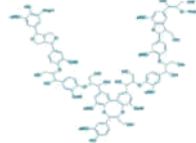
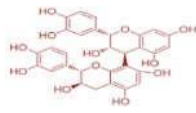
Le terme « phénols » réunit près de 10.000 composés naturels identifiés (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**), et leurs structures est caractérisée fondamentalement par un noyau phénolique à 6 carbones, où est liés directement à un groupe hydroxyle OH, ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (**Bruneton, 1999**).

Cette variation des groupes engagés est à l'origine de la diversité structurale des phénols ce qui a donné naissance aux classes des composés phénoliques différentes, où on distingue les phénols simple et complexes ou bien polyphénols.

II.2.2 Classification des composés phénoliques

Le tableau 2 présente les principales classes des composés phénoliques sur la base de données rapportées par la littérature (**Marcheix et al., 2005 ; Bruneton ; 1999**).

Tableau 2 : Principales classes des composés phénoliques.

Composés phénoliques				
Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule	Origine
C6	Phénols simples	Hydroquinone		Busserole
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	Acide p-hydroxybenzoïques		Epices, fraises
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	Acides p-coumarique		Tomates, ail
	Coumarines	Ombelliférone		Carottes, coriandre
C6-C4	Naphtoquinones	Juglone		Noix
C6-C2-C6	Stilbénoides	Trans-resvératrol		Raisin
C6-C3-C6	Flavonoïdes	Kaempférol		Fraises
	Isoflavonoïdes	Daidzéine		Graines de soja
	Anthocyanes	Delphinidol		Raisin Cabernet-Sauvignon
(C6-C3) ₂	Lignanes	Entérodiol		Bactéries intestinales
(C6-C3) _n	Lignines			Bois, fruits à noyaux
(C6-C3-C6) _n	Tanins condensés	procyanidol		Raisins, kaki

II.2.2.1 Flavonoïdes

Les composés les plus abondants chez les polyphénols sont les flavonoïdes. Ils participent dans la pigmentation des fleurs, et dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes pathogènes (**Crozier, 2003**).

II.2.2.2 Tannins

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles (**Aguilera-Carbo et al., 2008**). Historiquement, le terme « tanin » revient aux composés polyphénoliques qui ont la capacité à se lier aux protéines à l'origine de leur capacité à tanner le cuir (**Paris et Hurabeillen, 1981**).

Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés (**Linden et Lorient, 1994**).

II.2.3 Localisation et rôle biologique des composés phénoliques dans les plantes

II.2.3.1 Localisation

A l'échelle de la cellule, les composés phénoliques sont principalement répartis dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi.

Les composés phénoliques sont synthétisés dans le cytosol. Une partie des enzymes impliquées dans la biosynthèse des phénylpropanoïdes est liée aux membranes du réticulum endoplasmique, où elles sont organisées en métabolites (**Winkel, 2002 ; Macheix et al., 2005**).

D'autres organites du cytoplasme, comme des vésicules golgiennes ou des chloroplastes, peuvent participer à la biosynthèse des composés phénoliques mais ce ne sont pas des lieux d'accumulation (**Macheix et al., 2005**).

Au sein même des feuilles la répartition des composés est variable, par exemple les anthocyanes et les flavonoïdes sont majoritairement présents dans l'épiderme (**Tomas-Barberan et Espin, 2001 ; Cheynier et Sarni-Manchado, 2006**).

Les composés phénoliques interviennent dans un grand nombre de processus physiologiques chez la plante et dans les interactions avec leur environnement, leur structure leur conférant des fonctions très spécifiques (**Desjardin, 2008**).

II.2.3.2 Rôle

Depuis longtemps, les composés phénoliques sont connus pour leur participation à des structures essentielles, comme la lignine, responsable de la coloration bleue, rouge ou jaune de certains tissus végétaux, ou aussi pour leur participation à la protection de la plante vis-à-vis de son environnement biologique (agents pathogènes) ou physique (rayonnement U.V.) (**Li *et al.*, 1993 ; Lois et Buchanan, 1994**).

Par ailleurs les composés phénoliques peuvent avoir un rôle de signal (**Treutter *et al.*, 2006**), des flavonoïdes permettent par exemple la mise en place de la symbiose entre des Fabacées et des bactéries, ce qui permet à ces plantes de fixer directement l'azote atmosphérique.

Ils participent aux phénomènes de pollinisation puisqu'ils sont responsables de la coloration des fleurs (**Macheix *et al.*, 2005**).

En plus les flavonoïdes jouent un rôle de filtration contre le rayonnement UV, ce qui explique leur localisation dans les tissus externes (**Gould et Lister, 2006**).

Enfin les flavonoïdes comme les dérivées hydroxycinnamiques jouent un rôle important dans la résistance des plantes aux stress environnementaux (**Walton et Brown, 1999**).

La synthèse des composés phénolique est provoquée lors d'une attaque de pathogènes fongiques ou bactériens, ou en conséquence de blessures (**Sawa, 1999**).

Les composés phénoliques sont impliqués à divers titres dans la défense des plantes. En tant que composés pré-infectionnels dont les teneurs peuvent augmenter pendant l'infection, ils participent à des mécanismes de défense de type constitutif.

II.3 Composition des fruits et des feuilles de *Pistacia atlantica*

D'après les études précédentes de nos collègues en 2019 sur les différentes parties de *Pistacia*, où nous citons les feuilles pour notre étude, nous pouvons constater, qu'aussi bien pour les feuilles que le fruit, les principaux constituants chimiques sont :

- **En lipides :** (à partir des résultats de la CPG), on constate l'abondance des acides palmitiques, oléiques, linoléique et l'acide linoléique et, à des proportions plus faibles, les acides laurique, myristique, palmitoléique, margarique, stéarique, arachidique, gadoléique, béhénique, érucique (**Lagoun et Khenifer, 2019**).
- **En composés phénoliques :** nous avons remarqué d'après l'interprétations des travaux antérieurs de nos collègues (**Marfoua et Rahmani, 2019**), que les feuilles du *Pistacia* comme ses fruits contiennent principalement des taux élevés en phénols totaux, flavonoïdes, et des proportions moins élevées en tannins condensés.

Chapitre III :
Influence de l'environnement sur la
synthèse des composés phénoliques et
lipidiques

Le stress abiotique est défini comme une réponse de la plante à des changements environnementaux (lumière, eau, carbone, azote, minéraux) induisant une réduction du développement et de la croissance (**Boyko et Kovalchuk, 2011**). Il y a différents niveaux moléculaires de réponses (ADN, chromatine, transcrits, protéines) à différentes échelles de la plante (de la cellule à la plante entière). Les réponses des plantes à ces stress sont soit plastiques et réversibles, soit irréversibles (**Cramer *et al.*, 2011**).

Ce paragraphe n'est pas exhaustif, on citera seulement quelques facteurs de l'environnement qui ont un impact direct sur le comportement d'une plante pour s'adapter à son environnement.

III.1 Lumière

Qualitativement et quantitativement, les teneurs dans les tissus des plantes et les fruits, en composés phénoliques et surtout en flavonoïdes ont été corrélées à l'intensité de la lumière et sa durée (**Macheix *et al.*, 2005**). En effet, certains enzymes impliqués dans la biosynthèse des polyphénols comme la Phenylalanine Ammonia Liase (PAL) (**Flores *et al.*, 2005**), la Cinnamate 4-Hydroxylase (C4H) (**Bell-Lelong *et al.*, 1997**) et de la Chalcone Synthase (CHS) (**Feinbaum et Ausubel, 1988**) voient leur activité fortement stimulée par la lumière. Ainsi, par exemple, **Wilkens *et al.* (1996)** ont quantifié environ deux fois plus de rutine et d'acide chlorogénique chez des tomates cultivées sous une forte intensité lumineuse, que dans les plantes cultivées sous une faible intensité lumineuse. Ceci étant probablement dû au rôle de photoprotection des flavonoïdes.

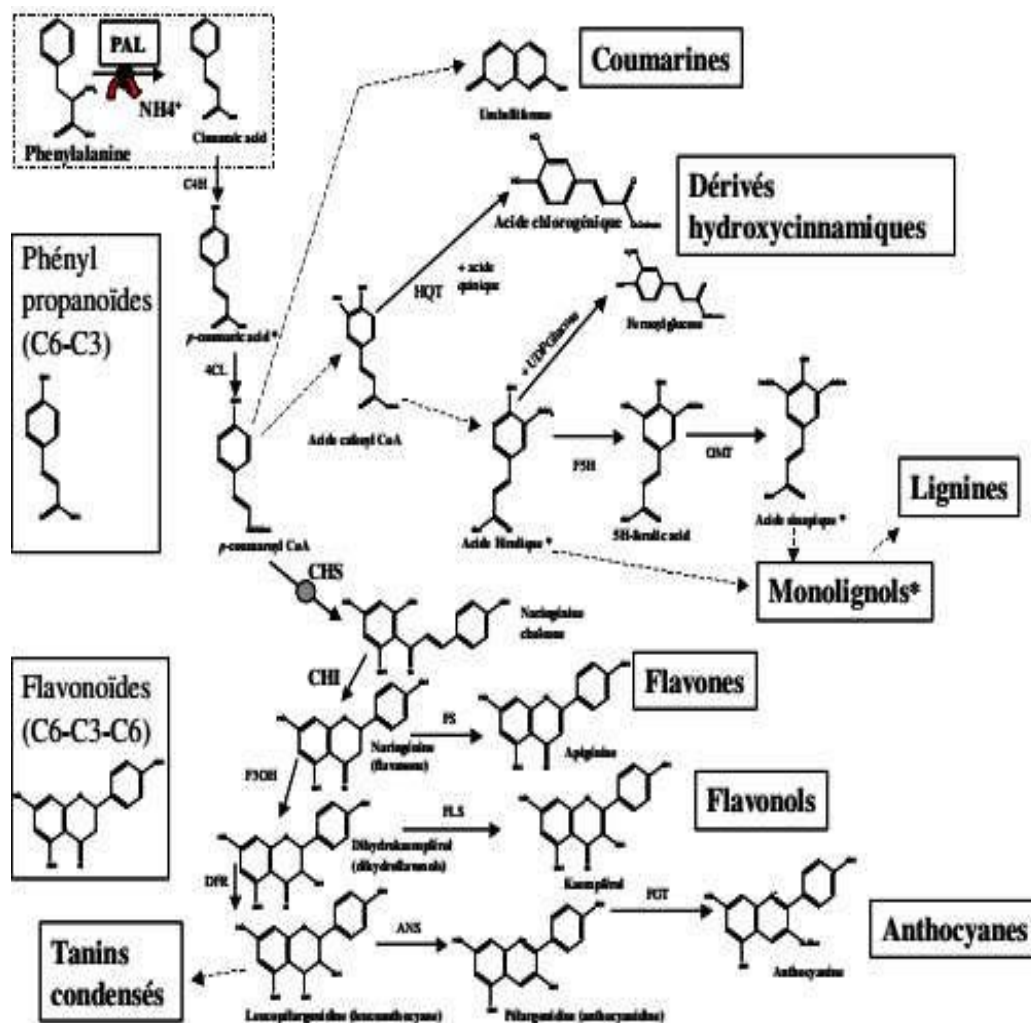


Figure 6: Représentation simplifiée de la voie de biosynthèse des polyphénols végétaux.

Phénylalanine Ammonia Liase (PAL), Cinnamate 4hydroxylase (C4H), 4 CoA Ligase (4CL), Hydroxycinnamoyl-CoA quinate hydroxycinnamoyl tranférase (HQT), O-méthyltransférase (OMT), Férulate 5-hydroxylase (F5H), Chalcone Synthase (CHS), Chalcone Isomérase (CHI), Flavanone-3 hydroxylase (F3OH), Dihydroflavonol réductase (DFR), Flavone synthase (FS), Flavonol synthase (FLS), anthocyane synthase (ANS), Flavonoïde glucosyl transférase (FGT). (*) indique les composés impliqués dans la synthèse des monolignols, Les flèches en pointillés indiquent que plusieurs étapes enzymatiques, non représentées, sont nécessaires pour arriver au produit indiqué.

III.2 Température

Un stress thermique provoqué par des températures basses (4 °C) ou élevées (35 °C ou plus) entraîne également une augmentation des activités PAL et CHS et par conséquent une augmentation des teneurs en composés phénoliques (Leyva *et al*, 1995). En outre, et aux températures basses, l'oxydation des composés phénoliques par les polyphénols Oxydases (PPO) et peroxydases (POD) est inhibée, ce qui maximise l'accumulation des polyphénols (Rivero *et al*, 2001).

III.3 Période de l'année

Les variations saisonnières sont attribuables entre autres aux conditions de lumière et de température, qui varient en fonction des saisons. **Slimestad et Verheuil (2005)** ont observé sur une saison de culture des tomates que les teneurs en acide chlorogénique, en rutine ou en naringénine chalcone, pouvaient être multipliées par trois en fonction de la date de récolte (**Slimestad et Verheuil, 2005**).

III.4 Nutrition minérale

Logiquement, les apports en minéraux modifieront d'autant les teneurs de certaines substances si ce sont des constituants directs de ce composé ou s'ils jouent un rôle central dans la synthèse ou le stockage de ce composé (**Grusak et Della Penna, 1999 ; Crosby, 2008**).

Les micro- comme les macroéléments peuvent modifier la composition en polyphénols, comme ceux des lipides. Ainsi, une carence en bore induirait une augmentation des teneurs en flavonoïdes d'environ 40 à 50 %, dans les feuilles et les fruits de tomate (**Carpenna et al, 1982; Lopez-Andreu et al, 1988; Ruiz et al, 1998**). Les effets du phosphore et du manganèse sont par contre plus variables. En effet, une déficience (0,2 et 0,5 mmol/L) ou un excès (4 mmol/L) en phosphore dans la solution nutritive entraîne une diminution des teneurs en flavonoïdes dans les feuilles (**Penalosa et al, 1989**).

La nutrition azotée modifie également les teneurs en composés phénoliques. **Stout et al (1998)** ont obtenu des concentrations plus de deux fois plus importantes dans les feuilles de tomates ayant poussé avec de faibles apports en N (2 mM) en comparaison des teneurs obtenues dans les feuilles du fort traitement en N (8 mM). L'équipe de **Stitt**, notamment dans les travaux de **Fritz (2006)** a mis en évidence que les apports d'azote inhibaient fortement le métabolisme des phénylpropanoïdes dans les feuilles de tabac (**Fritz et al, 2006**). Des études relatent également une augmentation des teneurs en polyphénols lors de faibles apports en azote, dans les tubercules de pomme de terre, ou dans les fruits comme le raisin ou les pommes (**Awad et De Jager, 2002; Delgado et al, 2004; Treutter et al., 2006**).

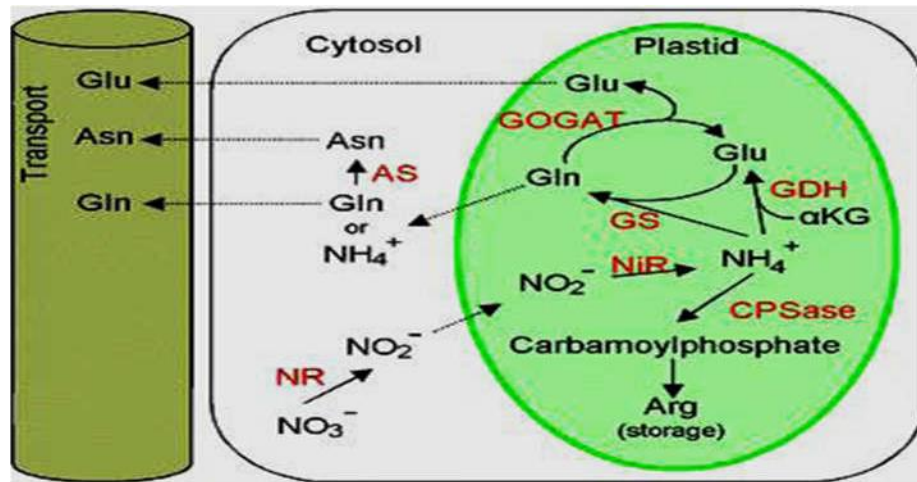


Figure 7 : Schéma de l'assimilation de l'azote chez les plantes.

NR : Nitrate Réductase ; AS : Asparagine Synthétase ; NiR : Nitrite Réductase ; GS : Glutamine Synthase ; GOGAT : glutamine 2-oxoglutarate aminotransférase; GDH : Glutamate Déshydrogénase ; CPSase : Carbamoylphosphate Synthétase.

D'après Miura (2013).

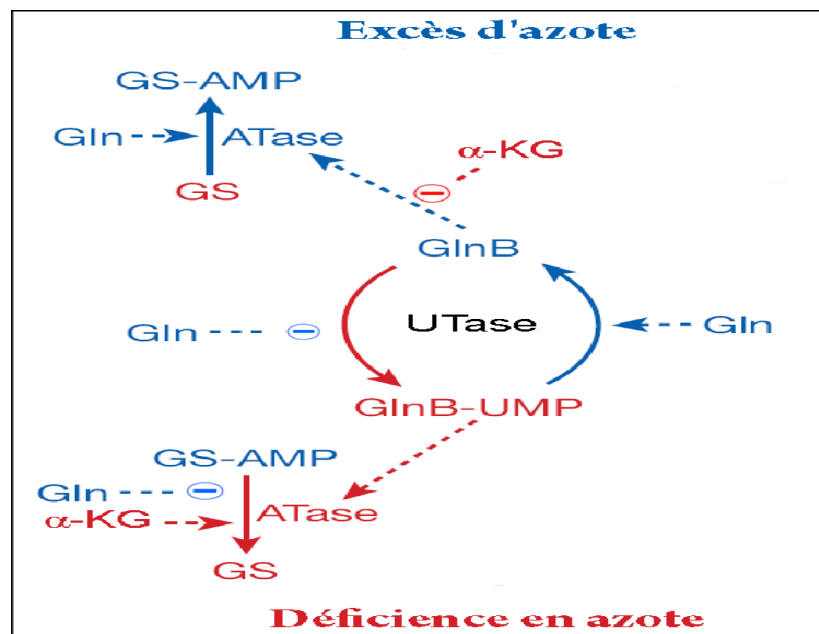


Figure 8 : Régulation de la Glutamine Synthétase.

En bleu est indiquée la voie empruntée lors d'un apport suffisant en azote dans le milieu et à l'inverse, en rouge, la voie empruntée lorsque le milieu est pauvre en azote. Les lignes entières indiquent des modifications de GS et les lignes hachurées indiquent des rôles d'effecteurs ou de protéines régulatrices. Les flèches indiquent un effet positif et un effet négatif. D'après

Leigh et Dodswor.

III.5 Pluviométrie et stress hydrique:

La capacité des plantes à s'acclimater au déficit hydrique est associée à leur aptitude à s'adapter à la diminution de la photosynthèse qui entraîne des perturbations dans de multiples processus biochimiques et physiologiques (taux de transpiration, conductance stomatique, efficacité d'utilisation de l'eau, absorption de CO₂) et un impact négatif sur la croissance (**Anjum, 2011**).

Une perte trop importante de la turgescence suite à une diminution du potentiel hydrique du sol en conditions de sécheresse, entraîne une déstructuration des membranes et systèmes enzymatiques (**Mahajan et Tuteja, 2005**). Une accumulation de différents osmorégulateurs permet la diminution du potentiel osmotique (**Chaves *et al.*, 2003**) :

- Les ions inorganiques, tels que le potassium contribue à 40 % environ de l'osmolarité (**Gaudillere et Barcelo, 1990**).
- Les cyclitols et les polyols, en particulier le mannitol et le sorbitol ont un rôle majeur dans l'ajustement osmotique. Leur concentration augmente chez des plantes en déficit hydrique (**Lo Bianco *et al.*, 2000**).
- La teneur en acides aminés libres augmente significativement en situation de déficit hydrique, en particulier la proline, l'acide aspartique et l'acide glutamique. L'accumulation de proline est la 1^{ère} réponse des plantes exposées à un déficit hydrique, et est corrélée avec la tolérance au stress. Elle a également un rôle dans la préservation de la structure des protéines, la réduction de la peroxydation des lipides et le maintien de l'intégrité des membranes (**Verslues et Sharma, 2010**).

La production de Reactive Oxygen Species (ROS), sous-produits du métabolisme de l'oxygène (ions oxygène O²⁻, radicaux libres. OH, peroxydes H₂O₂), dans le chloroplaste fait partie des premières réponses biochimiques des cellules en réponse à un stress hydrique. Dans ce contexte, la photosynthèse est réduite, la plante ne peut plus utiliser l'excès d'énergie apportée par la lumière et un stress oxydatif va se produire (**Chaves *et al.*, 2003**). Lors d'un stress modéré, ils jouent un rôle important dans la signalisation cellulaire. Mais en cas de stress sévère, la concentration en ROS augmente causant un dommage oxydatif pouvant conduire à la dégradation des protéines, la fragmentation de l'ADN, la peroxydation des lipides et la mort cellulaire (**Chaves *et al.*, 2003**).

En réponse aux attaques des ROS, la plante a un système protecteur interne qui va capter les radicaux libres. Il est composé d'antioxydants enzymatiques (Superoxyde Dismutase SOD, Peroxydase POD, Catalase CAT) et non-enzymatiques (glutathion, ascorbate, caroténoïdes). La capacité de ce système à combattre les radicaux libres peut être corrélée à la résistance de la plante à lutter contre le déficit hydrique (**Cruz de Carvalho, 2008**).

Parmi les molécules antioxydantes produites par les plantes, il y a les composés phénoliques. Plusieurs gènes impliqués dans la synthèse de composés phénoliques sont induits par le stress hydrique (**Winkel-Shirley, 2002**). Mais il n'est pas encore clairement démontré que les propriétés antioxydantes de ces métabolites secondaires sont impliquées dans les mécanismes de résistance au stress. En revanche ce sont des marqueurs intéressants du stress chez plusieurs espèces puisque leur concentration augmente en été, quand les plantes sont sujettes à des températures élevées ou à la sécheresse (**Hernandez et al., 2009**).

Deuxième partie :
Etude expérimentale

Chapitre I :
Matériel et méthodes

I.1 Cadre de l'étude

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche des sciences fondamentales à l'université Amar Telidji de Laghouat.

Ce travail concerne l'effet de l'environnement sur la teneur et l'activité antioxydante des huiles extraites à partir des feuilles du pistachier de l'Atlas.

I.2 Matériel biologique

I.2.1 La collecte

Les organes concernés sont les feuilles collectées au début du mois d'octobre 2019 sur deux sites différents de la wilaya de Laghouat à savoir : Tilghimt et El Ghaïcha ; Figure 9.



Figure 9 : Capture d'écran prise à partir de Google maps représentant localisation géographique des deux sites de collecte des différents arbres de *Pistacia atlantica* de la région de Laghouat (el Ghaïcha – Hassi R'Mel).

Les données GPS et l'étage bioclimatique des deux régions sont mentionnés dans le tableau 3

Tableau 3 : les données GPS et l'étage bioclimatique de deux sites El Ghaïcha et Tilghimt.

Sites	Arbres	Longitude	Latitude	Altitude	Etage bioclimatique
El Ghaïcha	G1 , G2	2°01'45.39"E	33°59'15".80 N	1419 m	Semi-aride
Tilghimt	T1 , T2	3°21'16,07"E	33°09'17,84" N	736 m	Aride

Nous n'avons pas pu avoir les données météorologiques des deux sites de la station météorologique de Laghouat.

La collecte a été faite à partir de deux arbres de chaque site (G1, G2 pour El Ghaïcha), (T1, T2 pour Tilghimt). La figure 9 montre des échantillons de feuille de *P. atlantica*.



Figure 10 : Les quatre échantillons pris à partir des deux sites El Ghaïcha et Tilghimt. (Photo originale, 2020).

I.3 Produits chimiques

La liste des produits chimiques utilisés est présentée en Annexe.

I.4 Matériel et équipements

Le matériel et équipements utilisés sont mentionnés en Annexe.

I.5 Méthodes

Notre démarche expérimentale est résumée dans le diagramme suivant

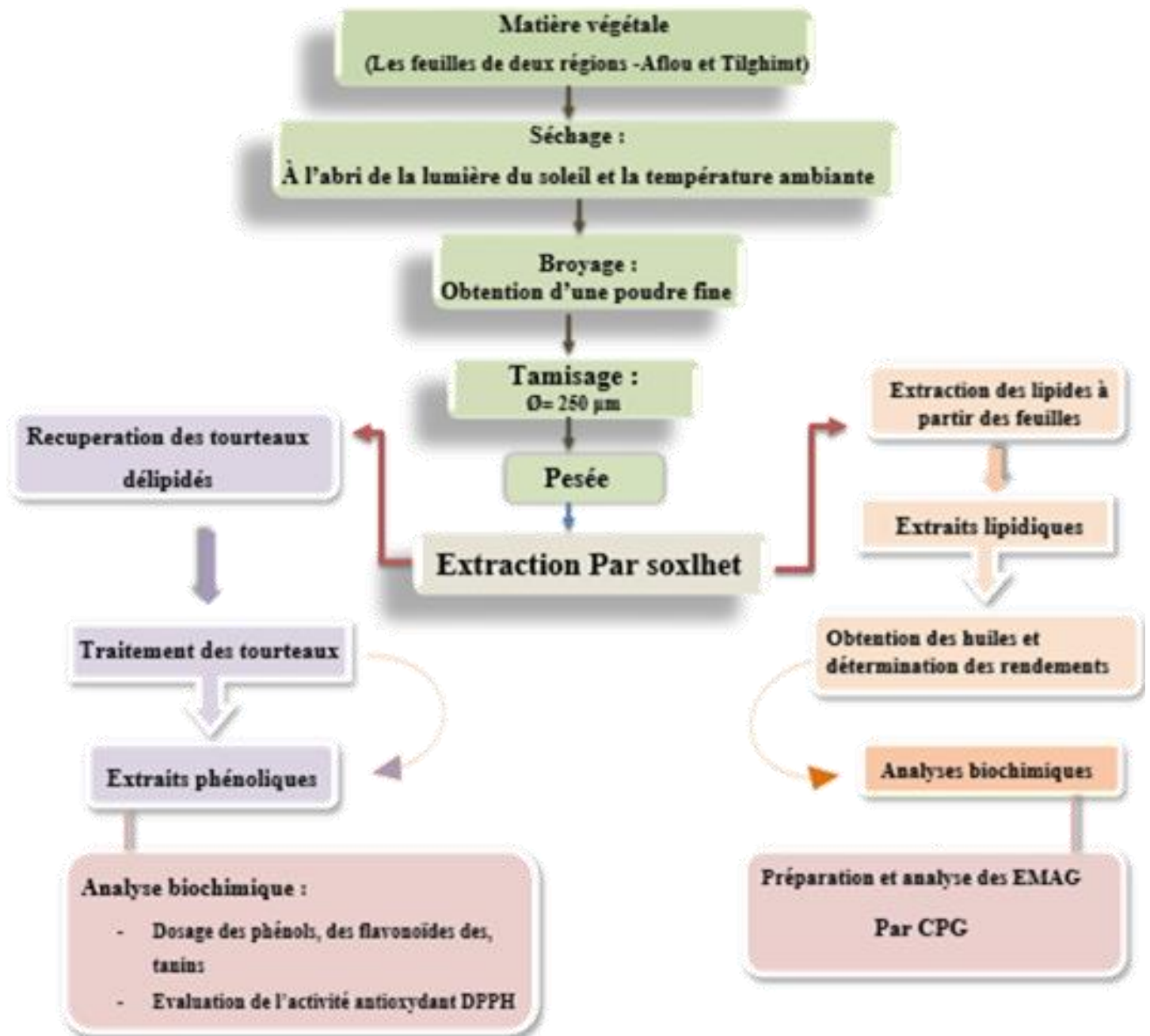


Figure 11 : schéma représentatif de la démarche expérimentale des composés phénoliques et extraits lipidiques.

I.5.1 Extraction des huiles

Après broyage des échantillons, l'extraction des huiles est faite à partir des feuilles de *Pistacia atlantica*, en suivant la méthode d'extraction par soxhlet jusqu'à l'épuisement avec le dichlorométhane comme solvant. La figure 11 montre le dispositif que nous avons utilisé pour l'extraction de nos lipides.

L'extrait obtenu a été déshydraté à l'aide du sulfate de sodium anhydre, filtré puis débarrassé du dichlorométhane par évaporation sous pression réduite à 40 °C dans un rotavapor.



Figure 12: Extraction par la méthode de soxhlet (Photo originale).

Nous avons obtenu ainsi des extraits lipidiques qui sont des huiles brutes. Ces derniers sont stockés dans des flacons en verre couverts par du papier aluminium et conservés dans le réfrigérateur à 4 °C à l'abri de la lumière afin d'éviter toute oxydation probable. Les rendements de nos échantillons ont été calculés en pesant la quantité d'huile obtenue après avoir taré la balance avec le flacon vide contenant cette huile, puis en rapportant cette masse à celle de la matière végétale prise comme essai.

Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Le rendement en huiles \%} = \frac{\text{masse de l'extrait}}{\text{masse de la prise d'essai (matière végétale broyée)}} \times 100$$

I.5.2 Analyse des acides gras

I.5.2.1 Préparation des esters méthyliques d'acide gras (EMAG)

On prépare un mélange de 20 ml de solution méthanolique de soude (NaOCH_3 0,5 %) avec 0,5 g d'huile dans un ballon, le mélange est porté à ébullition à reflux pendant 30 minutes.

Après refroidissement on ajoute 30 ml d'eau distillée.

Les esters méthyliques sont récupérés par une double extraction liquide-liquide en ajoutant 60 ml de dichlorométhane et 60 ml d'eau distillée.

On réalise ensuite plusieurs lavages de la phase organique (6 fois ou plus), jusqu'à neutralisation.

On sèche le mélange par le sulfate de sodium anhydre pour éliminer les traces d'eau et, enfin, on filtre le solvant qu'on fait évaporer à 40 °C sous pression réduite au rotavapor.

Finalement, nos EMAG sont purifiés par flash chromatographie à l'aide d'une petite colonne (pipette pasteur) remplis de gel de silice avec le dichlorométhane comme éluant.

➤ Préparation de la colonne

Au fond d'une pipette pasteur, nous avons introduit un bout de coton puis versé par-dessus le gros calibre 3 cm de gel de silice par le haut de la pipette ; le gel est ensuite humidifié avec du dichlorométhane.

➤ Préparation de l'échantillon

Solubilisation de l'extrait dans 2 ml de dichlorométhane.

➤ Elution

L'échantillon est introduit par le haut de la colonne de gel de silice, puis élué avec le dichlorométhane. Les EMAG ainsi purifiés sont conservés à + 4 °C jusqu'à leur analyse.

I.5.2.2 Analyse des esters d'acides gras par Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Les EMAG sont analysés par chromatographie en phase gazeuse en présence de standards connus

- Model d'appareil : Chrompack CP 9002
- Type de détecteur : FID
- Injecteur : SPLIT 1/100
- Programmation de la température de four : 150 °C...4 °C/min...220 °C
- La colonne utilisée : Cp Sil 8 CB (5 % Phényle + 95 % Dimethylpolysiloxane), 30m, diamètre intérieur 0,32 mm , épaisseur du film 0,25 µm
- Injecteur : 250 °C
- Détecteur : 280 °C
- Quantité injectée : 0,8 µl
- Gaz vecteur : Azote

I.5.3 Extraction des polyphénols

Dans ce travail, nous avons fait une étude comparative par rapport à celle de nos collègues en 2019 sur les échantillons de 2018, donc nous allons suivre le même protocole où le méthanol est le solvant d'extraction pour pouvoir comparer.

I.5.3.1 Calcul des rendements d'extraction en extraits phénoliques

Les rendements de l'extraction des feuilles peuvent être déterminés selon le rapport suivant :

$$\text{Rdt cp \%} = (m1/m2) \times 100$$

Rdt cp : rendement en composé phénolique.

m1 : masse de composé phénolique obtenue en g.

m2 : masse de la prise d'essai en g.

La masse initiale de la matière végétale utilisé pour la macération est 10g.

I.5.3.2 Analyse quantitative des polyphénols

I.5.3.2.1 Dosage des phénols totaux

➤ Principe

La méthode de singleton consiste à évaluer les composés phénoliques en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu (**Singleton et al., 1999**), cette méthode de dosage des phénols totaux a été décrite en 1965 par Singleton et Rossi (**Singleton et Ross, 1965**). Le réactif est un mélange de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$), et l'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), lorsqu'on le laisse en réaction avec les polyphénols il est réduit en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et molybdène (Mo_8O_{23}) (**Harrar, 2012**), (**Ribereau-Gayon, 1968**). La coloration résultante varie proportionnellement avec la quantité en polyphénols présentes dans les extraits végétaux dont l'absorption maximale est à 760 nm (**Ghazi et Sahraoui, 2005**).

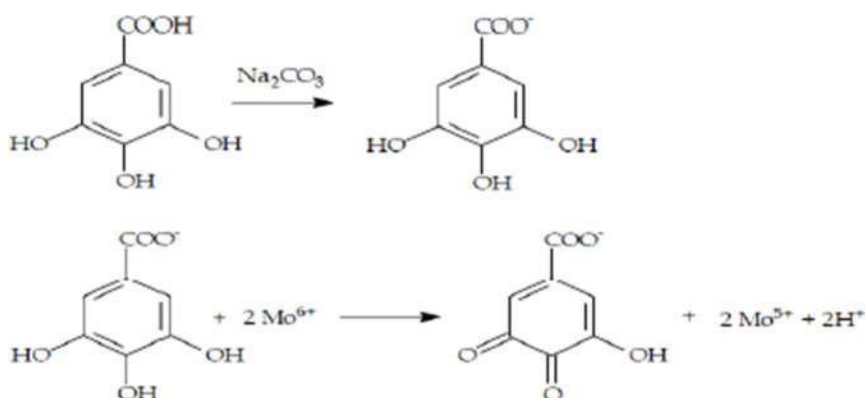


Figure 13 : Principe d'action de réactif de folin-Ciocalteu avec l'acide gallique
(adaptée à partir **Oliveira et al., 2009**).

➤ Protocole:

Nous avons réalisé le protocole en trois étapes :

Premièrement, on a préparé les réactifs (folin-Ciocalteu 10 %), et (Na_2CO_3 à 20 %), ensuite on a dilué les extraits végétaux selon une série de dilution, puis 500 μ l du réactif de folin est ajouté à 100 μ l de chaque extrait dilué ; après 2 min on ajoute 2 ml de carbonate de sodium, et enfin les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante.

A l'aide d'un spectrophotomètre et à une longueur d'onde de 760 nm, on a réalisé la lecture de chaque solution contre un blanc.

On a préparé en parallèle une gamme étalon d'acide gallique à différentes concentrations dans les mêmes conditions. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche.

I.5.3.2.2 Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

La méthode se base sur la formation d'un complexe stable entraîné par l'oxydation des flavonoïdes par le réactif de trichlorure d'aluminium (AlCl_3 2 %). La comparaison de l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon de quercétine de concentration connue permet d'évaluer la teneur totale en flavonoïdes (Miliauskas G *et al.*, 2004). Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Zhishen *et al.*, 1999) et (Kim *et al.*, 2003).

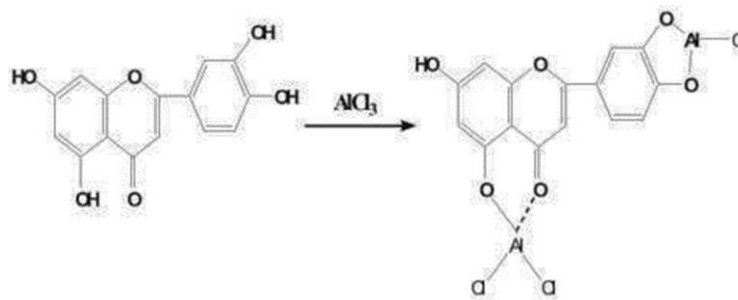


Figure 14 :Principe de réaction entre les flavonoïdes et AlCl_3 . (Chang *et al.*,2002)

➤ Protocole

1 ml de trichlorure d'aluminium 2 % est ajouté à 1 ml de chaque extrait dilué, puis on les maintient à l'obscurité pendant 20 min à température ambiante.

Lecture des absorbances à une longueur d'onde de 409 nm contre un blanc.

Nous avons établi une gamme d'étalonnage avec la quercétine par gramme de matière sèche pour déduire la concentration des flavonoïdes.

I.5.3.2.3 Dosage des tannins condensés

➤ Principe

Les tannins condensés sont déterminés par le réactif à la vanilline avec l'HCl, selon la méthode de vanilline décrite par (Julkunen-Titto, 1985).

Le principe de cette méthode repose sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tannins condensés en présence d'acide chlorhydrique dont le résultat est la production d'un complexe coloré qui est évalué à 500 nm (Price *et al.*, 1978).

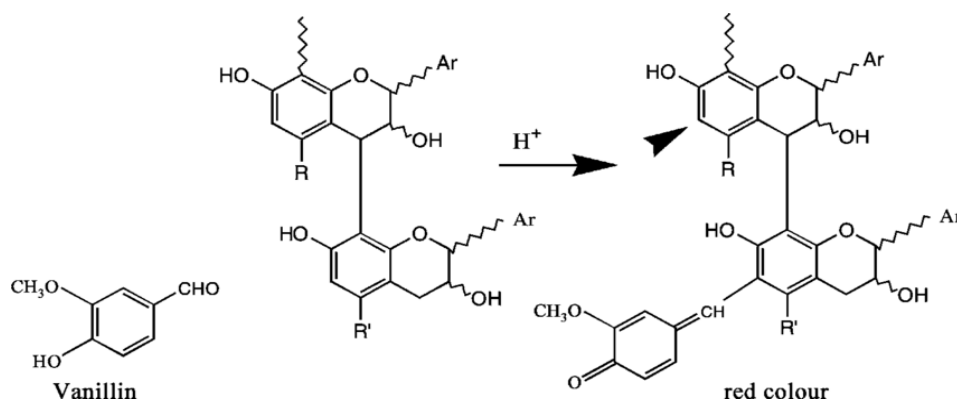


Figure 15 : La réaction du dosage de la vanilline avec les tannins condensés, la pointe de la flèche Indique un deuxième potentiel (Schofield *et al.*, 2001).

➤ Protocole

1ml d'une solution de vanilline 1 % fraîchement préparée dans le méthanol contenant 8% de l'HCl est ajoutée à 200 µl de chaque extrait dilué, puis maintenue à l'obscurité pendant 20 min à température ambiante.

I.5.4 Activité antioxydante

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits issus de la plante étudiées (*P. atlantica*) est réalisée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH.

- **Activité antioxydant par le test de piégeage du radical DPPH**

- **Principe:**

La capacité d'éliminer les radicaux libres DPPH par les extraits végétaux était évaluées par la méthode standard (Tekao *et al.*, 1994).

Le DPPH est un radical libre très stable, contrairement aux radicaux libres générés *in vitro*, tels que le radical hydroxyle et l'anion superoxyde, l'avantage de DPPH est qu'il n'est pas affecté par certaines réactions secondaires, telles que la chélation des ions métalliques et l'inhibition des enzymes. Une solution de DPPH fraîchement préparée présente une couleur violet foncé avec un maximum d'absorption à 517 nm.

Cette couleur violette se dissimule généralement lorsque les molécules antioxydants piègent les radicaux libres DPPH (AMAROWICZ *et al.*, 2003).

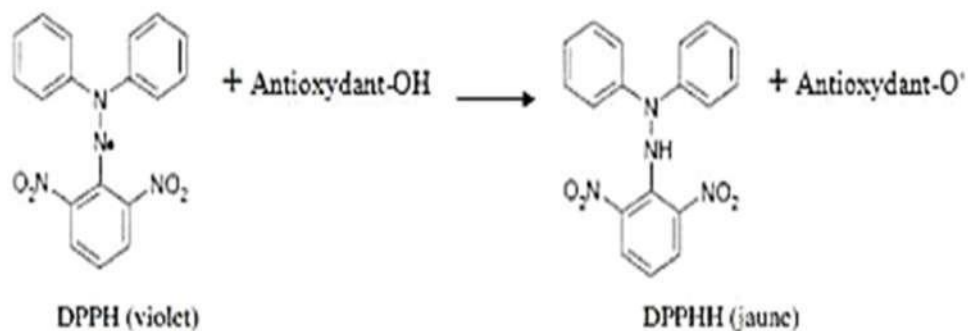


Figure 16: Réaction de test DPPH (2,2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl) (Congo, 2012).

➤ **Protocole :**

La solution de DPPH a été préparée comme suit :

0,0098 g de DPPH dans 100 ml de méthanol selon la molarité de DPPH.

Après avoir effectué une série de dilution à différentes concentrations pour chacun de nos quatre extraits, 1 ml de DPPH est ajouté à 1 ml de chaque extrait (dilué), ensuite le mélange est conservé à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante.

On prépare également le contrôle négatif contenant seulement le méthanol avec le DPPH, et on estime plus tard la décoloration de nos préparations par rapport au contrôle négatif à 517 nm.

On calcule l'activité anti radicalaire selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = \frac{(\text{Abs}_{517 \text{ nm}} \text{ contrôle} - \text{Abs}_{517 \text{ nm}} \text{ Echantillon})}{(\text{Abs}_{517 \text{ nm}} \text{ contrôle})} \times 100$$

Le paramètre EC50 « Efficient Concentration » est défini comme étant la concentration efficace de substrat qui cause la perte de 50 % de l'activité de DPPH (inhibition du DPPH), et la régression linéaire pourcentage d'inhibition de concentration de l'antioxydant permet de déterminer ce paramètre, donc l'activité antioxydant de nos extraits est exprimée en EC50 gramme par ml.

Chapitre II:

Résultats et discussion

II.1 Extraits lipidiques

II.1.1 Teneur en huiles

Après l'extraction, nous avons obtenu les extraits huileux à partir des feuilles de Pistachier de l'atlas des deux régions (Aflou et Tilghimt).

Les huiles ont une couleur vert foncé avec une odeur très agréable. Ces huiles sont liquides à 40 °C, mais ils ont l'aspect de la graisse et se solidifient rapidement dans une température ambiante.

Les rendements de nos extraits sont déterminés en pourcentage dans le tableau 4 et la figure 16

Tableau 4 : les teneurs d'huiles des extraits huileux de El Ghaïcha et Tilghimt.

Echantillons	Masse de la matière végétale (g)	masse de l'extrait huileux brute (g)	Le rendement (%)
G1 (El Ghaïcha)	70,10	3,13	4,46
G2 (El Ghaïcha)	92,71	5,03	5,42
T1 (Tilghimt)	77,44	3,95	5,10
T2 (Tilghimt)	79,35	5,09	6,41

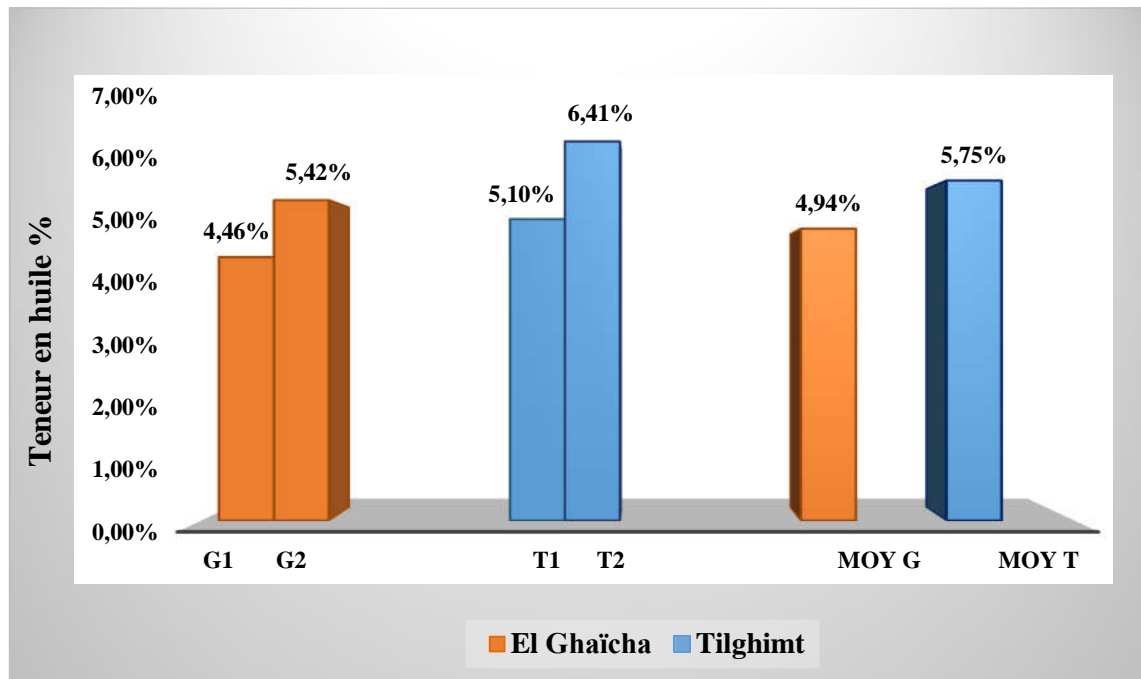


Figure 17 :valeurs individuelles et moyennes des rendements d'extraction des huiles à partir des feuilles de *P. atlantica* des deux sites (EL Ghaïcha et Tilghimt).

D'après les résultats obtenus, nous observons un rendement d'extraction légèrement inférieur pour les extraits d'El-Ghaïcha avec une moyenne de 4,94 % par rapport au rendement de Tilghimt (5,75 %). Cette différence est remarquable mais non significative.

Comparativement à l'étude sur les feuilles de 2018 où la saison a enregistré une pluviométrie importante, les échantillons d'El Ghaïcha avaient un rendement d'extraction légèrement supérieur par rapport à ceux de Tilghimt (6,50 % vs 5,23 %). Le même constat est valable pour Guersas (2016). Il est à indiquer que Chelghoum *et al* (2020) avait trouvé un rendement d'extraction légèrement élevé (7,93 %) pour des échantillons de feuilles de 2017. De ce qui précède, nous pouvons dire, d'une manière globale, que la contenance en huile varie légèrement d'une région à une autre et d'une saison à une autre. Les facteurs inhérents à l'environnement n'auraient qu'une légère influence sur la quantité d'huile extraite des feuilles de cette plante

II.1.2 Analyse des acides gras par CPG

Les résultats de l'analyse chromatographique de nos échantillons sont montrés dans le tableau 5, avec les proportions relatives des différents acides gras

Tableau 5 : Composition en acides gras des huiles brutes des feuilles de *P. atlantica* en (%)

Composition en acides gras des huiles brutes des feuilles					
Acides gras	Dénomination	G1	G2	T1	T2
C12 :0	Acide laurique	0,66 %	3,38 %	ND	ND
C14 :0	Myristique	7,84 %	9,56 %	7,42 %	13,40 %
C16 :0	Acide palmitique	29,71 %	26,25 %	30,94 %	24,18%
C16 : 1□7	Acide palmitoléique	1,24 %	Trace	ND	ND
C18 : 0	Acide stéarique	2,26 %	Trace	Trace	8,69 %
C 18 : 1□9	Acide oléique	9,64 %	9,32 %	19,06 %	21,63 %
C 18 : 2□6	Acide linoléique	17,42 %	13,26 %	16,03 %	15,68 %
C18 : 3□3	Acide linoléique	29,21 %	38,20 %	26,52 %	16,38 %
C20 : 0	Acide arachidique	Trace	Trace	ND	ND
C20 :1□9	Acide gondoïque	ND	ND	ND	ND
C24 : 0	Acide lignocérique	1,98 %	Trace	ND	ND
Total		99,96	99,97	99,97	99,96
∑ Acide gras saturés		42,45 %	39,19 %	38,36 %	46,27%
∑ Acide gras monoinsaturés		10,88 %	9,32 %	19,06 %	21,63%
∑ Acide gras poly insaturés		46,63 %	51,46 %	42,55 %	32,06%
∑ AGI / AGS		1,35	1,55	1,60	1,16

ND : Non déterminé

Pour ce qui est de la répartition en acides gras, nous constatons, pour les acides gras saturés, la prédominance de l'acide palmitique suivi, à moindre degré, de l'acide myristique. Concernant les acides gras insaturés, il y a une forte teneur en acide oléique, linoléique et, linoléique.

Nous remarquons, pour l'acide gras majoritaire (l'acide linoléique), un pourcentage substantiellement élevé dans les échantillons d'El Ghaïcha particulièrement le G2 (38,20 %), par rapport à ceux de Tilghimt (26,52). Ce résultat est à l'opposé de celui de l'année précédente (**Khenifer et Laggoun, 2019**), mais similaire à celui de Guersas (**2016**). Ceci montre pertinemment l'effet des facteurs environnementaux notamment la température sur l'enzyme (la désaturase) impliquée dans la mise en place des insaturations. En effet, l'activité de cette enzyme est d'autant plus élevée que la température diminue (**Beltran, 2004**), ce qui est le cas de la région d'El Ghaïcha. Ces résultats montrent également le caractère exceptionnel de la saison 2018, caractérisée par des températures en dessous de la normale saisonnière notamment pour la région de Tilghimt.

Nos résultats pour les arbres d'El Ghaïcha sont très proches de ceux rapportés par Chelghoum et *al* (**2020**) concernant l'année 2017 corroborant ainsi nos constatations.

D'après nos résultats et ceux de nos collègues en 2019, excepté l'action sur la désaturase (taux des acides gras notamment l'acide linoléique), les facteurs environnementaux ne sembleraient pas avoir un impact sur les extraits lipidiques.

II.2 Extraits méthanoliques (composés phénoliques)

Pour réaliser l'analyse des composés phénoliques, nous avons utilisé les tourteaux récupérés après extraction lipidique en les macérant dans le méthanol pur.

II.2.1 Rendement d'extraction

Suite à l'opération d'extraction, nous avons obtenu des extraits méthanoliques.

Les rendements de nos extraits sont déterminés en pourcentage dans le tableau 6 et la figure 17

Tableau 6 : les teneurs des extrais phénoliques brutes d'El Ghaïcha et Tilghimt.

Echantillons	La masse d'échantillons (g)	Masse de l'extrait phénoliques brute (g)	Le rendement (%)
G1	10	3,35	33,50
G2	10	3,23	32,30
T1	10	2,86	28,60
T2	10	3,11	31,10

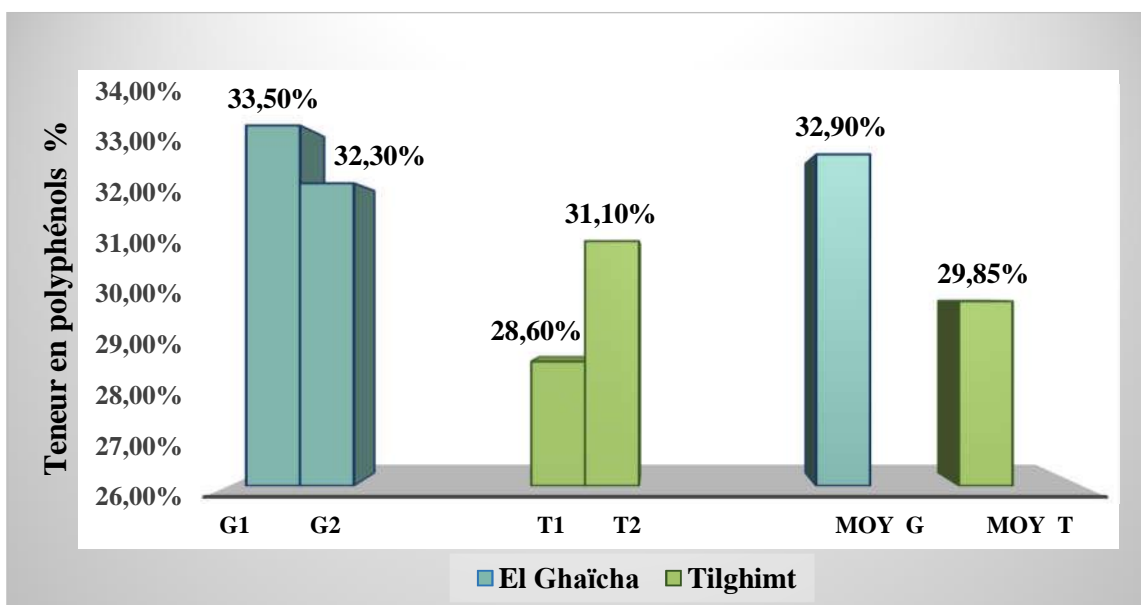


Figure 18: Les valeurs individuelles et les moyennes des rendements d'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles de *P. atlantica* des deux sites (EL Ghaïcha et Tilghimt).

Comme l'indique la figure 17, les deux échantillons d'El Ghaïcha ont les rendements d'extraction les plus élevés. Ce résultat est en accord avec ceux rapportés précédemment ((Marfoua et Rahmani, 2018; Guersas, 2016). Ceci confirme que les arbres de la région d'Aflou, caractérisée notamment par son altitude (1400 m), sont très riches en extrait méthanolique par rapport à ceux des dayas (Tilghimt, Hassi Delaaâ) se trouvant à une altitude d'environ 700 m.

Nous remarquons que le rendement d'extraction a légèrement baissé par rapport à l'année précédente et ce pour les deux sites (34,72 % pour Tilghimt et 36,89 % pour Aflou dans l'étude 2018). Etant donné que la méthode d'extraction est identique (macération dans le méthanol pur), nous pouvons avancer que les variations inhérentes à la saison auraient un effet sur le rendement d'extraction phénolique. Ces variations concernent notamment la température, les précipitations et l'indice UV.

Guersas (2018), par contre, et dans des conditions climatiques identiques ou proches de notre étude, avait obtenu des rendements nettement inférieures (< à 20 %) pour des échantillons de 2016. Ceci ne peut être expliqué que par la méthode d'extraction adoptée dans laquelle il a utilisé de l'acétone au lieu et place du mélange à base de méthanol.

II.2.2 Dosage des composés phénoliques

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait a été calculée à partir de la droite d'étalonnage d'acide gallique (Figure 18). Les résultats exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche sont présentés dans la figure 19.

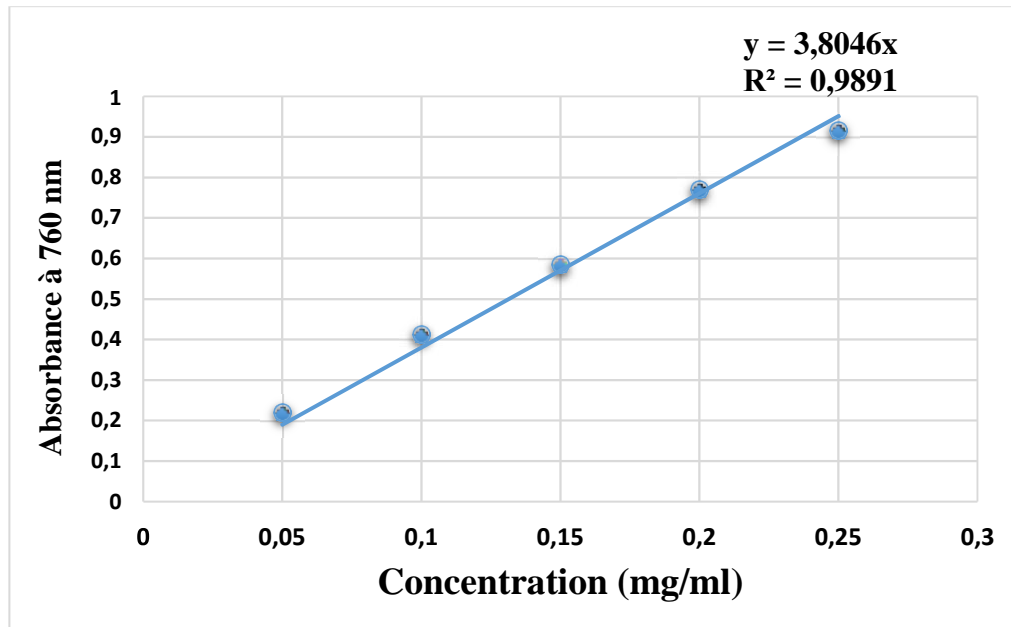


Figure 19 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols

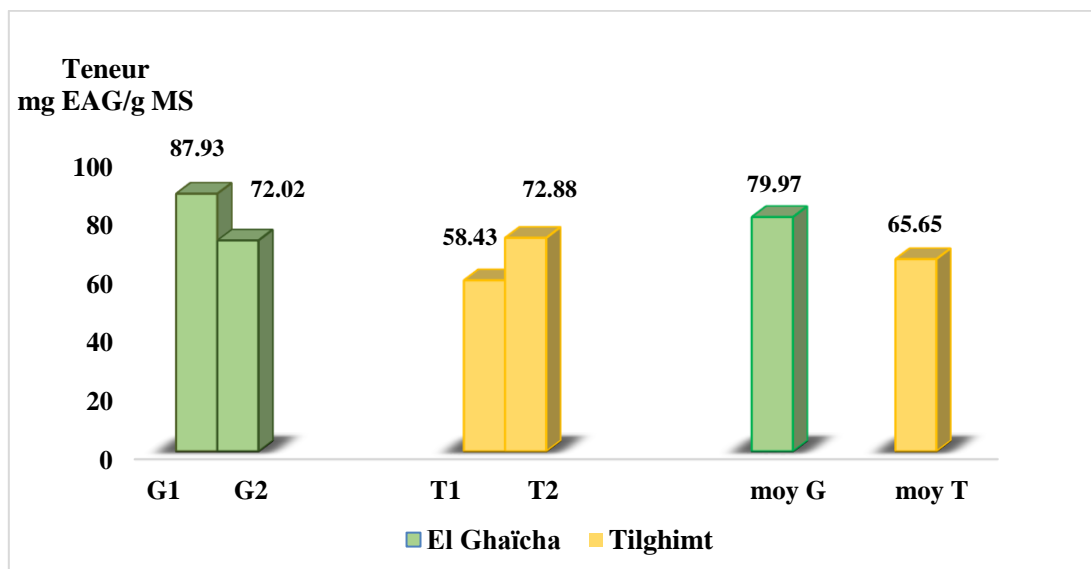


Figure 20 : les teneurs individuelles et moyennes des phénols totaux à partir des feuilles de *P. atlantica* des deux sites (El Ghaïcha-Tilghimt).

Les teneurs en phénols totaux dans nos échantillons sont largement inférieurs par rapport à ceux de l'année précédente (< à 685 mg EAG/g MS) pour les deux sites. En dépit de l'emploi de la même méthode d'extraction, nos valeurs ne représentent qu'un dixième (1/10) de celles de l'année 2018. Cette large différence pourrait être expliquée par plusieurs facteurs en premier lieu des facteurs propres à la saison (température et précipitation). En effet, l'année 2019 était marquée par des températures légèrement en hausse et des précipitations moindres. Il a été rapporté, pour d'autres espèces, que la contenance en phénols totaux était négativement corrélée avec la température qui affecte l'enzyme PAL impliquée dans leur biosynthèse (**Padda et Picha, 2008 ; Albert *et al.*, 2009**).

Le nombre d'échantillons étudiés (9 pour 2018 contre 4 pour 2019), y serait pour quelque chose dans cette variation.

Il est important d'indiquer que les métabolites secondaires peuvent également être produits par les endophytes (**Saadoun et zareb, 2018**). Ces champignons ont effectivement été mise en évidence dans les feuilles de *P. atlantica* (**Saadoun et zareb, 2018**). Nous pensons que dans des conditions de précipitations élevées (cas de l'année 2018), les endophytes seraient impliqués davantage dans la production des composés phénoliques vu que leur charge augmente sous l'effet de l'humidité (**Herrera *et al.*, 2011**).

Selon l'emplacement géographique, nous observons des teneurs nettement supérieures pour les feuilles d'El Ghaïcha, par rapport à celle de Tilghimt (79,97% vs 65, 65%). Ce résultat ne concorde pas avec celui de l'année précédente où les feuilles de Tilghimt étaient plus riches en composés phénoliques. Ce revirement de situation pourrait être expliqué par la saison et le nombre d'échantillons. A la lumière de ces données, nous pouvons spéculer, sous réserve de preuves formelles, que dans les conditions climatiques classiques, les feuilles des régions montagneuses auraient une contenance en composés phénoliques plus élevée que celles des dayas. Dans les conditions climatiques exceptionnelles (précipitations importantes dans les dayas associées à des températures clémentes), la situation serait inversée.

II.2.3 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d' AlCl_3 en utilisant comme standard la quercétine (Figure 20). La teneur en flavonoïdes déterminée est exprimée en mg EQ/g d'extrait. Les résultats sont exposés dans la Figure 21.

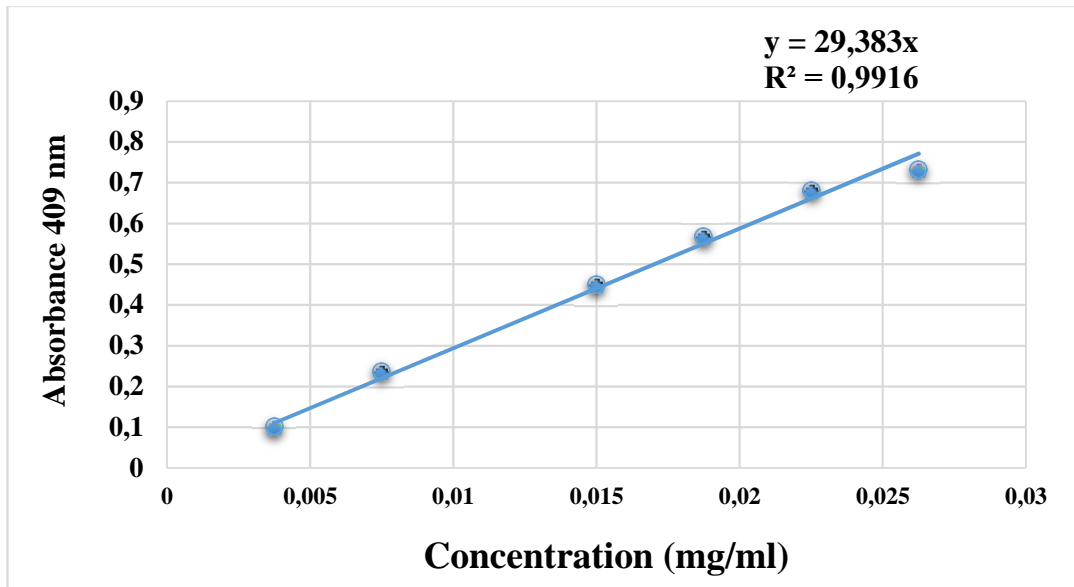


Figure 21 : Droite d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

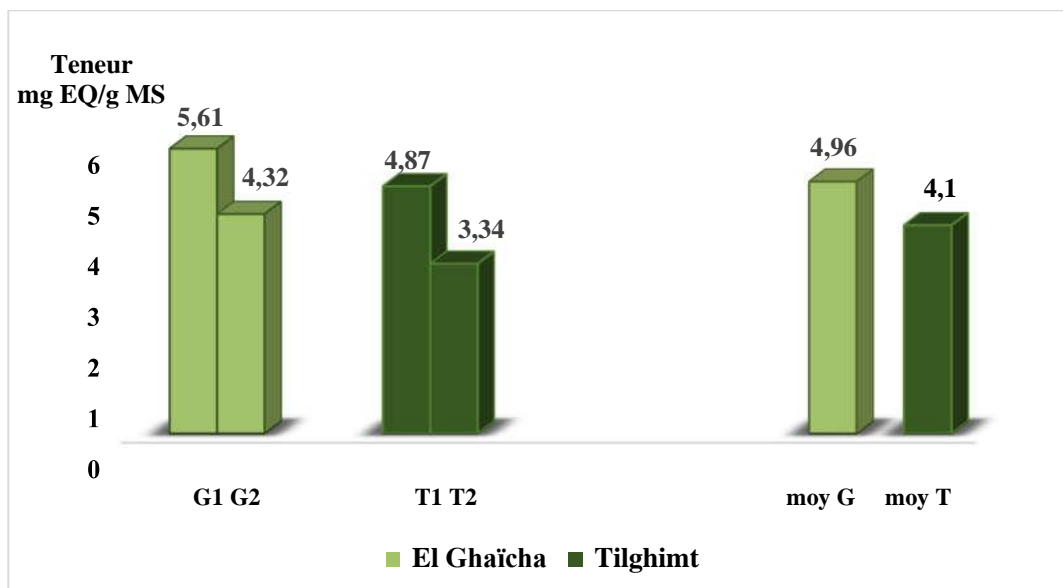


Figure 22: les teneurs individuelles et moyennes des flavonoïdes à partir des feuilles de *P.atlantica* des deux sites (El Ghaïcha-Tilghimt).

Nous remarquons d'une manière globale que la teneur en flavonoïdes est légèrement élevée pour les feuilles d'El Ghaïcha (4,96 mg EQ/g MS vs 4.1 mg EQ/g MS). Ce résultat rime parfaitement avec ceux de Marfoua et Rahmani (2019) et Guersas (2018). Ceci montre pertinemment l'effet de l'emplacement géographique (l'altitude) qui prime sur celui de la saison. Les régions montagneuses sont connues par un indice UV élevé (schmucki et philipona., 2002) qui contribue à l'augmentation de la synthèse des flavonoïdes, lesquels jouent un rôle important dans la protection contre l'effet pro-oxydant de ces radiations (Wilkens *et al.*, 1996).

Nos teneurs en flavonoïdes pour l'ensemble des échantillons sont inférieures à ceux de l'année 2018 (Marfouaa et Rahmani, 2019) et légèrement supérieure à ceux de l'année 2016 (Guersas, 2018). A l'instar des phénols totaux, ces variations seraient attribuées à des facteurs multiples tels que le nombre d'échantillons, l'âge de l'arbre, des facteurs génétiques et des facteurs propres à la saison

Il est important de relever que le taux des flavonoïdes par rapport aux phénols totaux est le plus élevé pour nos échantillons (figure 22). Cette observation importante indique que la synthèse des flavonoïdes aurait augmenté par rapport aux autres classes de polyphénols.

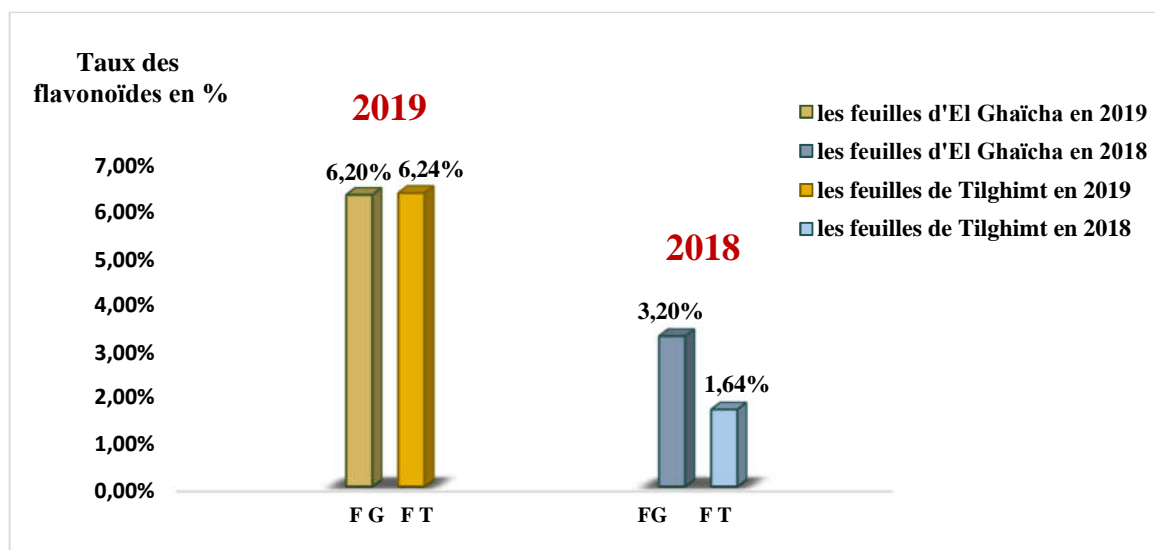


Figure 23: Taux des flavonoïdes par rapport aux phénols totaux des années 2019 et 2018 pour les deux sites (El Ghaïcha et Tilghimt).

Nous pensons que les facteurs inhérents à la saison auraient l'effet le plus marqué. Nous rappelons que l'année 2018 était caractérisée, notamment pour la période précédant la collecte, par des conditions météorologiques exceptionnelles concrétisées par un nombre élevé de jours pluvieux (ciel couvert). Il a, en effet, été rapporté que le taux de flavonoïdes augmente sous l'effet de la lumière qui agit directement sur l'activité de l'enzyme PAL (Flores *et al.*, 2005). Ceci suggère une activité antiradicalaire et antioxydante plus élevée en réponse au stress ultraviolet du fait de l'effet photoprotecteur des flavonoïdes. D'autre part, le stress hydrique et la haute température pourraient contribuer à l'augmentation de leur taux (Wilkins *et al.*, 1996).

II.2.4 Dosage des tannins condensés

Le dosage des tannins condensés a été réalisé selon la méthode de vanilline utilisant comme standard la catéchine (Figure 23). Les teneurs en tannins condensés sont exprimées en mg équivalents catéchine /g d'extrait. Les résultats sont mentionnés dans la figure 24.

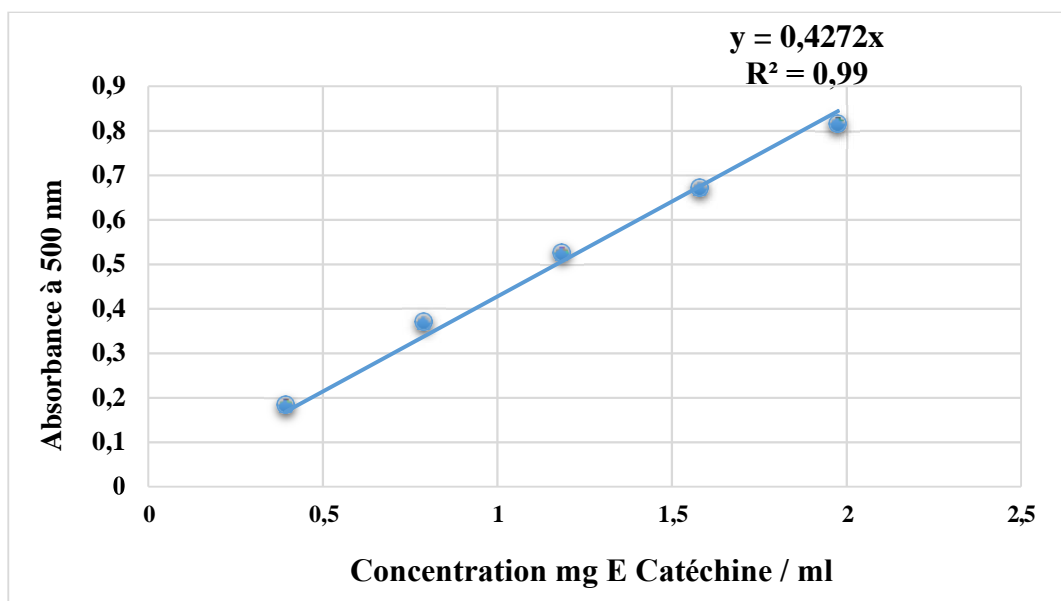


Figure 24 : Droite d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins

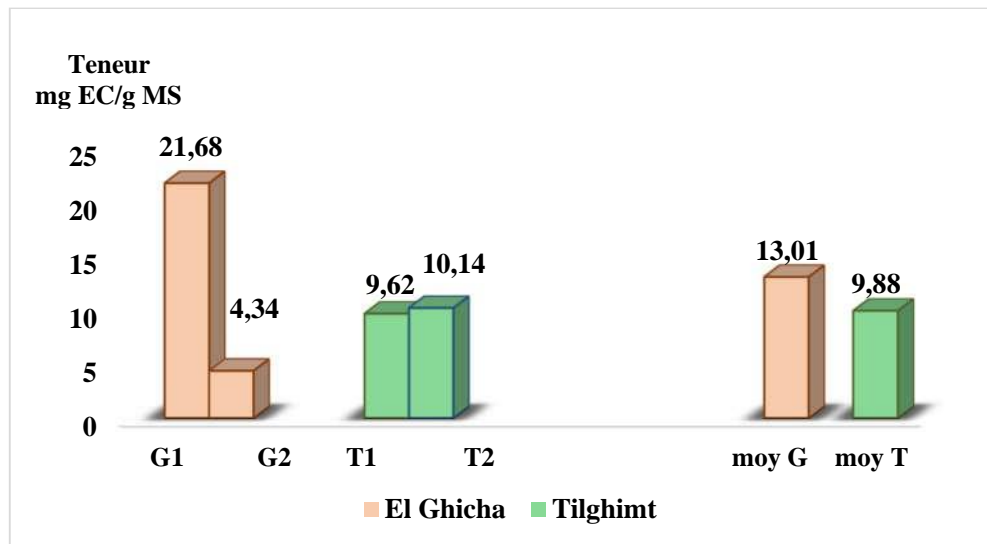


Figure 25: les teneurs individuelles et les moyennes en tannins condensés pour les feuilles de *P. atlantica* des deux sites (El Ghaïcha-Tilghimt).

Nous observons d’une manière générale que la teneur moyenne en tannins est légèrement élevée pour les feuilles d’El Ghaïcha (13,01 mg EC/g Ms vs 9,88 mg EC/g Ms) à l’opposé de ce qui a été rapporté pour l’année 2018 (Marfoua et Rahmani, 2019). Ces légères variations seraient expliquées par les mêmes facteurs cités précédemment.

Nous notons avec intérêt l’augmentation assez marquée (jusqu’à un facteur de 3) du taux des tannins condensés par rapport aux phénols totaux pour les feuilles de l’année 2019 par rapport à celle de l’année 2018 (Figure 25).

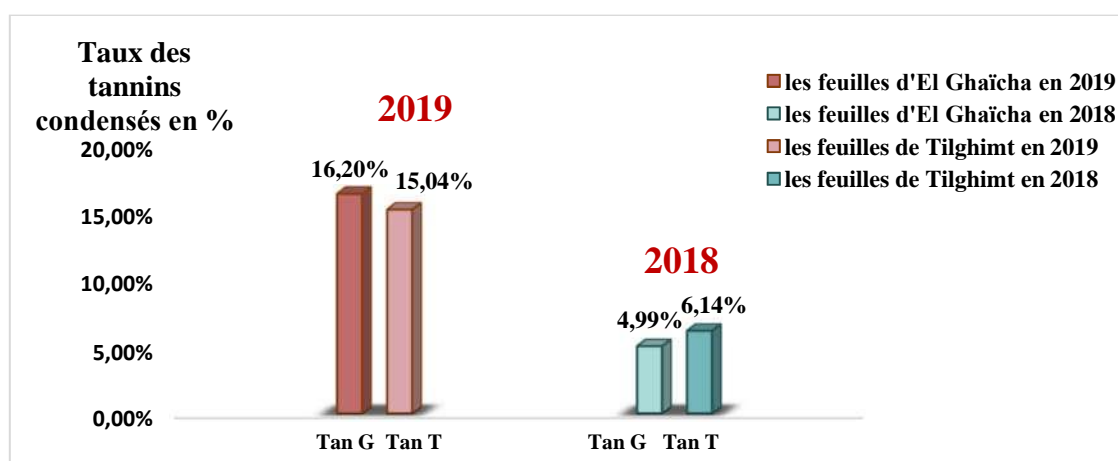


Figure 26: taux des tannins condensés par rapport aux phénols totaux de 2019 et 2018 pour les deux sites (El Ghaïcha et Tilghimt).

Les tannins condensés sont plus utiles pour l'intégrité des téguments végétaux et pour le maintien de l'homéostasie cellulaire, ils sont donc intensément sécrétés dans le but de répondre au stress hydrique et à la lumière (UV), ce qui explique leur proportion légèrement élevée (Hérnàn *et al.*, 2008).

II.3 Evaluation du pouvoir antioxydant

➤ Piégeage du radical libre DPPH

La figure 26 montre le pourcentage de l'inhibition en fonction de la concentration de l'antioxydant de référence, la vitamine C.

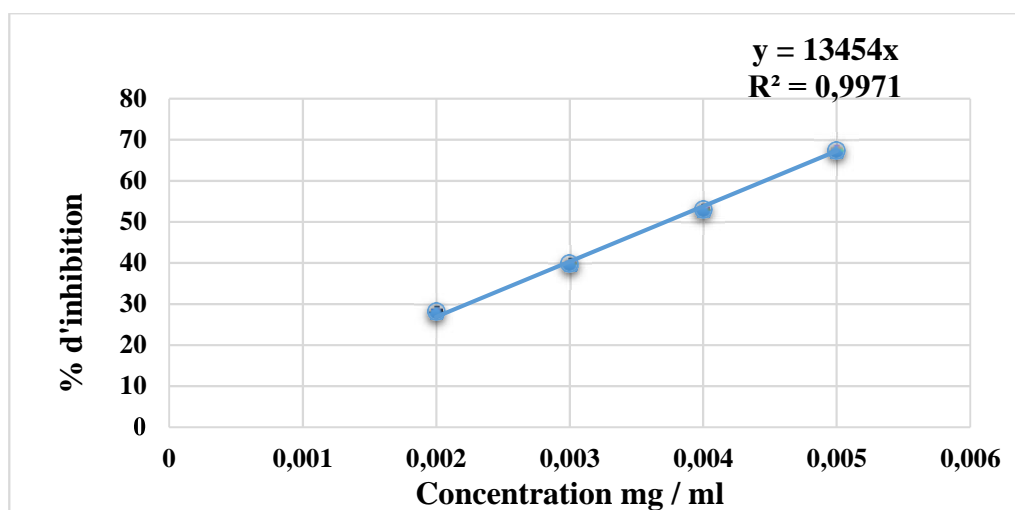


Figure 27 : la courbe d'étalonnage de la vitamine C établie par le test DPPH.

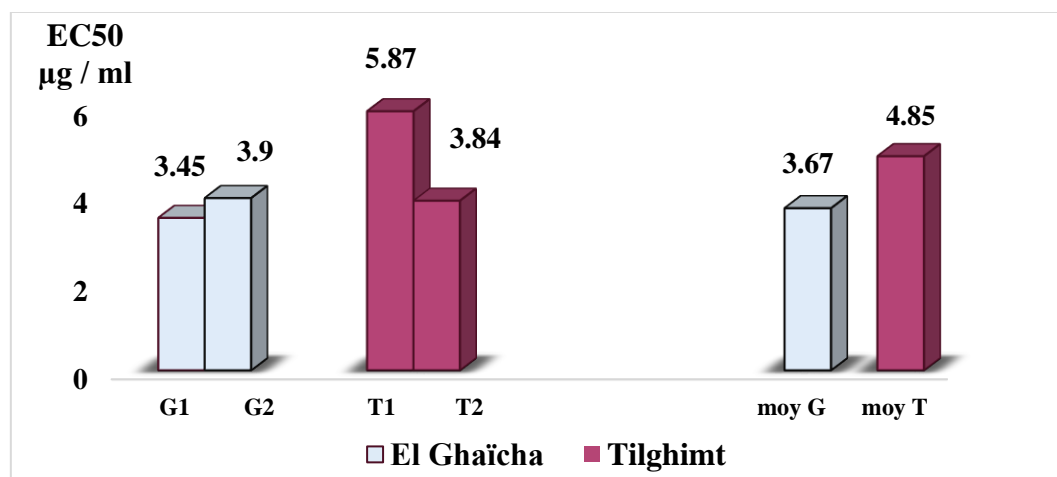


Figure 28: Les valeurs individuelles et moyennes des EC50 obtenues pour les extraits des deux sites déterminés par le test DPPH.

Selon les résultats de l'activité antiradicalaire exprimés par les valeurs d'EC50 de chaque extrait, et après comparaison avec ceux des années 2018 (**Marfoua et Rahmani, 2019**) et 2016 (**Guersas, 2018**), nous remarquons que nos valeurs (variant de 3,45 à 5,87 EC50 $\mu\text{g} / \text{ml}$) se situent pratiquement entre les valeurs de l'année 2016 (entre 2,53 et 2,93 EC50 $\mu\text{g} / \text{ml}$) et celles de l'année 2018 (valeurs moyennes comprises entre 6,23 et 11,99 EC50 $\mu\text{g} / \text{ml}$). Ces variations seraient dues principalement, pour le cas de l'année 2018, à des facteurs environnementaux, à des facteurs génétiques et au nombre d'échantillons. Pour le cas de l'année 2016 la méthode d'extraction s'ajoute à ces facteurs où il a, en effet, été rapporté que l'extraction de composés phénoliques par le mélange acétone / eau suivie par une extraction à l'acétate d'éthyle était associée à des valeurs d'EC50 plus basses pour des feuilles de la même espèce (**Benamar et al., 2018 ; Guersas 2018 ; Belyagoubi Benhamou, 2011**).

Nous nous intéressons particulièrement aux résultats de l'année 2018 où notre but était de les comparer avec les nôtres. Nous constatons avec intérêt des variations opposées. En effet, les extraits phénoliques des feuilles de Tilghimt étaient plus actifs que ceux d'Aflou (**Marfoua et Rahmani, 2019**), par contre, nos extraits de feuilles du même site (Tilghimt) se sont montrés moins actifs que ceux d'El Ghaïcha. Ceci indique encore une fois le caractère exceptionnel de l'année 2018 caractérisée notamment par des précipitations élevées et des températures clémentes. Les variations entre les deux sites, rapportées par Guersas (**2016**), similaires aux nôtres, étaient cette observation.

Comme nous l'avons prédit pour les phénols totaux, nous pouvons avancer, sous réserve de preuves formelles, que dans les conditions climatiques classiques, les feuilles des régions montagneuses auraient une activité antiradicalaire plus prononcée que celles des dayas. Dans les conditions climatiques exceptionnelles (précipitations importantes dans les dayas associées à des températures clémentes), la situation serait inversée.

En vue de situer l'implication des composés phénoliques dans l'activité antioxydante, nous avons tracé la régression linéaire entre ces deux paramètres (Figure 28). Le coefficient de corrélation calculé (-0,89) indique une très forte corrélation signifiant l'implication des polyphénols dans l'activité antioxydante.

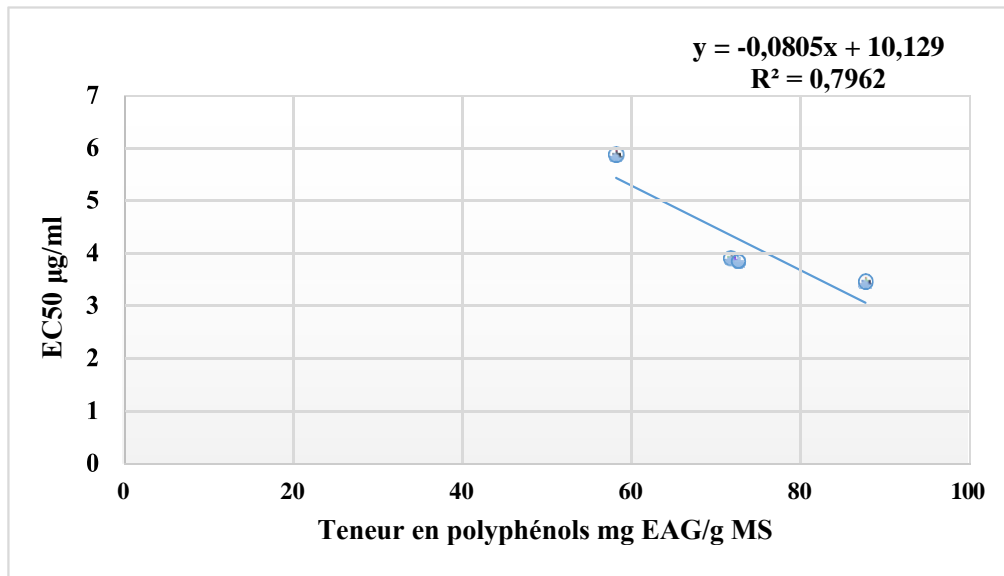


Figure 29 : relation entre EC50 et teneurs en phénols totaux pour les extraits phénoliques de feuilles de *P. atlantica*.

Nous n'avons pas trouvé de corrélations significatives entre l'activité antioxydante, d'une part, et les teneurs en flavonoïdes et en tannins de l'autre part. Ceci indique qu'il y aurait d'autres composés phénoliques différents des flavonoïdes et des tannins avec une activité très importante. Seule l'analyse par HPLC pourra nous fournir des réponses formelles.

Nous avons trouvé dans la littérature concernant une autre espèce *Aloe vera* (*L.*) que les extraits phénoliques de pieds poussant dans les zones montagneuses avaient l'activité antioxydante la plus élevée (**Kumar et al., 2017**).

Sachant que l'activité antioxydante est proportionnelle à la concentration en composés phénoliques, les résultats peuvent être expliqués par la réponse de la plante au stress (UV, variation de la température, salinité du sol, ...etc.) qui provoque une augmentation de la production de polyphénols (**Leyva et al., 1995 ; Rivero et al., 2001**).

... En résumé ;

En ce qui concerne les lipides, on peut dire que les facteurs climatiques et environnementaux n'auraient pas une influence significative sur le taux d'huile produite et extraite des feuilles de cette plante. Les profils d'élution CPG, bien que divergent en nature, ont montré une similitude dans la composition en acides gras essentiels comme les acides palmitiques, oléique, linoléique et linoléique, ce qui nous laisse dire que les plantes n'ont pas été amenées à synthétiser de molécules différentes entre les arbres qui pourrait indiquer une réaction à un stimulus particulier. La petite différence dans les proportions pourrait s'expliquer par, d'une part, l'activité de l'enzyme désaturase et, de l'autre part, par le taux de croissance de la plante et, il n'est pas à démontrer ici l'intérêt de la saison pluvieuse sur la croissance et le développement des feuilles en de telle conditions.

En revanche nous avons obtenu des différences notables entre les teneurs des polyphénols quantifiés entre ces deux sites qui pourraient s'expliquer par le même argument avancé ci-haut, à savoir la pluviométrie importante qui implique une croissance foliaire et une production de biomasse significativement plus importante. Cependant, et mis à part les teneurs en polyphénols totaux et individuels en terme de rendement, nous remarquons que les taux de certains composés phénoliques particuliers, c'est-à-dire leur pourcentage dans le mélange, était plus élevé dans le cas de notre étude. Il s'agit des « flavonoïdes » et des « tanins condensés » dont les pourcentages respectifs s'élèvent à 6,22 % et à 15,62 % en moyenne pour les deux sites de l'étude, comparativement à, respectivement, 2,42 % et 5,56 % en moyenne aussi pour les deux mêmes sites dans l'étude de 2018 (voir figures 22 et 25). Ceci ne peut s'expliquer que par la réponse de la plante aux stress hydrique et lumineux imposés par la saison de sécheresse et leurs conséquences sur la texture du sol et sa composition en substances minérales et organiques indispensables au bon développement de toute plante.

Dans notre étude nous nous sommes, certes, concentrés sur l'étude de l'effet de l'environnement (E) sur les concentrations en polyphénols, mais il faut noter que ces concentrations sont également soumises à un déterminisme génétique (G) important, auquel s'ajoutent les interactions avec l'environnement (GxE) (**Hamilton et al., 2001**). Le travail d'Hamilton *et al.* (2001) met en évidence que ces variations phénotypiques de modifications du contenu en polyphénols, sont dues au génotype étudié (G), à l'environnement de culture, et à l'interaction entre ces deux facteurs ($P = G + E + GxE$), d'où la complexité de caractériser leur évolution (**Hamilton et al., 2001**).

Conclusion

Notre travail constitue une intromission d'une nouvelle thématique de recherche autour de l'impact de l'environnement sur la qualité des produits végétaux. Nous nous sommes intéressées à l'étude de l'effet de la « pluviométrie – sécheresse » et leurs conséquences sur l'activité métabolique des plantes, mais paradoxalement peu de travaux existaient sur ces effets sur le métabolisme secondaire chez des espèces végétales. Quelques études, rapportées dans notre partie bibliographique, indiquaient une stimulation des principales enzymes de la voie de biosynthèse des polyphénols dans les feuilles, et même une augmentation du contenu en polyphénols dans les feuilles de plusieurs végétaux. En revanche bien que l'importance des polyphénols dans la qualité nutritionnelle de certains arbres fût démontrée, ainsi que la valeur santé de la consommation de leurs fruits, peu de travaux cherchaient à décrire l'importance de ces facteurs sur la qualité des feuilles de *Pistacia atlantica*.

Le but de notre travail de mémoire de fin d'étude a donc été d'évaluer l'effet des facteurs environnementaux et particulièrement les conditions climatiques sur les teneurs en extraits lipidiques et surtout en polyphénols chez *P. atlantica* Desf.

Les conditions climatiques peuvent être légitimement supposées responsables des différences observées au cours des variations climatiques de la saison sur les feuilles comme sur les fruits. En outre, nous avons caractérisé l'importance des conditions de lumière et de température lors de la maturation des feuilles. Mais, d'après les références bibliographiques, les concentrations en polyphénols ne sont pas toujours fortement corrélées aux conditions climatiques, et semblent dépendre de l'expérimentation et des molécules considérées. Il faut noter également que d'autres facteurs environnementaux, évoqués lors de la synthèse bibliographique, peuvent modifier les concentrations en polyphénols et n'ont pas été considérés ici.

Nous avons observé dans les feuilles collectées des arbres des pistachiers de l'atlas des deux sites étudiés, des variations des teneurs en polyphénols suivant l'année de la collecte (effet saisonnier). De plus, l'emplacement géographique de l'arbre aurait un rôle prépondérant sur la composition et l'activité des extraits de ses feuilles. En effet, les extraits phénoliques des zones montagneuses seraient plus riches en composés phénoliques et plus actifs dans les conditions météorologiques classiques.

Ces variations relatives aux conditions climatiques ont été plus importantes pour les polyphénols que pour les extraits lipidiques.

Ces caractéristiques pourraient être exploitées par la plante pour renforcer sa résistance aux différentes agressions rencontrées lors des saisons sèches et comme réponse aux stress hydriques, lumineux et calorifique.

De plus au regard de la littérature, et de nos observations, l'effet de la saison, principalement dû à des conditions de rayonnement et de température, peut engendrer une modification importante de la composition des polyphénols. C'est le cas par exemple de l'augmentation des taux de « flavonoïdes » et de « tanins » dans la saison sèche.

De nombreux facteurs sont à prendre en considération pour des études ultérieures. Nous citons, entre autres, le nombre d'échantillons, la variation de saisons sur une période de plusieurs années, la recherche d'éventuelles endophytes et leur sensibilité aux facteurs climatiques, l'analyse du sol et de considérer plus précisément le rôle du génotype et de ses interactions avec l'environnement. Les plateformes de phénotypage en développement dans la recherche agronomique actuelle, sont des outils adaptés pour avoir accès à ces informations.

Références
Bibliographiques

- Afriyanti. D, Kroeze. C, Saad. A. (2016).** Indonesia palm oil production without deforestation and peat conversion by 2050. *Sci Total Environ.* 557-558. 562-570.
- Aguilera-Carbo. A, Augur. C, Prado-Barragan. L. A, Favela-Torres. E, Aguilar. C. N. (2008).** Microbial production of ellagic acid and biodégradation of ellagitannins. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 78: 189-199.
- Alaternus. L.** Magister en Biochimie. Université Sétif. 95.
- Albert. V, Sareedenchai. W, Heller, Harald. K, Seidlitz. C, Zidorn. (2009).** Temperature is the key to altitudinal variation of phenolics in *Arnica montana*. L. cv. ARBO. 160(1) :1-8.
- Al-Saghir. M, Porter. D. M. (2012).** Taxonomic Revision of the Genus *Pistacia* (L.), (Anacardiaceae). 3, 13-14.
- Anjum. S. A, Xie. X. Y, Wang. L. C, Saleem. M. F, Man. C, Lei. W. (2011).** Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research.* 6:2026-2032.
- Awad. M. A, De Jager. A. (2002).** "Relationship between fruit nutrients and concentrations of flavonoids and chlorogenic acid in *Elstar* apple skin." *Scientia Horticulturae* .92: 265-276.
- Baba Aissa. F. (2000).** Encyclopédie des plantes utiles: Flore d'Algérie et du Maghreb Ed : EDAS, 217.
- Belhadj. S. (1999).** Les Pistachier Algérienne: Etat actuel et dégradation. Centre universitaires de Djelfa. 16, 107.
- Bell-Lelong. D. A, Cusumano. J. C, Meyer. K, Chapple. C. (1997).** "Cinnamate-4-hydroxylase expression in arabidopsis. Regulation in response to development and the environment." *Plant Physiology.* 113(3), 729-738.
- Beltran. G, Novo. M, Guillamon. J.M, Mas. A. (2008).** Effect of fermentation temperature and culture media on the yeast lipid composition and wine volatile compounds. 121:169-177.

Belyagoubi Née Benhammou. N. (2011). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algériende thèse d'un Doctorat en Biologie Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.

Ben Ahmed. Z, Yousfi. M, Viaene. J, Dejaegher. B, Demeyer. K, Mangelings. D, Vander Heyden. Y. (2016). Antioxidant activities of *Pistacia atlantica* extracts modeled as a function of chromatographic fingerprints in order to identify antioxidant markers. 128, 208-217.

Benamar. H, Marouf. A, Bennaceur. M. (2018). Phytochemical composition, antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of aqueous extract and fractions of *Pistacia atlantica* subsp. From Algeria, Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants. 1540-3580.

Benhasaini. H. (2004). Contribution à l'étude de l'auto-écologie de *Pistacia atlantica* Desf sp. Et valorisation. Thèse Doctorat d'Etat. 77-82.

Benhassaini. H, Bendahmane. M, Benchalgo. N. (2007). The chemical composition of fruits of *Pistacia atlantica* DESF. SUBSP. Atlantica FROM ALGERIA. 43(2), 121- 124.

Benhassaini. H. (1998). Importance agro-écologique et composition biochimique de quelques espèces de *Pistacia*. Thèse de Magister, Université Djilali Liabès, Sidi Bel-abès. Algérie. 89.

Boyko. A, Kovalchuk. I. (2011). Genome instability and epigenetic modification - heritable responses to environmental stress? Current Opinion in Plant Biology 14:260-266.

Brisson. G. PH.D. (1982). Lipides et nutrition humaine: analyse des données récentes sur les corps gras alimentaires. Editeur: Québec: Presses de l'Université Laval. 1982. 1-2.

Bruneton. J. (1999). Phytochimie. Plantes médicinales. Pharmacognosie. 3 eme édition, Paris, France. 125-165.

Carpna. O, Zornoza. P, Mataix. J. (1982). Incidence of P, Mn and B deficiencies on the levels of the whole and individual flavonoid groups in tomato leaves." *Journal of Plant Nutrition*. 5(10): 1197-1208.

- Chang. C. C, Yang. M. H, Chern. J. C. (2002).** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis.* 10(3), 178-182
- Chapin. F. S. I, Matson. P. A & Vitouse. P. M. (2011).** *Principles of terrestrial ecosystem ecology*, 2nd edn. edn. Springer, New York.
- Chaves. M. M, Maroco. J. P, Pereira. J. S. (2003).** Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology.* 30:239-264.
- Chelghoum. M, Guenane. H, Harrat. M, Yousfi. M. (2020).** Total Tocopherols, Carotenoids, and Fatty acids Contents Variation of *Pistacia atlantica* Desf. Different Organs Crude Oils and their Antioxidant Activity during Development Stages. 17, doi: 10.1002/cbdv.202000117.
- Congo. M, (2012).** Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliferative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica* L. (Salvadoraceae). Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso. 42.
- Cramer. G. R, Urano. K, Delrot. S, Pezzotti. M, Shinozaki. K. (2011).** Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. *Bmc Plant Biology.* 11.
- Crozier. A. (2003).** Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants' Diet and Health*". Ed. Goldberg. 27- 48.
- Cruz de Carvalho. M. H. (2008).** Drought stress and reactive oxygen species: Production, scavenging and signaling. *Plant Signal Behav.* 3:156-65.
- D.Kim. O, Chun. Y, Kim. H, Moon. C. Lee. (2003).** "Quantification of phenolics and their antioxidant capacity in fresh plums" *J. Agric. Food Chem.* 51, 6509.
- Daniel. A, Schmucki. R. Philipona. (2002).** Ultraviolet radiation in the Alps: the altitude effect. 4482, 234-239.
- Debbache. M. (1998).** Développement de la culture du Pistachier, rapport de stage. TURQUIE.

Delgado. R, Martin. P, Del Alamo. M, Gonzales. M. R, (2004). "Changes in the phenolic composition of grape berries during ripening in relation to vineyard nitrogen and potassium fertilisation rates." *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84: 623-630.

Desjardin. (2008). in, Messaouda Hireche. (2013). Dosage des polyphénols de la tomate et étude de leur pouvoir anti oxydant. (mémoire en ligne).

https://www.memoireonline.com/11/13/7937/m_Dosage-des-polyphenols-de-la-tomate-et-etude-de-leur-pouvoir-anti-oxydant9.html.

Dumas. Y, Dadomo. M, Di Lucca. G, Grolier. P, (2003). "Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes." *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 83: 369-382.

Dumas. Y, Dadomo. M, Di Lucca. G, Grolier. P. (2003). Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 83: 369-382.

Duru. M. E, Kordali. S, Cakir. A, Zengin. H, Harmandar. M, Lzumi. S, Hirata. T. (2003). Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species. 74, 171.

El Atyqy. M. (2007). Chimie alimentaire/ Mozilla firefox : www.azaquar.com

El-hilaly. J, Hmammouchi. M, Lyoussi. B. (2003). Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (Northern Morocco). 86, 152.

Faouzi. K, Rharrabti. Y, Dardour. M, Boukroute. A, Mahyou. H., Labghial. M., Berrichi. A. (2015). Delimitation of atlas Pistachio (*Pistacia atlantica* Desf). 5(1), 32-39.

Feinbaum. R. L, Ausubel. F. M. (1988). "Transcriptional regulation of the *Arabidopsis thaliana* chalcone synthase gene." *Molecular and Cellular Biology*: 1985-1992.

Flores. F. B, Oosterhaven. J, Martinez-Madrid. M. C, Romojaro. F. (2005). "Possible regulatory role of phenylalanine ammonia-lyase in the production of anthocyanins in asparagus (*Asparagus officinalis* L)." *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85(6), 925-930.

- Fritz. C, Palacios-Rojas. N, Feil. R, Stitt. M. (2006).** "Regulation of secondary metabolism by the carbon-nitrogen status in tobacco: nitrate inhibits large sectors of phenylpropanoid metabolism." *The Plant Journal*. 46: 533-548.
- Garnier. E, Navas. M. M.-L. (2013).** *Diversité fonctionnelle des plantes. Traits des organismes, structure des communautés, propriétés des écosystèmes.* De Boeck, Bruxelles.
- Gaudillere. J.P, Barcelo. M.O. (1990).** Effects of water and osmotic factors on the growth of wheat tillers. *Agronomie*. 5:423-432.
- Grusak. M. A, DellaPenna. D. (1999).** "Improving the nutrient composition of plants to enhance human nutrition and health." *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50, 133-161.
- Guersasse. A. (2018).** دراسة فيتو كيميائية والنشاط المضاد للأكسدة للزيوت والمستخلصات الفينولية من الأوراق والعصص للفسنق الأطلسي مذكرة لنيل شهادة ماجستير في البيولوجيا المدرسة العليا للأساتذة طالب عبد الرحمن الأغواط.
- Hamilton. J.G, Zangerl. A.R, H D E, Berenbaum. M.R. (2001).** The carbon-nutrient balance hypothesis: its rise and fall. *Ecology Letters* 4: 86-95
- Harrar. Ab. N. (2012).** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus
- Hernán. A, Concha. M, Figueroa. (2008).** Condensed tannin concentrations of three Lotus species grown in different environments. 68(1):31-41.
- Hernandez. I, Alegre. L, Van Breusegem. F, Munne-Bosch. S. (2009).** How relevant are flavonoids as antioxidants in plants? *Trends in Plant Science* 14:125-132.
- Herrera. J, Poudel. R, Katherine. A, Nebel, Scott. L. Collins. (2011).** Precipitation increases the abundance of some groups of root-associated fungal endophytes in a semiarid grassland. 42:50.
- Julkunen-Titto. R. (1985).** "Phenolic constituents in the leaves of northern willows methods for the analysis of certain phenolics" *Journal of Agricultural and Food chemistry*. 33, 213.

- Kaska. N, Caglar. S, kafkas. S. (1996).** *Genetic diversity and germplasm conservation of pistacia species in turkey.* Dans: workshop 'taxonomy, distribution, conservation, and uses of pistacia genetic resources, Palermo, Italy. Padurosi, Caruso. S, T et barone. S. (éds). IPRGI, ROMA, 2: 46-50.
- Kumar. S, Yadav. A, Yadav. M, Yadav. J. P. (2017).** Effect of climatical change on phytochemical diversity, total phenolic content and *in vitro* antioxidant activity of Aloe vera (L.) Burm.f. 10, 60p.
- Leyva. A, Jarillo. J A, Salinas. J, Martinez-Zapater. J M. (1995).** "Low temperature induces the accumulation of Phenylalanine Ammonia-Lyase and Chalcone Synthase mRNAs of Arabidopsis thaliana in a light-dependent manner." *Plant Physiology* 108, 39-46.
- Linden et Lorient. D. (1994).** *Pigments et arômes. In : Biochimie agro-industrielle valorisation alimentaire de la production agricole.* Ed: Masson. 338-340.
- Lo Bianco. R, Rieger. M, Sung. S.-J.S. (2000).** Effect of drought on sorbitol and sucrose metabolism in sinks and sources of peach. *Physiologia Plantarum* 108:71-78.
- Lombard. J. (2014).** Once upon a time the cell membranes: 175 years of cell boundary research. *Biol direct.* 9, 32.
- Lopez-Andreu. F. J, Esteban. R. M, Molla. E, Carpena. O. (1988).** "Effect of nutrition on tomato fruit quality.II.Carotenoids, ascorbic acid, pectic substances and flavonoids." *Anales de Edafologica y Agrobiologia* 47(7-8): 1191-1198.
- Macheix. J-J, Fleuriet. A, Jay-Allemand. C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Lausanne, Presses Polytechniques et Unuversitaires Romandes. 192.
- Macheix. J-J. (2013).** Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle? 2166-3408, 1.
- Mahajan. S, Tuteja. N. (2005).** Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444:139-158.

- Martin. S, Andriantsitohaina. R. (2002).** Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Annales de Cardiologie et d'Angiologie*. 51, 304-315.
- Martinez-Valverde. I, Periago. M. J, Provan. G, Chesson. A. (2002).** "Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato." *Journal of the Science of Food and agriculture*. 82: 323-330.
- Milan. S. Stanković. (2010).** Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* (L.). Extracts. *Kragujevac J. Sci*. 33. 63-72, 67.
- Miliauskas. G, Venskutonis. P.R, Beek. T. A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem*. 85, 231-237.
- Monjauze. A. (1980).** *Biologie et forêt : Connaissance du bétoum Pistacia atlantica* Desf. Editeur : AgroParisTech, Nancy, France. 357-358.
- Oliveira. A.C, Valentim. I. B, Goulart. M. O. F, Silva. C. A, Bechara. E. J. H, Trevisan. M. T. S. (2009).** Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Química Nova*, 32(3), 689-702.
- P. Schofield, D. Mbuga. A, N. Pell. (2001).** Analysis of condensed tannins : A review. 91, 28.
- Padda. M. S, Picha. D. H. (2008).** Effect of low temperature storage on phenolic composition and antioxidant activity of sweetpotatoes. 47(2):176-180.
- Paris. M, Hurabeillen. M. (1981).** Abrégé de Matière médicale, pharmacognosie. Ed: Masson. 210-215.
- Penalosa. J. M, Sarro. M. J, Revilla. E, Carpena. R, Cadahia. C. (1989).** "Influence of phosphorus supply on tomato plant nutrition." *Journal of Plant Nutrition*. 12(5): 647-657.
- Pierre. M, Traverso. J. A, Boisson. B, Domenichini. S, Bouchez. D, Giglione. C, Meinel. T. (2007).** N-myristoylation regulates the SnRK1 pathway in Arabidopsis. *The Plant Cell*. 19. 2804–2821.

- Prentice. I. C, Cramer. W, Harrison. S. P, Leemans. R, Monserud. R. A, Solomon. A.M. (1992).** A global biome model based on plant physiology and dominance, soil properties and climate", *Journal of Biogeography*. 19, 117-134.
- Price. M. L, Van. Scoyoc. S, Butler. L.G. (1978).** A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 1214-1218.
- Quézel et Santa. (1963).** Flore du maghreb version 2.2 sept. 2018. <https://www.ville-ge.ch/cjb/flore/html/index.html#> .
- Rivero. R. M, Ruiz. J. M, Garcia. P. C, Lopez-Lefebvre. L. R, Sanchez. E, Romero. L. (2001).** "Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants." *Plant Science*. 160, 315-321.
- Ruiz. J. M, Bretones. G, Baghour. M, Ragala. L, Belakbir. A, Romero. L. (1998).** "Relationship between boron and phenolic metabolism in tobacco leaves." *Phytochemistry*. 48(2): 269-272.
- Saadoun. S. N, Zareb. A, Lehadi. L, Rezki-Sekhi. L, Boubrima. A. (2018).** Contribution à la recherche des mycoendophytes foliaires chez *Pistacia atlantica* Desf. 8(2) : 1021-1026.
- Singleton. V.L, Orthofer. R, Lamuela-Raventos. RM. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*. 299:152-178.
- Singleton. V.L, Rossi. J.R. (1965).** "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphothungstic acid" *Am. J. Enol. Vitic*. 16, 144.
- Slimestad. R, Verheul. M. J. (2005).** "Seasonal variation in the level of plant constituents in greenhouse production of cherry tomatoes." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 3114-3119.
- Stitt. M, (1999).** "Nitrate regulation of metabolism and growth." *Current Opinion in Plant Biology*. 2: 178-186.

- Stout. M. J, Brovont. R. A, Duffey. S. S. (1998).** "Effect of nitrogen availability on expression of constitutive and inducible chemical defenses in tomato, *Lycopersicon esculentum*." *Journal of Chemical Ecology*. 24(6): 945-963.
- Tomas-Barberan. F, Crosby. K. (2008).** *Agronomy and the nutritional quality of vegetables. Improving the healthpromoting properties of fruit and vegetable products.* AGil, M I. Ed: Woodhead Publishing. 584.
- Treutter. D, Mittelstraß. K, Pleßl. M, Heller. W, Elstner. E. F, Heiser. L. (2006).** "Modification of primary and secondary metabolism of potato plants by nitrogen application differentially affects resistance to *Phytophthora infestans* and *Alternaria solani*." *Plant Biology*. 8: 653-661.
- Van Meer. G, Voelker. D. R, Feigenson. G. W. (2008).** Membrane lipids: Where they are and how they behave. 9, 114.
- Verslues. P.E, Sharma. S. (2010).** Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. The Arabidopsis book / American Society of Plant Biologists. 8:140.
- Vijay. V, Pimm. S. L, Jenkins. C. N, Smith S.J. (2016).** The Impacts of Oil Palm on Recent Deforestation and Biodiversity Loss. PLoS One. 11 (7).
- Wilkins. R. T, Spoerke. J. M, Stamp. N. E. (1996).** "Differential responses of growth and two soluble phenolics of tomato to resource availability." *Ecology*. 77(1), 247-258.
- Winkel-Shirley. B. (2002).** Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. Current Opinion in Plant Biology. 5:218-223.
- Yousfi. M, Gourine. N, Bombarda. I, and Gaydou. E. M. (2010).** Chemotypes of *Pistacia atlantica* leaf essential oils from Algeria. Natural product of communication, 5(1), 115- 120.
- Zhishen. J, Mengcheng. T, Jianming. W. (1999).** "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals" J Food Chem, Vol. (64), page: 555.

Annexe

Annexe 01❖ **Matériels :**

- Ampoule à décanter 250 ml
- Ballon à fond rond 250 ml, 500 ml
- Becher 50 ml, 100 ml, 200 ml
- Cuvette (Quartz et plastique)
- Entonnoir
- Eprouvette graduée 10 ml, 100 ml, 200 ml
- Erlenmeyer 50 ml, 250 ml
- Fiole jaugée de 25 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml
- Flacon fumé 10 ml, 250 ml
- Micropipette
- Mortier et pilon
- Papier filtre
- Pipette graduée
- Pipette pasteur
- Pissette (eau distillée)
- Réfrigérant
- Soxhlet
- Spatule
- Tube à essais
- Verre de montre

❖ **Equipement**

- Balance électronique (KERN ABS)
- Etuve
- Frigidaire
- Hotte chimique (ASEM)
- Rotavapor (BUCHI R-200)
- Spectrophotomètre UV visible (SHIMADZU)
- Vortex (VELP scientifica)

Annexe 02

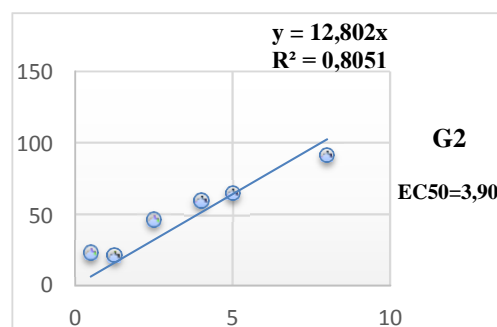
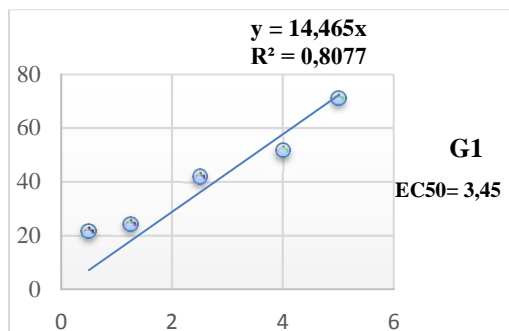
❖ **Les réactifs et produits chimiques**

- Acide ascorbique (vitamine c)
- Acide gallique
- Carbonate de sodium (Na_2CO_3)
- Acide chlorhydrique (HCL)
- AlCl_3 : Chlorure d'aluminium
- Catéchine
- Dichlorométhane (CH_2Cl_2)
- DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
- Ethanol
- Folin- Ciocalteu
- Gel de silice
- Méthanol
- Quercitine
- Solution méthanolique de soude (NaOCH_3)
- Sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4)
- Vanilline

Annexe 03

Les figures ci-dessous présentent le pourcentage d'inhibition % des radicaux libres DPPH en fonction de la concentration ($\mu\text{g/ml}$) des extraits phénoliques bruts des tourteaux pour chaque échantillon de deux sites :

❖ La région de Aflou (El Ghaïcha).



❖ La région de Hassi R'Mel (Tilghimt).

