

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

THEME

**Contribution à l'étude de la composition et de
l'activité antioxydante d'extraits de galles du
pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.)**

Présenté par : BEDERINA Sara

Devant le jury :

Président :	M. OUINTEN Mohamed	Professeur
Examinatrice :	M ^{me} BENAROUS Khedidja	MCA
Rapporteur :	M. GUENANE Hamid	MCB

Soutenu publiquement le : 25/ 10 /2020

Dédicaces

Je dédie ce travail, à tous ceux qui me sont chers et proches,

A mes très chers parents, pour tous leurs sacrifices, leurs conseils, leurs encouragements, leurs prières et leurs efforts qu'ils avaient déployés durant toute ma vie. Que Dieu vous donne la longue vie et la bonne santé.

A la mémoire de mes grands-parents et, en particulier, de mon grand-père Pr. YAGOUBI Mahmoud qui nous a quitté dernièrement.

A mes chers frères, Hadj-Mahmoud et Bilal.

A toute ma famille.

A mes amies, particulièrement ma chère amie Djamila. Merci pour les agréables moments qu'on a passé ensemble.

Remerciement

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été effectués au laboratoire de recherche des sciences fondamentales à l'université de Laghouat.

J'adresse mes remerciements les plus sincères au **Pr. YOUSFI Mohamed**, directeur du laboratoire de recherche, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, pour son aide et ses conseils précieux.

Je suis profondément reconnaissante au **monsieur GUENANE Hamid** d'avoir accepté d'encadrer ce mémoire, pour son aide précieuse, sa patience, ses conseils prodigés et sa grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire.

J'exprime mes profonds remerciements aux membres de jury : **monsieur OUINTEN Mohamed** d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury et **madame BENAROUS Khedidja** d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce modeste travail.

J'offre mes remerciements à toute l'équipe de laboratoire de recherche à l'université de Laghouat, et en particulier **monsieur Harrat Mohamed**, pour l'aide précieuse qui a été apporté à ce travail.

Je souhaiterais remercier, également, les enseignants de la Département de Biologie pour leurs efforts durant les cinq années du parcours.

Afin de n'oublier personne, mes vifs remerciements s'adressent toute personne, de près ou de loin, ayant fourni la moindre aide pour que ce mémoire se concrétise.

SOMMAIRE

	Page
Liste des figures	V
Liste des tableaux	VI
Liste des abréviations	VII
Résumés	VIII
Introduction	01

Partie théorique

Chapitre I : Généralités sur *Pistacia atlantica* Desf.

I.1.	Présentation du <i>Pistacia atlantica</i>	06
I.2.	Systematique	07
I.3.	Description botanique	08
I.4.	Répartition en Algérie	08

Chapitre II : Les galles

II.1.	Généralités sur les galles d'insectes	11
II.2.	Les insectes inducteurs des galles chez <i>Pistacia atlantica</i>	11
II.3.	Les types des galles du <i>Pistacia atlantica</i>	14
II.4.	La structure des galles	16
II.5.	Le mécanisme d'induction des galles	16
II.6.	Les paramètres qui influent sur l'abondance des galles	19

Chapitre III : Les stratégies de défense des plantes

III.1.	L'effet des galles sur l'arbre affecté	22
III.2.	Les stratégies de défense des galles	22
III.3.	Les métabolites secondaires dans les galles	24
III.4.	Le rôle des composés phénoliques dans les galles	24
III.5.	Le rôle des inhibiteurs de l'enzyme α -amylase dans les galles	25

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.	Matériel	29
I.1.	Matériel biologique	29
I.2.	Produits chimiques	30
I.3.	Matériel et équipements	30
II.	Démarche expérimentale	31
III.	Méthodes	32
III.1.	Extraits lipidiques	32
III.1.1.	Prétraitement des échantillons	32
III.1.2.	Extraction	32
III.1.3.	Analyse des acides gras	32
III.2.	Extraits phénoliques	34
III.2.1.	Prétraitement des échantillons	34
III.2.2.	Extraction des polyphénols	34
III.2.3.	Dosage des phénols totaux	35
III.2.4.	Dosage de flavonoïdes	36
III.2.5.	Dosage des tanins condensés	36
III.2.6.	Evaluation de l'activité antioxydante	37

Chapitre II : Résultats et discussion

I.	Les extraits lipidiques	41
I.1.	Teneur en lipides	41
I.2.	Analyse des acides gras	42
II.	Les extraits phénoliques	44
II.1.	Rendement de l'extraction	44
II.2.	Dosage des phénols totaux	45
II.3.	Dosage des flavonoïdes	48
II.4.	Dosage des tanins	50
II.5.	L'activité antioxydante	53
II.6.	L'effet du solvant d'extraction sur la composition et l'activité antioxydante des extraits phénoliques	55
	Conclusion	56
	Références bibliographiques	59
	Annexes	67

Liste des figures

	Page
Figure 1. L'arbre de pistachier de l'Atlas (<i>Pistacia atlantica</i> Desf.).	06
Figure 2. Distribution Algéro-Tunisienne de <i>Pistacia atlantica</i> Desf.	09
Figure 3. Cycle de vie (Holocycle) des pucerons.	13
Figure 4. Les types des galles induites sur <i>Pistacia atlantica</i> .	15
Figure 5. Les événements produits dans la plante suite à la réception des signaux associés à la présence des insectes.	18
Figure 6. Schéma récapitulatif des événements de l'induction des galles.	19
Figure 7. Schéma récapitulatif des stratégies de défense des plantes.	23
Figure 8. La carte géographique indiquant la région d'EL-Ghicha.	29
Figure 9. Les galles semi-circulaires du <i>Pistacia atlantica</i> .	30
Figure 10. Organigramme récapitulatif de la démarche expérimentale.	31
Figure 11. Le principe de formation des complexes entre les flavonoïdes et $AlCl_3$.	36
Figure 12. Le principe du dosage des tanins condensés par la vanilline.	37
Figure 13. Mécanisme de piégeage du radical DPPH.	38
Figure 14. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	46
Figure 15. Les teneurs en phénols totaux pour les échantillons des galles.	46
Figure 16. La courbe d'étalonnage de la quercétine.	48
Figure 17. La teneur en flavonoïdes des échantillons des galles.	48
Figure 18. La courbe d'étalonnage de la catéchine.	50
Figure 19. La teneur en tanins des échantillons des galles.	51
Figure 20. La courbe de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique (vitamine C) en présence de DPPH.	53
Figure 21. Comparaison entre l'activité antioxydante de l'acide ascorbique et des différents échantillons testés.	53

Liste des tableaux

	Page
Tableau 1. Les pucerons galligènes du <i>Pistacia atlantica</i> .	12
Tableau 2. Les caractéristiques géographiques d'El-Ghicha.	30
Tableau 3. Le rendement des extraits lipidiques.	41
Tableau 4. La composition en acides gras des huiles brutes des feuilles.	42
Tableau 5. Le rendement d'extraction des composés phénoliques.	44
Tableau 6. Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes pour les échantillons des galles.	49
Tableau 7. Les teneurs en phénols totaux et en tanins pour les échantillons des galles.	52

Liste des abréviations

AAB :	Acide abscissique
Abs :	Absorbance
ACP :	Analyse des Composantes Principales
AG :	Acide Gras
CLC :	Complete Life Cycle
CPG :	Chromatographie en Phase Gazeuse
Cyt :	Cytosol
DIF :	Détecteur à Ionisation de Flamme
DPPH :	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
EC50 :	Concentration Efficace médiane
EMAG :	Ester Méthylique d'Acide Gras
eqAG :	Equivalent d'Acide Gallique
eqC :	Equivalent de Catéchine
eqQ :	Equivalent du Quercétine
FRAP :	Ferric Reducing Antioxidant Power
HPLC :	High Performance Liquid Chromatography
AIA :	Acide indole 3-acétique
AJ :	Acide Jasmonique
PI	Pourcentage d'inhibition
r.EL. :	Rendement de l'Extrait lipidique
r.EL. :	Rendement de l'Extrait phénolique
ROS :	Reactive oxygen species
TPTZ :	Tripyridyltriazine
V_m :	Potentiel de la transmembrane

Résumé

Cette étude s'intéresse aux extraits lipidique et phénolique des galles marginales semi-circulaires induites sur les folioles de *Pistacia atlantica* Desf. L'objectif de cette étude est d'analyser qualitativement les acides gras par CPG et de déterminer la teneur en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins. De plus, nous avons évalué l'activité antioxydante des extraits phénoliques par le test de piégeage du radical DPPH. Afin de trouver la meilleure méthode d'extraction des composés phénoliques, nous avons macéré les échantillons dans deux systèmes de solvants : acétone/eau (7/3, v/v) et méthanol/eau (8/2, v/v), chacun suivi par une extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle. Les résultats trouvés montrent que le rendement moyen en lipides est de 3,52% et qu'ils sont très riches en acides gras saturés (71,46%). Concernant les extraits phénoliques, l'extrait par acétone/eau de l'échantillon G2G s'est montré le plus riche en phénols totaux (41,69 mg eqAG/g). Nos deux échantillons recèlent des teneurs prononcées en tanins. La teneur enregistrée en flavonoïdes est faible. Le test de piégeage du radical DPPH a révélé des activités antioxydantes puissantes (2,28 et 2,16 µg/ml pour, respectivement, les extraits par acétone et ceux par méthanol, vs 3,72 µg/ml pour l'acide ascorbique). Les extraits par acétone/eau (7/3, v/v) se sont montrés plus riches en composés phénoliques avec une activité antioxydante très considérable. A la lumière de ces résultats, les galles semi-circulaires pourraient être une source de molécules actives.

Mots clés : *Pistacia atlantica*, galle, acides gras, phénols totaux, flavonoïdes, tanins, activité antioxydante, solvant d'extraction.

Abstract

This study is interested in both lipidic and phenolic extracts of the semi-circular marginal galls induced on the leaflets of *Pistacia atlantica* Desf. The aim of this work is to analyze fatty acids by GPC and determine the content of total phenols, flavonoids and tannins. In addition, we evaluated the antioxidant activity of phenolic extracts by the DPPH radical scavenging test. In order to find the best method of extracting phenolic compounds, we macerated the samples in two solvent systems: acetone / water (7/3, v/v) and methanol / water (8/2, v/v), each followed by liquid-liquid extraction with ethyl acetate. The results show that the lipid yield is 3.52% and that they are very rich in saturated fatty acids (71.46%). Concerning the phenolic extracts, the acetone/water extract of sample G2G was found to be the richest in total phenolics (41.69 mg eqAG/g). Our two samples have pronounced tannin contents. The recorded flavonoid content is low. The DPPH radical scavenging test revealed powerful antioxidant activities (2.28 and 2.16 µg / ml for, respectively, the extracts by acetone and those by methanol, vs. 3.72 µg / ml for ascorbic acid). The acetone / water extracts (7/3, v / v) were found to be richer in phenolic compounds with very considerable antioxidant activity. Thus, semicircular galls could be a source of active molecules.

Key words: *Pistacia atlantica*, gall, fatty acids, total phenolics, flavonoids, tannins, antioxidant activity, extraction solvent.

ملخص

ركز هذا العمل على المستخلصات الدهنية و الفينولية للعصص نصف الدائري على حواف وريقات أشجار الفستق الأطلسي. هدف هذه الدراسة هو التحليل النوعي للأحماض الدهنية بكرماتوغرافيا الطور الغازي و كذا تحديد محتوى المستخلصات الفينولية من الفينولات الكلبيّة، الفلافونويدات و التانات. بالإضافة إلى ذلك، قمنا باختبار النشاط المضاد للأكسدة عن طريق اختبار كسح الجذر الحر. كذلك، و من أجل تحديد أفضل طريقة لاستخراج المركبات الفينولية، قمنا بنقع العينات في نظامين مذيبين: الأسيتون / الماء (3/7) و الميثانول / الماء (2/8) يتبع كل منها استخلاص سائل-سائل باستخدام أسيتات الإيثيل. بينت النتائج أن مردود المستخلصات الدهنية هو 3,52% وأنها غنية جداً بالأحماض الدهنية المشبعة (71,46%). فيما يتعلق بالمستخلصات الفينولية، وجد مستخلص الأسيتون/الماء للعينة G2G هو الأغنى في إجمالي الفينولات (41,69 ملغ / غ). كلا العينتين أظهرتا محتوى مرتفع من التانات. فيما يخص مركبات الفلافونويد، فإنها موجودة بمستويات منخفضة. أظهر اختبار الكسح الجذري وجود نشاط قوي لمضادات الأكسدة (2,28 و 2,16 ميكروغرام / مل لمستخلصات الأسيتون والميثانول على التوالي، مقابل 3,72 ميكروغرام / مل لحمض الأسكوربيك). أخيراً، حسب النتائج المحصل عليها، يبدو أن مستخلصات الأسيتون / الماء (3/7) أكثر ثراءً في المركبات الفينولية مع نشاط مضاد للأكسدة قوي. وبالتالي، يمكن أن يكون العصص نصف الدائري مصدرًا للمركبات النشطة.

الكلمات المفتاحية: الفستق الأطلسي، العصص، الأحماض الدهنية، الفينولات الكلبيّة، الفلافونويدات، التانات، النشاط المضاد للأكسدة.

Introduction

Dans le cadre d'une investigation et de recherche continue de nouveaux composés bioactifs à effet thérapeutique, l'intérêt pour *Pistacia atlantica* Desf. et ses extraits n'a cessé d'augmenter ces dernières années en raison des activités biologiques importantes et d'effets cliniques positifs signalés. Ceux-ci incluent leurs activités antioxydante (Toul *et al.*, 2017) antidiabétique et anti hypertensive (Ben ahmad *et al.*, 2018 ; Hashemnia *et al.*, 2015) et anticancéreuse (Saadat *et al.*, 2016 ; Rezaei *et al.*, 2012).

Cependant, il semble que *Pistacia atlantica* est présent de manière dispersée et subit une dégradation plus au moins accentuée suivant leurs sites. Le déclin des pistachiers en Algérie est dû aux plusieurs facteurs ; citons des raisons économiques et les budgets investis très limités dans la production, la régénération et l'entretien des pistachiers. De plus, l'exploitation anarchique des pistachiers, le pâturage empêchant la régénération naturelle et le développement des jeunes pousses et le réseau routier qui traverse les forêts provoquant la destruction de centaines d'individus. A cela, s'ajoute un facteur dont les effets sont de plus en plus perceptibles. Il s'agit en l'occurrence des attaques des pucerons galligènes induisant un mauvais état sanitaire des arbres (Belhadj., 1999).

Les galles d'insectes sont des excroissances végétales anormales induites suite à l'attaque des insectes herbivores parasites : les pucerons. Malgré que l'induction des galles sur un arbre puisse l'endommager, les galles présentent des activités biologiques importantes et sont utilisées en médecine traditionnelle. Les composés phytochimiques des galles sont différents de ceux des parties régulières de la plante, ils sont plus bioactifs. En fait, les galles ont attiré l'attention et l'exploitation par les humains depuis des siècles, où ils les ont utilisés comme agents thérapeutiques, tout comme les autres parties de la plante. Les galles du genre *Pistacia* ont été utilisées, entre autres, comme anti-inflammatoires, anti-asthmatiques, anti-diarrhéiques, analgésiques, agents antiémétiques ...etc (Patel *et al.*, 2018 ; Rauf *et al.*, 2016).

En ce qui concerne les galles de *Pistacia atlantica* Desf., nous n'avons pas trouvé des études spécialisées antérieures. Cependant, d'après les résultats de Marfoua et Rahmani (2019) l'analyse des composantes principales (ACP) de la teneur en composés phénoliques ainsi que leur activité antioxydante, a montré que les galles semi-circulaires du pistachier atlantique formaient un groupe distinct, ce qui justifiait la nécessité d'études complémentaires.

L'objectif initial de ce travail était de déterminer la composition des extraits lipidiques et phénoliques des galles semi-circulaires et d'évaluer leur activité antioxydante par deux tests différents, DPPH et FRAP. En outre, la mise en évidence de l'activité antidiabétique de l'extrait phénolique ainsi que celle de la fraction insaponifiable des extraits lipidiques était également envisagée. Vue les conditions de confinement suite à la pandémie de la *Covid-19*, nous n'avons pas pu suivre tous nos objectifs visés. Nous nous sommes limités à l'analyse qualitative des acides gras des extraits lipidiques de galles, et l'étude de l'effet du solvant d'extraction sur la teneur en phénols totaux, flavonoïdes et tanins. De plus, l'activité antioxydante des différents extraits phénoliques a également été évaluée.

Ce mémoire est constitué de deux parties : une partie théorique et une autre expérimentale.

- La partie théorique comporte trois chapitres :
 - ✓ Généralités sur *Pistacia atlantica* Desf. ;
 - ✓ Les galles ;
 - ✓ et un dernier chapitre sur Les mécanismes de défense des plantes.
- La partie expérimentale décrit la démarche expérimentale adoptée puis les résultats et discussion.

Partie théorique

Chapitre I
Généralités sur
***Pistacia atlantica* Desf.**

I. Généralités sur *Pistacia atlantica* Desf.

I.1. Présentation du *Pistacia atlantica*

Le pistachier de l'Atlas, *Pistacia atlantica* Desf. de la famille des Anacardiaceae, occupe une aire très vaste allant du plateau iranien jusqu'à l'Afrique du nord. C'est un arbre fruitier spontané endémique du Maghreb.

Pistacia atlantica est un arbre puissant pouvant atteindre 20 m de hauteur, à tronc bien individualisé et à feuilles caduques (Yaaqobi *et al.*, 2009 ; Benhassaini et Belkhodja, 2004). Il est dioïque à fleurs nues et unisexuées (Zohary, 1952), avec quelques pieds monoïques qui font l'exception dont ceux qui ont été trouvés récemment en Algérie dans la région de Rechaiga, Tiaret (Mehdeb *et al.*, 2018).

L'Homme connaît *Pistacia atlantica* depuis très longtemps. Cependant, les botanistes l'ont toujours considéré comme une variété de *Pistacia terebinthus*. Il n'est distingué que depuis le botaniste français Desfontaines, qui le décrit en 1799 et lui a donné le nom scientifique *Pistacia atlantica* selon les montagnes de l'Atlas du Maghreb (El Zerey-Belaskri, 2019).



Figure 1. L'arbre de pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.).
Photo prise par Guenane H le 17 octobre 2009

Pistacia atlantica se trouve sur des altitudes de 0 à 2000 m. Il est caractérisé par sa grande plasticité qui lui permet de s'adapter à tous types de sol, excepté du sable, bien qu'il ait une préférence pour les argiles et les limons (löss, alluvions des dayas). Il peut tolérer la chaleur, les longues périodes de sécheresse, les vents forts, le froid hivernal mais redoute l'humidité atmosphérique. Cette plasticité pour les conditions climatiques et édaphiques, lui permettant d'exister depuis le Hoggar, au Sahara, jusqu'aux moyennes montagnes subhumides de l'Atlas (Yaaqobi *et al.*, 2009 ; Harfouche *et al.*, 2005).

I.2. Systématique

Les espèces de *Pistacia* ont connu une longue histoire taxonomique et plusieurs révisions à tous ses niveaux de classification systématique. De même, elles avaient été groupées séparément en deux genres : *Lentiscus* et *Terebinthus*. Linné, en 1753, était le premier à établir le genre *Pistacia*, reconnaissant six espèces seulement (El Zerey-Belaskri, 2019 ; Al-Saghir et Porter, 2012). La classification complète du genre est faite par (Zohary, 1952) avec 11 espèces.

Selon (Harfouche *et al.*, 2005), le pistachier de l'Atlas peut être classé systématiquement comme suit :

Règne :	Plantae
Embranchement :	Phanérogames
Sous-Embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Ordre :	Sapindales
Famille :	Anacardiaceae
Genre :	<i>Pistacia</i>
Espèce :	<i>Pistacia atlantica</i> Desf.

Pistacia atlantica Desf. se subdivise en quatre sous-espèces, à savoir *mutica*, *cabulica*, *kurdica* et *atlantica*. Cette dernière est présente en Afrique du Nord, et considérée en tant que sous-espèce endémique des pays du Maghreb (El Zerey-Belaskri, 2019 ; Yaaqobi *et al.*, 2009).

I.3. Description botanique

Selon les données rapportées par la littératures (**Al-Saghir et Porter, 2012 ; Yaaqobi et al., 2009 ; Harfouche et al., 2005 ; Zohary, 1952**), *Pistacia atlantica* présente les caractères botaniques suivants :

- **Arbustes ou arbres** : de 3 à 15 m de hauteur, en forme de cime large et arrondie.
- **Feuilles** : caduques, composées, imparipennée, et stipulées, avec pétiole aplati et rachis étroitement ailé.
- **Folioles** : opposé, lancéolé, obtus, avec rachis finement pubérulent. La foliole terminale est de même taille ou plus petit que les latéraux.
- **Inflorescence** : en grappes terminales pour les mâles, et axillaires pour les femelles. Les fleurs sont apétales et rougeâtres.
 - **Panicules staminées** : de 7 à 11 cm de long, souvent groupées, grosses, ramifié à partir de la base, densément fleuri, pubescent. Ils contiennent des fleurs rouges qui possèdent 4 sépales et 5 étamines.
 - **Panicules pistillées** : jusqu'à 15 cm de long, robustes, ramifiées à partir de la base, finement pubescentes. Ils contiennent des fleurs rosées à 9 sépales soudés et 3 carpelles concrescents.
- **Fruits** : drupes arrondies de la taille d'un pois, avec un mésocarpe charnu. Ils prennent au départ une couleur jaune, qui change progressivement en rouge puis en vert foncée lorsqu'ils atteignent leur maturité.
- **Floraison** : Décembre, Janvier, Mars à Mai.
- **Fructification** : de Mars à Septembre.

I.4. Répartition en Algérie

Pistacia atlantica est une espèce très répandue en Algérie (**Figure 2**). Il trouve son optimum dans les régions arides et semi-arides, notamment dans les Hautes Plateaux et l'Atlas saharien, dans la région de Djelfa, Laghouat et Ghardaïa. Il se propage dans les lits d'oueds et dans les dayas, en association avec le *Ziziphus lotus* et le pin d'Alep (**Harfouche et al., 2005 ; Belhadj, 2001**).

Cependant, il peut pénétrer des moyennes montagnes subhumides de l'Atlas tellien au nord jusqu'aux régions sahariennes (Hoggar) au sud ; et du secteur oranais à l'ouest jusqu'au montagnes des Aurès à l'est où il est présent de manière très dispersés (**Harfouche et al., 2005 ; Monjauze, 1968**).

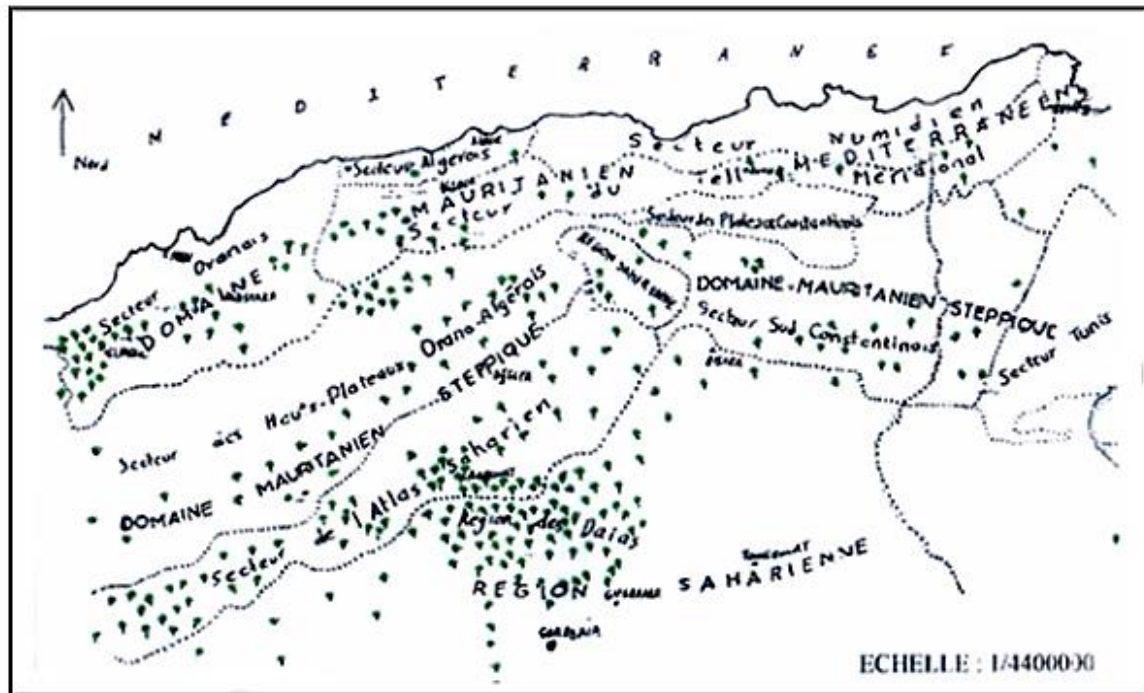


Figure 2. Distribution Algéro-Tunisienne de *Pistacia atlantica* Desf. (Monjauze, 1968).

Chapitre II

Les galles

II. Les galles

II.1. Généralités sur les galles d'insectes

Galles (du latin *galla*) ou Cécidies (du grec *κηκίδιον*) sont des structures végétales anormales d'origine parasitaire, le plus souvent induites par des insectes dites galligènes ou cécidogènes. Les galles peuvent être décrites comme des "extensions de phénotype des insectes". Il s'agit d'incubateurs aux insectes qui peuvent mieux se nourrir et se protéger des conditions abiotiques défavorables et de leurs ennemis naturels (**Kurzfeld-Zexer et al., 2015 ; Price et al., 1987 ; Dawkins, 1982 ; Mani, 1964**).

Les galles se diffèrent des autres excroissances végétales anormales par la présence des hypertrophies et des hyperplasies cellulaires, et aussi par le développement de nouveaux types cellulaires et leur disposition en des nouveaux modèles (**Raman, 2011**).

Les galles se développent sur différents organes végétaux hôtes, et un organe végétal donné peut porter différents types de galles. Cependant, près de 90% des galles se produisent sur les feuilles des dicotylédones (**Raman, 2011 ; Wool, 2005a ; Inbar et al., 2004 ; Mani, 1964**).

Les galles, en général, présentent des formes symétriques. En effet, près de 90% des galles connues présentent une symétrie bilatérale ou radiale (**Raman, 2007 ; Sinnott, 1960**). Les formes des galles varient en position, en morphologie et en complexité structurale en raison de différences dans les actions physiques et des stimulés chimiques de différents insectes (**Raman, 2011 ; Inbar et al., 2004**).

II.2. Les insectes inducteurs des galles chez *Pistacia atlantica*

Pistacia atlantica peut être parasité par 8 espèces différentes des pucerons galligènes (**Wool, 2005b**). Ces pucerons induisent plusieurs types des galles qui présentent des morphologies et des complexités structurelles différentes (**Wool, 2005a ; Inbar et al., 2004**).

Plusieurs espèces de pucerons galligènes peuvent se trouver sur le même arbre du *Pistacia atlantica*, et dans certains cas une seule feuille porte des galles de plus d'une espèce mais occupant des folioles différentes. Cependant, la compétition interspécifique semble être peu probable, car les pucerons induisent leurs galles sur des sites différents, et donc le chevauchement de niche est limité. Une exception de *Smynthurodes betae* et *Forda*

riccobonii qui présentent des interactions négatives sur *Pistacia atlantica*. En effet, la fondatrice *Smynthuodes betae* qui est plus grande et plus forte, peut gagner et forcer *Forda riccobonii* de se déplacer (Wool, 2005a ; Inbar et Wool, 1995).

Tableau 1. Les pucerons galligènes du *Pistacia atlantica*.

Espèce	Nombre de galles dans leur cycle de vie	Type des galles	Références
<i>Smynthuodes betae</i>	2	sphérique / marginale	(Wool, 2005b ; Inbar <i>et al.</i> , 2004 ; Inbar et Wool, 1995)
<i>Forda riccobonii</i>	2	sphérique / marginale	
<i>Slavum wertheimae</i>	1	galle de bourgeon (en forme de chou-fleur ou corail)	
<i>Fordini sp A</i>	1	marginale	
<i>Geoica sp*</i>	1	globulaire	
<i>Geoica sp*</i>	1	globulaire	
<i>Tramaforda wooli</i>	1	marginale	(Wool, 2005a ; b)
<i>Pemphigus corniculatus</i>	1	en forme de corne torsadée	(Ullrich <i>et al.</i> , 2019 ; List et Hörhammer, 1973)

* des espèces différentes, appartiennent au genre *Geoica*, ont été trouvés : *G. mimeuri* (Louzabi *et al.*, 2020) ; *G. rungsi* et/ou *G. harpazi* (Inbar *et al.*, 2004) ; *G. utricularia* (Wool, 1977).

Cycle de vie des pucerons galligènes

Les pucerons galligènes ont un cycle de vie très complexe, qui peut aller jusqu'à deux ans, et comprend deux modes de reproduction sexuée et asexuée. Ils sont souvent diœciques, c'est à dire leur cycle de vie comprend l'alternance entre deux hôtes systématiquement différentes, dont l'hôte primaire est le pistachier et un hôte secondaire non spécifique le plus souvent des plantes herbacées dicotylédones mais parfois monocotylédones, sans l'induction des galles sur l'hôte secondaire (Turpeau-ait Ighil *et al.*, 2011 ; Wool, 2005a ; Inbar *et al.*, 2004).

De même, certaines espèces de *Fordini* tels que *Smynthuodes betae* et *Forda riccobonii*, leur cycle de vie dans l'hôte primaire comprend aussi l'alternance entre deux

types de galles : sphérique et semi-circulaire. L'holocycle débute au printemps, la fondatrice induit des galles temporaires sphériques en forme de pois sur la nervure médiane de la foliole lors de son oviposition. Environ trois semaines après, sa progéniture induit des galles finales sur les bords des folioles des feuilles adjacentes dans lesquelles deux générations parthénogénétiques supplémentaires sont produites. En automne, les pucerons ailés migrent vers divers hôtes secondaires où leur progéniture se développe pendant l'hiver. Au printemps suivant, une autre forme ailée retourne au pistachier et donne naissance à des mâles et à des femelles qui produisent, après l'accouplement, des œufs hivernants qui restent sur l'hôte primaire. Un an plus tard, ces œufs s'éclosent et donnent naissance aux fondatrices qui à leur tour vont réinitialiser le cycle (Wool, 2005a ; b).

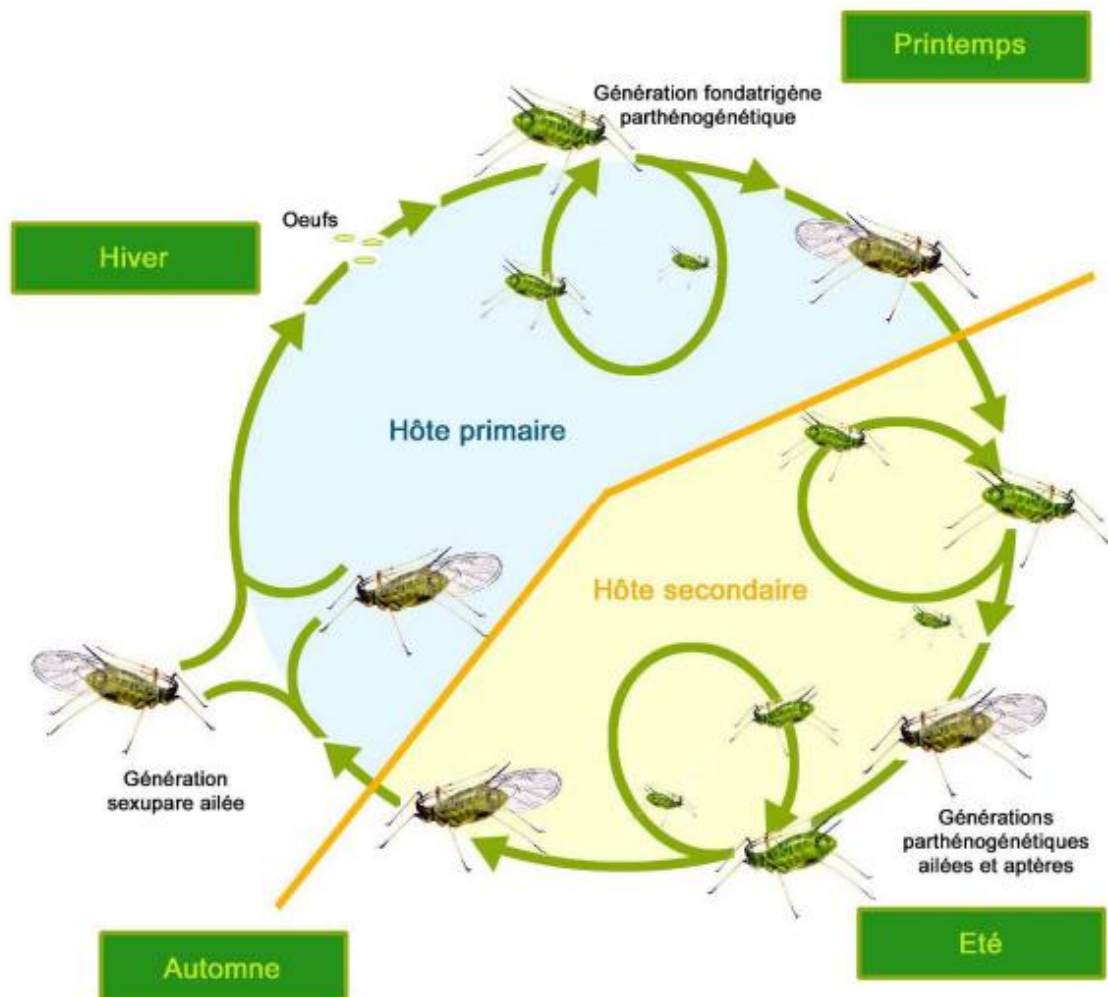


Figure 3. Cycle de vie (Holocycle) des pucerons (Saguez., 2007).

II.3. Les types des galles du *Pistacia atlantica*

Plusieurs types des galles peuvent être induits sur *Pistacia atlantica*, présentant des morphologies et des complexités structurales variables (**Figure 4**), qui se diffèrent selon le site d'induction et le tissu végétal affecté d'une part ; et de l'autre part selon l'insecte galligène, son cycle de vie et son comportement spécifique de signalisation ou d'alimentation (**Wool, 2005a**).

On distingue cinq types de galles chez *Pistacia atlantica* (**Inbar et al., 2004**):

- *Les galles sphériques*, de petite taille en forme de pois non scellées, induites sur la nervure médiane des folioles par l'action de la fondatrice, il s'agit des "galles temporaires".
- *Les galles marginales*, galles allongées non scellées situées sur les bords des folioles des jeunes feuilles adjacentes, ils sont induits par la progéniture de la fondatrice, il s'agit des "galles finales" qui permettent plus d'approvisionnement alimentaire et une reproduction intense.
- *Les galles globulaires*, en forme sphérique complètement scellées et de taille supérieure à celle des galles sphériques, ils sont situés sur le côté abaxial de la nervure médiane de la foliole.
- *Les galles de bourgeon*, induits par *Slavum wertheimae*, les plus grandes galles complètement scellées en formes de corail.
- *Les galles en forme de corne torsadée*, induits par *Pemphigus corniculatus*, sont des galles brunes à odeur balsamique qui transforment parfois la feuille entière en une excroissance corné pouvant atteindre 50 cm de long (**List et Hörhammer, 1973**).

De plus, on trouve les galles CLC qui se développent lorsque les progénitures de la fondatrice complètent leur cycle de vie dans la galle sphérique mais en induisant des modifications morphologiques et structurales. Ces galles qui apparaissent dans 3 à 24% des cas, sont plus durs, de couleur plus foncée et de taille un peu plus large (**Kurzfeld-Zexer et al., 2015**).

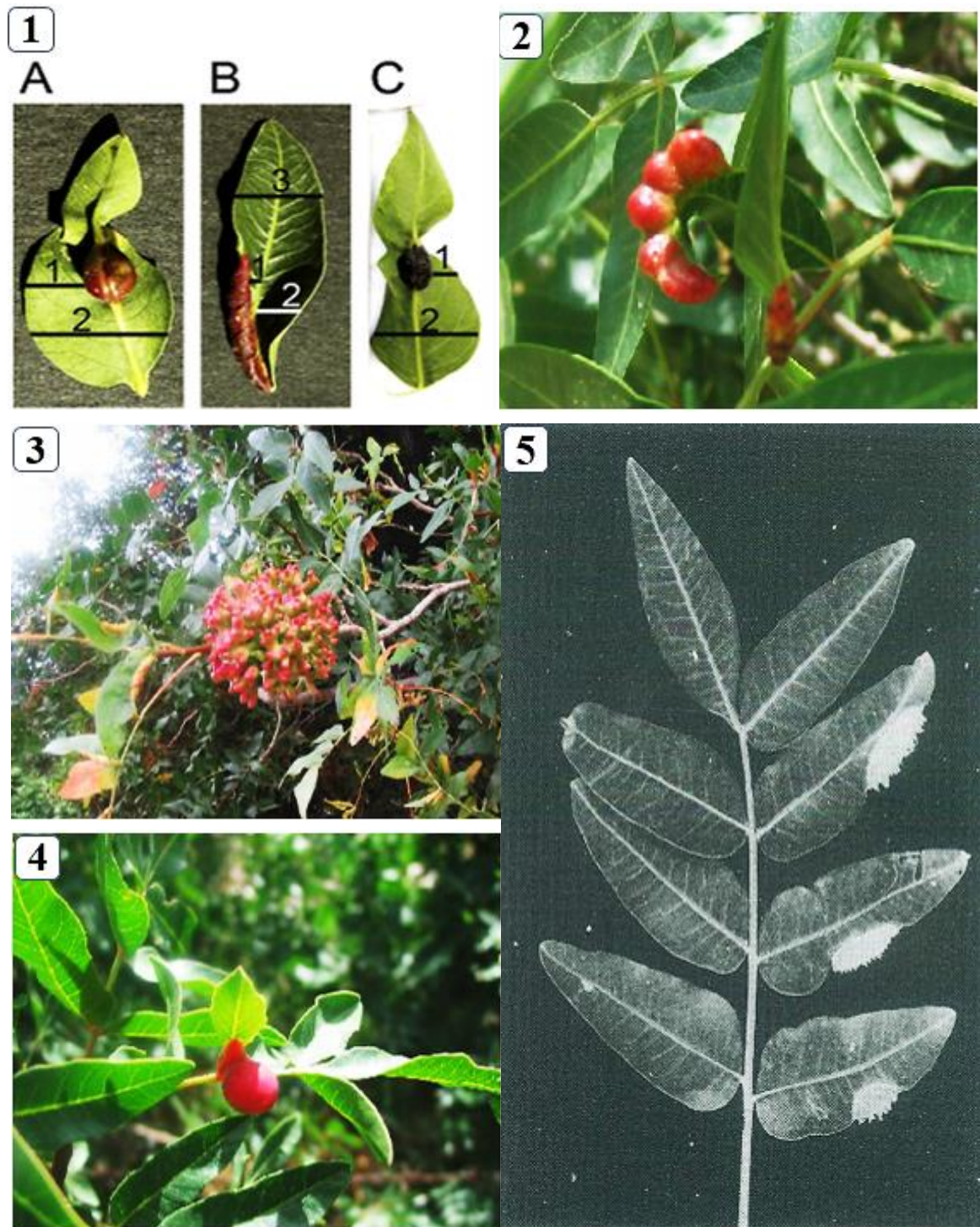


Figure 4. Les types des galles induites sur *Pistacia atlantica*.

(1) les galles de *Smynthuroides betae* : (A) les galles sphériques (B) les galles marginales (C) les galles CLC ((Kurzfeld-Zexer *et al.*, 2015)) ; (2) les galles marginales de *Forda riccobinii* (3) les galles de bourgeons en forme de corail induites par *Slavum wertheimae* (4) les galles globuleuses de *Geoica sp* (Martinez, 2009b) ; (5) les galles de *Tramaforda wooli* (Wool, 2005a).

II.4. La structure des galles

Les galles sont des structures définies hautement organisées, avec une disposition ordonnée des divers types de couches cellulaires autour des cavités des galles. Une grande prolifération d'éléments vasculaires est observée au niveau du site de la galle, et la paroi de la galle mature peut être dix fois plus épaisse qu'une feuille normale (Ullrich *et al.*, 2019 ; Wool, 2005a).

Les galles des pucerons, ainsi que certaines galles d'insectes, présentent généralement une hyperplasie et une hypertrophie remarquables, et une mésophylle hautement modifiée qui comprend des cellules de parenchyme polyédriques. Les cellules de parenchyme des galles présentent généralement des espaces intercellulaires réduits, caractéristiques de tissus jeunes et à croissance rapide (Giron *et al.*, 2016 ; Kurzfeld-Zexer *et al.*, 2015).

Le cortex interne des galles comprend un tissu nutritif riche. Les cellules nutritives sont caractérisées par un cytoplasme enrichi, des vacuoles fragmentés, noyau et nucléoles hypertrophiés, des organites cellulaires abondants, des plastes dédifférenciées regroupées autour du noyau, et une paroi cellulaire modifiée (Ullrich *et al.*, 2019 ; Raman, 2011).

Les conduites en latex, caractéristiques des tissus des pistachiers, se différencient en un réseau élaboré de tubes juste en dessous de la surface interne de la galle, et le phloème qui s'y trouve permet d'alimenter les pucerons dans la galle. Le phloème dans les galles situés sur les marges des folioles loin de la nervure médiane, semble être associé de manière similaire aux conduites en latex (Giron *et al.*, 2016 ; Wool, 2005a).

Le cortex externe des galles forme une enveloppe protectrice, où se produisent généralement les composés phénoliques. Ainsi, il peut y avoir la formation d'une gaine de sclérenchyme lignié, qui fournit une protection physique (Coelho Kuster *et al.*, 2019 ; Ullrich *et al.*, 2019 ; Kurzfeld-Zexer *et al.*, 2015).

En plus de ces modifications, dans les galles sphériques de *Smynthurodes betae* sur *P. atlantica* toute la surface interne des galles est recouverte de trichomes - poils épidermiques unicellulaires - qui n'existent ni sur les feuilles normales, ni dans les galles marginales finales de la même espèce (Kurzfeld-Zexer *et al.*, 2015 ; Wool, 2005a).

II.5. Le mécanisme d'induction des galles

Le mécanisme moléculaire de formation des galles reste incertain. Cependant, une hypothèse suggère que l'insecte contrôle la formation et le développement des galles selon la pertinence et la réactivité des tissus végétaux (Weis *et al.*, 1988). De plus, le même type

de galles peut évoluer plusieurs fois, ce qui suggère que la morphologie des galles peut avoir une valeur adaptative (**Inbar et al., 2004**).

Selon les données rapportées par la littérature (**Ullrich et al., 2019 ; Takenda et al., 2019 ; Raman, 2011**) , le développement des galles peut être divisé selon les processus suivants :

1) La sécrétion des molécules de signalisation par les insectes

Toutes les galles d'insectes sont initiées par une action de stimulation des tissus végétaux hôtes par l'insecte galligène, en commençant par l'oviposition constituant un signal d'œufs déposés à un endroit sensible approprié sur la surface des feuilles (**Hilker et Fatouros, 2016**).

Après l'éclosion, les larves commencent à perforer mécaniquement légèrement les cellules épidermiques pour se nourrir. En suçant et en se nourrissant de ces cellules, les nutriments dérivés des plantes sont digérés, entre autres le tryptophane, le précurseur de l'auxine. Au site d'alimentation, la salive de ces insectes, qui contient des concentrations élevées d'acides aminés libres, de l'auxine, de cytokinine et de nombreuses enzymes digestives, est injectée dans le tissu végétal hôte (**Ullrich et al., 2019**).

Chez certains insectes inducteurs des galles, la sécrétion de la glande accessoire injectée dans le tissu végétal, pendant l'oviposition, comprend des cytokinines, ce qui suggère que les cytokinines dans le liquide ovipositionnel déclenchent la croissance de la galle (**Raman, 2011**).

2) la perception des signaux par les plantes

Les produits chimiques sécrétés par les insectes galligènes modifient l'environnement subcellulaire de tissu végétale hôte, le plaçant dans un choc chimique, ce qui entraîne des changements osmotiques. Ce choc est la première étape de l'induction de la galle qui implique les flux d'ions calcium, les cascades de phosphorylation et, en particulier, la voie du jasmonate (**Coelho Kuster et al., 2019**) (**Figure 5**). Pour réparer la plaie et neutraliser le stress lié au changement osmotique, la plante réagit en établissant des cellules métaplasiques, à partir desquelles des changements métaboliques localisés se produisent dictant divers et nouveaux événements morphogénétiques en permettant le démarrage de nouveaux modèles de cycle cellulaire. (**Raman, 2011**).

Les insectes se nourrissent de galles en continu pendant une période et, par conséquent, le stress dû aux changements osmotiques prévaut pendant ce temps, ce qui déclenche à son

tour une séquence d'événements, y compris la synthèse des promoteurs de croissance (**Raman, 2011**). De plus, le stress osmotique a un impact sur l'activité de l'AIA (**Kacperska, 2004**) qui fait partie de la famille des auxines, les phytohormones de croissance végétale.

Le stress résultant de l'action des insectes introduit le facteur de choc dans le cytoplasme : lorsque le choc est de faible intensité, la cellule hôte répond avec le développement d'une cellule métaplasique et le développement de la galle commence ; lorsque le facteur de choc est de forte intensité, les cellules meurent en rejetant l'insecte inducteur et en défendant ainsi le tissu végétal (**Raman, 2011**).

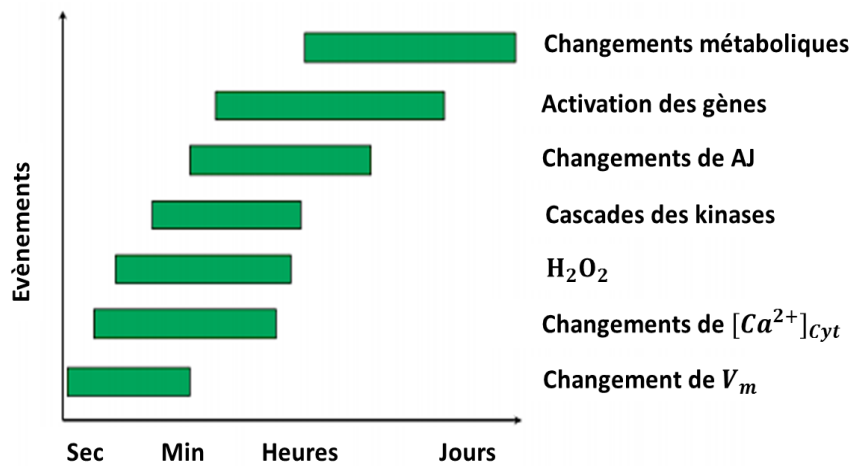


Figure 5. Les événements produits dans la plante suite à la réception des signaux associés à la présence des insectes (**Fürstenberg-Hägg *et al.*, 2013**).

3) La différenciation des cellules végétales et le développement des galles

Suite au déséquilibre résultant du stress induit par l'action physique (piqûre ou succion) et les sécrétions salivaires, une nouvelle croissance se produit avec la fonction combinée de différents promoteurs de croissance qui activent la croissance des galles (**Raman, 2011**).

Il existe des preuves que les phytohormones (auxines, cytokinines et acides abscissiques) induisent des divisions cellulaires, l'hypertrophie cellulaire et l'induction de faisceaux vasculaires au sein du nouveau tissu, qui rejoint rapidement ceux de l'organe hôte. Les faisceaux vasculaires sont similaires à ceux des tissus normaux, constitués de vaisseaux avec un phloème extérieur (**Takenda *et al.*, 2019** ; **Ullrich *et al.*, 2019**).

Des concentrations élevées d'auxine et de cytokinine provoquent une forte synthèse d'éthylène qui interrompt le flux de l'auxine, ce qui favorise le développement des tissus tumoraux (Ullrich *et al.*, 2019 ; Wächter *et al.*, 1999 ; Aloni *et al.*, 1998). Les cytokinines, selon toute probabilité, régulent les fonctions des membranes et améliorent la capacité du tissu de la galle à organiser un puits de nutriments. De plus, des niveaux plus élevés d'AAB se produisent dans le tissu des galles souffrant d'anoxie. Cependant, le rôle précis de l'AAB dans la régulation de la stabilité osmotique sous-cellulaire et /ou de la labilité et de l'intégrité de la membrane dans les galles reste à établir (Raman, 2011).

Les plantes reprogramment leur phénotype dans une nouvelle organisation structurale et fonctionnelle pour former les galles. Ainsi, la structure de la galle peut améliorer l'aptitude des insectes par l'amélioration des substances nutritives en garantissant un microenvironnement favorable (Coelho Kuster *et al.*, 2019).

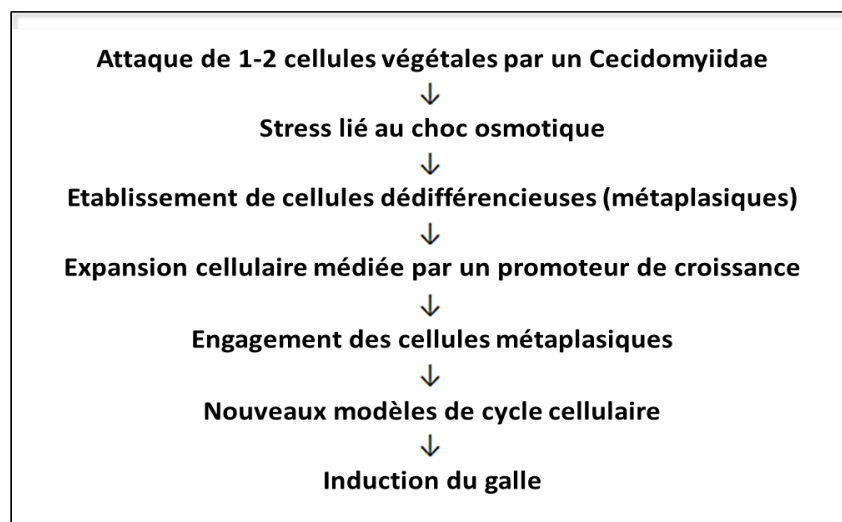


Figure 6. Schéma récapitulatif des événements de l'induction des galles (Miller et Raman, 2018).

II.6. Les paramètres qui influent sur l'abondance des galles

Le nombre des pucerons qui se trouvent à l'intérieure d'une galle varient selon le type de galle (Inbar *et al.*, 2004). Néanmoins, l'abondance des galles - soit en proportion des arbres colonisés par une espèce donnée, soit en leur densité sur un arbre de *P. atlantica* - est à l'impact de plusieurs facteurs liés à l'arbre, aux pucerons galligènes et aux conditions abiotiques où se trouvent :

- Le choix de l'hôte correcte par les fondatrices (**Wool, 2005b ; 1995**).
- La localisation des hôtes secondaires, les sources des migrants ailés de printemps, par rapport à chaque arbre (**Wool, 1995**).
- La survie de la fondatrice (**Wool, 2005b**).
- Le nombre d'accouplement réussis des ailés sexués (**Wool, 1995**).
- La synchronisation : les pucerons galligènes exploitent exclusivement les parties jeunes et en croissance (**Wool, 1995 ; Inbar et Wool, 1995**).
- La variation de taux de croissance des plantes entières ou d'une partie de la plante, peut influencer l'abondance des insectes galligènes (**Raman, 2011**).
- L'hypothèse de la population alternée : puisque les pucerons *Fordinae* ont un holocycle de deux ans, il est possible que les populations des années paires et impaires sont distinctes (**Wool, 1990**).
- Dans la plupart des cas, les plantes mâles souffrent de niveaux plus élevés d'insectes herbivores : c'est peut être le résultat de la compétition pour les ressources de nutrition entre les galles et les fruits chez les plantes femelles (**Inbar et kark, 2007**).
- Les facteurs climatiques ont un effet fort sur l'abondance des galles, en particulier les précipitations. Une étude sur l'effet des précipitations sur les colonies de l'hôte secondaire, et donc l'abondance des galles, a montré la présence d'une corrélation positive (**Wool, 2005a ; 1990**).
- L'exposition au soleil peut jouer aussi un rôle. L'étude faite par (**Inbar et Wool, 1995**) a montré que les galles de l'espèce *S. betae* sont plus abondant dans les parties ensoleillés, or les galles de *F. riccobonii* se trouvent plus fréquemment à l'ombre.

Chapitre III

Les stratégies de défense des plantes

III. Les stratégies de défense des galles

III.1. L'effet des galles sur l'arbre affecté

Les galles endommagent la plante dont les blessures peuvent être délicates ou dures. Dans les pires des cas, les nutriments deviennent privés, les surfaces des feuilles et des foliaires sont réduites, la croissance est perturbée, les bourgeons et les graines sont détruits, ce qui peut entraîner des dommages économiques considérables en raison de la régression de la récolte (Ullrich *et al.*, 2019 ; Raman, 2011).

Les cellules stressées des galles peuvent montrer une plasmolyse naissante, des corps multivésiculaires vacants dans les vacuoles, un tonoplaste rompu, plusieurs précipités osmiophiles le long de la membrane plasmique, des vacuoles avec des inclusions lipidiques denses aux électrons, en plus d'autres débris cytoplasmiques. En outre, les feuilles contenant des galles, avec le vieillissement, deviennent chlorotiques et sénescents plus rapidement que les feuilles non affectées. De plus, elles comprennent des chloroplastes moins nombreux et dégénérés qui fonctionnent comme des plastes de stockage activés par la synthèse des lipides et des acides lipidiques (Raman, 2011).

L'induction des galles dans un organe végétal, en plus de favoriser l'accumulation des métabolites secondaires, génèrent une cascade de molécules de stress en particulier les molécules ROS qui déclenchent le stress oxydatif dans les galles (Coelho Kuster *et al.*, 2019).

III.2. Les stratégies de défense des plantes

Les plantes peuvent distinguer entre le stress biotique, induit par les herbivores ou lors de l'oviposition, et le stress abiotiques, comme l'action de vent ou le changement climatique. En outre, elles ont la capacité d'évaluer la quantité et la qualité des lésions tissulaires induites. Ces propriétés permettent aux plantes de bien gérer ses réponses de défense (Fürstenberg-Hägg *et al.*, 2013).

Les plantes en tant que systèmes vivants présentent diverses stratégies pour répondre au stress résultant de l'attaque des insectes. Ces stratégies de défense peuvent être directes en augmentant la résistance des plantes hôtes par la production des barrières physiques et des composés à effet répulsifs, anti-nutritif ou toxique pour les insectes ravageurs ; ou indirectes en attirant leurs ennemies naturelles (Aljbory et Chen, 2018 ; Fürstenberg-Hägg *et al.*, 2013).

Cependant, pendant l'initiation et le développement de la galle, les insectes peuvent supprimer le système de résistance de la plante. **Takenda *et al.*, 2019** ont montré que la surexpression de plusieurs gènes, impliqués dans les réponses au stress biotique et abiotique, ont été régulés dans les galles par les insectes pour réduire la défense des plantes hôtes.

Les différentes stratégies de défense utilisées par les plantes en réponse aux signaux de stress sont illustrées dans la **figure 7**.

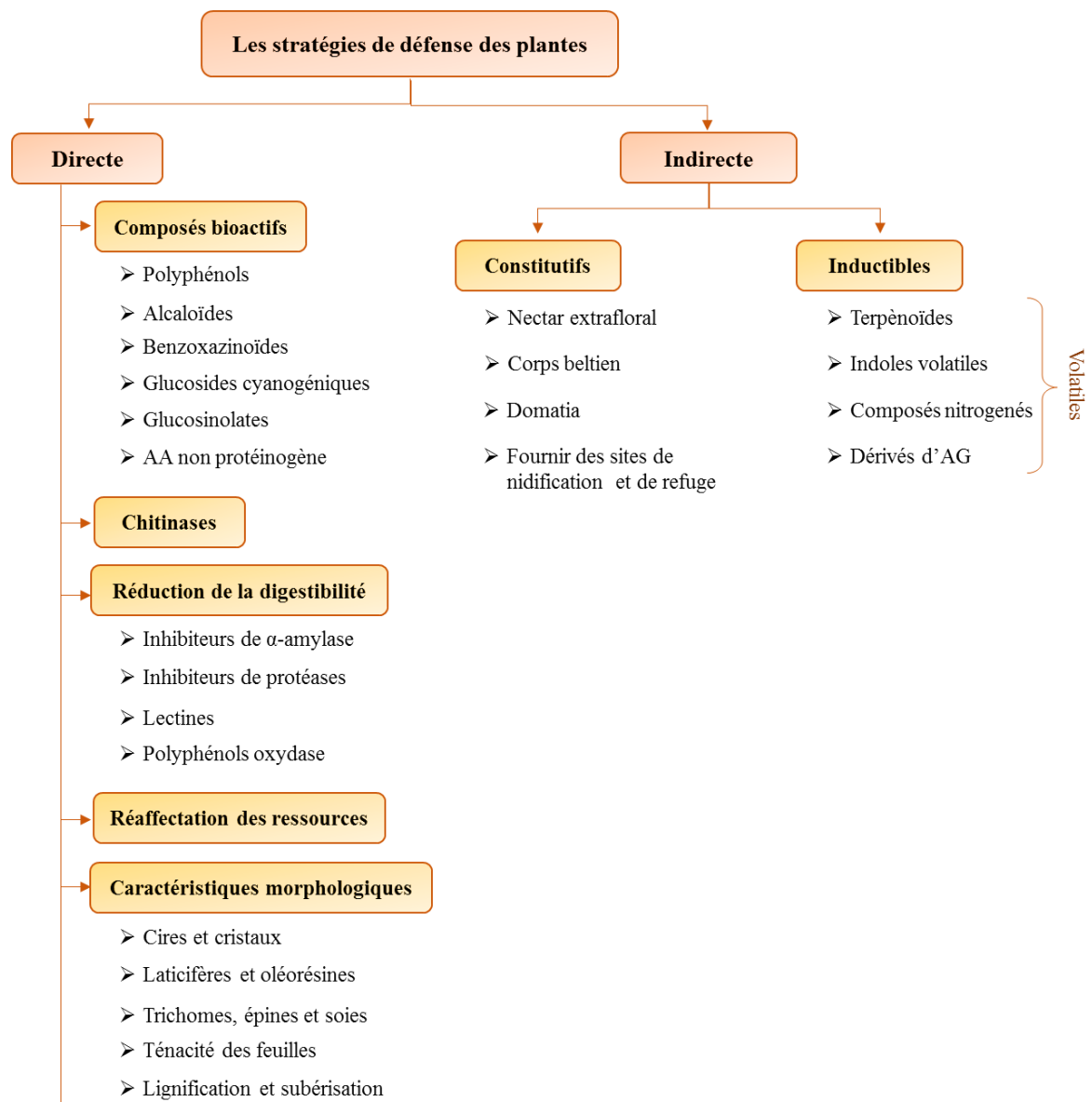


Figure 7. Schéma récapitulatif des stratégies de défense des plantes (D'après **Aljbory et Chen, 2018 ; Fürstenberg-Hägg *et al.*, 2013 ; War *et al.*, 2012**).

III.3. Les métabolites secondaires dans les galles

La biosynthèse des métabolites secondaires peut jouer un rôle défensif contre l'attaque des insectes galligènes, ou même attirer indirectement leurs ennemis naturels. Néanmoins, dans certains cas l'accumulation des métabolites secondaires dans les galles a été associée à la protection des herbivores ravageurs contre l'attaque de leurs ennemis naturels (**Coelho Kuster *et al.*, 2019**).

Les plantes ont développé un système de défense biochimique à deux niveaux qui peut être comparable au système immunitaire cellulaire chez les animaux et les êtres humains : les phytoalexines, qui regroupent les polyphénols, les terpénoïdes, les glycostérides et les alcaloïdes, sont synthétisés lors de l'activation des voies de biosynthèse chimique entraînées par des signaux de stress biotiques ou abiotiques exogènes, on parle de "défense inductive" ; et les phytoanticipines, qui regroupent les saponines, les glycosides cyanogéniques, les benzoxazinoïdes et les glucosinolates, sont exprimés de manière constitutive sans intervention d'un signal de stress exogène, on parle de "défense constitutive" (**Ullrich *et al.*, 2019 ; Aljory et Chen, 2018 ; War *et al.*, 2012**).

Les principales classes des métabolites secondaires qui ont été trouvés dans les galles induites par des insectes sont les composés phénoliques – qui sont les plus fréquentés -, les alcaloïdes et/ou les terpènes (**Coelho Kuster *et al.*, 2019**).

III.4. Le rôle des composés phénoliques dans les galles

Les composés phénoliques sont très répandus dans le règne végétal, ils font partie des métabolites secondaires. Ils forment un très vaste ensemble de substances non azotées qui possèdent dans leur structure générale un cycle benzénique auquel est lié au moins un groupement hydroxyle. Ils sont subdivisés en plusieurs classes, entre autres, les phénols simples, les flavonoïdes, les tanins et les lignines (**Crozier *et al.*, 2006 ; Macheix *et al.*, 2005**).

Les composés phénoliques peuvent se trouver dans différents compartiments tissulaires, sur le cortex externe et/ou interne de la galle. En outre, l'accumulation des composés phénoliques dans le cortex externe de la galle est associée à l'absence de ces composés dans les tissus non gallés de la même plante hôte. Ainsi, la néo-synthèse des composés phénoliques est déclenchée en réponse de la présence des insectes galligènes (**Coelho Kuster *et al.*, 2019**).

Le rôle précis des composés phénoliques dans les galles des plantes reste inexpliqué. Ils peuvent agir en tant que antioxydants dans la défense, comme conséquence du maintien du métabolisme dans les galles ou dans le contrôle de l'auxine en tant qu'inhibiteurs de l'IAA oxydase (Coelho Kuster *et al.*, 2019 ; Raman, 2011).

Le mécanisme général de la défense par les polyphénols implique leur variation qualitative et quantitative en réponse aux attaques d'insectes. De plus, l'oxydation des polyphénols par la polyphénol oxydase et la peroxydase conduit à la formation des quinones. Ces derniers présentent une toxicité directe contre les insectes et peuvent altérer leur croissance (War *et al.*, 2012).

Les flavonoïdes et les isoflavonoïdes réduisent le stress oxydatif et protègent la plante contre les insectes ravageurs en affectant leur comportement et leur croissance. En outre, ils sont cytotoxiques et peuvent interagir avec différentes enzymes par complexation. Cependant, les flavonoïdes se trouvent à des niveaux faibles à négligeables dans les galles induites par les insectes (War *et al.*, 2012 ; Raman, 2011). De plus, certaines galles sont caractérisées par une couleur rougeâtre due à la présence des anthocyanes. Une hypothèse suggère que ces galles sont aposématiques (Inbar *et al.*, 2010).

De même, les tanins qui sont présents à des niveaux généralement élevés (Raman, 2011), ont un fort effet toxique contre les insectes et réduisent l'efficacité de la digestion, en particulier des protéines, par la formation des complexes insolubles *tanin-protéine*. De plus, les tanins condensés, en tant que agents chélateurs, réduisent la disponibilité des ions métalliques aux insectes herbivores (War *et al.*, 2012).

La lignine joue, également, un rôle important comme une stratégie de défense induite après l'attaque des herbivores ou des pathogènes. Elle limite l'entrée des ravageurs en bloquant physiquement ou en augmentant la ténacité des feuilles, ce qui réduit leur contenu nutritionnel (War *et al.*, 2012).

III.5. Le rôle des inhibiteurs de l'enzyme α -amylase dans les galles

Une autre stratégie de défense directe utilisée par les plantes contre les insectes herbivores est la réduction de la digestibilité. Les plantes produisent des protéines lectine-like qui inhibent l'enzyme α -amylase sécrétée par les insectes herbivores, ce qui peut réduire

l'efficacité de la digestion de l'amidon. Cependant ces inhibiteurs affectent rarement les amylases végétales (**Fürstenberg-Hägg *et al.*, 2013**).

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

La partie expérimentale de ce travail a été réalisée au niveau du Laboratoire de Recherche en Sciences Fondamentales à l'Université de Laghouat.

Nous nous sommes intéressés à l'analyse qualitative des acides gras des extraits lipidiques de galles ainsi qu'à l'étude de l'effet du solvant d'extraction sur la teneur en phénols totaux, flavonoïdes et tanins. De plus, l'activité antioxydante des différents extraits phénoliques a également été évaluée.

I. Matériel

I.1. Matériel biologique

Les échantillons utilisés ont été collectés le 24 octobre 2019 à partir de deux arbres qui se trouvent dans le même site de la région d'El-Ghicha (**Figure 8**). Les caractéristiques géographiques sont mentionnées dans le **tableau 2**.

Les galles étudiées ont une forme semi-circulaire constituée d'une séquence de nombre variable de chambres sphériques rougeâtres articulées sur la marge de la foliole des arbres de *Pistacia atlantica* (**Figure 9**). De ce fait, nos galles sont des galles marginales.

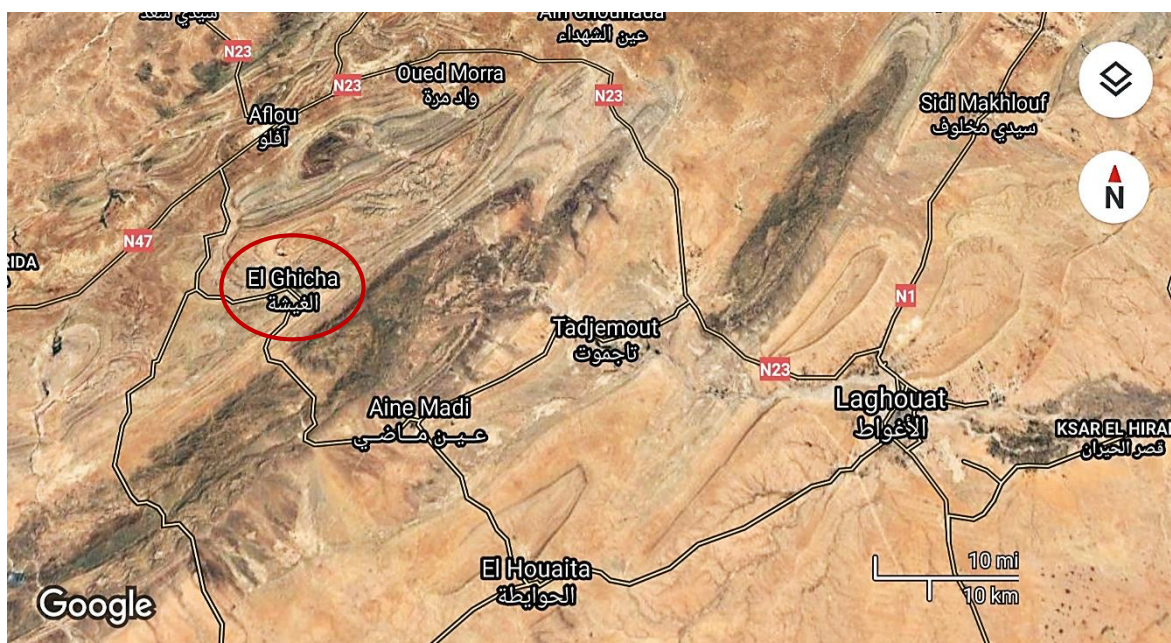


Figure 8. La carte géographique indiquant la région d'EL-Ghicha (Google maps).

Tableau 2. Les caractéristiques géographiques d'El-Ghicha.

Site	Longitude	Latitude	Altitude	Etage bioclimatique
El-Ghicha	2°01'45.39"Est	33°59'15.80"N	1419 m	Semi-aride

**Figure 9.** Les galles semi-circulaires du *Pistacia atlantica* (Original, 2020).

I.2. Produits chimiques

La liste des produits chimiques utilisés pour réaliser ce travail est indiquée dans l'annexe I.

I.3. Matériel et équipements

La liste de matériel et d'équipements utilisés pour réaliser ce travail est indiquée dans l'annexe II.

II. Démarche expérimentale

La démarche expérimentale est résumée dans l'organigramme ci-dessous.

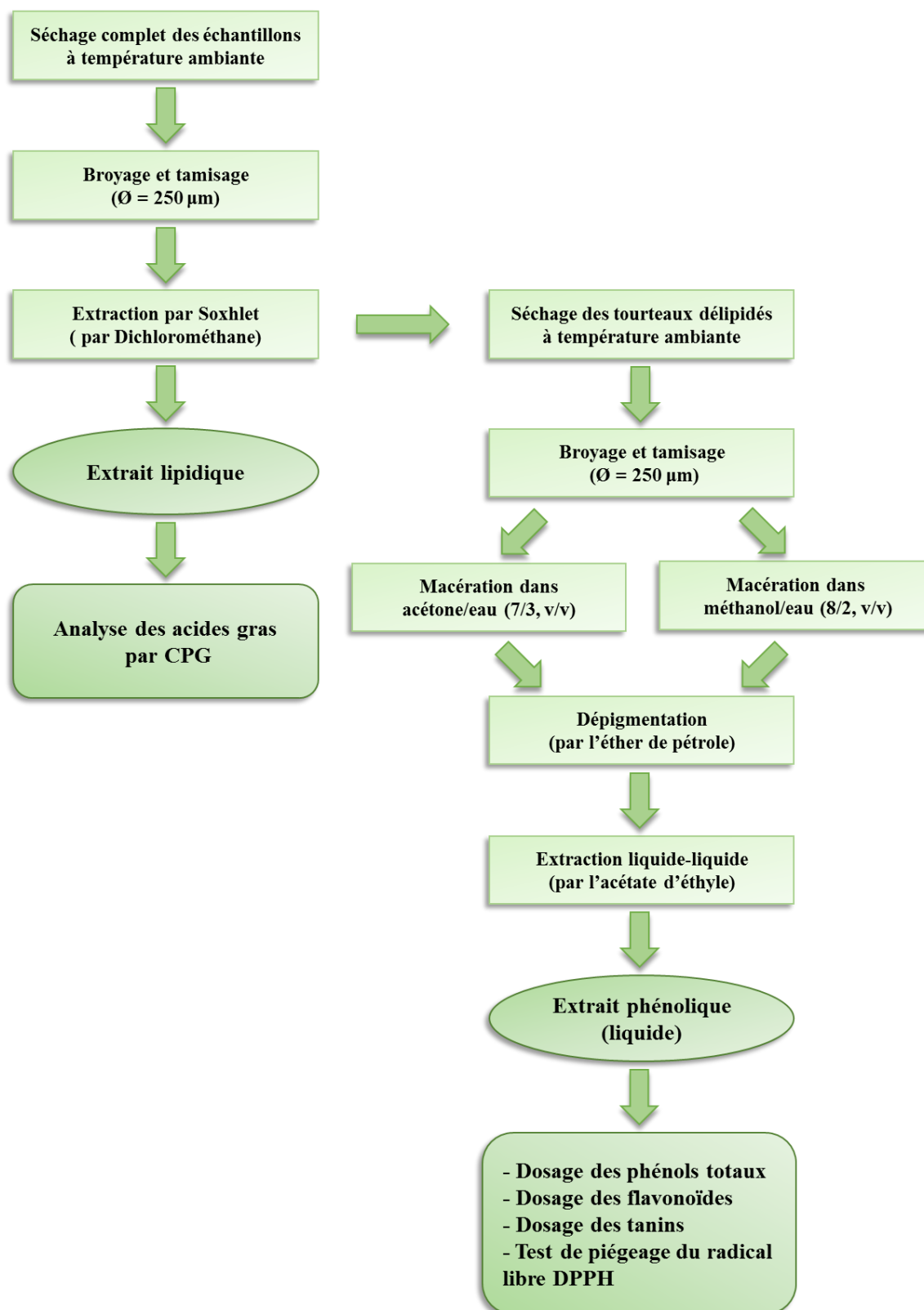


Figure 10. Organigramme récapitulatif de la démarche expérimentale.

III. Méthodes

III.1. Extrait lipidique

III.1.1. Prétraitement des échantillons

Les deux échantillons de galles ont été séchés à température ambiante (+ 20 °C) dans l'obscurité et dans un endroit aéré jusqu'au séchage complet. Ensuite, ils ont été broyés puis tamisés pour obtenir une poudre végétale fine et homogène (\varnothing 250 μ m). Cette poudre végétale est conservée à l'abri de l'humidité, jusqu'au jour de la préparation des extraits. La granulométrie fine de la poudre permet d'augmenter la surface de contact de l'échantillon avec le solvant.

III.1.2. Extraction

L'extraction des lipides a été réalisée en utilisant un extracteur Soxhlet. Il s'agit d'une extraction solide-liquide dont le solvant utilisé est le dichlorométhane.

Une masse de la poudre végétale (77g de G1G et 128g de G2G) est mise dans une cartouche, qui est placée à l'intérieur du Soxhlet. Les vapeurs de solvant se condensent et s'égoutte, ensuite, dans le réservoir contenant la cartouche. Une fois que le niveau de solvant atteint le siphon, il se déverse dans le ballon et le cycle recommence. Le processus dure plusieurs cycles jusqu'à l'épuisement.

L'extrait obtenu a été déshydraté avec le sulfate de sodium anhydre. Après la filtration, le solvant a été évaporé à +40 °C sous pression réduite à l'aide du Rotavapeur.

Le rendement a été calculé comme suite :

$$r_{EL}(\%) = \frac{\text{masse de l'extrait (g)}}{\text{masse de la poudre végétale (g)}} \times 100$$

III.1.3. Analyse des acides gras

Pour analyser les acides gras par chromatographie en phase gazeuse, ils doivent être transformés chimiquement en des composés volatiles, les esters méthyliques d'acides gras (EMAG). Cette réaction chimique s'appelle la transestérification.

III.1.3.1. Préparation des EMAG

Dans un ballon, un volume de 20ml de NaOCH₃ 0,5% a été ajouté à 0,5g de l'extrait lipidique. Le mélange est porté à l'ébullition à reflux pendant 30min. Après refroidissement, un volume de 30ml d'eau distillée a été ajouté.

Afin d'extraire les EMAG, une double extraction liquide-liquide a été effectuée en ajoutant à chaque fois 60ml d'eau distillée et 90ml de dichlorométhane. Ensuite, la phase organique a été lavée plusieurs fois jusqu'à la neutralisation du pH et ce en ajoutant 180ml d'eau distillée à chaque fois.

La phase organique récupérée a été déshydratée avec le sulfate de sodium anhydre. Après la filtration, le solvant a été évaporé à +40 °C sous pression réduite, à l'aide du Rotavapeur. Le résidu sec obtenu a été récupéré dans 2ml de dichlorométhane.

III.1.3.2. Purification

Les EMAG ont été purifiés par flash chromatographie à l'aide d'une petite colonne remplie de gel de silice en utilisant le dichlorométhane comme éluant.

Protocole

Une pipette pasteur en verre, sert comme une colonne chromatographique, est remplie jusqu'à 3cm de gel de silice. Ensuite, un volume du solvant dichlorométhane est vers dans la colonne.

Chaque extrait d'EMAG est mis dans la colonne, puis élué avec le dichlorométhane. Les extraits purifiés des EMAG ont été conservés au frais (+4 °C) jusqu'à leur analyse.

III.1.3.3. Analyse par CPG

Les EMAG sont analysés par chromatographie en phase gazeuse en présence des standards connus. Les conditions chromatographiques sont présentées ci-dessous.

- Model de l'appareil : Chrompack CP 9002
- Détecteur : DIF
- Injecteur : SPLIT 1/100
- Gaz vecteur : Azote
- Colonne capillaire : Cp Sil 8 CB (5% Phenyl + 95% Dimethylpolysiloxane)

- Longueur : 30 m
- Diamètre intérieur : 0,32 mm *0,25UM
- Epaisseur : 0,25 μ m
- Injecteur : 250 °c
- Détecteur : 280 °c
- Four : 150 °c.....4 °c/min.....220 °c
- Quantité injectée : 0,8 μ l

III.2. Extrait phénolique

III.2.1. Prétraitement des échantillons

Après l'extraction des lipides, les tourteaux délipidés récupérés ont été laissés dans un endroit sec et à température ambiante (+ 25 °C) jusqu'au séchage complet. Puis, ils ont été broyés et tamisés pour obtenir une poudre végétale fine (ϕ 250 μ m).

III.2.2. Extraction des polyphénols

III.2.2.1. Macération

Deux systèmes de solvants ont été choisis : méthanol/eau (8/2, v/v) et acétone/eau (7/3, v/v). Une masse de 10g de la poudre végétale a été macérée, à froid, dans un volume de 100 ml de chaque système de solvants pendant 48h avec renouvellement du solvant chaque 24h.

Après la filtration de l'extrait obtenu, le solvant a été évaporé à +40 °C sous pression réduite, à l'aide du Rotavapeur, et la phase aqueuse a été récupérée.

III.2.2.2. Dépigmentation et délipidation

La phase aqueuse a été lavée plusieurs fois, en ajoutant à chaque fois un volume de 20ml de l'éther de pétrole, pour enlever toute trace des lipides et des pigments. Après décantation, la phase aqueuse a été récupérée.

III.2.2.3. Extraction

Une triple extraction liquide-liquide a été réalisée, en ajoutant à chaque fois un volume de 20ml de l'acétate d'éthyle. Ensuite, la phase organique récupérée a été déshydratée avec le sulfate de sodium anhydre. Après la filtration, le solvant a été évaporé à +40 °C sous pression réduite, à l'aide du Rotavapeur.

Le rendement a été calculé comme suite :

$$r_{EP}(\%) = \frac{\text{résidu sec (g)}}{\text{masse de la prise d'essai (g)}} \times 100$$

L'extrait phénolique obtenu, sous forme de résidu sec, est dissout dans 5ml de méthanol puis est conservé au frais +4 °C.

III.2.3. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique décrite par Singleton en 1965 (Singleton *et al.*, 1999 ; Singleton et Rossi, 1965) en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu. Ce dernier est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_{40}$.

Il s'agit d'une réaction d'oxydo-réduction dont le réactif Folin-Ciocalteu est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène W_8O_{23} et de molybdène Mo_8O_{23} . La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés, et possède une absorption maximale aux environs de 760 nm.

Protocole

Dans des tubes à essai, 500 μ l de réactif Folin-Ciocalteu 10% ont été ajoutés à 100 μ l de chaque extrait phénolique. 2 min après, nous avons ajouté 2ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 20%. Les solutions préparées ont été incubées à l'obscurité pendant 30min. Ensuite, l'absorbance a été mesurée, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, à 760nm contre un blanc. Le test a été effectué trois fois.

Une gamme étalon d'acide gallique à différentes concentrations a également été préparée dans les mêmes conditions expérimentales. Par le biais de cette gamme, nous avons calculé la concentration moyenne des polyphénols présents dans les extraits végétaux. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale.

III.2.4. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été effectué par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique décrite par (Zhishen *et al.*, 1999) en utilisant le trichlorure d'aluminium AlCl_3 .

Cette méthode repose sur la capacité d' AlCl_3 à former des complexes stables colorés avec les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. La coloration jaune produite est proportionnelle au taux des flavonoïdes, et possède une absorption maximale aux environs de 409 nm.

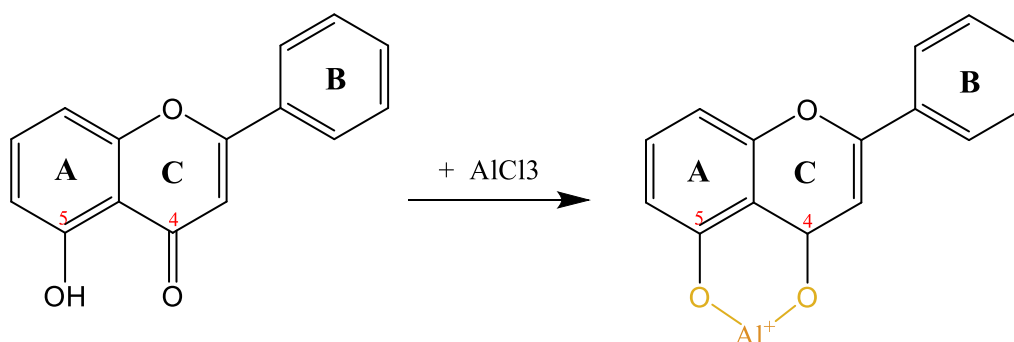


Figure 11. Le principe de formation des complexes entre les flavonoïdes et AlCl_3 .

Protocole

Dans des tubes à essai, 1 ml de trichlorure d'aluminium AlCl_3 2% méthanolique ont été ajoutés à 1 ml de chaque extrait phénolique. Après 20 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, à 409 nm contre un blanc. Le test a été effectué trois fois.

Une gamme étalon de Quercétine à différentes concentrations a également été préparée dans les mêmes conditions expérimentales. Par le biais de cette gamme d'étalons, nous avons calculé la concentration moyenne des flavonoïdes présents dans les extraits végétaux. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de Quercétine par gramme de matière végétale sèche.

III.2.5. Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés a été effectué par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique décrite par (Sun *et al.*, 1998) en utilisant la vanilline en milieu acide.

Cette méthode est basée sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline en milieu acide. Après la dépolymérisation des tanins condensés en présence de HCl, les flavan 3-ols libres réagissent avec la vanilline et se transforment en proanthocyanidols de couleur rouge spécifique. Cette coloration produite est proportionnelle au taux des tanins condensés, et possède une absorption maximale aux environs de 500 nm.

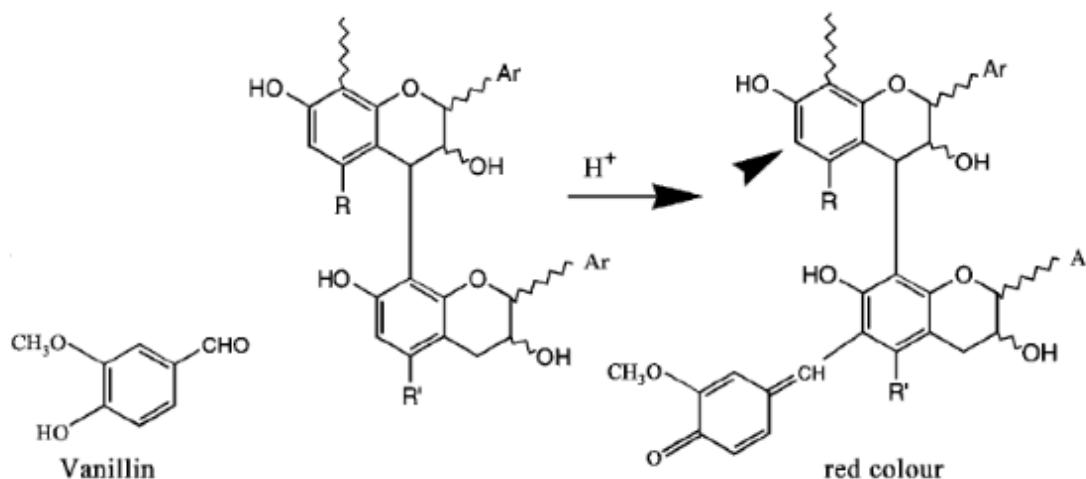


Figure 12. Le principe du dosage des tanins condensés par la vanilline. (Schofield *et al.*, 2001)

La flèche pointe vers un deuxième site potentiellement réactif avec la vanilline.

Protocole

Dans des tubes à essai, 200 μ l de chaque extrait phénolique ont été ajoutés à 1 ml d'une solution méthanolique de vanilline 1% et HCl 8% (v/v). Après 20 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, à 500 nm contre un blanc. Le test a été effectué trois fois.

Une gamme étalons de Catéchine à différentes concentrations a également été préparée dans les mêmes conditions expérimentales. Par le biais de cette gamme d'étalons, nous avons calculé la concentration moyenne des tanins présents dans les extraits végétaux. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de Catéchine par gramme de matière végétale.

III.2.6. Evaluation de l'activité antioxydante : Test de piégeage du radical DPPH (Popovici *et al.*, 2009 ; Molyneux, 2004)

C'est une méthode largement utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante. Elle repose sur l'utilisation de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) qui est un radical libre

instable. Il se caractérise par sa capacité à produire des composés stables en acceptant un électron ou un radical hydrogène. La présence de ces radicaux DPPH donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, qui absorbe aux environs de 517 nm.

La réduction des radicaux DPPH en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine, par un agent antioxydant, entraîne une décoloration de la solution au jaune pâle. L'évaluation de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette qui est proportionnelle à l'efficacité des antioxydants, par spectrophotométrie UV-visible, à 517 nm.

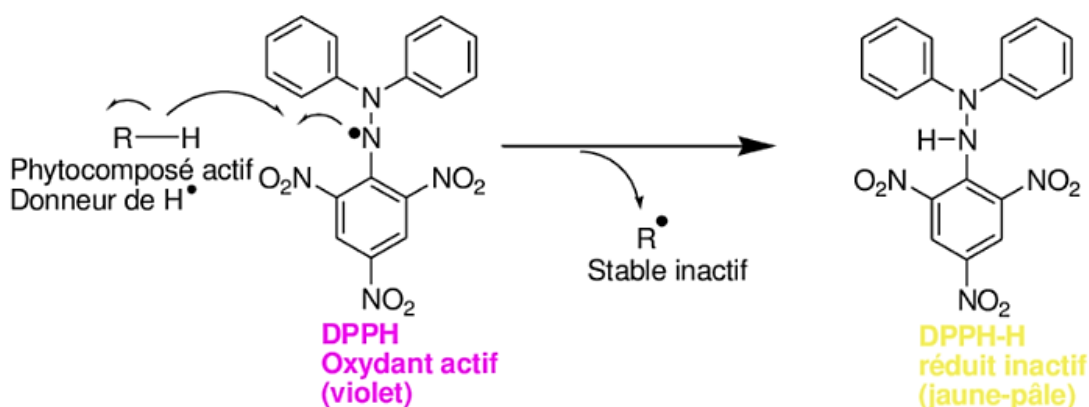


Figure 13. Mécanisme de piégeage du radical DPPH (Konan *et al.*, 2017).

Protocole :

Un volume de 1ml d'une solution méthanolique de DPPH à 250mM, a été ajouté à 1ml de chaque extrait phénolique dilué à différentes concentrations. L'acide ascorbique (vitamine C) utilisé comme contrôle positif, à différentes concentrations, a été également préparé dans les mêmes conditions opératoires. Le contrôle négatif a été préparé en parallèle, en mélangeant 1ml du méthanol avec 1ml de la solution méthanolique de DPPH.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min, la lecture des absorbances a été effectuée à 517 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le pourcentage de la réduction de DPPH a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Le pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{\text{Abs}_{\text{control négatif}} - \text{Abs}_{\text{échantillon}}}{\text{Abs}_{\text{control négatif}}} \times 100$$

L'évaluation de l'activité antioxydante a été effectuée par le calcul de EC50, la concentration efficace pour 50%, qui est défini comme étant la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Plus la valeur de l'EC50 est faible, plus l'activité antioxydante de l'extrait est puissante.

L'EC50 est calculé graphiquement par les régressions linéaires des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de chaque extrait phénolique testé. Les résultats sont exprimés en $\mu\text{g/ml}$.

Chapitre II

Résultats et discussion

Nous nous sommes intéressés à travers ce travail aux galles marginales semi-circulaires induites sur les folioles du *Pistacia atlantica* dans la région d'El-Ghicha (Aflou).

Les galles collectées ont une forme semi-circulaire formée d'une séquence de chambres sphériques rougeâtres articulées sur les marges des folioles. D'après les données de la littérature (Martinez, 2009a ; b ; Louzabi *et al.*, 2020), ces galles pourraient être induites par les pucerons *Forda roccobonii*.

I. Les extraits lipidiques

I.1. Teneur en lipides

Au terme de l'opération d'extraction des lipides, nous avons obtenu des extraits lipidiques à partir des échantillons de galles collectés du *Pistacia atlantica*. Les rendements des extraits sont définis comme étant les rapports de la quantité de substances lipidique extraites sur la quantité de matière végétale utilisée (Tableau 3).

Les extraits lipidiques des galles sont de couleur verte foncée et d'une odeur agréable. Ils sont solides à température ambiante, ceci est peut être dû à la présence des cires ou des oléorésines (Fürstenberg-Hägg *et al.*, 2013).

Tableau 3. Le rendement des extraits lipidiques.

Echantillon	G1G	G2G
Masse initiale (g)	77	128
Masse de l'huile (g)	2,58	4,72
Rendement (%)	3,35	3,69

Il en ressort que les teneurs en lipides des deux échantillons sont proches, dont les valeurs sont respectivement 3,35% et 3,69 % pour G1G et G2G. Nos résultats sont compatibles avec ceux de Laggoun et Khenifer (2019) sur les galles d'Aflou où elles ont trouvé une valeur moyenne de 3,30%.

En outre, l'extraction des lipides en utilisant l'hexane comme solvant a montré des valeurs légèrement supérieures. Le rendement d'extraction des galles semi-circulaires d'El-Ghicha étaient entre 4,57% (galles collectés en 2016) (Guersas, 2018) et 6,58% (galles collectés en 2017) (Chelghoum *et al.*, 2020).

Ainsi, nous pouvons dire que l'extraction des lipides par l'hexane donne des meilleurs rendements par rapport à l'extraction par le dichlorométhane. En outre, les légères différences remarquées d'une année à une autre pourrait être expliquées par l'effet des conditions climatiques différentes.

I.2. Analyse des acides gras

Les EMAG préparés ont été analysés par CPG en présence de standards connus. Les résultats de l'analyse qualitative et les proportions relatives des différents acides gras constitutifs sont indiqués dans le **tableau 4**.

Tableau 4. La composition en acides gras des huiles brutes des galles.

Acide gras	Dénomination	G1G	G2G
C12 : 0	Acide laurique	30,31%	0,61%
C14 : 0	Acide myristique	13,34%	24,62%
C16 : 0	Acide palmitique	11,84%	16,25%
C16 : 1 ω 7	Acide palmitoléique	1,39%	0,68%
C18 : 0	Acide stéarique	1,33%	6,07%
C18 : 1 ω 9	Acide oléique	9,77%	2,25%
C18 : 2 ω 6	Acide linoléique	11,48%	11,82%
C18 : 3 ω 3	Acide linoléinique	6,94%	10,33%
C20 : 1 ω 9	Acide gadoléique	Trace	1,16%
C24 : 0	Acide lignocérique	12,64%	25,90%
Σ AG saturés		69,46%	73,45%
Σ AG mono insaturés		11,16%	4,09%
Σ AG poly insaturés		18,42%	22,15%
Σ AG insaturés		29,58%	26,24%
Total		99,04%	99,69%
AG insaturés / AG saturés		0,43	0,36

+

D'après les résultats obtenus, nous constatons que les deux échantillons de galles sont très riches en acides gras saturés, respectivement 69,46% et 73,45% pour G1G et G2G. Ce taux élevé des acides gras saturés serait à l'origine en partie de l'aspect rigide de nos extraits lipidiques.

Les proportions des acides gras diffèrent entre les deux échantillons, malgré qu'ils se trouvent dans le même site. Pour les acides gras saturés, nous constatons la prédominance de l'acide myristique avec des valeurs de 13,34% et 24,62% et l'acide palmitique avec des valeurs de 11,84% et 16,25% pour, respectivement, G1G et G2G. Nos résultats semblent être compatibles avec les galles collectés en 2016 qui montrent des valeurs de 19,45% et 14,28% pour, respectivement, l'acide myristique et l'acide palmitique (**Guersas, 2018**). En comparant nos résultats avec ceux de **Chelghoum et al. (2020)** concernant des galles collectées en septembre 2017, nous remarquons que la proportion de l'acide palmitique (16,34%) était proche de la nôtre. Par contre, celle de l'acide myristique était largement supérieure (52,12%).

Concernant les acides gras insaturés nous constatons la prédominance de l'acide linoléique (11,48% et 11,82% pour respectivement G1G et G2G) ; et l'acide linoléique (6,94% et 10,33% pour respectivement G1G et G2G). En comparant nos résultats avec ceux de **Chelghoum et al. (2020)**, il apparaît que nos valeurs sont supérieures. En effet, la proportion des acides linoléique et linoléique pour les galles de 2017 était, respectivement, 6,32% et 2,82%.

Pour des échantillons de 2016, **Guersas (2018)** avait trouvé les valeurs les plus élevées, 19,75% et 13,92% pour, respectivement, l'acide linoléique et l'acide linoléique. De plus, l'acide gadoléique (C20 :1 ω 9) a été trouvé en proportion majoritaire 16,13%.

Notre analyse par CPG a montré la présence substantielle de l'acide laurique (C12 :0) pour l'échantillon G1G et l'acide lignocérique (C24 :0) pour les deux échantillons. Ce résultat n'a pas été rapporté par les études précédentes sur le même type de galles. L'emploi du dichlorométhane comme solvant d'extraction, à la place de l'hexane, pourrait expliquer ce résultat. Un effet artéfact aboutissant à l'apparition du pic correspondant à l'acide lignocérique (C24 :0) ne serait pas à exclure. Il pourrait s'agir d'un acide gras non estérifié. En l'absence d'autres études sur les lipides des galles (même pour d'autres espèces), il nous serait difficile d'apporter une explication de cause à effet à cette observation.

Le facteur AG insaturés / AG saturés est faible pour nos galles G1G et G2G avec les valeurs respectives 0,43 et 0,36. Ces résultats sont légèrement supérieurs à celui (0,279) rapporté par **Chelghoum et al. (2020)** mais inférieurs à celui (1,53) rapporté par **Guersas (2018)**. En dépit du caractère particulier de nos résultats et en prenant en considération l'ensemble des études précitées, nous pouvons dire que ces différences pourraient être dues

à l'effet des conditions climatiques variables d'une année à une autre, notamment la température sur la désaturase impliquée dans la mise en place des instaurations (**Beltran et al., 2004**).

Nous rappelons que nous n'avons pas trouvé d'autres données publiées concernant la composition en acides gras des extraits lipidiques des galles. La plupart des travaux sont concentrés principalement autour les huiles essentielles.

II. Les extraits phénoliques

Afin d'examiner l'effet du solvant d'extraction sur la composition et l'activité antioxydante des extraits phénoliques, deux systèmes de solvants ont été utilisés acétone/eau (7/3, v/v) et méthanol/eau (8/2, v/v), suivis par une dépigmentation et une extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle. Pour chaque extrait phénolique obtenu, un dosage colorimétrique de phénols totaux, de flavonoïdes et de tanins a été effectué, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante par le test de piégeage du radical DPPH.

II.1. Rendement de l'extraction

Les tourteaux délipidés ont servi à l'extraction des composés phénoliques par les deux systèmes précités. Les rendements des différents extraits sont définis comme étant les rapports de la quantité de substances végétales extraites (résidu sec extrait) sur la quantité de matière végétale utilisée (**Tableau 5**).

Tableau 5. Le rendement d'extraction des composés phénoliques.

Echantillon	Extrait par acétone/eau		Extrait par méthanol/eau	
	G1G	G2G	G1G	G2G
Masse initiale (g)	10	10	10	10
Masse de résidu sec extrait (g)	1,52	1,49	0,57	0,59
Rendement (%)	15,2	14,9	5,7	5,9

Les résultats obtenus montrent que parmi les extraits phénoliques, ceux par acétone/eau représentent les rendements les plus élevés, 15,2% et 14,9% pour, respectivement, G1G et G2G. Ces rendements sont supérieurs à celui (7,16%) rapporté par Guersas (2018) ayant utilisé la même méthode d'extraction pour le même type de galles. Cette différence pourrait être expliquée par l'effet de certains facteurs biotiques tels que l'âge de la plante (Raman, 2011) et la population de l'insecte galligène (Wool, 1990); et abiotiques tels que les conditions climatiques notamment la précipitation (Wool, 2005a ; 1990).

En outre, les rendements des extraits par méthanol/eau sont 5,7% et 5,9% pour, respectivement, G1G et G2G. En comparaison avec les résultats de Marfoua et Rahmani (2019), il apparaît que le rendement de l'extrait méthanolique (méthanol pur) est largement supérieurs (40,52%).

De ce qui précède, nous constatons que la méthode d'extraction et le type du solvant utilisé jouent un rôle très important dans les rendements des extraits. Il est à indiquer que le méthanol pur peut extraire toutes les molécules polaires. C'est ainsi, pour éviter la présence de molécules interférentes, il est préférable plutôt d'utiliser un solvant acétonique pour extraire les polyphénols, car il a l'avantage de faire précipiter les protéines et d'extraire faiblement les sucres (Boizot et Charpentier., 2006). De plus, notre protocole d'extraction comprend plusieurs étapes dont l'extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle qui pourrait diminuer la présence des composés interférents.

II.2. Dosage des phénols totaux

Les teneurs en phénols totaux de chaque extrait, calculées à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Figure 14), ont été exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 15.

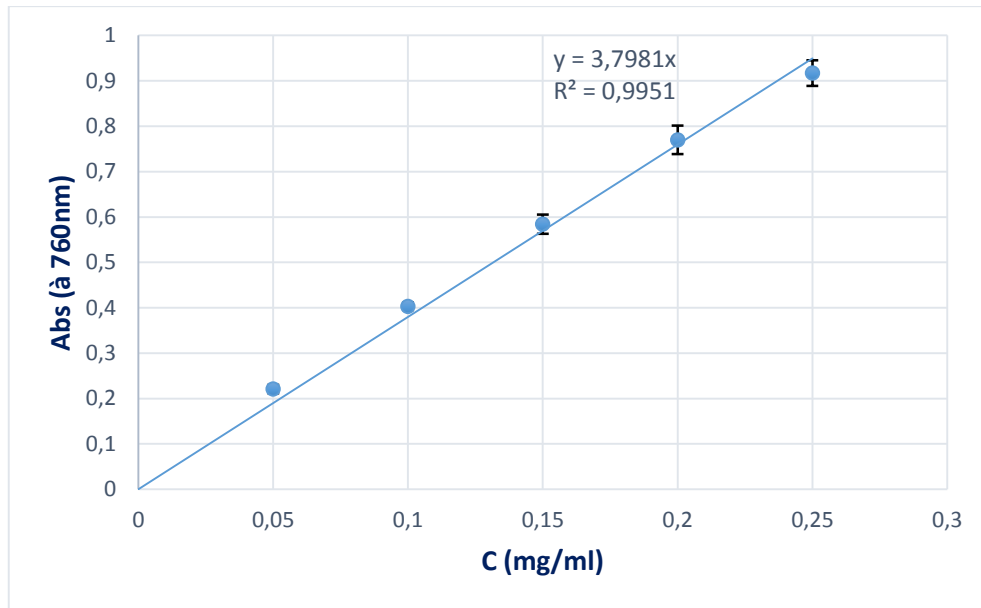


Figure 14. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

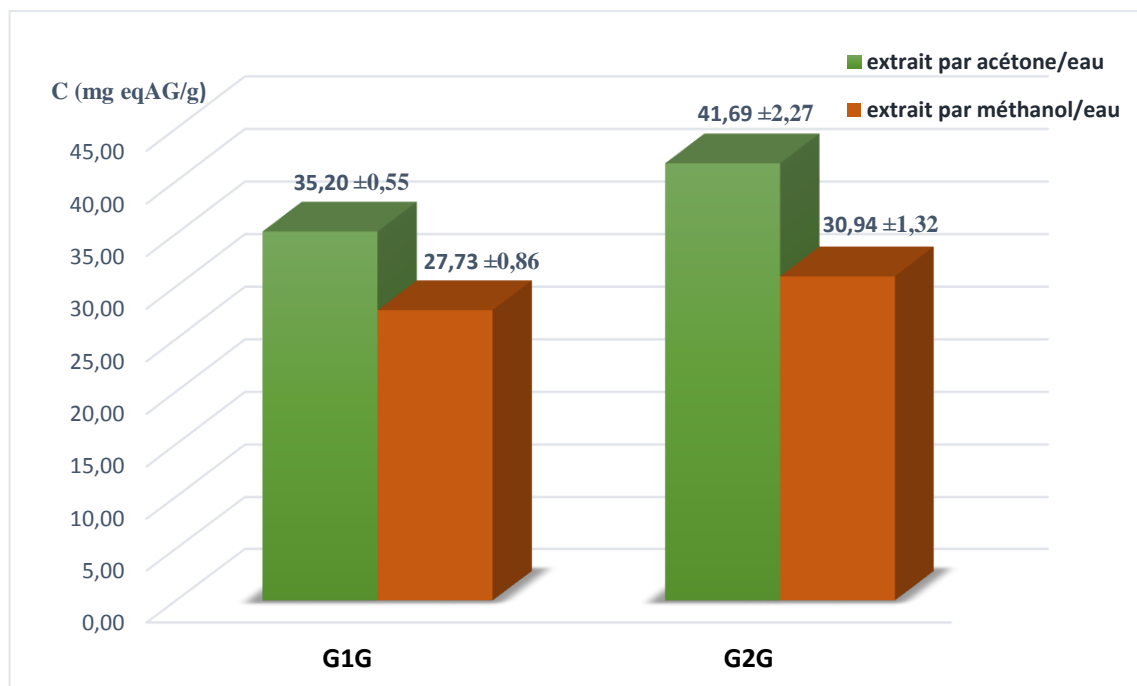


Figure 15. Les teneurs en phénols totaux pour les échantillons de galles.

D'après les résultats obtenus, nous constatons que les quatre valeurs des teneurs en phénols totaux sont de même ordre de grandeur. Elles varient, en effet, entre $27,73 \pm 0,86$ mg eqAG/g, pour les galles G1G traitées par acétone/eau, et $41,69 \pm 2,27$ mg eqAG/g, pour les galles G2G traitées par méthanol/eau.

Dans le cas des extraits par acétone/eau, les teneurs en phénols totaux pour les deux échantillons G1G et G2G sont légèrement différentes, et présentent les valeurs respectives $35,20 \pm 0,55$ et $41,69 \pm 2,27$ mg eqAG/g. En comparant la valeur de l'échantillon G2G ($41,69$ mg eqAG/g) avec celle ($33,22$ mg eqAG/g) rapportée par Guersas (2018), ayant travaillé sur le même type de galles issues du même arbre (G2) et suivant le même protocole d'extraction, nous remarquons que la nôtre est légèrement supérieure.

Par ailleurs, dans le cas des extraits par méthanol/eau, les teneurs en phénols totaux pour les deux échantillons semblent être proches. Les valeurs respectives pour G1G et G2G sont $27,73 \pm 0,86$ et $30,94 \pm 1,32$ mg eqAG/g. En dépit de l'emploi de la même méthode d'extraction, les galles collectées de la région de Tadjrouna (sans que leur type soit précisé) avait une moyenne de $113,7$ mg eqAG/g (Yousfi *et al.*, 2009). Cette différence pourrait être expliquée par l'effet des facteurs édapho-climatiques (Miho *et al.*, 2020 ; Zhang *et al.*, 2016 ; Ksouri *et al.*, 2008) et des facteurs propres aux arbres et aux insectes galligènes.

L'extraction par le méthanol pur réalisée par Marfoua et Rahmani (2019) indique, en revanche, une valeur moyenne largement supérieure ($344,96$ mg eqAG/g). Ceci peut être expliqué par la présence d'interférents réducteurs qui pourraient interagir avec le réactif de Folin-Ciocalteu, tels que les acides aminés tyrosines et tryptophanes des protéines, les sucres réducteurs comme le glucose et le fructose, l'acide ascorbique, l'acide tartrique et les sulfites (Boizot et Charpentier, 2006).

A la lumière de ce qui précède, il apparaît que les galles G2G présentent toujours des niveaux supérieurs des phénols totaux par rapport aux galles G1G. Une différence de $18,44\%$ pour les extraits par acétone, et $11,58\%$ pour les extraits par méthanol a été trouvée. Ceci peut être dû aux caractéristiques propres à chaque arbre.

En comparaison avec d'autres espèces, les galles de *Pistacia integrima* induites par *Pemphigus sp.* (macération dans le méthanol 90% puis extraction par l'acétate d'éthyle) avaient montré une teneur en phénols totaux très élevée de $86,66$ eqAG/g, (Zahoor *et al.*, 2018). D'autre part, l'extrait éthanolique des galles de la même espèce avait montré une valeur nettement plus élevée de 234 mg eqAG/g (Eshwarappa *et al.*, 2015). D'autre part, les galles d'une espèce éloignée *Tibouchina pulchra* (de la famille des Melastomataceae) contenait une teneur faible en phénols totaux $15,99$ eqAG/g (Motta *et al.*, 2005).

II.3. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine (**figure 16**). Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme de matière végétale sèche (**figure 17**).

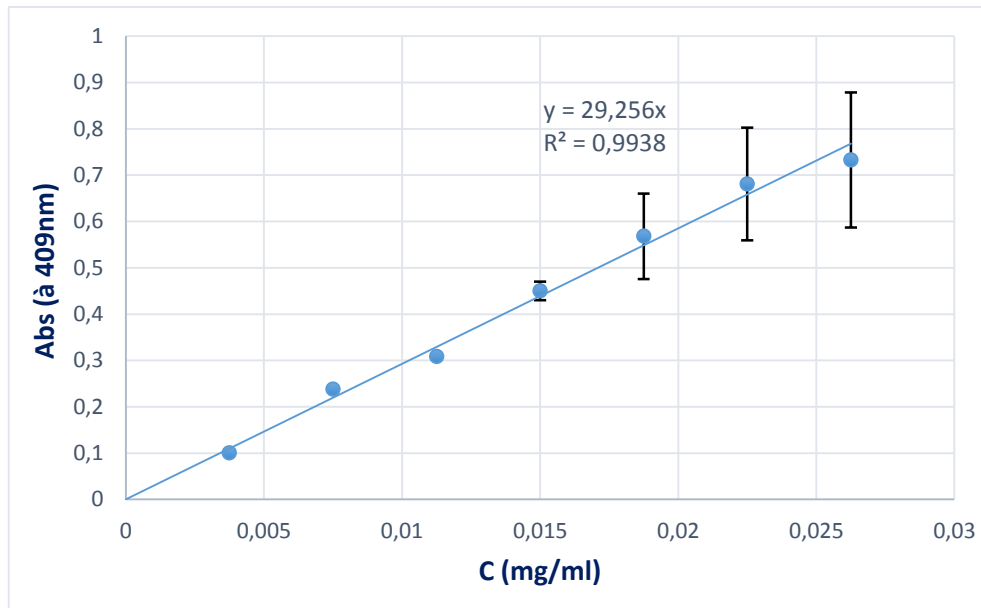


Figure 16. La courbe d'étalonnage de la quercétine.

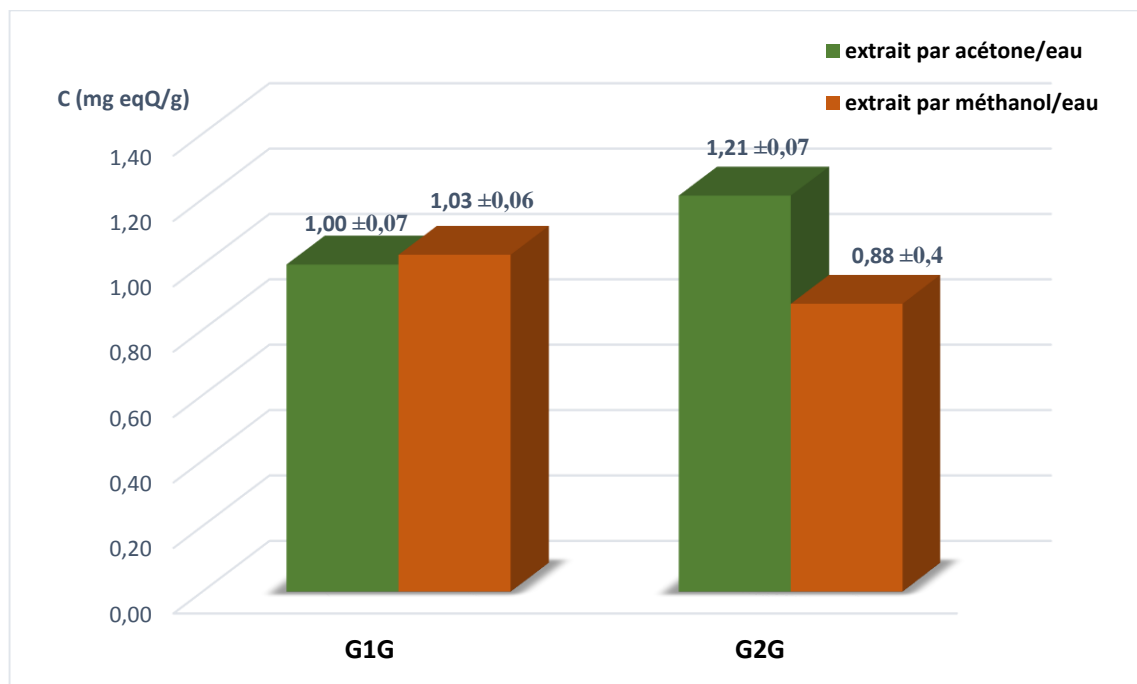


Figure 17. La teneur en flavonoïdes des échantillons des galls.

Le dosage colorimétrique des galles montre que leur teneur en flavonoïdes est faible, entre $0,88 \pm 0,04$ et $1,21 \pm 0,7$ mg eqQ/g. Ils ne représentent qu'une proportion variant de 2,84% à 3,71% des phénols totaux (**Tableau 6**).

Dans le cas des extraits par acétone/eau, on remarque que les galles G2G contiennent plus de flavonoïdes que les galles G1G ($1,21 \pm 0,7$ vs $1,00 \pm 0,7$ mg eqQ/g). Ces résultats obtenus sont inférieurs à ceux de Guersas (**2018**) qui a trouvé que la teneur les galles semi-circulaires d'El-Ghicha en flavonoïdes était 8,54 mg eqQ/g.

Inversement, dans le cas des extraits par méthanol/eau, il semble que la teneur des galles G1G en flavonoïdes soit supérieure à celle des galles G2G (respectivement $1,03 \pm 0,6$ et $0,88 \pm 0,04$ mg eqQ/g). En comparant nos résultats avec ceux ($1,76$ mg eqQ/g) de Yousfi *et al.* (**2009**), nous constatons qu'ils sont légèrement inférieurs. En revanche, l'extraction par le méthanol pur montre que les galles d'Aflou contenaient $6,07$ mg eqQ/g en flavonoïdes (**Marfoua et Rahmani, 2019**).

Nous constatons que l'effet du solvant d'extraction ne s'est manifesté que pour l'échantillon G2G (**Figure 17**) où l'extrait par acétone/eau a donné les valeurs les plus élevés.

Dans la littérature, il a été publié que les galles de *Pistacia integririma* présentaient des teneurs élevées en flavonoïdes. Les valeurs $68,80$ mg eqQ/g (**Zahoor et al., 2018**) et $95,5$ mg eqQ/g (**Eshwarappa et al., 2015**) ont été rapportés avec les proportions respectives de 79,39% et 40,81% par rapport au phénols totaux.

Tableau 6. Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes pour les échantillons des galles.

Echantillon	Extrait par acétone/eau		Extrait par méthanol/eau	
	G1G	G2G	G1G	G2G
Phénols totaux (mg eqAG/g)	35,20	41,69	27,73	30,94
Flavonoïdes (mg eqQ/g)	1,00	1,21	1,03	0,88
Taux des flavonoïdes par rapport aux phénols totaux (%)	2,84	2,90	3,71	2,84

D'après la littérature, les flavonoïdes se trouvent à des niveaux faibles à négligeables dans les galles induites par les insectes (**Raman, 2011**). Nos résultats semblent être en bon accord avec ces données. En outre, les résultats obtenus pourraient rendre compte de la présence d'autres composés phénoliques.

Nous avons utilisé un dosage colorimétrique pour déterminer la teneur en phénols totaux et en flavonoïdes. L'analyse par HPLC reste la seule technique pour déterminer la composition phénolique exacte (qualitative et quantitative).

II.4. Dosage des tanins

La teneur en tanins de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine (**Figure 18**). Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent de catéchine par gramme de matière végétale sèche (**Figure 19**).

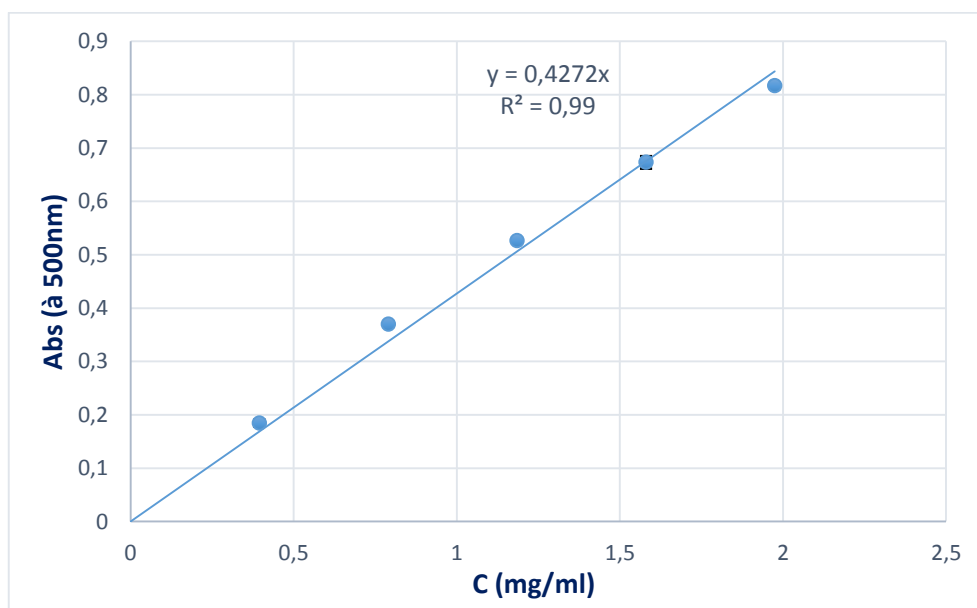


Figure 18. La courbe d'étalonnage de la catéchine.

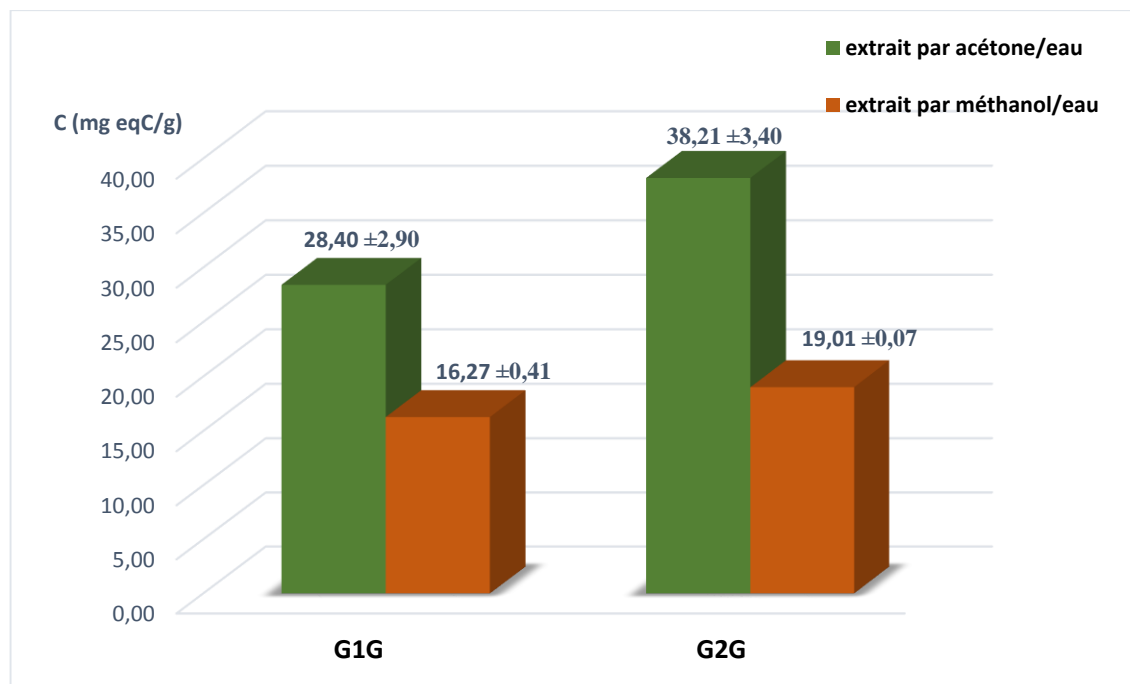


Figure 19. La teneur en tanins des échantillons des galles.

Les résultats obtenus ont montré que les teneurs en tanins condensés varient entre $16,27 \pm 0,41$ mg eqC/g, pour l'extrait par acétone/eau des galles G1G, et $38,21 \pm 3,40$ mg eqC/g, pour les galles G2G traitées par méthanol/eau. Les tanins sont présents à des niveaux élevés, et donc sont en bon accord avec ce qui a été rapporté dans la littérature (**Raman, 2011**).

Dans le cas des extraits par acétone/eau, les teneurs en tanins pour les deux échantillons G1G et G2G sont très élevées, et présentent les valeurs respectives de $28,40 \pm 2,90$ et $38,21 \pm 3,40$ mg eqC/g. A l'opposé, dans le cas des extraits par méthanol, les teneurs en tanins pour les deux échantillons semblent être proches. Leurs valeurs respectives sont $16,27 \pm 0,41$ et $19,01 \pm 0,07$ mg eqC/g. Cependant, une extraction par le méthanol pur, indiquait une valeur largement supérieure $677,57$ mg eqAG/g (**Marfoua et Rahmani, 2019**).

Il apparaît que les galles G2G présentent toujours des niveaux supérieurs en tanins par rapport aux galles G1G. Une différence de 35% pour les extraits par acétone, et 17% pour les extraits par méthanol a été trouvée. Ceci peut être dû aux caractéristiques propres à chaque arbre.

Globalement, les tanins suivent la même variation que les phénols totaux et à moindre degré celle des flavonoïdes. Dans le cas des extraits par acétone/eau, les tanins représentent les proportions respectives de 80,68 et 91,67% pour G1G et G2G. Cependant, ils ne

représentent que les proportions respectives de 58,67 et 61,43% dans le cas des extraits par méthanol/eau (**Tableau 7**). Ces résultats obtenus sont extrêmement intéressantes car ils pourraient rendre compte de la présence d'autres composés phénoliques.

Nous En comparaison avec une autre espèce et une autre méthode de quantification, les galles de *Tibouchina pulchra* (de la famille des Melastomataceae) contiennent une teneur en tanins de 12,33 mg eqAT/g représentant 77,11% par rapport aux phénols totaux (**Motta et al., 2005**).

D'après Rehill et Schultz (**2012**), les galles d'insectes induites sur *Hamamelis virginiana* (de la famille de Hamamelidaceae) avaient des concentrations plus élevées de tanins condensés et des concentrations plus faibles de tanins hydrolysables. De plus, une relation positive entre la concentration de tanins condensés et les performances reproductives des fondatrices a été trouvée. Ce constat pourrait refléter une amélioration nutritionnelle comme un effet secondaire de l'induction des tanins.

Tableau 7. Les teneurs en phénols totaux et en tanins pour les échantillons des galles.

Echantillon	Extrait par acétone/eau		Extrait par méthanol/eau	
	G1G	G2G	G1G	G2G
Phénols totaux (mg eqAG/g)	35,20	41,69	27,73	30,94
Tanins condensés (mg eqC/g)	28,40	38,21	16,27	19,01
Taux des flavonoïdes par rapport aux phénols totaux (%)	80,68	91,67	58,67	61,43

Nous avons utilisé un dosage colorimétrique pour déterminer la teneur en phénols totaux et en tanins condensés. L'analyse par HPLC reste la seule technique pour déterminer la composition phénolique exacte (qualitative et quantitative).

En dernier lieu, nous n'avons pas trouvé assez de données dans la littérature concernant le dosage des tanins des galles.

II.5. L'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée par le test de piégeage du radical libre DPPH en utilisant comme standard l'acide ascorbique (**Figure 20**). Les résultats obtenus sont exprimés en EC50 (**Figure 21**). Plus la valeur de l'EC50 est faible plus l'activité antioxydante est puissante.

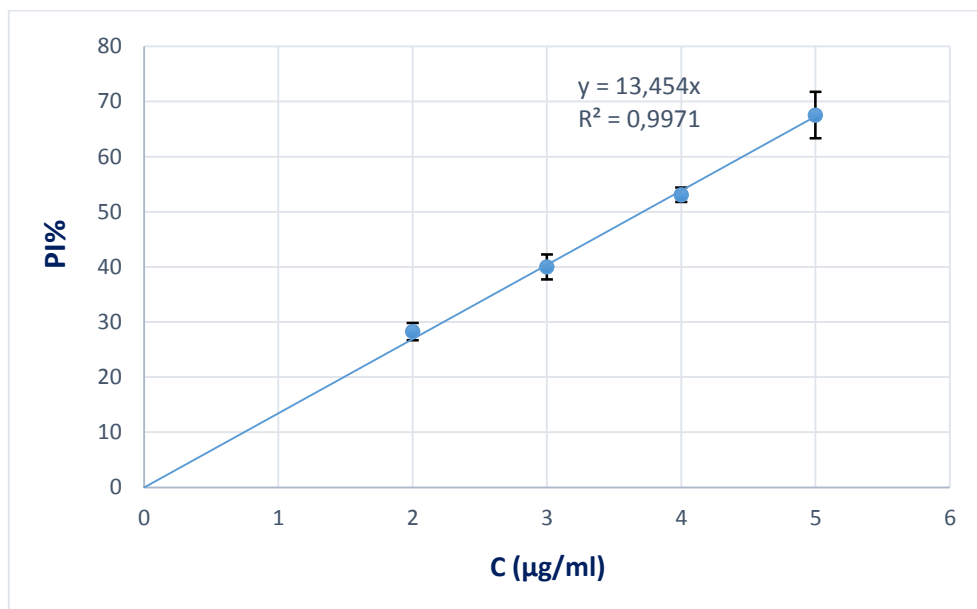


Figure 20. La courbe de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique (vitamine C) en présence de DPPH.

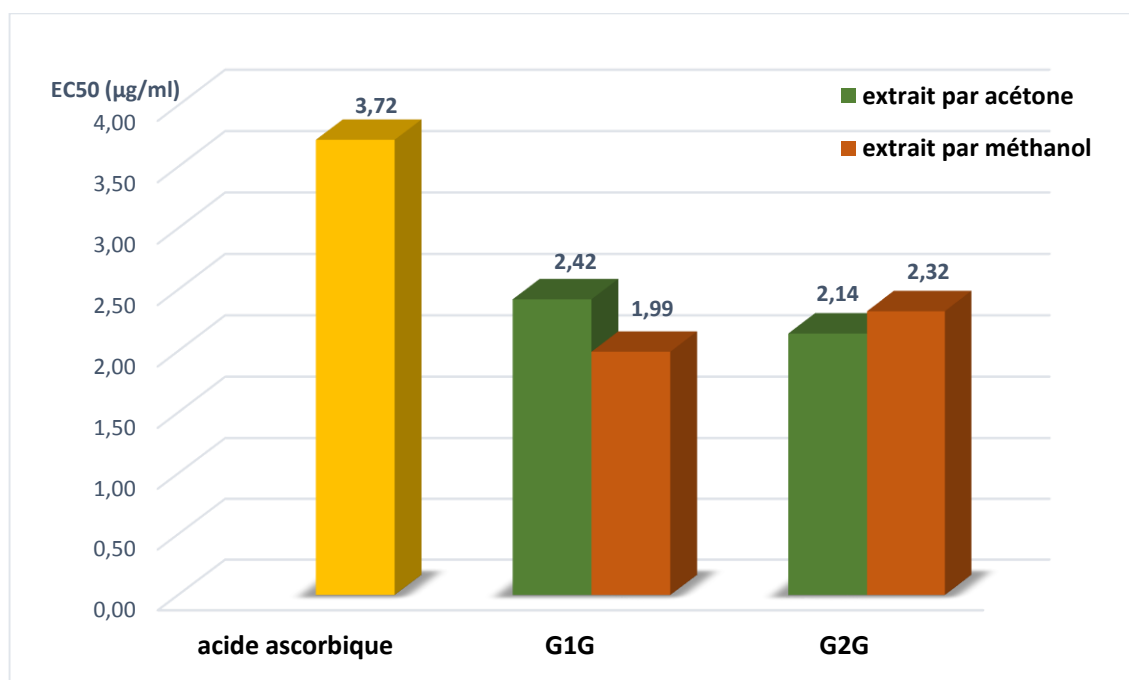


Figure 21. Comparaison entre l'activité antioxydante de l'acide ascorbique et des différents échantillons testés.

Il en ressort que les extraits phénoliques des galles expriment des valeurs EC50 proches et sont, de surcroît, plus actives que l'acide ascorbique. L'extrait le plus actif était l'extrait par méthanol/eau des galles G1G.

Les galles G1G présentent des EC50 2,42 et 1,99 µg/ml pour, respectivement, l'extrait par acétone/eau et l'extrait par méthanol/eau. Tandis que les galles G2G présentent des valeurs EC50 de 2,14 et 2,32 µg/ml pour, respectivement, l'extrait par acétone/eau et l'extrait par méthanol/eau.

En comparaison avec les galles semi-circulaires du pistachier atlantique, nos extraits semblent être les plus actifs par rapport aux galles collectées en 2016 présentant une EC50 de 3,03 µg/ml (**Guersas, 2018**) et aux galles collectées en 2019 présentant une valeur moyenne de 12,62 µg/ml (**Marfoua et Rahmani, 2019**). Ces derniers sont les moins actifs, probablement, à cause de la présence de composés non phénoliques dans les extraits méthanoliques qui auraient contribué à l'augmentation de la charge moléculaire de l'extrait brut. Nous rappelons que Marfoua et Rahmani (**2019**) ont utilisé le méthanol pur comme solvant d'extraction. Les facteurs génétiques et ceux inhérents à la saison ne sont pas à exclure dans ce cas.

Il a été rapporté dans la littérature pour une autre espèce *P. integririma*, que les extraits, par méthanol/eau (9/1, v/v) puis extraction par acétate d'éthyle, de ses galles sont moins actifs que l'acide ascorbique. En effet, l'EC50 de l'extrait était 81 µg/ml contre 16 µg/ml pour l'acide ascorbique (**Zahoor et al., 2018**). La même observation a été rapportée pour les extraits de galles de la même espèce mais en adoptant un protocole où l'éthanol était utilisé (**Eshwarappa et al., 2015**).

L'activité antioxydante des extraits végétaux est généralement expliquée par leur teneur en composés phénoliques. Cependant, nous n'avons pas trouvé une corrélation entre les valeurs de l'EC50 et la teneur en phénols totaux. Notre effectif réduit n'est pas assez informatif. Pour confirmer ces résultats, une autre étude sur un nombre important d'échantillons est nécessaire.

Il est important de relever que les composés phénoliques dans les galles pourraient être régulés par les insectes galligènes pour réduire la défense des plantes hôtes (**Takenda et al., 2019**).

Nos résultats pourraient révéler la présence d'autres composés non phénoliques qui pourraient être responsables d'une telle activité antioxydante puissante. La nature et l'origine de ces composés méritent une recherche approfondie.

II.6. L'effet du solvant d'extraction sur la composition et l'activité antioxydante des extraits phénoliques

L'extraction des composés phénoliques est une étape importante pour la valorisation des principes actifs, elle dépend de la méthode d'extraction et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques.

D'après les résultats obtenus, nous constatons que l'extraction par le système de solvant acétone/eau (7/3, v/v) était associée à des meilleurs teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins par rapport à l'extraction par méthanol/eau (8/2, v/v) (**Figures 15, 17 et 19**). Cependant, les extraits par méthanol/eau se sont montrés très actifs pour l'arbre G1 ($EC_{50} < 2\mu\text{g/ml}$, **Figure 21**). Il n'y a pas une grande différence entre les deux extraits, probablement, du fait que les deux ont subi une extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle.

Concernant les tanins, nous avons trouvé, pour les extraits par acétone/eau, des valeurs multipliées par un facteur de deux par rapport aux extraits par méthanol/eau (**Figure 19**). Il a été indiqué que le méthanol les extrait faiblement. Par contre, l'acétone possède la capacité de solubiliser les proanthocyanidines qui ne sont pas solubles dans le méthanol (**Mahmoudi et al., 2013**). Il a, également, été publié que la décoction aqueuse est préférable pour l'extraction des tanins condensés (**Mahmoudi et al., 2013**).

Par ailleurs, des études ont montré que l'addition d'un pourcentage d'eau distillée aux solvants purs était associée à une amélioration des pouvoirs d'extraction aussi bien de composés phénoliques que d'antioxydants puissants. D'autre part, la variation de la concentration du solvant (mélange à différentes proportions avec l'eau distillée) contribue à améliorer la capacité d'extraction du solvant (**Bettaieb Rebey et al., 2016 ; Mahmoudi et al., 2013**).

En dernier lieu, l'utilisation de l'acétone est préférable car il a l'avantage d'être non polluant, moins cher et moins toxique par rapport au méthanol.

Conclusion

Le travail présenté nous a permis de contribuer à l'étude des galles marginales semi-circulaires induites sur *Pistacia atlantica*. Nous nous sommes intéressées à l'analyse qualitative des acides gras des extraits lipidiques de galles, et l'étude de l'effet du solvant d'extraction sur la teneur en phénols totaux, flavonoïdes et tanins. De plus, l'activité antioxydante des différents extraits phénoliques a également été évaluée par le test de piégeage du radical DPPH.

Les résultats obtenus peuvent être résumés comme suit :

- L'extraction des lipides par le dichlorométhane aboutit à des teneurs inférieures par rapport à celle par l'hexane.
- Les échantillons de galles sont très riches en acides gras saturés.
- Les galles marginales semi-circulaires des pistachiers atlantiques, et comme toutes les galles induites par des insectes, présentent des teneurs faibles en flavonoïdes.
- Les galles sont très riches en tanins condensés.
- Les extraits par acétone/eau sont plus riches en tanins par rapport à ceux par méthanol/eau et ce, probablement, à cause de l'incapacité de ce dernier de solubiliser les proanthocyanidines.
- En ce qui concerne l'activité antioxydante, nos extraits se sont révélés les plus actifs.
- Les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins des extraits par acétone/eau sont supérieures à celles des extraits par méthanol/eau. Ainsi, l'extraction par macération dans acétone/eau (7/3, v/v) suivie par une extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle serait la méthode appropriée pour l'extraction des composés phénoliques.
- Nous n'avons pas trouvé une corrélation entre la teneur en phénols totaux et l'activité antioxydante, ce qui plaiderait en faveur de la présence d'autres composés non phénoliques dotés d'activité antioxydante.

L'extraction des composés phénoliques est une étape critique et déterminante dans le processus de leur mise en valeur. Cette étape est d'autant plus problématique que la composition phénolique varie sous l'effet de nombreux facteurs, entre autres, l'espèce, l'âge, la localisation géographique. Bien qu'il s'agisse d'un nombre très réduit d'échantillons, nos résultats préliminaires et ceux de la littérature supportent un protocole d'extraction basé sur l'utilisation d'un mélange acétone/eau (7/3, v/v) afin d'aboutir aux meilleures teneurs et activités antioxydantes.

A travers la recherche bibliographique intense que nous avons menée, nous avons apporté des informations utiles pour mieux comprendre l'effet de l'espèce de l'insecte galligène, son cycle de développement, le type de galle ainsi que les stratégies de défense de la plante sur la qualité, la quantité et les activités biologiques de ces galles.

En dernier lieu, nous pouvons dire que les galles, en particulier, semi-circulaires constitueraient une source importante et renouvelable de métabolites primaires et secondaires dotés d'importantes activités biologiques.

Notre travail ouvre de nouvelles perspectives pour de nouvelles études. En premier lieu, nous recommandons de procéder à des études prenant en considération un échantillon plus large, la caractérisation des composés phénoliques par HPLC, la recherche d'autres composés non phénoliques dotés d'activité antioxydante, le dosage des composants de la fraction insaponifiable, l'évaluation d'autres activités biologiques comme l'activité antidiabétique et les tests *in vivo*.

Références bibliographiques

- [1] **Aljbory, Z., Chen, M.S. (2018).** Indirect plant defense against insect herbivores: a review. *Insect science*, vol: 25, pp 2-23.
- [2] **Aloni, R., Wolf, A., Feigenbaum, P., Avni, A., Klee, H.J., (1998).** The Never ripe mutant provides evidence that tumor-induced ethylene controls the morphogenesis of *Agrobacterium tumefaciens*-induced crown galls on tomato stems. *Plant Physiology*, vol: 117, pp 841–849
- [3] **AL-Saghir, M.G., Porter, D.M. (2012).** Taxonomic Revision of the Genus *Pistacia* L. (*Anacardiaceae*). *American Journal of Plant Sciences*, vol: 3, pp 12-32.
- [4] **Belhadj, S. (1999).** Les pistacheraies algériennes : état actuel et dégradation. *Cahiers options MED*, vol : 56, pp 107-109.
- [5] **Belhadj, S. (2001).** Geographical distribution of *Pistacia atlantica* Desf. in Algeria. *International Symposium on Pistachios and Almonds*, 591, pp 499-503.
- [6] **Beltran, G., del Rio, C., Sanchez, S., Martinez, L. (2004).** Influence of harvest date and crop yield on the fatty acid composition of virgin olive oils from Cv.Picual. *Journal of agricultural and food chemistry*, vol: 52 (11), pp 3434-3440.
- [7] **Ben Ahmed, Z., Yousfi, M., Viaene, J., Dejaegher, B., Demeyer, K., Mangelings, D., Heyden, Y.V. (2018).** *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol: 149, pp 547-556.
- [8] **Benhassaini, H., Belkhodja, M. (2004).** Le pistachier de l'Atlas en Algérie: Entre survie et disparition. *La feuille et l'aiguille*, vol: 54, pp 1-2.
- [9] **BETTAIEB REBEY, I., SRITI, J., BESBESS, B., MKADDMINI HAMMI, K., HAMROUNI SELLAMI, I., MARZOUK, B., KSOURI, R. (2016).** Effet de la provenance et du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes des graines de fenouil (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, vol : 27 (4), pp1478-1487.
- [10] **Boizot, N., Charpentier, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'Inra*, pp 79-82.
- [11] **Boyko, A., Kovalchuk, I. (2007).** Epigenetic control of plant stress response, *Environmental and Molecular Mutagenesis*, vol:49 (1), p 61-72
- [12] **Chelghoum, M., Guenane, H., Harrat, M., Yousfi, M. (2020).** Total tocopherols, Carotenoides and Fatty acids content variation of *Pistacia atlantica* from different organ's curd oils and their antioxidant activity during development stages. *Chemistry and Biodiversity*, vol: 17 (9).
- [13] **Coelho Kuster, V., Costa Rezende, U., Fernandes Cardoso, J.C., dos Santos Isaias, R.M., Coelho de Oliveira, D. (2019).** How Gall-forming Organisms Manipulate the Secondary Metabolites in the Host Plant Tissues?: A Histochemical Overview in Neotropical Gall Systems.

In: Merillon JM., Ramawat K. (eds) Co-Evolution of Secondary Metabolites. Reference Series in Phytochemistry. Springer, Cham.

- [14] **Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (2006).** Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. Edt Blackwell Publishing Ltd.
- [15] **Dawkins, R. (1982).** The Extended Phenotype. Oxford University Press.
- [16] **El Zerey-Belaskri, A. (2019).** Taxonomic and botanical retrospective review of *Pistacia atlantica* Desf. (Anacardiaceae). *Arabian Journal of Medicinal & Aromatic Plants*, vol: 5 (3), pp 47-77.
- [17] **Elzen, G.W. (1983).** Cytokinins in insect galls. *Comparative Biochemistry and Physiology*, vol: 76A, pp 17–19.
- [18] **Eshwarappa, R.S.B., Lakshmikantha, R.Y., Subaramaiha, S.R., Subbaiah, S.G.P., Surendranath, A.R., Dhananjaya, B.L. (2015).** Antioxidant activity of insect gall extracts of *Pistacia integerrima*. *Acta Scientiarum polonorum. Technologia Alimentaria*, vol: 14 (4), pp367–374.
- [19] **Fürstenberg-Hägg, J., Zagrobelny, M., Bak, S. (2013).** Plant Defense against Insect Herbivores. *International Journal of Molecular Sciences*, vol: 14, pp 10242-10297
- [20] **Giron, D., Huguet, E., Stone, G.N., Body, M. (2016).** Insect-induced effects on plants and possible effectonrs used by galling and leaf-mining insects to manipulate their host-plant. *Journal of Insect Physiology*, vol: 84, pp 70 – 89.
- [21] **Guersas, A. (2018).** دراسة فيتوكيميائية و تقدير النشاط المضاد للاكسدة للزيوت و المستخلصات الفينولية من الاوراق و الثمار و العفص للفستق الاطلسي. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيولوجيا، المدرسة العليا للاساتذة، الاغواط.
- [22] **Harfouche, A., Chebouti-Meziou, N., Chebouti, Y. (2005).** Comportement comparé de quelques provenances algériennes de pistachier de l’Atlas introduites en réserve naturelle de Mergueb (Algérie). *Forêt Méditerranéenne t. XXVI, n°2*, pp 135-141.
- [23] **Hashemnia, M., Nikousefat, Z., Yazdani-Rostam, M. (2015).** Antidiabetic effect of *Pistacia atlantica* and *Amygdalus scoparia* in streptozotocin-induced diabetic mice. *Comparative Clinical Pathology*, vol : 24 (6), pp 1301–1306.
- [24] **Hilker, M., Fatouros, N.E. (2016).** Resisting the onset of herbivory: plants perceive and respond to insect eggs. *Current opinion in plant biology*, vol: 32, pp 9–16.
- [25] **Inbar, M., Izhaki, L., Koplovich, A., Lupo, I., Silanikove, N., Glasser, T., Gerchman, Y., Perevolotsky, A., Lev-Yadun, S. (2010).** Why do many galls have conspicuous colors? A new hypothesis. *Arthropod-Plant Interactions*, vol: 4, pp 1-6.
- [26] **Inbar, M., Kark, S. (2007).** Gender-related developmental instability and herbivory of *Pistacia atlantica* across a steep environmental gradient. *Folia Geobotanica*, vol:42, pp 401-410.

- [27] **Inbar, M., Wink, M., Wool, D. (2004).** The evolution of host plant manipulation by insects: molecular and ecological evidence from gall-forming aphids on *Pistacia*, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, vol: 32, pp 504-511.
- [28] **Inbar, M., Wool, D. (1995).** Phloem-feeding specialists sharing a host tree: resource partitioning minimizes interference competition among galling aphid species. *OIKOS*, vol:73, pp 109-119.
- [29] **Kacperska, A. (2004).** Sensor types in signal transduction pathways in plant cells responding to abiotic stressors: do they depend on stress intensity?. *Physiol. Plant*, vol: 122, pp 159-168
- [30] **Konan, K.V., Mamyrbékova-Békro, J.A., Guiffrey, P., Virieux, D., Pirat, J.L., Békro, Y.A. (2017).** Composition organique et activité anti-radicalaire de *Bombax costatum* de Côte d'Ivoire. *Revue CAMES – Série Pharm. Méd. Trad. Afr.*; vol : 18(2), pp 21-27.
- [31] **Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A., Abdelly, C. (2008).** Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptes Rendus Biologies*, vol: 331 (11), pp 865-873.
- [32] **Kurzfeld-Zexer, L., Lev-Yadun, S., Inbar, M. (2015).** One aphid species induces three gall types on a single plant: comparative histology of one genotype and multiple extended phenotypes. *Flora*, vol: 210, pp 19-30.
- [33] **Laggoun, I., Khenifer, F. (2019).** Etude de la teneur et l'activité antioxydante d'extraits lipidiques de fruits, de feuilles et de galles de *Pistacia atlantica* Desf. de deux sites différents de Laghouat. Mémoire de master, Biochimie appliquée, Université de Laghouat.
- [34] **List, P.H., Hörhammer, L. (1973).** *Chemikalien und Drogen*. Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis. Springer, Berlin, Heidelberg.
- [35] **Louzabi, S., Belhadj, S., Merbah, K.Z.A., Bouragba, N. (2020).** Nouvelle observation de *Geocica mimeuri* (Gaumont 1930) et description de *Forda riccobonii* (Stefani 1899) sur *Pistacia atlantica* Desf. en Algérie. *Faunistic Entomology*, vol : 73, pp 145-157.
- [36] **Macheix, J.J., Fleuriet, A., Allemand, C.J. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires Romandes. Lausanne.
- [37] **MAHMOUDI, S., KHALI M., MAHMOUDI, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technologie*, vol :9, pp 35-40.
- [38] **Mani, M.S. (1964).** The ecology of plant galls. *Monographiae biologicae*, vol: 12.

- [39] **Marfoua, F., Rahmani, F. (2019).** Etude de la teneur et l'activité antioxydante d'extraits phénoliques de fruits, de feuilles et de galls de *Pistacia atlantica* Desf. de deux sites différents de Laghouat. Mémoire de master, Biochimie appliquée, Université de Laghouat.
- [40] **Martinez, J. J. I. (2010).** Ecology of the galling aphid *Forda riccobonii* (Stefani) on *Pistacia atlantica* Desf in natural habitats. Conference: The IXth European Congress of Entomology at: Budapest, Hungary.
- [41] **Martinez, J.J.I. (2009b).** Gall-Inducing aphids on *Pistacia* trees: a resource for students' researches. *Alon Lamore Lebiologia*, vol: 178, pp 14-20.
- [42] **Martinez, J.J.I. (2009a).** Population ecology of *Forda riccobonii* (Hemiptera: Pemphigidae) on *Pistacia atlantica*. *Oriental Insects*, vol: 43, pp241-251.
- [43] **Mehdeb, D., Benhassaini, H., Adda, A., Soudani, L., Mykola, K. (2018).** First report of an exceptional monoecious type of *Pistacia atlantica* ssp. *atlantica* in Algeria (North Africa). *Ukrainian Journal of Ecology*, vol: 8(2), pp 276-279.
- [44] **Miho, H., Moral, J., Barranco, D., Ledesma-Escobar, C. A., Priego-Capote, F., & Díez, C. M. (2020).** Influence of genetic and interannual factors on the phenolic profiles of virgin olive oils. *Food Chemistry*, 128357.
- [45] **Miller, D.G. Raman, A. (2018).** Host-plant relations of gall-inducing insects. *Annals of the Entomological Society of America*, vol: 00 (00), pp 1-19.
- [46] **Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science Technology*, vol: 26(2), pp 211-219.
- [47] **Monjauze, A. (1980).** Connaissance du bétoum *Pistacia atlantica* Desf. *Biologie et forêt. Revue Forestière Française*, vol: 4, pp 357-363.
- [48] **Monjauze, A. (1968).** Répartition et écologie de *Pistacia atlantica* Desf. en Algérie. *Bulletin de la Société d'histoire naturelle d'Afrique du Nord*, tome 56-2, p 128.
- [49] **Motta, L.M., Kraus, J.E., Salatino, A., Salatino, M.L.F. (2005).** Distribution of metabolites in galled and non-galled foliar tissues of *Tibouchina pulchra*. *Biochemical Systematics and Ecology*, vol: 33, pp 971-981.
- [50] **Oliveira, D.C., Moreira, A.S.F.P., Isaias, R.M.S. (2014).** Functional gradients in insect gall tissues, studies on neotropical host plants. *Fernandes GW, Santos JC (eds) Neotropical insect galls*. Springer, Dordrecht
- [51] **Patel, S., Rauf, A., Khan, H. (2018).** The relevance of folkloric usage of plant galls as medicines: Finding the scientific rationale. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol: 97, pp 240-247.

- [52] **Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, vol : 4, pp25-39.
- [53] **Price, P.W., Fernandes, G.W., Waring, G.L. (1987).** Adaptive nature of insect galls. *Environmental Entomology*, vol: 16, pp 15–24.
- [54] **Raman, A. (2007).** Biogeographical implications in species richness, biological diversity, and evolution of gall-inducing insects of the Orient and the eastern Palearctic. *Orient. Insects* vol: 41, pp 9-25.
- [55] **Raman, A. (2011).** Morphogenesis of insect-induced plant galls: facts and questions, *Flora*, vol: 206, pp 517- 533.
- [56] **Rauf, A., Uddin, G., Siddiqui, B.S., Khan, H., Ali Shah, S.U., Ben Hadda, T., Mabkhot, Y.N., Farooq, U., Khan, A. (2016).** Antinociceptive and anti-inflammatory activities of flavonoids isolated from *Pistacia integerrima* galls. *Complementary Therapies in Medicine*, vol: 25, pp 132-138.
- [57] **Rehill, B.J., Schultz, J.C. (2012).** *Hormaphis hamamelidis* Fundatrices Benefit by Manipulating Phenolic Metabolism of Their Host. *Journal of Chemical. Ecology*, vol:38, pp 496-498.
- [58] **Rezaei, P.F., Fouladdela, S., Hassani, S., Yousefbeyk, F., Ghaffari, S.M., Amine, G., Azizi, E. (2012).** Induction of apoptosis and cell cycle arrest by pericarp polyphenol-rich extract of Baneh in human colon carcinoma HT29 cells. *Food and Chemical Toxicology*, vol: 50, pp 1054-1059.
- [59] **Saadat, Y.R., Barzegari, A., Vahed, S.Z., Saeedi, N., Eskandani, M., Omid, Y., Barar, J. (2016).** Cyto/Genotoxic Effects of *Pistacia atlantica* Resin, a Traditional Gum. *DNA and Cell Biology*, vol: 35 (6), pp261-266.
- [60] **Saguez, J. (2007).** Dérégulation des activités chitinases : de nouvelles perspectives de lutte contre les aphides. Thèse de doctorat, Université de Picardie Jules Verne.
- [61] **Schofield, P., Mbugua, D.M., Pell, A.N. (2001).** Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, vol: 91, pp 21-40.
- [62] **Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, vol: 299, pp 152-178.
- [63] **Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, vol: 16, pp 144-158.
- [64] **Sinnott, E.W. (1960).** *Plant Morphogenesis*, McGraw-Hill, New York.

- [65] **Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., Spranger, I. (1998).** Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol: 46, pp 4267-4274.
- [66] **Toul, F., Zitouni, A., Atik-Bekkara, F., Belyagoubi-Benhammou, N. (2017).** Antioxidant activity and phenolic profile of different organs of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* from Algeria. *Natural product research*, vol: 31 (6), pp 718-723.
- [67] **Turpeau-ait Ighil, E., Dedryver, C. A., Chaubet, B., Hullé, M. (2011).** Les pucerons des grandes cultures : cycles biologiques et activités de vol. Editions Quæ.
- [68] **Ullrich, C.I., Aloni, R., Saeed, M.E.M., Ullrich, W., Efferth, T. (2019).** Comparison between tumors in plants and human beings: Mechanisms of tumor development and therapy with secondary plant metabolites. *Phytomedicine*, vol: 64.
- [69] **Wächter, R., Fischer, K., Gäbler, R., Kühnemann, F., Urban, W., Bögemann, G.M., Voeselek, L.A.C.J., Blom, C.W.P.M., Ullrich, C.I., (1999).** Ethylene production and ACC-accumulation in *Agrobacterium tumefaciens*-induced plant tumours and their impact on tumour and host stem structure and function. *Plant, Cell & Environment*, vol: 22, pp 1263–1273.
- [70] **War, A. R., Paulraj, M. G., Ahmad, T., Buhroo, A. A., Hussain, B., Ignacimuthu, S., Sharma, H. C. (2012).** Mechanisms of Plant Defense against Insect Herbivores, *Plant Signaling & Behavior*, vol: 7 (10), pp1306-1320.
- [71] **Weis, A.E., Walton, R., Crego, C.L. (1988).** Reactive plant tissue sites and the population biology of gall makers. *Annual Review of Entomology*, vol: 33, pp 467-486.
- [72] **Wool, D. (1990).** Regular alternation of high and low population size of gall-forming aphids: analysis of ten years of data. *OIKOS*, vol:57, pp 73-79.
- [73] **Wool, D. (1995).** Aphid induced galls on *Pistacia* in the natural Mediterranean forest of Israel: which, where and how many?. *Israel Journal of Zoology*, vol: 41, pp 591-600.
- [74] **Wool, D. (2005a).** Gall-inducing aphids: biology, ecology, and evolution. *Biology, ecology, and evolution of gall-inducing arthropods*, vol: 1. pp73-132.
- [75] **Wool, D. (2005b).** Differential colonization of host trees by galling aphids: selection of hosts or selection by hosts?, *Basic and Applied Ecology*, vol: 6, pp 445-451.
- [76] **Yaaqobi, A., El-Hafid, L., Haloui, B. (2009).** ETUDE BIOLOGIQUE DE *PISTACIA ATLANTICA* DESF. DE LA REGION ORIENTALE DU MAROC. *Biomatec Echo*, vol : 3 (6), pp 39 – 49.
- [77] **Yousfi, M., Djeridane, A., Bombarda, I., Hamia, C., Duhem, B., Gaydou, E.M. (2009).** Isolation and Characterization of a New Hispolone Derivative From Antioxidant Extracts of *Pistacia atlantica*. *PHYTOTHERAPY RESEARCH*, vol: 23, pp 1237–1242.

- [78] **Zahoor, M., Zafar, R., Ur Rahman, N. (2018).** Isolation and identification of phenolic antioxidants from *Pistacia integerrima* gall and their anticholine esterase activities. *Heliyon*, 4, e01007
- [79] **Zhang, L., Yang, M., Gao, J., Jin, S., Wu, Z., Wu, L., Zhang, X. (2016).** Seasonal variation and gender pattern of phenolic and flavonoid contents in *Pistacia chinensis* Bunge inflorescences and leaves. *Journal of Plant Physiology*, vol: 191, pp 36-44.
- [80] **Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999).** The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, vol: 64 (4), pp 555-559.
- [81] **Zohary, M. (1952).** A Monographical Study of the Genus *Pistacia*. *Palestine Journal of Botany, Jerusalem Series*, vol: 5, pp 187-228.

Annexes

Annexe I

La liste des produits chimiques :

- Acétone
- Acétate d'éthyle
- Acide acétique
- Acide chlorhydrique
- Acide gallique
- Acide L-ascorbique (Vitamine C)
- Carbonate de sodium Na_2CO_3
- Catéchine
- Chlorure d'aluminium AlCl_3
- Chlorure de fer FeCl_3
- Dichlorométhane
- DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)
- Ether de pétrole
- Eau distillée
- Ethanol
- Gel de silice
- Méthanol
- Phenanthroline
- Quercétine
- Réactif de Folin–Ciocalteu
- Acétate de sodium trihydraté
- Sulfate de sodium anhydre
- TPTZ (2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine)
- Vanilline
- α – tocophérol (Vitamine E)
- β – carotène

Annexe II

La liste de matériel utilisé :

- Ampoule à décanter 250ml
- Ballon à fond rond 250 ml, 500ml
- Becher 50ml, 100ml, 200ml
- Burette graduée 25ml
- Coton
- Cuvettes de spectrophotomètre UV-visible (en quartz, en plastique)
- Entonnoir
- Eprouvette graduée 10ml, 25ml ; 100ml, 250ml
- Erlenmeyer 50ml, 250ml
- Fiole jugée 50ml, 100ml, 200ml
- Flacons en verre fumé
- Micropipette
- Mortier + pilon
- Papier filtre
- Pipette pasteur
- Pissette
- Réfrigérant
- Soxhlet
- Spatule
- Tubes à essai

La liste des équipements utilisés

- Balance électrique
- Etuve
- Rotavapeur
- Spectrophotomètre UV-visible
- Vortex
- Chauffe ballon
- Hotte chimique
- Réfrigérateur

Annexe III

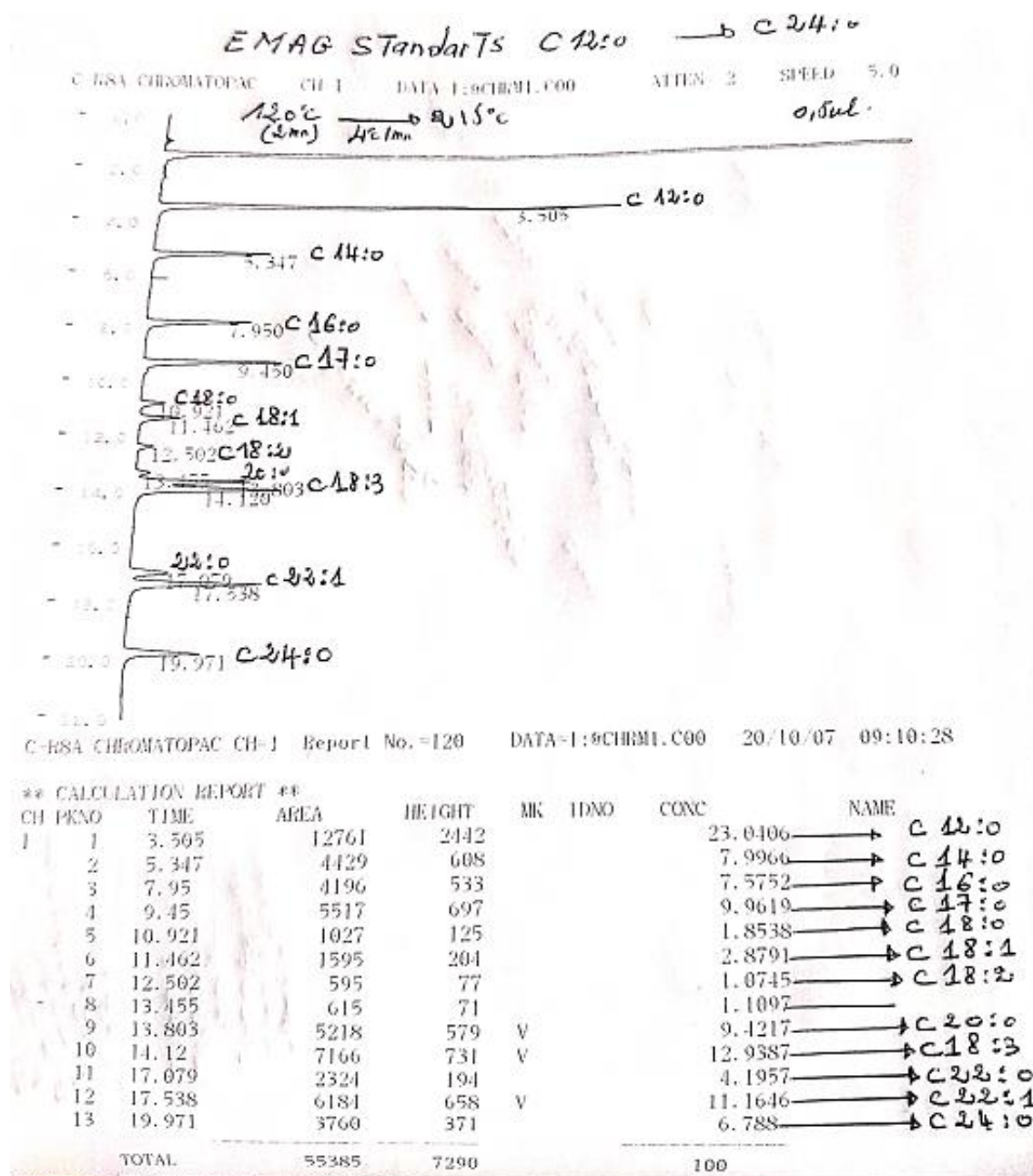
Les conditions chromatographiques (CPG):

- Model de l'appareil : Chrompack CP 9002
- Détecteur : FID
- Injecteur : SPLIT 1/100
- Gaz vecteur : Azote
- Colonne capillaire : Cp Sil 8 CB (5% Phenyl + 95% Dimethylpolysiloxane)
- Longueur : 30 m
- Diamètre intérieur : 0,32 mm *0,25UM
- Epaisseur : 0,25 µm
- Injecteur : 250 °c
- Détecteur : 280 °c
- Four : 150 °c.....4 °c/min.....220 °c
- Quantité injectée : 0,8 µl
- Vitesse du papier : 0,5 cm/min

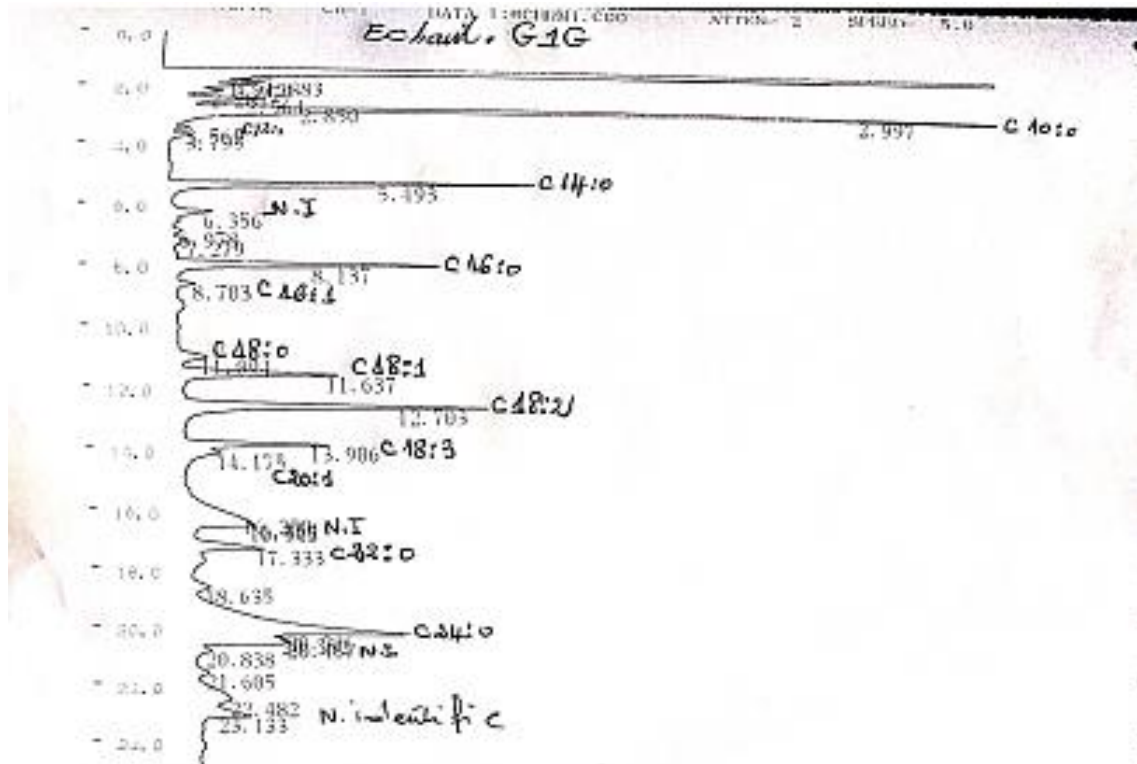
Annexe IV

Les chromatogrammes

Le chromatogramme des standards



Le chromatogramme de l'échantillon G1G

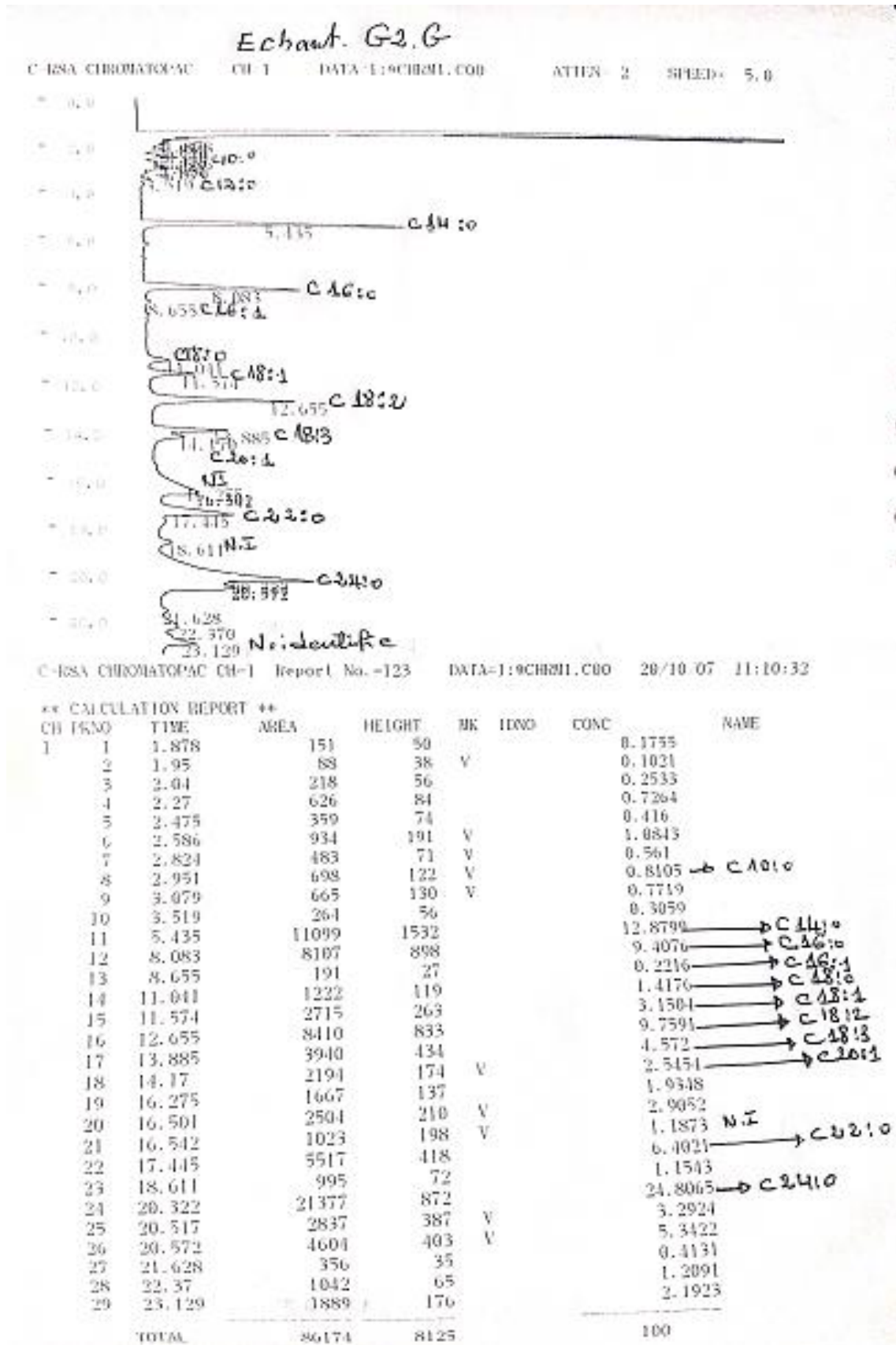


C-85A CHROMATOPAC CH-1 Report No. -122 DATA=1:CHEMI.C00 20/10/07 09:52:44

** CALCULATION REPORT **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	PK	LAND	CONC	NAME
1	1	1.883	381	117			0.2366	
2	2	1.942	538	202	V		0.3344	
3	3	2.079	935	208			0.5809	
4	4	2.281	756	123			0.4701	
5	5	2.564	2997	352			1.8625	
6	6	2.85	2759	474	V		1.7147	
7	7	2.997	32512	4776	V		20.2073	→ C 10:0
8	8	3.569	341	73			0.2121	→ C 12:0
9	9	3.795	744	91			0.4622	
10	10	5.493	13263	1731			8.2433	→ C 14:0
11	11	6.356	1510	169			0.9382	
12	12	6.978	359	45			0.2238	
13	13	7.279	742	68	V		0.4612	
14	14	8.137	11730	1258			7.2907	→ C 16:0
15	15	8.703	758	86	V		0.471	→ C 16:1
16	16	11.094	1808	130			1.1235	→ C 18:0
17	17	11.637	8234	741	V		5.1175	→ C 18:1
18	18	12.703	15070	1461			9.3665	→ C 18:2
19	19	13.906	6045	693			3.7569	→ C 18:3
20	20	14.175	2295	163	V		1.4262	→ C 20:4
21	21	16.25	2991	191			1.8588	
22	22	16.35	1335	231	V		0.8296	
23	23	16.442	1779	261	V		1.1058	
24	24	16.545	1526	275	V		0.9483	
25	25	17.333	4047	321			2.5155	→ C 22:0
26	26	18.635	919	69			0.5713	
27	27	20.246	28261	1046			17.5652	→ C 24:0
28	28	20.382	2015	419	V		1.2526	
29	29	20.467	5103	444	V		3.1718	
30	30	20.838	840	68	V		0.522	
31	31	21.685	634	54			0.394	
32	32	22.482	3990	137			2.48	
33	33	23.133	3679	229	V		2.2864	
TOTAL			168894	16710			100	

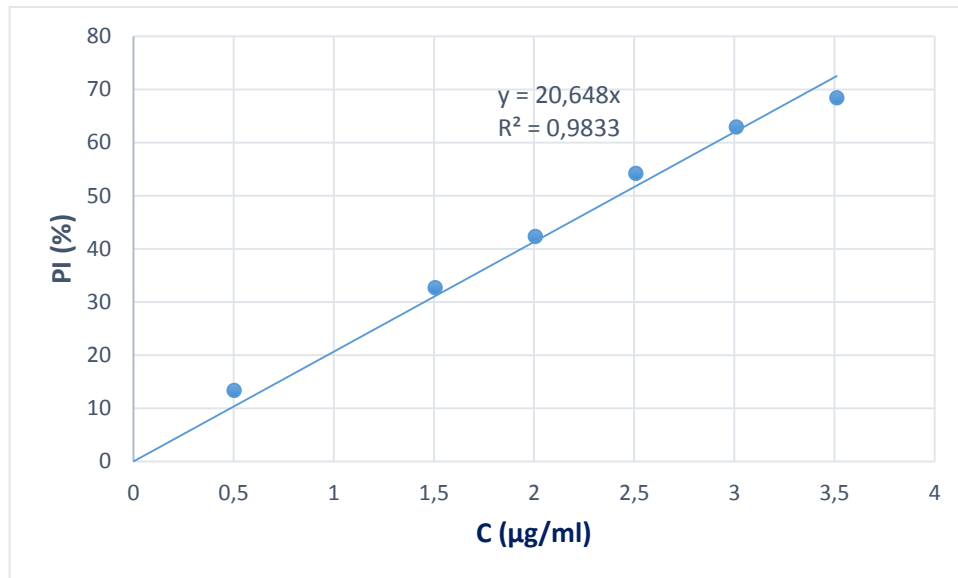
Le chromatogramme de l'échantillon G2G



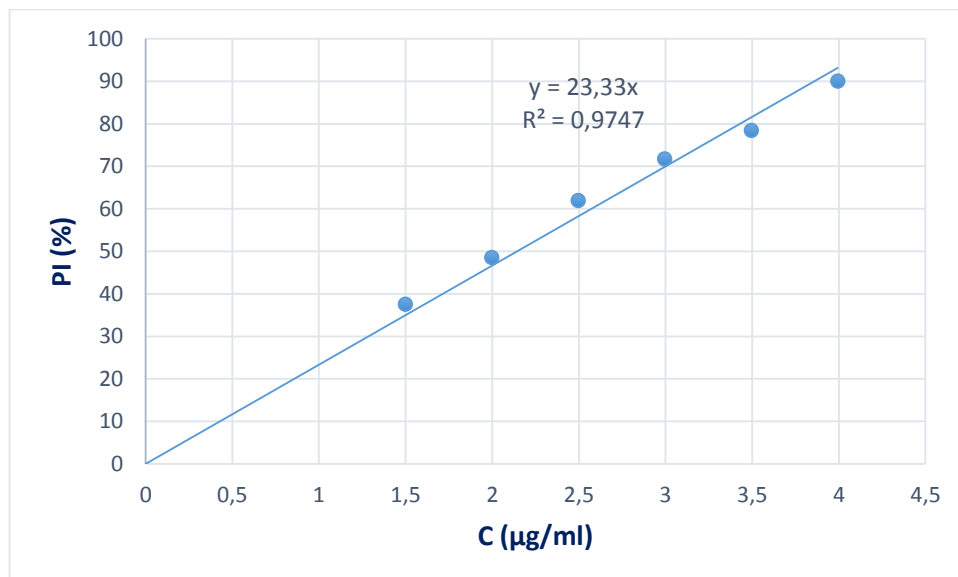
Annexe V

Les courbes de pourcentage d'inhibition des radicaux libres DPPH (%) en fonction de la concentration des extraite phénoliques ($\mu\text{g/ml}$) pour chaque échantillon.

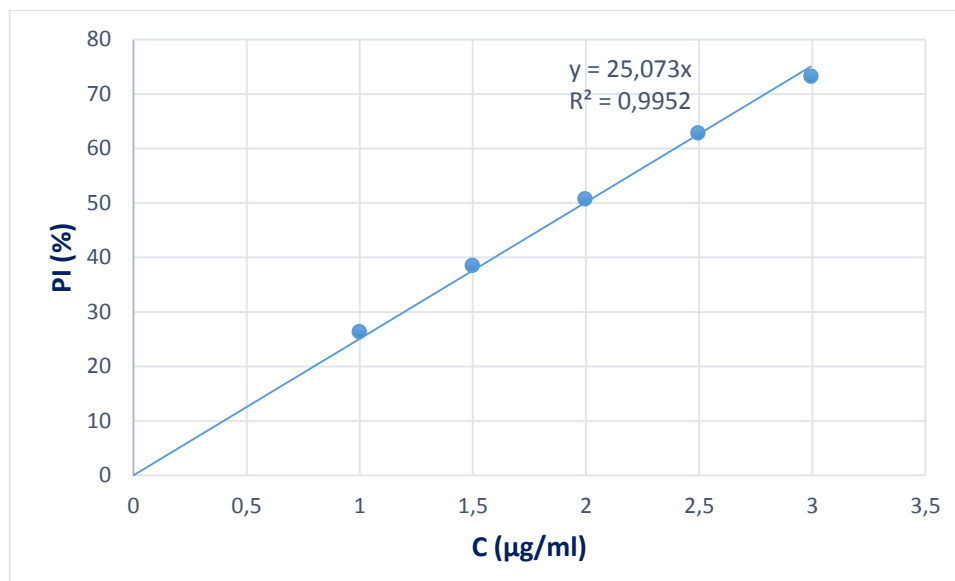
G1G extrait par acétone/eau (7/3, v/v)



G2G extrait par acétone/eau (7/3, v/v)



G1G extrait par méthanol/eau (8/2, v/v)



G2G extrait par méthanol/eau (8/2, v/v)

