

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun de Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



**THESE**

Présentée par

**BERRABAH Hicham**

Pour l'obtention du diplôme de doctorat de troisième cycle (LMD)

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** Biologie

**Spécialité :** Adaptation et productivité des plantes cultivées.

**THEME :**

**Caractérisation morphologique, phytochimique et moléculaire pour la valorisation de quelques populations du figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica* L.) en Algérie.**

**Membres de jury :**

Pr. Ahmed ADDA	Université de Tiaret	Président
Pr. Meriem KAID-HARCHE	USTOMB Oran	Examinatrice
Pr. Abderrezak DJABEUR	USTOMB Oran	Examineur
Pr. Mohamed SASSI	Université de Tiaret	Examineur
Dr. Khaled TAIBI	Université de Tiaret	Directeur
Dr. Mohamed BOUSSAID	Université de Tiaret	Co- Directeur

**Année universitaire 2018 – 2019**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à :*

*Mes très chers parents pour leur soutien et leurs encouragements  
durant toutes mes années d'études, sans lesquels je n'aurais jamais  
réussi,*

*Mes chers frères et sœurs et A tous mes proches.*

*Une spéciale dédicace à mes chers amis avec qui j'ai passé mes  
plus beaux moments.*

*Hicham*

## *Remerciement*

La louange est à Dieu, le Seul et Unique à Qui je dois toute mon obéissance et à Qui nous adressons nos amples remerciements ;

Je tiens à exprimer mes remerciements les plus profonds et les plus chaleureux à Monsieur **TAIBI Khaled** pour avoir suivi et dirigé ce travail, pour sa disponibilité et tous les précieux conseils qu'il m'a prodigué tout au long de la réalisation de cette thèse.

Je remercie également, Monsieur **BOUSSAID Mohamed**, le co-directeur de thèse, pour sa précieuse collaboration, son aide et ses conseils.

Je tiens à remercier Madame **REZZOUG Wafaa** pour sa collaboration durant les trois premières années de ma thèse.

Je tiens à exprimer également ma profonde gratitude à Monsieur **ADDA Ahmed** pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ma soutenance. Mes vifs remerciements s'adressent à Madame **KAID-HARCHE Meriem** et Monsieur **DJABEUR Abderrezak** de l'Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed BOUDIAF (USTOMB) et Monsieur **SASSI Mohamed** de l'université de Tiaret, aient accepté de faire partie de mon jury de thèse et d'avoir consacré un peu de leur temps précieux pour juger mon travail.

Mes remerciements iront également à Madame **AIT ABDERRAHIM Leila**, pour ses conseils, et son aide.

Je tiens à remercier aussi Monsieur **César Benito Jiménez** du département de génétique de l'Université Complutense de Madrid (Espagne) pour son accueil et surtout pour l'aide fourni lors de la réalisation de l'analyse moléculaire, qu'il retrouve ici ma sincère reconnaissance et mes respects.

Je tiens à remercier également Monsieur **BENKHATOU Abdelkader** et tous les ingénieurs des laboratoires de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Tiaret.

Je ne saurai terminer sans remercier, les personnes précieuses qui ont contribué aussi à la finalisation de ce travail, je suis reconnaissant à Abdou, Abderrahemen, Bilal, Amine, Hocine, Benchohra, Belkacem, Nourredine, Habiba, Kawther, Nadia, Hasna, Fatiha, Assia, pour leurs aides et leur soutien, durant la réalisation de ce travail, leur sincère amitié.

*Hicham*

## المخلص

التين الشوكي هو نوع من الفصيلة الصبارية ، له خصائص طبية وغذائية وصناعية وزراعية متعددة. في الجزائر؛ هذا النوع يتطلب المزيد من الدراسات حول مكوناته ، وأنشطته البيولوجية و توزيعه الجغرافي البيئي.

تركز دراستنا على توصيف التباين المورفولوجي والكيميائي النباتي ضمن كل عشيرة او بين مختلف العشائر الستة لعدة مناطق مناخية في الجزائر. يعتبر هذا البحث هو الأول من نوعه الذي يدرس تأثير الظروف البيئية على مورفولوجيا هذا النوع وتركيبه الحيوي للكيمويات النباتية وتراكمها و نشاط مضادات الأكسدة المرتبطة به ، بالإضافة إلى ذلك ، تمثل الدراسة الأولى التي أجريت على التركيب الكيميائي النباتي ونشاط مضادات الأكسدة من المنتجات الثانوية للتين الشوكي من المادة الوراثية الجزائرية.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الخصائص المختلفة التي تم قياسها تتأثر بشدة بالظروف البيئية ، خاصة كمية الأمطار. لقد تم إثبات الارتباط الكبير بين الصفات الخضرية والصفات التكاثرية. كشف تحليل الصفات الخضرية والصفات التكاثرية الكمية عن مجموعتين مختلفتين ضمن التباين المدروس : تميزت العشائر الموجودة في المرتفعات العالية "عين الدفلى" و "مسيلة" و "تيارت" بمحتواهم المنخفض من المركبات الفينولية بالإضافة إلى محتوهم العالي من الفلافونويد والسكريات. وعكس ذلك ، أظهرت العشائر الموجودة على إرتفاعات منخفضة مستويات عالية من البوليفينول والعفص المكثف ولكن السكريات أقل. بالإضافة إلى ذلك ، أظهرت جميع العشائر نشاطاً مضاداً للأكسدة قابل للاكتشاف والذي يختلف مع محتوى النبات في المركبات النشطة حيوياً. بالإضافة إلى ذلك ، يحتوي الألواح والزهور على أعلى محتوى من مركبات الفينول ونشاط مضاد للأكسدة بشكل كبير مقارنة بأجزاء النبات الأخرى.

فيما يتعلق بالنمط الوراثي ، لم تظهر العشائر الستة المدروسة لتين الشوكي أي تنوع وراثي هام فيما بينها وذلك باستخدام تقنية التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية (ISSR).

## الكلمات المفتاحية

التين الشوكي ، *Opuntia ficus indica* L.، التنوع، النمط الظاهري، كيمياء نباتية، ISSR، تثمين، الجزائر.

## Résumé

Le figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica* L.), cactus appartenant au genre *Opuntia*, recèle de multiples propriétés médicinales, alimentaires, industrielles et agroécologiques. En Algérie, cette espèce nécessite des études plus approfondies sur leur composants, leurs activités biologiques et leur distribution géo-écologique.

Cette étude porte sur la caractérisation de la variabilité morphologique, phytochimique et génétique intra et inter-populationnelle de six populations du figuier de barbarie *O. ficus-indica* L. en Algérie issues de différents étages bioclimatiques. Cette investigation est considérée la première qui étudie l'impact de la variation des conditions environnementales sur la morphologie de l'espèce, la biosynthèse et l'accumulation des composés phytochimiques et l'activité antioxydante qui lui sont associée. De plus, elle représente la première étude menée sur la composition phytochimique et l'activité antioxydante des sous-produits d'*O. ficus-indica* L. à partir du matériel génétique algérien.

Les résultats obtenus montrent que les différents caractères mesurés sont influencés fortement par les conditions de l'environnement surtout par les précipitations. Des corrélations significatives entre les traits végétatifs et les traits de reproduction ont été démontrées. L'analyse des traits végétatifs et de reproduction a permis de déceler deux groupes différents au sein de la variabilité étudiée : les populations issues de hautes altitudes à savoir celles de 'Ain Defla', 'Msila' et 'Tiaret' ont été caractérisés par leur faible teneurs en composés phénoliques et par leurs teneurs élevées en flavonoïdes et en sucres. Cependant, les populations provenant de basses altitudes ont été caractérisées par des teneurs élevées en polyphénols et en tanins condensés contre des teneurs faibles en sucres.

De plus, toutes les populations ont démontré une activité antioxydante décelable qui varie en fonction de l'organe et des teneurs en composés bioactifs. De plus, les cladodes et les fleurs présentent les teneurs en composés phénoliques les plus élevées et une activité antioxydante importante comparativement aux autres parties de la plante.

Sur le plan génétique, les six populations d'*O. ficus-indica* étudiées n'ont pas présenté une variabilité génétique sur la base des amorces sélectionnées du marqueur moléculaire ISSR.

## Mots clés

Figuier de barbarie, *Opuntia ficus-indica* L., variabilité, phénotype, phytochimie, ISSR, valorisation, Algérie.

## **Abstract**

The prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) is a cactus belonging to the genus *Opuntia* having multiple medicinal, nutritional, industrial and agroecological properties. In Algeria, this species requires more studies on their components, biological activities and geo-ecological distribution.

Our study focuses on the characterization of the intra and inter-population morphological, phytochemical and genetical variability of six populations of the prickly pear *O. ficus-indica* L. in Algeria belonging to different bioclimatic stages. This investigation is considered the first which study the impact of the variation of environmental conditions on the species morphology, the biosynthesis and accumulation of phytochemicals and the antioxidant activity associated with it. In addition, it represents the first study conducted on the phytochemical composition and antioxidant activity of the by-products of *O. ficus-indica* L. from Algerian genetic material.

The obtained results show that the different measured traits are strongly influenced by the environmental conditions, especially by precipitation and altitude. Significant correlations between vegetative and reproductive traits have been demonstrated. The analysis of vegetative and reproductive traits revealed two different groups within the studied variability: populations from high altitudes namely those of 'Ain Defla', 'Msila' and 'Tiaret' were characterized by their low content of phenolic compounds and their high levels of flavonoids and sugars. However, populations from low altitudes were characterized by high polyphenols contents and condensed tannins against low sugars content. In addition, all populations demonstrated detectable antioxidant activity that varies with plant content in bioactive compounds. In addition, cladodes and flowers have the highest content of phenolic compounds and significant antioxidant activity compared to other parts of the plant.

Concerning the genetical variability, the six studied populations of *O. ficus-indica* did not show genetic variability based on selected primers of the ISSR molecular marker.

## **Keywords**

Prickly pear, *Opuntia ficus indica* L., variability, phenotype, phytochemistry, ISSR, valorization, Algeria.

Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Distribution géographique du figuier de Barbarie .....	7
<b>Figure 2.</b> Les organes de la plante de figuier de barbarie .....	10
<b>Figure 3.</b> La germination et développement d'une graine d' <i>Opuntia</i> .....	10
<b>Figure 4.</b> Structures de base des flavonoïdes .....	13
<b>Figure 5.</b> Structure chimique de tanin condensé .....	13
<b>Figure 6.</b> Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène .....	16
<b>Figure 7.</b> Sites de prélèvement d' <i>Opuntia ficus –indica</i> L.....	17
<b>Figure 8.</b> Caractérisation morphologique du cladode d' <i>Opuntia ficus –indica</i> L.....	22
<b>Figure 9.</b> Les traits morphologiques du fruit.....	22
<b>Figure 10.</b> Séparation de l'écorce et de la pulpe d' <i>Opuntia ficus-indica</i> L. ....	23
<b>Figure 11.</b> Graines d' <i>Opuntia ficus-indica</i> L. ....	24
<b>Figure 12.</b> Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gausson relatif à la provenance de Tiaret.....	25
<b>Figure 13.</b> Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gausson relatif à la provenance de Relizane. ....	26
<b>Figure 14.</b> Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gausson relatif à la provenance de Mascara.....	27
<b>Figure 15.</b> Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gausson relatif à la provenance de Tizi Ouzou ... ..	28
<b>Figure 16.</b> Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gausson relatif à la provenance de Msila. ....	28
<b>Figure 17.</b> Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gausson relatif à la provenance de Ain Defla.....	29
<b>Figure 18.</b> Description statistique de la variabilité enregistrée dans la longueur du fruit de six populations d' <i>Opuntia ficus indica</i> L. en Algérie.....	30
<b>Figure 19.</b> Description statistique de la variabilité enregistrée dans le diamètre du fruit de six populations d' <i>Opuntia ficus-indica</i> L. en Algérie. ....	31
<b>Figure 20.</b> Description statistique de la variabilité enregistrée dans le diamètre de réceptacle de six populations d' <i>Opuntia ficus-indica</i> L. en Algérie.....	32



<b>Figure 21.</b> Description statistique de la variabilité enregistrée dans le poids du fruit de six populations d' <i>Opuntia ficus-indica</i> L. en Algérie .....	32
<b>Figure 22.</b> Description statistique de la variabilité enregistrée dans le nombre des aréoles par fruit de six populations d' <i>Opuntia ficus-indica</i> L. en Algérie.....	33
<b>Figure 23.</b> Description statistique de la variabilité enregistrée dans le poids de l'écorce du fruit des six populations d' <i>Opuntia ficus-indica</i> L. en Algérie .....	34
<b>Figure 24.</b> Description statistique de la variabilité enregistrée dans l'épaisseur de l'écorce du fruit des six populations d' <i>Opuntia ficus-indica</i> L. en Algérie. ....	35
<b>Figure 25.</b> Description statistique de la variabilité enregistrée dans le poids des graines de six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie .....	36
<b>Figure 26.</b> Description statistique de la variabilité enregistrée dans le nombre de graines fertiles des six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie .....	37
<b>Figure 27.</b> Description statistique de la variabilité enregistrée dans le nombre des graines avortées par fruits des six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie.....	38
<b>Figure 28.</b> Description statistique de la variabilité enregistrée dans la longueur de cladode de six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie .....	39
<b>Figure 29.</b> Description statistique de la variabilité enregistrée dans la largeur de cladode de six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L en Algérie. ....	40
<b>Figure 30.</b> Description statistique de la variabilité enregistrée dans l'épaisseur des cladodes des six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie.....	41
<b>Figure 31.</b> Description statistique de la variabilité enregistrée dans le nombre des aréoles par cladode des six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie.....	42
<b>Figure 32.</b> Description statistique de la variabilité enregistrée dans le nombre de fruits par cladode des six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie .....	43
<b>Figure 33.</b> Description statistique de la variabilité enregistrée dans la hauteur de pied des six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie. ....	44
<b>Figure 34.</b> Analyse en composantes principales élaborée sur les traits mesurés et les variables environnementales .....	48
<b>Figure 35.</b> Classification automatique hiérarchisé regroupant toutes les variables. ....	49
<b>Figure 36.</b> Variation de la teneur en polyphénols dans les différents organes d' <i>O. ficus-indica</i> L. provenant de six populations en Algérie.....	59
<b>Figure 37.</b> Variation de la teneur en flavonoïdes dans les différents organes d' <i>O. ficus-indica</i> L. provenant de six populations en Algérie.....	60

<b>Figure 38.</b> Variation de la teneur en tanins condensés dans les différents organes d' <i>O. ficus-indica</i> L. provenant de six populations en Algérie .....	62
<b>Figure 39.</b> Teneur en sucres totaux dans différents organes de six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie .....	64
<b>Figure 40.</b> Teneur en sodium (Na) dans différents organes de six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie .....	65
<b>Figure 41.</b> Teneur en potassium (K) dans différents organes de six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie. ....	67
<b>Figure 42.</b> Teneur en calcium (Ca) dans différents organes de six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie .....	69
<b>Figure 43.</b> Teneurs exprimées en équivalent acide ascorbique dans différents organes de six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie.....	71
<b>Figure 44.</b> Teneurs exprimées en équivalent acide gallique dans différents organes de six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie.....	72
<b>Figure 45.</b> Analyse en composantes principales élaborée sur les teneurs en métabolites et les variables environnementales .....	75
<b>Figure 46.</b> Bandes amplifiées générées par quelques amorces ISSR.....	86
<b>Figure 47.</b> Gel d'électrophorèse des produits d'amplification ISSR en utilisant l'amorce 807, 808,810 sur les six populations d' <i>O. ficus indica</i> L.....	87
<b>Figure 48.</b> Gel d'électrophorèse des produits d'amplification ISSR en utilisant l'amorce 811, 813, 823 sur les six populations d' <i>O. ficus indica</i> L.....	88
<b>Figure 49.</b> Gel d'électrophorèse des produits d'amplification ISSR en utilisant l'amorce 835, 845, 864 sur les six populations d' <i>O. ficus indica</i> L.....	89
<b>Figure 50.</b> Gel d'électrophorèse des produits d'amplification ISSR en utilisant l'amorce 888 sur les six populations d' <i>O. ficus indica</i> L. ....	90

---

Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Données géographiques et climatiques des sites de prélèvement... ..	18
<b>Tableau 2.</b> Caractères qualitatifs retenus par les fruits (UPOV 2004).....	23
<b>Tableau 3.</b> Analyse de la variance à un seul facteur de variation au seuil de sécurité 95% de l'effet de la provenance sur la variabilité enregistré de la morphologie du fruit d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie .....	30
<b>Tableau 4.</b> Analyse de la variance à un seul facteur au seuil de sécurité 95% de l'effet de la provenance sur la variabilité de la morphologie de l'écorce du fruit des six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie.....	34
<b>Tableau 5.</b> Analyse de la variance à un seul facteur au seuil de sécurité 95% de l'effet de la provenance sur la variabilité morphologique des graines des six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie .....	36
<b>Tableau 6.</b> Analyse de la variance à un seul facteur au seuil de sécurité 95% de l'effet de la provenance sur la variabilité de la morphologie de cladode des six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie .....	39
<b>Tableau 7.</b> Analyse de la variance à un seul facteur au seuil de sécurité 95% de l'effet de la provenance sur la variabilité de la hauteur de pied des six populations d' <i>Opuntia ficus-indica</i> L en Algérie .....	43
<b>Tableau 8.</b> Forme du fruit des six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie .....	45
<b>Tableau 9.</b> Forme de réceptacle des six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L en Algérie .....	46
<b>Tableau 10.</b> Forme de pédoncule des six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L en Algérie .....	47
<b>Tableau 11.</b> Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs en polyphénols d' <i>O. ficus-indica</i> L. provenant de six populations en Algérie ....	58
<b>Tableau 12.</b> Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs en flavonoïdes d' <i>O. ficus-indica</i> L. provenant de six populations en Algérie .....	60
<b>Tableau 13.</b> Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs en tanins condensés d' <i>O. ficus-indica</i> L. provenant de six populations en Algérie.....	61
<b>Tableau 14.</b> Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs en sucres totaux d' <i>O. ficus-indica</i> L. provenant de six populations en Algérie .....	63

## Liste des tableaux

<b>Tableau 15.</b> Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs en sodium d' <i>O. ficus-indica</i> L. provenant de six populations en Algérie.....	65
<b>Tableau 16.</b> Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs en potassium d' <i>O. ficus-indica</i> L. provenant de six populations en Algérie.....	66
<b>Tableau 17.</b> Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs en calcium d' <i>O. ficus-indica</i> L. provenant de six populations en Algérie. ....	68
<b>Tableau 18.</b> Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs exprimées en équivalent acide ascorbique d' <i>O. ficus-indica</i> L. provenant de six populations en Algérie .....	70
<b>Tableau 19.</b> Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs exprimées en équivalent acide gallique d' <i>O. ficus-indica</i> L. provenant de six populations en Algérie .....	71
<b>Tableau 20.</b> Concentration d'inhibition (IC 50) des radicaux DPPH exprimée en mg/ml dans les différents organes de six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie .....	73
<b>Tableau 21.</b> Concentration efficace (EC 50) évaluée par le test FRAP exprimée en mg/ml dans les différents organes de six populations d' <i>O. ficus-indica</i> L. en Algérie .....	74
<b>Tableau 22.</b> Les 10 amorces sélectionnées .....	86

## Signification des symboles et des abréviations

---

<b><math>\sigma</math></b>	: Ecart type
<b>%</b>	: Pour cent
<b>° C</b>	: Degré Celsius
<b>Abs</b>	: Absorbance
<b>ACP</b>	: Analyse en composante principale
<b>ANOVA</b>	: Analysis of variance
<b>Arl</b>	: Aréole
<b>C.M</b>	: Carrées moyennes
<b>CDB</b>	: Convention sur la diversité biologique
<b>Clad</b>	: Cladode
<b>Cm</b>	: Centimètre
<b>Cm<sup>2</sup></b>	: Centimètre carré
<b>ddl</b>	: Degré de liberté
<b>Diam</b>	: Diametre
<b>DPPH</b>	: 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl
<b>EAG</b>	: Equivalent d'acide gallique
<b>EAq</b>	: Extrait aqueux
<b>EC50</b>	: Concentration effective à 50 %
<b>EQ</b>	: Equivalents de quercétine
<b>Épais</b>	: Epaisseur
<b>F</b>	: Fisher
<b>FAO</b>	: Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
<b>g</b>	: Gramme
<b>GPS</b>	: Géo-positionnement par satellite

## Signification des symboles et des abréviations

---

<b>Graines A</b>	: Graines Avortées
<b>Graines F</b>	: Graines Fertiles
<b>IC50</b>	: Concentration inhibitrice à 50%
<b>Larg</b>	: Largeur
<b>Long</b>	: Longueur
<b>m</b>	: Mètre
<b>m<sup>2</sup></b>	: Mètre carré
<b>Mg</b>	: Milligramme
<b>ml</b>	: Millilitre
<b>mm</b>	: Millimètre
<b>Ms</b>	: Matière sèche
<b>Nbr</b>	: Nombre
<b>OFI</b>	: <i>Opuntia ficus indica</i>
<b>P</b>	: Probabilité
<b>pH</b>	: Potentiel Hydrogène
<b>r</b>	: Coefficient de corrélation
<b>S.C</b>	: Somme des carrées
<b>RL</b>	: Radicaux libres
<b>UV</b>	: Ultra-violet
<b>VAR</b>	: Variance
<b>V/V</b>	: Volume/volume

# Table des matières

-Remerciements

-Dédicace

- الملخص

- Résumé

- Abstract

- Liste des figures

- Liste des tableaux

- Liste des abréviations

- Table des matières

- Introduction

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Notions de biodiversité	3
1.1. Définitions	3
1.2. Les échelles de la biodiversité	3
1.3. Importance de la biodiversité	4
1.4. La biodiversité méditerranéenne	4
1.5. Conservation de la biodiversité	4
1.6. Notion de marqueurs en biodiversité	5
2. Le figuier de barbarie ( <i>Opuntia ficus-indica</i> MILLER L.) en Algérie	7
2.1 Présentation générale du figuier de barbarie	7
2.2. Origine et mise en place des cactacées en Algérie	7
2.3. Aperçu général sur le figuier de barbarie	8
2.4. Principales caractéristique morphologiques	8
2.5. Reproduction du figuier de barbarie	10
2.6. Exigences édapho-climatiques	11

2.7. Importance de figuier de barbarie	11
2.7.1. Ecologique	11
2.7.2. Economique	11
2.7.3. Zootechnique	11
2.7.4. Nutritionnel	11
2.7.5. Thérapeutique et cosmétique	11
3. Les métabolites secondaires	12
3.1. Définition	12
3.2. Les composés phénoliques	12
3.2.1 Les polyphénols	12
3.2.2. Les flavonoïdes	13
3.2.3. Les Tanins	13
3.2.4. Les Coumarines	14
3.3. Les Terpénoïdes et stéroïdes	14
3.4. Les Alcaloïdes	14
4. Stress oxydatif et antioxydants	15
4.1. Radical libre	15
4.2. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	15
4.3. Antioxydants et systèmes de défense	15
4.4. Antioxydants enzymatiques	15
4.5. Antioxydants non enzymatiques	16

## **Chapitre 1 : Etude de la variabilité morphologique**

1. Introduction	17
2. Description des provenances	17
3. Méthodologie	18
3.1. Caractérisation des provenances	18
3.1.1. Caractérisation du sol	18
3.1.2. Caractérisation du climat	20
3.2. Caractérisation de la plante	21
4. Analyses statistiques des données	24
5. Résultats	25
5.1. Caractérisation des provenances	25



5.2. Caractérisation de la plante	30
5.2.1. Caractérisation du fruit	30
5.2.2. Caractérisation de l'écorce	33
5.2.3. Caractérisation des graines	35
5.2.4. Caractérisation de cladode	38
5.2.5. Caractérisation de la hauteur de pied	43
5.2.6. Caractérisation qualitative	44
5.3. Etude des relations phénotype-environnement	47
6. Discussion	50

## **Chapitre 2 : Etude phytochimique**

1. Préparation des échantillons	53
2. Extractions par macération à froid	54
3. Quantification des métabolites	54
3.1. Polyphénols	54
3.2. Flavonoïdes	54
3.3. Tanins condensés	55
3.4. Sucres totaux	55
3.5. Sels minéraux	56
4. Evaluation de l'activité antioxydante	56
4.1. Méthode de Di-Phényl-Picryl-Hydrazyl (DPPH)	56
4.2. Méthode de réduction du fer (FRAP)	56
5. Analyse statistique	57
6. Résultats	58
6.1. Teneurs en métabolites	58
6.2. Evaluation de l'activité antioxydante	70
6.3. Relations entre les métabolites, l'activité antioxydante et les conditions du milieu	74
7. Discussion	76

## **Chapitre 3 : Caractérisation moléculaire**

1. Matériel et méthodes	84
1.1. Extraction de l'ADN génomique	84
1.2. Electrophorèse sur gel d'agarose	85
2. Résultats et discussion	86

### **Conclusion**

Conclusion générale et perspectives	92
-------------------------------------	----

### **Références bibliographiques**

Références bibliographiques	95
-----------------------------	----

# **Introduction**

## Introduction

Le bassin méditerranéen est l'une des plus importantes régions riches en biodiversité en termes de nombre de plantes ; il se caractérise essentiellement par une grande richesse floristique et un grand nombre d'espèces endémiques fortement localisées (Mittermeier et al. 2004).

L'Algérie est reconnue comme l'un des points chauds les plus importants de la Méditerranée et l'un des rares pays méditerranéens qui renferment la plupart des étages bioclimatiques définis par Emberger (1955, 1971) et Médail et Quézel (1997). Elle possède un patrimoine floristique riche et varié dans lequel de nombreuses plantes aromatiques et médicinales sont recensées. Différentes molécules bioactives telles que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les caroténoïdes ont été identifiées et pourraient être valorisés par le biais de leur utilisation pour le développement d'aliments fonctionnels et de médicaments thérapeutiques naturels (Boussaid et al. 2018).

Le climat en Algérie est caractérisé par des précipitations faibles et/ou irrégulières emmenant à de longues périodes estivales sèches qui favorisent l'extension d'espèces résistantes à la sécheresse notamment le figuier de barbarie.

Le figuier de barbarie *Opuntia ficus-indica* L. connaît un regain d'intérêt dans plusieurs pays en raison de son rôle écologique, environnemental et socio-économique (Nobel et al. 1992). Cette espèce originaire du Mexique est un bon complément alimentaire pour les minéraux, le glucose, le fructose comme elle pourrait également constituer un additif important pour les aliments fonctionnels (El-Sayed 2014) riches en fibres alimentaires et en antioxydants naturels (Bensadón et al. 2010). Sinon, elle a un intérêt sain comme la prévention des troubles neurodégénératifs (Jungsook 2007).

Les différentes parties du figuier de Barbarie, à savoir les cladodes, les fruits et les fleurs ont été largement utilisées en médecine traditionnelle ou en tant que constituants fonctionnels de produits alimentaires et pharmaceutiques (Kaur 2012). Des études antérieures ont montré que les fruits et les cladodes renferment divers composés phytochimiques présentant une puissante activité antioxydante et d'autres propriétés fonctionnelles qui ont attiré l'intérêt des domaines de la nutraceutique et de l'alimentation saine (Stintzing 2005).

De plus, les fruits sont la principale commercialisation de cette plante alors que les parties de cladodes sont généralement utilisées comme aliments pour les animaux d'élevage dans certains pays (Reynolds et al. 2001) ou à la consommation humaine (Feugang et al. 2006).

Aussi bien, les cladodes constituent une source importante d'antioxydants et de nutraceutiques naturels (Chavez 2009) et sont aussi utilisées dans la production des bonbons, des liqueurs, des lotions pour le corps, des crèmes et shampooings (Stintzing et al. 2005).

Ainsi, les fleurs de cactus ont été utilisées dans les médecines traditionnelles pour le traitement

de nombreuses maladies tels que l'inflammation, le diabète, les maladies rénales et les ulcères d'estomac (Benayad 2014).

Il est à noter que les huiles des graines *Opuntia ficus-indica* L. sont riches en matières insaponifiables et en acides gras essentiels ce qui ont en fait un bon atout pour son exploitation en cosmétologie et comme huile de table (Habibi 2004 ; Habibi et al. 2005). Par ailleurs, les graines renferment divers composés phytochimiques tels que les métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes et tanins) qui pourraient justifier leur exploitation industrielle comme antioxydants naturels (El Kossori et al. 1998; Cardador-Martinez et al. 2011). Trop peu d'études ont été rapportées par la littérature sur cette composition phénolique ainsi que sur son activité biologique voire antioxydante.

La pelure ou l'écorce du fruit représente une proportion importante du fruit entier (de 40% à 50%) mais elle est considérée comme un déchet ou un sous-produit rejetée. L'écorce du cactus constitue une source de composés bioactifs, notamment les composés phénoliques, les flavonoïdes et les bétalaïnes (Abou-Elella et Ali 2014).

Le fruit de figuier de barbarie est consommé en tant que fruit frais alors que la pulpe est utilisée dans différents produits alimentaires, comme les jus et les confitures, ce qui conduit à une production importante de déchets tels que des pelures et des graines qui doivent être valorisées dans la production de sous-produits à usage dans la nourriture, la cosmétique et la thérapeutique.

Il convient de noter que la structure génétique des plantes médicinales, les différents métabolites et leurs activités antioxydantes associées sont influencés par les conditions géographiques et environnementales (Jugran et al. 2013 ; Bahukhandi et al. 2014).

Le manque d'information sur le niveau de la diversité du figuier de barbarie en Algérie rend sa valorisation très difficile. Dans cette optique, la caractérisation de l'espèce s'avère plus que nécessaire.

Dans ce contexte, le présent travail porte sur la caractérisation morphologique, phytochimique et moléculaire de quelques populations du figuier de barbarie *Opuntia ficus-indica* L. en Algérie provenant des conditions écologiques et bioclimatiques différentes. Cette étude porte sur l'analyse morphométrique des traits végétatifs et de reproduction et sur l'évaluation des teneurs des différents organes d'*O. ficus-indica* L. en composés phénoliques, sucres, sels minéraux et activité antioxydante afin de cibler la partie riche de ces molécules d'une part, et de sélectionner les différentes provenances qui disposent un taux élevé en composés phytochimiques d'autre part. L'étude de la variabilité génétique a été réalisée par le biais des marqueurs moléculaires de type ISSR. De telles informations sont indispensables pour une gestion optimale et une meilleure valorisation de cette espèce.

# **Synthèse bibliographique**

## Synthèse bibliographique

### 1. Notions de biodiversité

#### 1.1. Définitions

Longtemps confinée dans la seule sphère des sciences de la nature, la biodiversité pénétra le champ des sciences de l'homme et de la société lors de la CDB de la conférence de Rio (1992) sur l'environnement et le développement, ce qui étendit considérablement son sens et explique qu'on lui ait donné plus d'une centaine de définitions (Blondel 2010).

La diversité biologique ou biodiversité désigne la variété des formes de vie comprenant les plantes, les animaux et les micro-organismes, les gènes qu'ils contiennent et les écosystèmes qu'ils forment (Parizeau 1997). Par ailleurs, la diversité biologique est définie par (Zaghloul 2004) comme étant les différentes unités génétiques rencontrées au sein de chaque espèce parmi les espèces vivantes et les différentes espèces rencontrées dans n'importe quel écosystème connu ainsi que les différents écosystèmes constituant (composante) une région donnée.

De manière assez conventionnelle mais efficace d'un point de vue opérationnel, le biologiste reconnaît habituellement trois grands niveaux d'approche de la biodiversité ; diversité génétique, diversité spécifique et diversité écosystémique (Solbrig 1991; Heywood et Watson 1995).

#### 1.2. Les échelles de la biodiversité

La biodiversité est l'ensemble des complexes écologiques où les organismes vivent dans la biosphère (Ramade 2014) ; celui de la variété naturelle rencontrée sur la Terre, celui de la variabilité rencontrée parmi les organismes, ainsi que celui des processus par lesquels les organismes interagissent les uns avec les autres et avec leurs environnements physiques (Heywood et Watson 1995).

Par ailleurs, et selon l'Union Mondiale pour la Nature (UICN) en 1994, « La biodiversité est l'ensemble des gènes, des espèces et des écosystèmes d'une région ».

La diversité génétique désigne la variabilité des gènes entre les individus et les populations d'une même espèce (Dajoz 2006). Elle est quantifiée par l'approche phénotypique, l'analyse de la variabilité enzymatique et l'analyse directe de la variabilité génétique (séquençage de l'ADN) (Parizeau 2001).

La diversité spécifique correspond à la variation entre les espèces, qui intéresse particulièrement les taxinomistes, les écologistes et les défenseurs de l'environnement et désigne le nombre, l'abondance ou la rareté, et l'endémisme des espèces; elle est couramment admise comme synonyme du terme original "diversité" utilisé par les écologistes théoriques lorsqu'ils parlent de compétition et de coexistence des espèces (Pielou 1994).

La diversité des écosystèmes exprime la variation qui existe au niveau des environnements physique et des communautés biotiques (Ramade 2014). Elle se rapporte au lieu où vivent différentes espèces vivantes, les liens avec les caractéristiques de ce lieu et les liens qui se tissent entre les différentes espèces habitant ce lieu (Kurth et Thurre 2006).

### **1.3. Importance de la biodiversité**

Différentes recherches tendent à montrer que plus un écosystème est diversifié, plus il est productif et plus il est résistant aux perturbations. La biodiversité peut donc être considérée comme l'assurance tous risques de l'humanité. Ce dernier aspect montre à quel point sa préservation est importante dans le cadre de changements climatiques (Marie Meureau 2008).

La biodiversité constitue un patrimoine naturel indispensable à nos besoins actuel et futur : nourriture, médicaments, matériaux de construction, maintien de la qualité des eaux et de la fertilité des sols, fixation du gaz carbonique de l'air, équilibres naturels... Elle offre également à la science de nouvelles pistes de progrès (médecine, bionique, dépollution de l'air, des sols, de l'eau...). La biodiversité a aussi une valeur sociale (qualité de vie, éducation...), culturelle (art, histoire...) et esthétique (paysages). Or, la surexploitation de la biodiversité met en danger ces fonctions essentielles, donc la sauvegarde de la biodiversité est devenue un enjeu majeur de siècle, au même titre que la lutte contre le changement climatique (Delanoe et Giboudeau 2010).

### **1.4. La biodiversité méditerranéenne**

Le bassin méditerranéen est considéré comme l'un des 33 points chauds (hotspots) (Greuter 1991 ; Quezel 1995 ; Mittermeier et al. 2004) les plus riches et les plus complexes sur les plans géologique, biologique et culturel (Blondel et al. 2010). Par sa diversité biologique et son degré d'endémisme élevés (Myres et al. 2000) qui représente un taux de 60% (Thompson 2005).

L'ancienne région Numidie (Algérie) est reconnue comme l'un des points chauds les plus importants de la Méditerranée (Médail et Quezel 1997; Benhouhou et Vela 2007). Elle compte environ 1600 espèces qui sont réparties dans différents écosystèmes, cette biodiversité est moyennement conservée même s'il y a lieu de relever l'existence de menaces pesantes (Abdelguerfi et al. 2009).

### **1.5. Conservation de la biodiversité**

La conservation de la diversité biologique est devenue depuis ces dernières décennies, notamment depuis la conférence de Rio en 1992, une préoccupation de nombreux gouvernements et organisations internationales en vue de stopper l'érosion massive de la biodiversité et de prévenir une grande crise biologique.

La conservation des bénéfices que les animaux et les végétaux sont susceptibles d'apporter à l'humanité (nouvelles fibres, nouvelles molécules, réservoir génétique...) sont encore peu explorés et il convient donc de regarder l'ensemble de la biodiversité comme une source de bénéfices potentiels à long terme (ICPB 1992).



La conservation de la diversité biologique est devenue l'objet d'une discipline, la biologie de la conservation. Dans la convention sur la diversité biologique, cinq points ont été énoncés : identifier les composants de cette diversité (écosystème, espèces) ; établir un réseau d'aires protégées ; adopter des mesures assurant la conservation ex situ ; intégrer la conservation des ressources génétiques dans les politiques des divers pays ; développer des méthodes d'évaluation de l'impact des projets d'aménagement sur la diversité biologique (Roger 2006).

### **1.6. Notion de marqueurs en biodiversité**

Entre les individus d'une même population locale existe déjà une diversité génétique dont l'ampleur apparaît de plus en plus considérable au fur et à mesure que progresse l'efficacité de son analyse.

Autrefois limitée à un petit nombre de cas de polymorphisme visible de la forme ou de la coloration, étendue ensuite à des différences dans les structures chromosomiques, puis à des polymorphismes protéiniques détectés par électrophorèse, elle s'observe aujourd'hui au niveau de la constitution même des gènes grâce aux techniques de la biologie moléculaire. En dehors des organismes d'un même clone, identiques par définition en l'absence de mutations, il n'y a donc pas deux individus qui soient totalement semblables entre eux.

Les marqueurs morphologiques sont les premiers à être observés. Ces marqueurs intéressent diverses parties de la plante, ils représentent des variations de type qualitatif et quantitatif ainsi que des résistances à des maladies ou des ravageurs (Cui et al. 2001). Les caractéristiques phénotypiques constituent un outil incontournable dans la classification et la taxinomie des micros et macro-organismes et continuent, à nos jours, d'être utilisée (Stuessy 1990). Les caractères morphologiques sont très importants et révèlent de la caractérisation et ils ont un déterminisme mono et polygénique. Ils sont limités en nombre et leurs expressions sont souvent fortement influencées par le milieu (Prat et al. 2006). Ces caractères sont utilisés de même pour estimer la variation intra- et inter populations.

L'estimation de la variabilité phénotypique est basée sur des techniques statistiques d'analyse on traite nos données (mesures quantitative et qualitative), et on estime l'importance relative de cette variabilité (significative ou non) (Parizeau 1997).

La cytogénétique végétale a connu de prodigieux développements comme le découvert des propriétés de la colchicine, agent permettant de doubler le stock chromosomique des cellules végétales. On a donc pu imaginer faire des supers-plantes, en augmentant le nombre de chromosomes (plantes polyploïdes). On a aussi pu imaginer d'exploiter plus systématiquement les hybrides entre espèces (Bemard 1992). Alors la polyploïdie joue un rôle considérable dans l'évolution et engendre des difficultés taxonomiques (Vanderhoeven et al. 2002 ; Koutecky 2007) (la polyploïdie joue un rôle très important dans l'évolution des plantes et constitue un mécanisme de diversification et de création de variabilité génétique).

Toutefois, des conditions éco-géographiques peuvent induire des variations au niveau de la taille du génome dans une même espèce (Bures et al. 2004). En effet, la variabilité intra spécifique liée au phénomène de polyploïdie et corrélée aux conditions éco-géographiques, a été rapporté par certains auteurs chez plusieurs plantes (Grime 1983).

Les marqueurs protéiques sont généralement appelés 'marqueurs biochimiques' mais ils sont considérés comme une classe commune sous la dénomination 'marqueurs moléculaires'. Les marqueurs protéiques possédant des propriétés amphotères et qui peuvent être séparées par électrophorèse sur gel ; les protéines de réserve (Zheleva et al. 2007 ; Chaparzadeh et al. 2008 ; Weber et Wirke 1994) et les isozymes ou les empreintes protéiques (Ghimire et al. 2005 ; Ghimire et al. 2006 ; Weber et Wirke 1994).

Les protéines de réserve de graine (gliadines, glutenines) sont facilement séparées par électrophorèse monodimensionnelle sur gel de polysaccharide. Souvent polymorphes, elles se sont avérées un moyen rapide d'identification de diverses espèces ou cultivars (Branlard et al. 1989; Metakostvsky et Baboer 1992).

Les isozymes sont l'ensemble de multiformes, d'une même enzyme résultant génétiquement de différences dans la structure primaire, issus de même organisme (Westmen et Kresovich 1997). Ces marqueurs, bien qu'ils soient co-dominant, sont accusés d'une sous-estimation du polymorphisme réel, seule la partie codante est détectable (Gottlieb 1977).

Pour dépasser la limite du nombre de caractères morphologiques, d'autres marqueurs ont été développés, les marqueurs moléculaires basés sur l'ADN ont été beaucoup utilisés pour identifier, caractériser et évaluer les ressources génétiques (Cadot et al. 2006). Les marqueurs moléculaires présentent différents avantages comparés aux marqueurs morphologiques et protéiques ; très nombreux, neutres vis-à-vis de la sélection, couvrent le génome entier, indépendants de la partie de la plante prélevée et de son stade de développement et indépendants des influences environnementales (FAO, 1996).

## 2. Le figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica* MILLER L.) en Algérie

### 2.1 Présentation générale du figuier de barbarie

Les cactacées sont des angiospermes dicotylédones dialypétales caliciflores de l'ordre des caryophyllacées (Wallace et Gibson 1997), capables d'emmagasiner une grande quantité d'eau et ne présentent aucun danger vis-à-vis de la santé humaine (Habibi 2004). Ils présentent également des valeurs considérables dans les domaines cosmétique, médicinal et alimentaire (Arba 2000 ; Boujghagh et Chajia 2001).

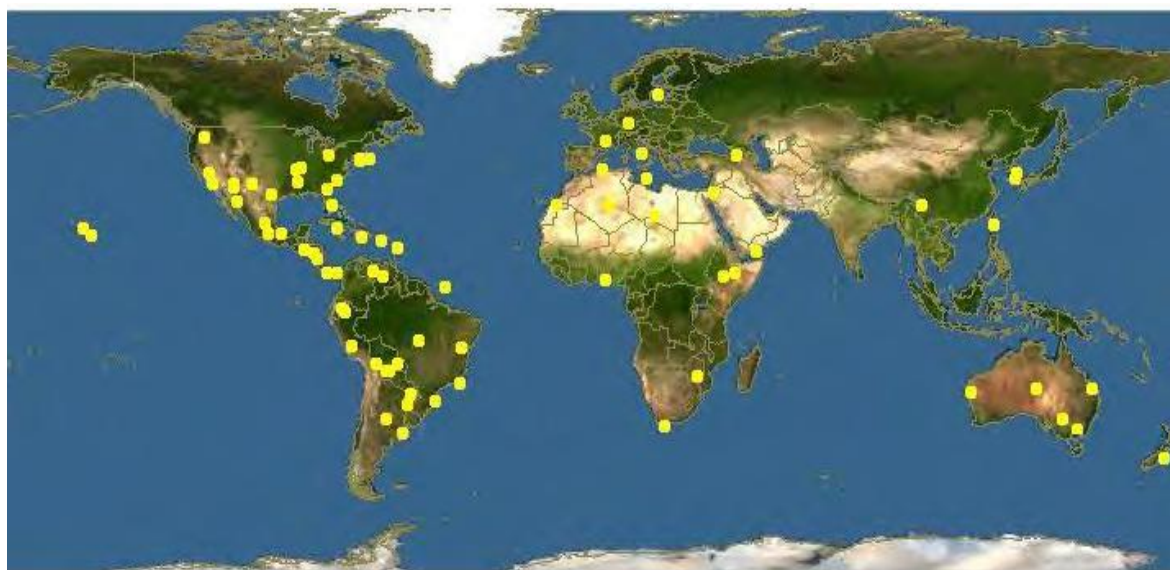
La diversité de cette famille végétale qui comprend environ 1600 espèces avec le centre de la diversité maximale au Mexique qui abrite 669 espèces (Guzman et al. 2003).

Le genre *Opuntia* est le plus important et le plus répandu de la famille des cactacées, il comprend environ 300 espèces. Parmi 150 à 300 espèces, *Opuntia ficus indica* est l'espèce qui a la plus grande importance agronomique, écologique et médicinale, tant pour les fruits comestibles que pour les raquettes qui peuvent être utilisées comme fourrage ou comme légumes, et aussi l'effet thérapeutique des fleurs et de l'huiles des graines (Habibi 2004).

### 2.2. Origine et mise en place des cactacées en Algérie

C'est une plante originaire des régions arides et semi-arides du Mexique et figure d'ailleurs sur l'emblème du drapeau Mexicain et du sud des Etats Unis. Sa distribution géographique est très large. Le figuier de barbarie a été introduit en Europe et en Afrique du Nord vers le 16ème siècle par les expéditeurs espagnols (Schweizer 1997).

Au 19ème siècle, le comte Adrien de Gasparin, un personnage considérable, s'intéressa au figuier de Barbarie. Considérant le figuier de barbarie comme la providence des pays pauvres au sol aride, il voulut développer sa culture en Afrique du Nord et y créer des nopaleraies, notamment en Algérie (Brian 1930).



**Figure 1.** Distribution géographique du figuier de Barbarie (Orwa et al. 2009).

### 2.3. Aperçu général sur le figuier de barbarie

Le figuier de barbarie est une plante xérophytique, succulente et arborescente qui peut atteindre de 3 à 5 mètres de haut. Elle est organisée en cladodes de 30 à 40 cm de long sur 15 à 25 cm de large et de 1,5 à 3 cm d'épaisseur, formés d'éléments charnus très épais, ovales et aplatis en forme de raquettes. Les épines proprement dites, blanchâtres, sclérifiées, solidement implantées, sont longues de 1 à 2 cm. Ses fleurs jaunes en houppettes sur les fruits jeunes. Tombent avant que ses derniers n'atteignent la maturité. Son fruit est gros, jaune, orangé ou rouge. Entouré de minuscules piquants mais succulent à l'intérieur (Oued Zenati et al. 1990).

<b>Règne :</b>	Plantae
<b>Sous règne :</b>	Tracheobionta
<b>Division :</b>	Magnoliophyta
<b>Classe :</b>	Magnoliopsida
<b>Sous classe :</b>	Caryophyllidae
<b>Ordre :</b>	Caryophyllales
<b>Famille :</b>	Cactaceae
<b>Sous-famille :</b>	Opuntioideae
<b>Tribu :</b>	Opuntieae
<b>Genre :</b>	Opuntia
<b>Espèce :</b>	Opuntia ficus indica (L.) (Miller 1954).

Le figuier de barbarie est reconnu en Algérie par plusieurs noms vernaculaires : “hindi”, “henidia”, “nesrania”, “Kermous ensara” “ chumbo” et “akermous” dans la région de Kabylie.

### 2.4. Principales caractéristiques morphologiques

La *tige* peut être définie comme un axe généralement aérien, prolongent la racine, comprenant la tige principale et les tiges secondaires et portant des extensions latérales : rameaux et feuilles (Deysson 1976).

Le figuier de barbarie est organisé en *cladodes* communément appelés “raquettes” qui sont des tiges modifiées de forme aplatie, de 30 à 40 cm de long sur 15 à 25 cm de larges et de 1,5 à 3 cm d'épaisseur. Unis les uns aux autres, ils tendent à former des branches. Ceux de la base se lignifient pour former au-delà de la quatrième année de croissance un véritable tronc (Habibi 2004).

Les *aréoles* 7-11 par ligne, 2-5 mm de diamètre, avec des touffes courtes, moins de 2 mm qui sont des bourgeons axillaires modifiés, typiques des cactacées. Les organes foliaires, des fleurs, des organes reproducteurs, glochides et les racines se développent à partir des aréoles (Booken 1980).

Le cactus *Opuntia* appartient à la famille des cactacées qui est connue par la présence des *épines* au niveau des nœuds (aréoles) proprement dites, blanchâtres, sclérifiées, solidement implantées, sont

longues de 1 à 2 cm. Il existe des variétés inermes, sans épines. Du point de vue écologique, le cactus s'adapte à la sécheresse par la transformation des feuilles en épines et des stipules en glochides (épines fines en hameçon qui s'attachent de façon désagréable aux mains) et ce afin de diminuer la surface foliaire et de réduire l'évapotranspiration au niveau des feuilles (Monjauze et Le Houerou 1965; Russel et Felker 1987).

Les *glochides* sont de fines épines de quelques millimètres de couleur brunâtre, se décrochent facilement, munies de minuscules écailles en forme d'hameçons s'implantant solidement dans la peau. Ils sont présents même chez la variété inerme (Halmi Sihem 2015).

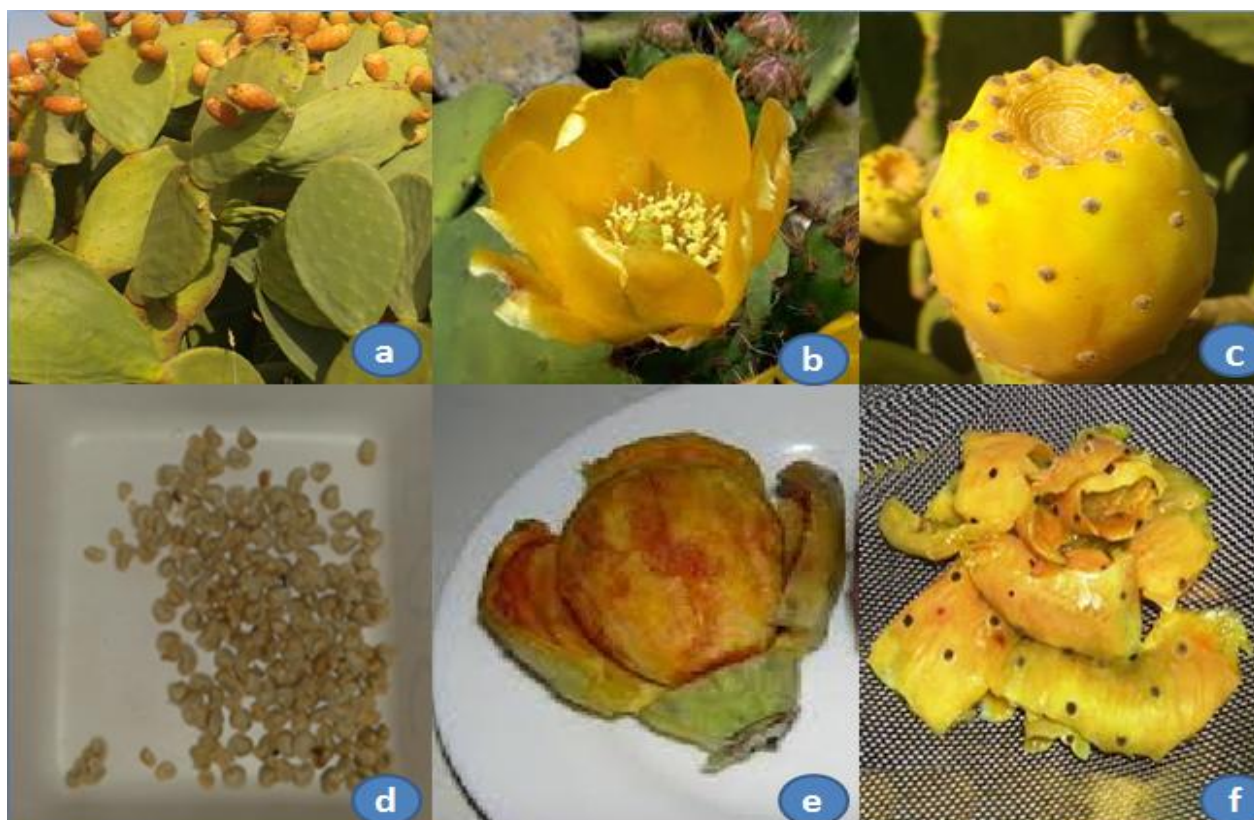
Les *fleurs* de cactus sont sessile et solitaires, et souvent une seule fleur est produite par aréole (Ramirez et Berry 1995). Elles sont situées au sommet des cladodes ou sur la face la plus exposée au soleil, sont hermaphrodites, à ovaire inféré uniloculaire, le pistil est surmonté d'un stigmate multiple. Les étamines sont visibles de couleur jaune-orange. Elles sont de couleur jaunâtre et deviennent rougeâtres à l'approche de la sénescence de la plante (Reyes –Aguiro et al. 2006).

Les *fruits* de figuier de barbarie sont plus ou moins gros (30g à 150g), bacciformes piriformes (4-9 cm), jaunes à rouges à maturité, à pulpe molle, juteuse, sucrée, contenant dans un mucilage de nombreuses petites graines. Une plantation conduite correctement et en terre moyenne peut produire de 15 à 20 tonnes de fruits à l'hectare (Walali 1995).

La *pulpe* est toujours juteuse, de couleur jaune-orangé, rouge ou pourpre, parsemée de nombreuses petites graines (Mobhammer et al. 2006).

Les *graines* de cactus matures ont les parties suivantes: testa, embryon, endosperme, périsperme (dans la plupart des groupes primitifs), couverture arille funicule (*Opuntia*), et hile (Elizondo 1994).

Les *racines* d'*Opuntia ficus indica* sont superficielles, charnues, en expansion horizontale. Dans les milieux fortement arides, à partir des racines principales, se développent des racines secondaires (Nefzaoui et Ben Salem 2002). Elles sont colonisées par des mycorhizes qui contribuent à l'optimisation de la recherche d'eau de la part des racines et à sa conservation dans les tissus de réserve (Pimenta Barrios et al. 2002).

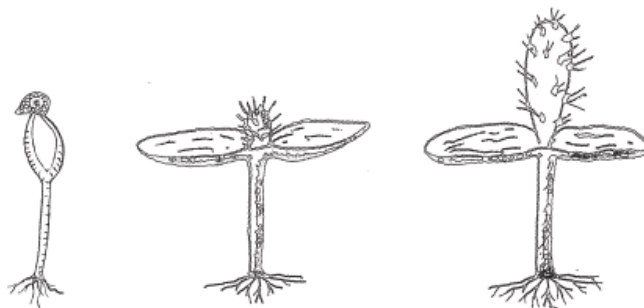


**Figure 2.** Les organes de la plante de figuier de barbarie: **a** : cladode ; **b** : fleur ; **c** : fruit ; **d** : grains ; **e** : pulpe ; **f** : écorce.

### 2.5. Reproduction du figuier de barbarie

L'*Opuntia* peut se reproduire par une voie asexuée à partir d'un article tombé sur le sol. Il prend racine du simple contact d'un de ces aréoles avec la terre. La méthode la plus souvent utilisée est le bouturage, principalement par voie asexuée, à travers les pousses, les fruits et les raquettes d'une ou plusieurs années chaque fois que cela est possible. Pour des cas très particuliers, la technique du greffage est aussi appliquée (Allain et Dore 2009).

D'un autre côté la reproduction sexuée de l'*Opuntia ficus-indica* L. se fait par la germination des graines de figuier de barbarie qui a besoin de nombreuses années pour croître, donc le bouturage est beaucoup plus aisé que le semis qui reste cependant possible.



**Figure 3.** La germination d'une graine d'*Opuntia* (Schweizer 1997).

### **2.6. Exigences édapho-climatiques**

Le cactus préfère une température annuelle moyenne de 18 à 26°C, mais peut supporter des brèves périodes de gel jusqu'à -2°C à -3°C (Russell et Felker 1987). Le cactus craint le froid humide (minimum absolu supérieur à -10°C). Il se développe dans des précipitations annuelles moyennes de 150 à 600 mm (Russell et Felker 1987).

Il s'adapte bien aux sols pauvres, mais se développe le mieux sur les sols sableux profonds ou légèrement acides. Les sols argileux mal drainés doivent être évités. L'humidité excessive est nuisible et peut conduire à la maladie et la mort, en particulier dans des conditions fraîches. Si le climat est très sec, les sols argileux sont tolérés (Russell et Felker 1987).

### **2.7. Importance de figuier de barbarie**

#### **2.7.1. Ecologique**

Ce végétal répond efficacement lorsqu'il est utilisé dans la conservation, la restauration et la valorisation des sols. Il met en valeur les terres marginales et infertiles où d'autres espèces cultivées végétaient difficilement. Il ne demande pas de pratiques culturales spécialisées, ni d'apport de fertilisants, ni de traitement antiparasitaire (Habibi 2004).

#### **2.7.2. Economique**

Son impact considérable sur le revenu des agriculteurs a fait de cette plante l'une des espèces les plus rentables économiquement. Selon Abra (2000), le revenu moyen annuel par hectare est de 2000 à 6000 dollars en Italie et entre 10000 à 30000 dirhams au Maroc.

#### **2.7.3. Zootechnique**

Les fruits et les cladodes sont utilisés comme fourrages pour l'alimentation animale.

#### **2.7.4. Nutritionnelle**

Les fruits sont gorgés de sucre 12-15%, de protéines 0,6%, vitamine C (0,04 % du jus), de minéral calcium, potassium et le magnésium (490, 2200 et 850 ppm en db, respectivement). Son utilisation dans l'alimentation humaine renforce la contribution nutritionnelle dans les zones arides et semi-arides où il est cultivé (EL-Kossori 1998).

Les jeunes cladodes appelés aussi nopalitos dans le pays d'origine (Mexique) sont consommées par les populations de différentes couches sociales au sud des États-Unis (Russell et Felker 1987; Cantwell 1991 et Saenza 2002).

#### **2.7.5. Thérapeutique et cosmétique**

L'*Opuntia ficus indica* est utilisée pour lutter contre beaucoup d'affections même les plus graves dans notre temps. Elle est considérée comme un anti-inflammatoire, analgésique, anti-hyperglycémie, contre-obésité, anti-artériosclérose, anti-diarrhée, anti-cancer, hépato-protecteur comme elle est utilisée pour le traitement des troubles et des douleurs de l'estomac et des intestins et pour la préparation de tisanes diurétiques (Galati et al. 2007). D'autres activités neuroprotectrices

(Kim et al. 2006), antidépresseur (Han et al. 2001) et activité antimicrobienne (Hafaiedh et al. 2008) ont été démontrés.

L'huile du figuier de barbarie constitue une arme non redoutable pour lutter contre les agressions du temps et redonne à la peau du visage son tonus et sa fermeté, soin anti-âge des peaux matures (utilisation par excellence), sérums anti-âge contour des yeux, soins préventifs vergetures, soins des cicatrices et des crevasses.

### **3. Les métabolites secondaires**

Les plantes produisent un grand nombre de composés pour lesquels on ne sait pas toujours le rôle qu'ils jouent exactement pour la plante. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures. On les appelle donc des métabolites secondaires.

#### **3.1. Définition**

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (Boudjouref 2011). Ce sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (Newman et Cragg 2012). Bio synthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème (Peeking et al. 1987).

Les plus grands groupes sont les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les composés phénoliques. De façon générale, le rôle du métabolite secondaire est en lien avec sa localisation au sein de la plante (Pathak et al. 1962 ; Zobel et Brown 1990).

#### **3.2. Les composés phénoliques**

##### **3.2.1 Les polyphénols**

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc (Bruneton 1999). La grande majorité des composés phénoliques dérivent de l'acide cinnamique formé par la voie du shikimate (Gorham 1977).

Les acides phénoliques, ou acides phénols ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols, Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature (Haslam 1994).

Les acides phénols dérivés d'acide benzoïque sont des hydrox benzoïques et ont une structure générale de base de type (C6 C1) ; ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (Harrar 2012).

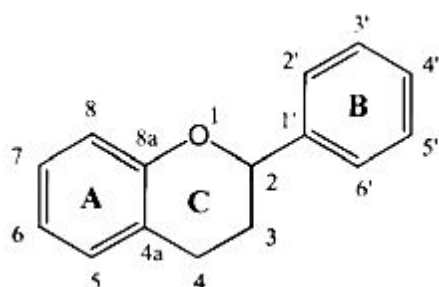


Les acides phénols dérivés d'acide cinnamique sont souvent estérifiés, les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique et l'acide synaptique (Haslam 1994).

### 3.2.2. Les flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques, ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres (Benhammou 2011).

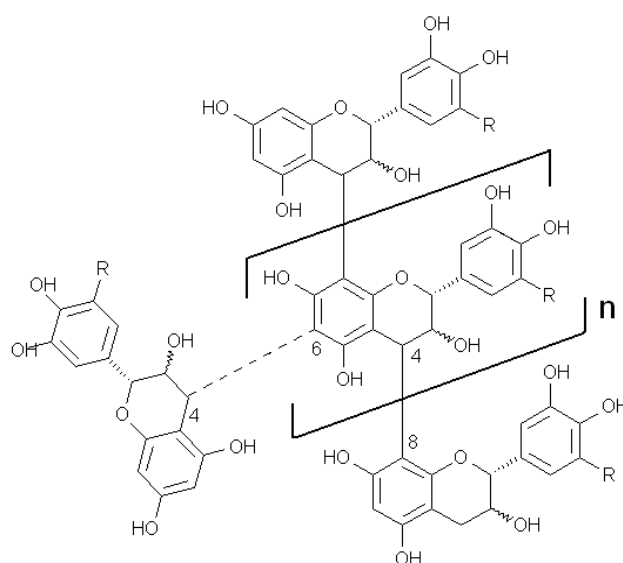
Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est à- dire liée à des oses et autres substances (Heller et Forkmann 1993).



**Figure 4.** Structures de base des flavonoïdes.

### 3.2.3. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (Kamra et al. 2006). Ces composés naturellement produits par les plantes et se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines (Makkar 2003). Grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques (Khenaka 2011), Aussi à d'autre polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables (Haslam 1994).



**Figure 5.** Structure chimique de tanin condensé (Schofield et al. 2001).

### 3.2.4. Les coumarines

Les coumarines sont des substances phénoliques synthétisées à partir de la fusion des noyaux benzènes et  $\alpha$ -pyrone. Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés alors que les formes hétérosidiques sont plus ou moins solubles dans l'eau (Bruneton 1999). Ils ont des activités antithrombotiques, anti-inflammatoires et vasodilatatrices (Cowan 1999).

### 3.3. Les terpénoïdes et stéroïdes

Appelés aussi terpènes, constituent une vaste groupe de métabolites secondaires, sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte (Hellal 2011). En effet les plantes synthétisent plus de vingt-deux milles dérivés isopréniques qui possèdent des structures, des propriétés physiques et chimiques et activités biologiques très diverses (Connolly 1992). Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale ( $C_5H_8$ ) (Seenivasan 2006).

### 3.4. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote (Schauenberg 2005).

Typiquement comme les amines primaires, secondaires, ou tertiaires et cela confère la basicité à l'alcaloïde, en facilitant leur isolement et purification comme sels solubles dans l'eau formés en présence des acides minéraux (Hess 2002). Ils peuvent être présents dans tous organes (Ziegler et Facchini 2008).

On distingue trois types d'alcaloïdes:

- Alcaloïdes vrais: d'après certains auteurs, ils sont issus d'un seul règne végétal.

Ils existent à l'état de sels et sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé.

- Pseudo-alcaloïdes: ils représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés.

- Proto-alcaloïdes: ce sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique.

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans des domaines variés :

Au niveau du système nerveux central, qu'ils soient anti dépresseurs (morphine, Scopolamine) ou stimulants (strychnine, caféine);

Au niveau du système nerveux autonome : sympathomimétiques (éphédrine) ou sympatholytiques, parasympathomimétiques, anti cholinergiques et ganglioplégiques.

On notera aussi l'existence de curarisants, d'anesthésiques locaux, d'antif brillants, d'anti tumoraux, et d'antipaludiques (Bruneton, 1999).

#### **4. Stress oxydatif et antioxydants**

Des molécules pro-oxydantes appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produites quotidiennement dans l'organisme. Ces dernières sont cependant contrôlées par les antioxydants. Un stress oxydatif survient lorsque l'équilibre est rompu en faveur des radicaux libres. Toute fois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance oxydant/antioxydant (Papazian et Roch 2008 ; Christophe et al. 2011).

##### **4.1. Radical libre**

Radical libre est une espèce chimique, molécule, morceau de molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante « libre» en contenant un ou plusieurs électrons célibataires. Cela lui confère une grande réactivité donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé (Goudable et Favier 1997).

##### **4.2. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)**

Tout organisme a besoin d'énergie pour fonctionner correctement. Les cellules transforment les nutriments apportés par l'alimentation en énergie et en eau. Cette transformation génère environ 2% de molécules d'oxygène (Edeas 2005). L'oxygène peut s'avérer délétère en raison de son caractère oxydant, il est à l'origine de la formation de dérivés plus réactifs appelés espèces réactives de l'oxygène (Ichai et al. 2011).

##### **4.3. Antioxydants et systèmes de défense**

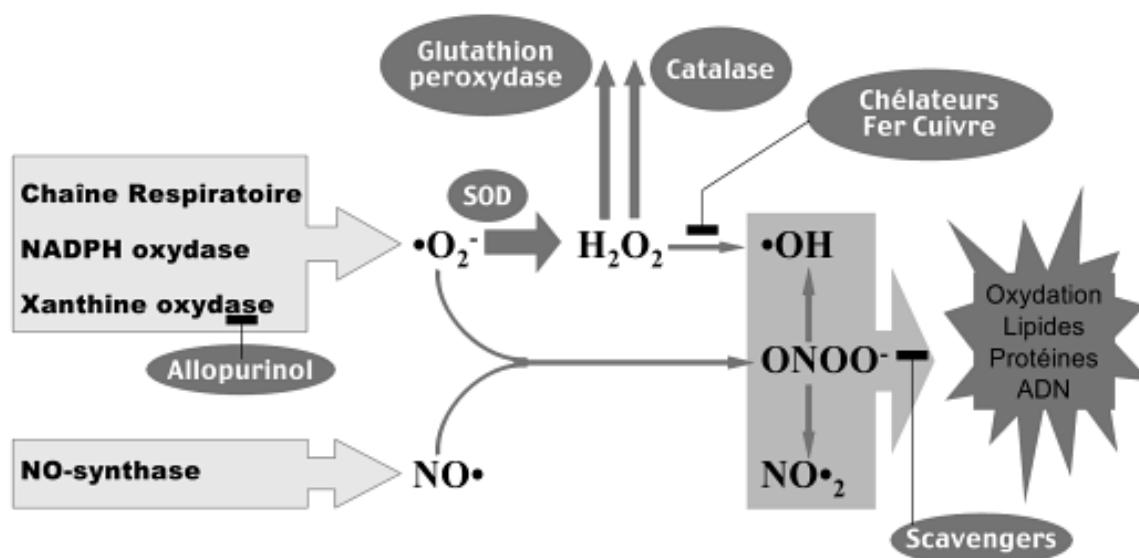
Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules hydro- ou liposolubles. Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires (Cano et al. 2006).

##### **4.4. Antioxydants enzymatiques**

Pour faire face à ces attaques, les organismes ont développé des systèmes d'action antioxydante qui visent :

1. A éliminer les espèces réactives de l'oxygène et les catalyseurs de leur formation.
2. A induire la synthèse des antioxydants.
3. A augmenter l'activité des systèmes de réparation et d'élimination des molécules endommagées.

Trois types d'enzymes antioxydantes sont mis en œuvre pour la destruction des espèces réactives de l'oxygène (Pelletier et al. 2004) comme illustre la figure 6.



**Figure 6.** Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène.

Les superoxyde dismutases (SOD) qui catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (Droillard et Paulin 1990) (Arisi 1998).

La catalase qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau permettant l'élimination de celui-ci (Yoshimoto et al. 2007) (Nicholls 2012).

La glutathion peroxydase (GPX) qui décompose aussi le peroxyde d'hydrogène en utilisant le glutathion comme donneur d'hydrogène (Bédane 2008).

#### 4.5. Antioxydants non enzymatiques

Ce sont des antioxydants naturels capables de prévenir les dommages oxydatifs. Ils peuvent se comporter comme des piègeurs des radicaux libres par les interventions directes sur les molécules prooxydantes ou indirectement, en chélatant les métaux de transition, empêchant ainsi la réaction de Fenton (Piquet et Hébuterne 2007).

Ce type d'antioxydants regroupe un grand nombre de substances hydrophiles ou lipophiles et ils sont en partie produits par l'organisme au cours de processus biosynthétiques. Néanmoins le nombre d'antioxydants produits *in vivo* est très limité ; on peut citer parmi les plus actifs : le glutathion (Piquet et Hébuterne 2007) le NADPH, les dipeptides (Boldyrev 1993) l'acide urique (Ames et al. 1993) l'acide lipoïque (Packer 2001) ou la bilirubine (Stocker et al. 1987).

**Chapitre 1 :**  
**Etude de la variabilité**  
**morphologique**

# Chapitre 1: Etude de la variabilité morphologique

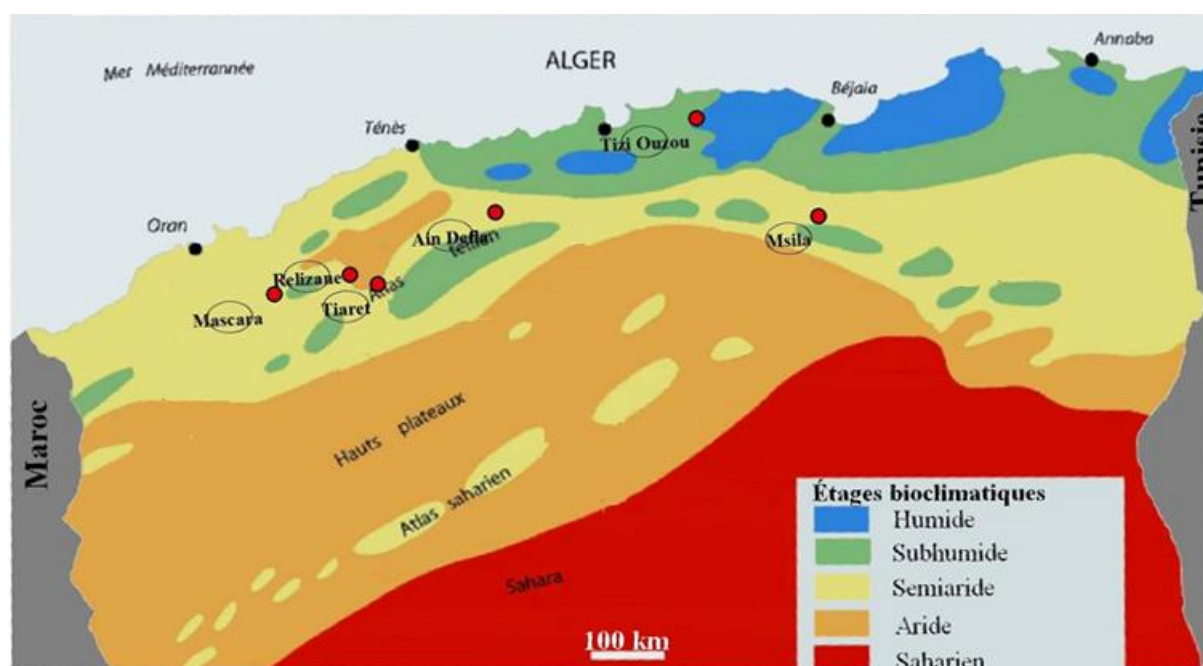
## 1. Introduction

L'analyse morphologique constitue une première approche d'évaluation de la diversité génétique. L'objectif de cette partie de travail consiste à l'identification et l'évaluation de la variabilité morphologique que recèlent les populations d'*Opuntia ficus-indica* L. sur la base d'un échantillonnage subjectif réalisé au niveau de six sites de prélèvements où pousse cette espèce sur les différentes aires écologiques de sa distribution en Algérie.

## 2. Description des provenances

Le matériel végétal étudié provient de six sites de prélèvements écologiquement isolés (figure 7) récolté en juillet-août 2016.

Les populations choisies sont géographiquement isolées provenant des latitudes, longitudes et altitudes différentes. Cela inclut également la variabilité de leurs sols et climats.



**Figure 7.** Sites de prélèvements d'*Opuntia ficus-indica* L.

**A:** Dehahena (Msila). **B:** Bouhenifia (Mascara). **C:** Draa ben khada (Tizi Ouzou). **D:** Mechraa sfa (Tiaret). **E:** Tarek ibn ziad (Aïn Defla). **F:** Zemmora (Relizane).

Les coordonnées géographiques ainsi que les données climatiques de chaque site de prélèvement sont indiquées sur le tableau ci-dessous.

**Tableau 1.** Données géographiques et climatiques des sites de prélèvements.

<b>Population</b>	<b>Site</b>	<b>Lat</b>	<b>Long</b>	<b>Alt</b>	<b>TM</b>	<b>DTXx</b>	<b>P</b>	<b>DP</b>
Tizi Ouzou	Draa ben khada	36.72	3.95	45	17.9	17.4	896	166
Relizane	Zemmora	35.44	0.41	175	17.4	18.9	413	63
Ain Defla	Tarek ibn ziad	35.59	2.70	850	13.5	16.7	624	92
Mascara	Bouhenifia	35.33	0.05	232	16.6	18.7	487	75
Tiaret	Mechraa sfa	35.34	1.00	808	15.9	20	421	56
Msila	Dehahena	35.45	5.15	814	15.8	15.6	229	29

**Lat:** Latitude, **Long:** Longitude, **Alt:** Altitude (m), **TM:** Température moyenne annuel (°C), **DTXx:** Différence de température entre les mois les plus froids et les mois les plus chauds (°C), **P:** Précipitation annuel (mm). **DP:** Différence de précipitations entre le mois le plus humide et le plus sec (mm).

### 3. Méthodologie

#### 3.1. Caractérisation des provenances

Les provenances sélectionnées dans cette étude ont été d'abord caractérisées sur le plan climat, sol et végétations.

##### 3.1.1. Caractérisation du sol

Afin de déterminer la nature du sol des six provenances étudiées, un échantillonnage subjectif a été réalisé. Dans chaque provenance, trois points de prélèvements sont effectués sous forme de triangle sur une profondeur moyenne de 25 cm.

Pour ce faire, environ un kilogramme (~ 1 Kg) de sol par échantillon est prélevé de chaque provenance et ramené au laboratoire.

La préparation des échantillons du sol comporte trois étapes ; le séchage du sol à l'air libre, l'émottage des agrégats et le tamisage à 2 mm pour séparer la terre fine de la terre grossier.

- **Granulométrie**

La granulométrie est déterminée par tamisage humide (AFNOR, 1990), la détermination de la distribution des particules suivant leur taille, l'analyse granulométrique a été réalisée par sédimentation en utilisant la pipette de Robinson qui permet de connaître la répartition des particules minérales inférieures à (2 mm) selon 5 classes de grosseur, l'échelle utilisée est celle d'Atterberg :

- Argiles : 0 à 2 µm,
- Limons fins : 2 à 20 µm,
- Limons grossiers : 20 à 50 µm,
- Sables fins : 50 à 200 µm,
- Sables grossiers : 200 µm à 2mm.

On pèse 20 g de terre broyée et tamisée à 2 mm, afin de faire la destruction de la matière organique, on ajoute 50 ml d'eau oxygéné (20 V ou 30 V) et on la laisse pendant 24 heures ou

une nuit, ensuite on ajoute 20 ml d'eau oxygéné et porte au bain de sable jusqu'à arrêt de l'effervescence en couvrant le bécher d'un verre de montre et en évitant une ébullition trop forte qui décomposerait rapidement l'eau oxygéné. La réaction est terminée quand la mousse a disparu et que les petites bulles d'oxygène ne viennent plus crever en surface.

Pour les sols non calcaires, on ajoute 50 ml de la solution dispersante d'Hexamétaphosphate de sodium.

Pour sols calcaires, on ajoute 50 ml de calgon (39.2g de metaphosphate de sodium + 10.8g de carbonate de sodium dans 1 litre d'eau distillée), agité pendant 2 heures à l'agitateur rotatif. Tamiser à 0.05 mm en lavant avec de l'eau distillée (ne pas dépasser 500 à 600 ml) pour obtenir le sable, on a versé le contenu du tamis dans une capsule tarée et sécher à l'étuve à 105 C° et on pèse la capsule, la suspension est versée dans une éprouvette de 1 litre et complétée à 1 litre avec l'eau distillée.

Pour réaliser l'analyse granulométrique proprement dite, on utilise la pipette de Robinson, pour la fraction inférieure à 0.02mm (argile, limons). Premièrement on va agiter l'éprouvette et prélever immédiatement du centre (argile + limons) et verser le contenu du tamis dans une capsule tarée. Agiter et attendre 4 min et 40 secondes et prélever à 10 cm de la surface. Le contenu du tamis est versé dans une capsule tarée. Agiter et attendre 4 h et 39 min et prélever à 6 cm de la surface, Verser le contenu du tamis dans une capsule tarée. Sécher à l'étuve à 105 C° et peser les capsules. La composition granulométrique est exprimée en (%). Cette analyse sert à déterminer la texture du sol par l'utilisation du triangle textural.

- ***Dosage de la matière organique (la méthode de calcination)***

Après élimination de l'humidité, la M2 (le sol après séchage à 105 °C) est incinérée à une température de 700 °C pendant 90 minutes puis pesée « M3 ». La valeur de la matière organique est donnée par l'expression suivante : **MO%=20(M2-M3)**.

- ***pH***

20 g du sol préalablement séché et tamisé a été mélangé avec 50 ml de l'eau distillée. La solution est agitée pendant une minute. Le pH de l'extrait a été mesuré à l'aide d'un pH mètre.

- ***Conductivité électrique « C.E »***

20 g du sol préalablement séché et tamisé a été mélangé avec 100 ml eau distillée. La solution est agitée pendant une minute. La C.E de l'extrait a été mesurée à l'aide d'un Conductimètre.



- **Dosage de calcaire total**

1 g de sol (séché, émiétté et tamisé) est déposé dans un calcimètre avec une cuve remplie de HCl demi concentré (15 ml de H<sub>2</sub>O + 15ml HCl), on agite manuellement et on note le volume de CO<sub>2</sub> dégagé « V2 ».

0.3g de calcaire pur « CaCO<sub>3</sub> » est déposé dans un calcimètre avec une cuve remplie de HCl demi concentré (15 ml de H<sub>2</sub>O+15ml HCl), on agite manuellement et on note le volume de CO<sub>2</sub> dégagé « V' ».

L'estimation de la valeur de CaCO<sub>3</sub> est donnée par la formule suivante :

$$\text{CaCO}_3\% = \frac{V' \times 0.3 \times 100}{V \times P}$$

**P** : le poids de l'échantillon du sol.

### 3.1.2. Caractérisation du climat

Les données climatiques (températures et précipitations) couvrant une période d'au moins 35 ans ont été recueillies des stations météorologiques les plus proches des sites d'échantillonnage des populations retenues. Le Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен et le quotient pluviométrique d'Emberger ont été calculés.

- **Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен (1953)**

Selon le mode établi par Bagnouls et Gausсен (1953), le diagramme ombrothermique permet de dégager deux périodes l'une sèche et l'autre humide. Ils sont construits en portant en abscisse les mois de l'année et en ordonnée les précipitations moyennes mensuelles « P » sur un axe et les températures moyennes mensuelles « T » sur le second axe, en prenant soin de doubler l'échelle des températures par rapport à celle des précipitations (P= 2T). Un mois est considéré sec lorsque la courbe des températures (T°C) est supérieure à celle des précipitations (2T>P). La partie du graphe comprise entre les deux courbes, traduit à la fois la durée et l'intensité de la sécheresse. Le climat est sec lorsque la courbe des températures est au-dessus de celle de précipitation et humide dans le cas contraire Dreux (1980). Selon Bagnouls et Gausсен (1953), un mois peut être considéré sec, si le total des précipitations est inférieur ou égal au double de la température. Sa formule comme suit :  $P < 2T$  où P : précipitation moyenne du mois (mm) ; T : température moyenne du même mois (°C).

- **Climagramme et quotient pluviométrique d'Emberger**

Le climagramme d'Emberger (1939) est une synthèse climatique permet, grâce au quotient pluviométrique d'Emberger (Q<sub>2</sub>) spécifique au climat méditerranéen, de situer une zone d'étude dans un étage bioclimatique.

Dans un plan défini par deux axes de coordonnées rectangulaires sont portées les stations où la valeur du quotient pluviométrique «  $Q_2$  » est portée en ordonnée alors que la moyenne du mois le plus froid de l'année «  $m$  » est portée en abscisse. Ce quotient tient en compte les précipitations et les températures :

$$Q_2 = 3.43 \times P / M - m$$

$Q_2$  : quotient pluviométrique d'Emberger,

$P$  : Moyenne des cumuls annuels de précipitations en mm,

$M$  : Température moyenne maximale du mois le plus chaud,

$m$  : Température moyenne minimale du mois le plus froid.

### 3.2. Caractérisation de la plante

Les plants sélectionnés sont productifs, frais et sains, ils ne présentent aucune blessure ou infection. Ils ne sont pas irrigués comme ils ne reçoivent aucun traitement phytosanitaire.

L'étude a porté sur des traits végétatifs (écorce et cladode) et sur des traits de reproduction (fruit et graine). L'échantillonnage a été effectué durant la période de maturation des fruits qui s'étale de la fin du mois de juillet à la fin du mois d'août. Le choix a porté sur dix pieds d'*O. ficus-indica* de chaque population, appartenant à la même classe d'âge et espacés d'au moins de 10 m. Chaque pied est considéré comme un individu. De chaque pied, 10 fruits et 10 cladodes ont été collectés, soit un total de 100 fruits et 100 cladodes par population.

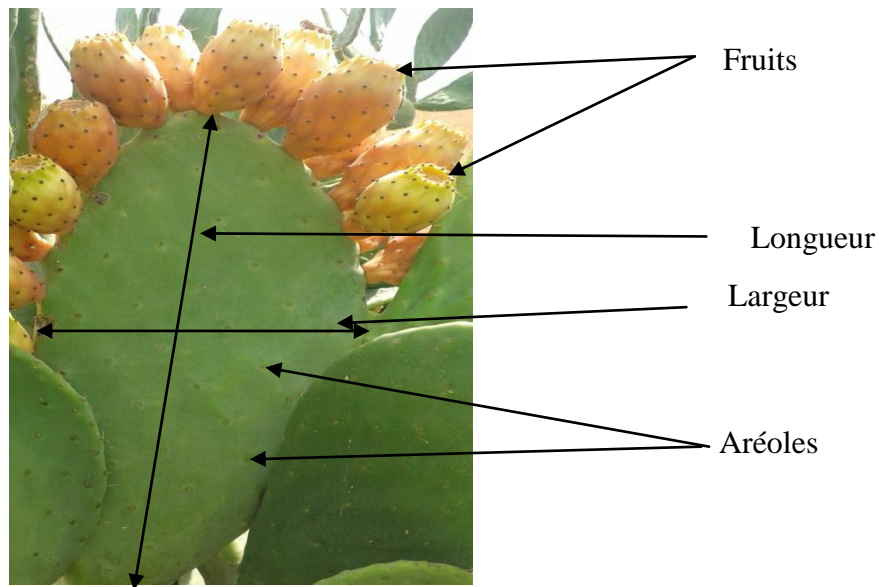
#### - Mesures effectuées

Pour l'étude de la variabilité phénotypique au sein de cette espèce à travers le matériel végétal collecté ; plusieurs paramètres végétatifs et de reproduction ont été étudiés. Au total 19 caractères ont fait l'objet de cette étude morphologique. Des mesures biométriques et pondérales ont été effectuées sur les cladodes, les fruits et les graines.

#### - Cladodes

Les caractéristiques des cladodes dans ce groupe de paramètres se distinguent en traits quantitatifs et qualitatifs. Pour les traits qualitatifs, un seul caractère a été étudié à savoir la forme épineuse ou inerme.

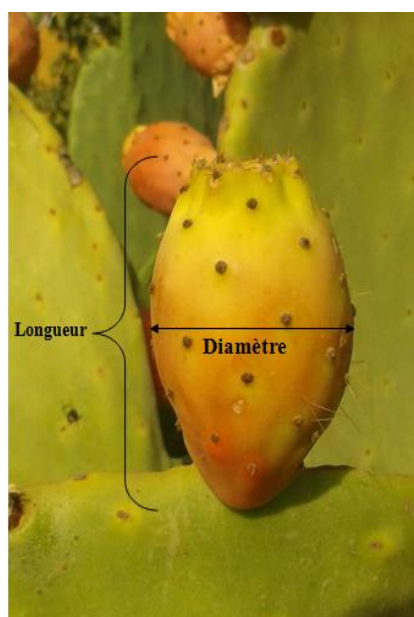
Les paramètres quantitatifs retenus sont, Longueur, largeur et épaisseur des cladodes, nombre des aréoles et nombre des fruits par cladode.



**Figure 8.** Caractérisation morphologique du cladode d'*Opuntia ficus –indica* L.

- **Fruits**

Les mesures biométriques ont été effectuées par un pied à coulisse digital sur une moyenne de dix fruits par pied. Elles ont touché à la longueur, la largeur et le diamètre de réceptacle en plus des autres mesures qui ont concerné le poids du fruit et le nombre des aréoles. Dans l'étude de la variabilité morphologique du fruit, les caractères quantitatifs pris en considération se rapportent aux ; longueur, largeur, poids, diamètre du réceptacle et nombre des aréoles.



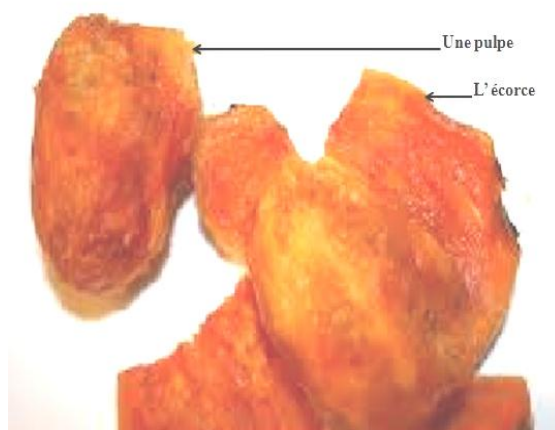
**Figure 9.** Les traits morphologiques du fruit.

Les paramètres qualitatifs englobent la forme du fruit, la forme du réceptacle, et la forme du pédoncule. Ces paramètres sont effectués en adoptant des échelles retenues par l'UPOV (2004), tableau 2.

**Tableau 2.** Caractères qualitatifs retenus par les fruits (UPOV 2004).

Caractères	Echelle
Forme de fruit	Elliptique moyen
	Oblong
Dépression de la cicatrice du réceptacle	Légèrement déprimée
	Modérément déprimée
	Fortement déprimée
Longueur du pédoncule	Court
	Moyen
	Long

L'épluchage des fruits permet la séparation entre la pulpe et l'écorce et d'effectuer leur caractérisation. Deux paramètres quantitatifs, le poids et l'épaisseur ont concerné l'écorce.



**Figure 10.** Séparation de l'écorce et de la pulpe du fruit d'*Opuntia ficus-indica* L.

L'étude quantitative des graines a touché le poids, le nombre total des graines par fruit ainsi que le taux des graines fertiles et des graines avortées. Pour l'extraction des graines, la pulpe a été mixée dans un mixeur, puis les graines sont séparées du jus par un tamisage et un nettoyage sous un jet d'eau. Les graines obtenues ont été séchées soigneusement dans un endroit aéré et à l'abri du soleil.



**Figure 11.** Graines d'*Opuntia ficus indica* L.

La séparation entre graine avortée et graine fertile a été faite en se basant sur la forme. Les graines fertiles présentent une forme gonflée tandis que les autres présentent un aspect aplati et flottent lors de leurs extractions de la pulpe. En plus les graines avortées sont toujours plates, à surfaces latérales déformées, ridées suite à l'apport insuffisant de pollen pour assurer une fécondation des ovules.

#### **4. Analyses statistiques des données**

La partition de la variance est estimée à l'intérieur et entre chaque population par l'analyse statistique de la variance (ANOVA) en utilisant le type III pour le calcul de la somme des carrés. Ensuite, pour but de ressortir les groupes homogènes pour chaque caractère mesuré, le test de Tukey a été appliqué. Une analyse de régression puis de corrélation basée sur le coefficient de Pearson a été appliquée afin d'établir et de mettre en évidence les liens possibles entre les caractères morphologiques mesurés dans chaque population.

Les données sont arrangées dans une matrice par la méthode de Sneath et Sokal (1973) puis analysées par la méthode de l'analyse en composante principale (ACP) et par l'analyse en cluster basée sur la méthode de Ward. Chaque composante principale est une combinaison linéaire des variables originales, avec un coefficient égalé aux vecteurs propres de la matrice de variance ou de corrélation. Les composantes principales sont ordonnées dans un ordre descendant des valeurs propres, qui sont égales à la variance de la composante.

## Résultats

L'analyse de la variabilité phénotypique des différentes parties d'*O. ficus-indica* issus des populations appartenant aux différents étages bioclimatiques en Algérie, révèle une grande diversité entre les diverses provenances et à l'intérieure de chaque provenance.

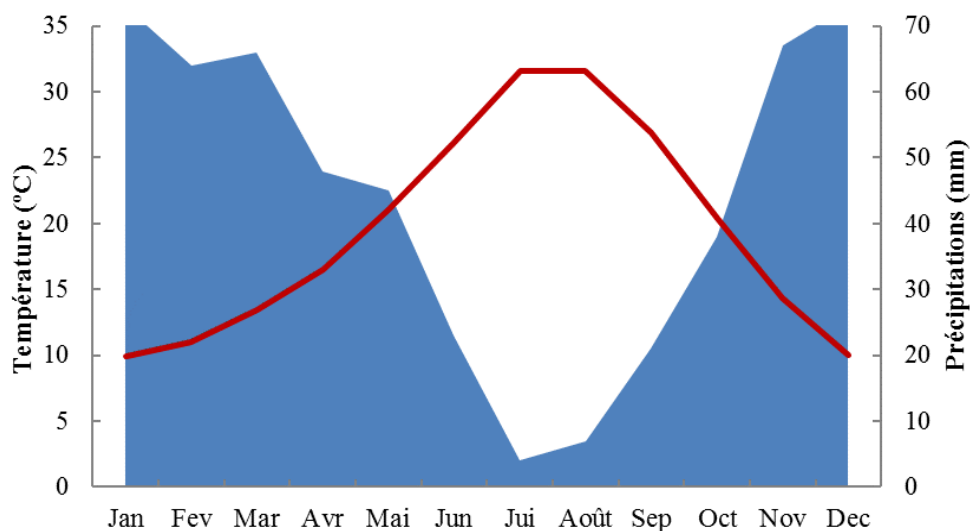
Les résultats obtenus montrent que les caractères mesurés diffèrent au sein et entre les populations. Cette variation est fortement corrélée avec la variabilité des conditions environnementales.

### 5.1. Caractérisation des provenances

#### - Provenance de Tiaret

L'échantillonnage est effectué dans la commune de 'Mecheraa safà' qui se trouve à 28 km à l'ouest de Tiaret, dans le lieu-dit 'Zaouia' (Longitude 1°00 Est, Latitude 35°34 Nord), tableau 1.

Le sol est de nature argilo-limoneuse non salé et moyennement calcaire, riche en matière organique (3.32%). Le site appartient à l'étage bioclimatique semi-aride, avec un été chaud et sec et un hiver froid où la saison sèche s'étale du mois de mai au mois de septembre de l'année. Un climat tempéré chaud est présent dans la provenance de 'Tiaret' où l'hiver se caractérise par des précipitations bien plus importantes qu'en été. La carte climatique de Köppen-Geiger y classe ce climat comme étant de type méditerranéen chaud-été. La température moyenne annuelle est de 14.7 °C et les précipitations sont autour de 529 mm.



**Figure 12.** Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gaussen relatif à la provenance de Tiaret.

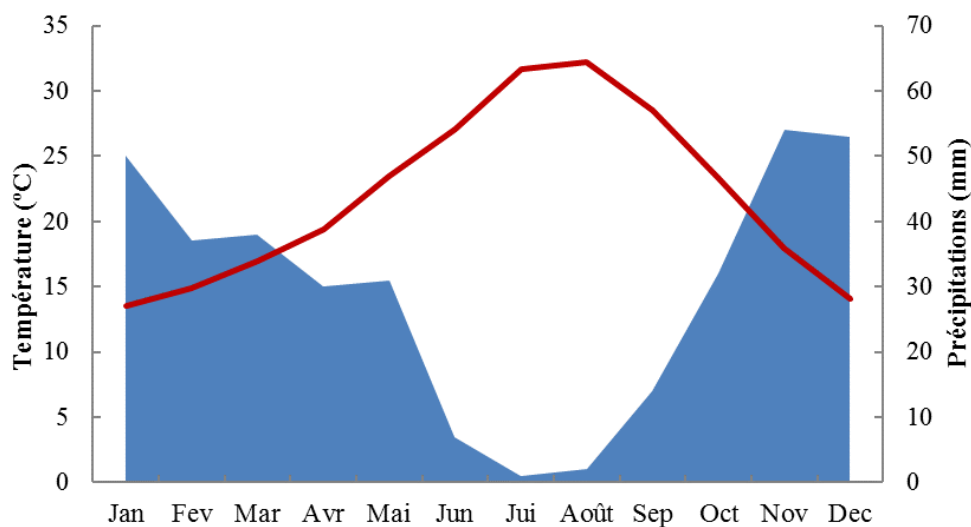
L'écart des précipitations entre le mois le plus sec et le mois le plus humide est de 69 mm et les écarts de températures sont de 19.9 °C.

### - Provenance de Relizane

L'échantillonnage est effectué à la commune de 'Zemmora' 20 Km du chef lieu 'Relizane', elle monte à une altitude moyenne de 175 m dans la longitude 0°41 Est et la latitude 35°44 Nord.

Avec un sol de nature argilo-limoneux à pH moyennement basique est un taux réduit en matière organique.

La provenance de 'Relizane' est caractérisée par un climat subhumide classé selon Köppen-Geiger. La température moyenne est de 18.3 °C et les précipitations sont autour de 349 mm.



**Figure 13.** Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gaussien relatif à la provenance de Relizane.

L'amplitude de précipitations est de 53 mm entre le mois le plus sec et le mois le plus humide et la différence de température est de 18.4 °C.

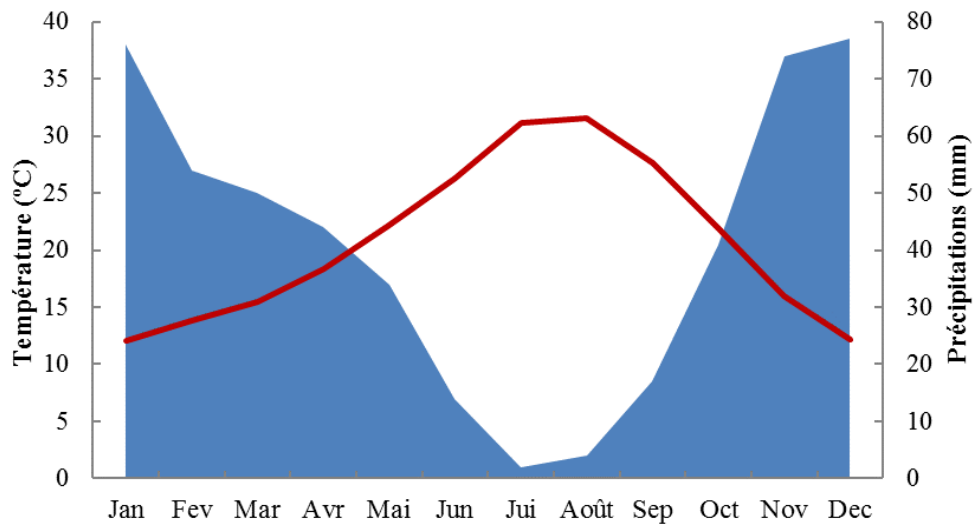
### - Provenance de Mascara

La localité de 'Bouhenifia' est située à 30 km de sud-est du chef-lieu de la wilaya de 'Mascara', elle s'élève sur une altitude moyenne de 232m (Longitude 0°05 Est, Latitude 35°33 Nord).

D'après nos résultats le sol de la région est de nature argilo-limoneuse, fortement calcaire et pauvre en matière organique (0.77 %). Cette station est généralement exposée à un climat semi-aride d'influence méditerranéenne.

La provenance de 'Mascara' est soumise à un climat chaud et tempéré où les précipitations sont plus importantes en hiver qu'en été. Le climat est classé comme étant de type méditerranéen

chaud-été (Csa). La température moyenne annuelle est de 16.6 °C et les précipitations sont de 487 mm.



**Figure 14.** Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gausson relatif à la provenance de Mascara.

Les précipitations varient de 75 mm entre le plus sec et le plus humide des mois alors que l'écart de température au court de l'année est de 18.7 °C.

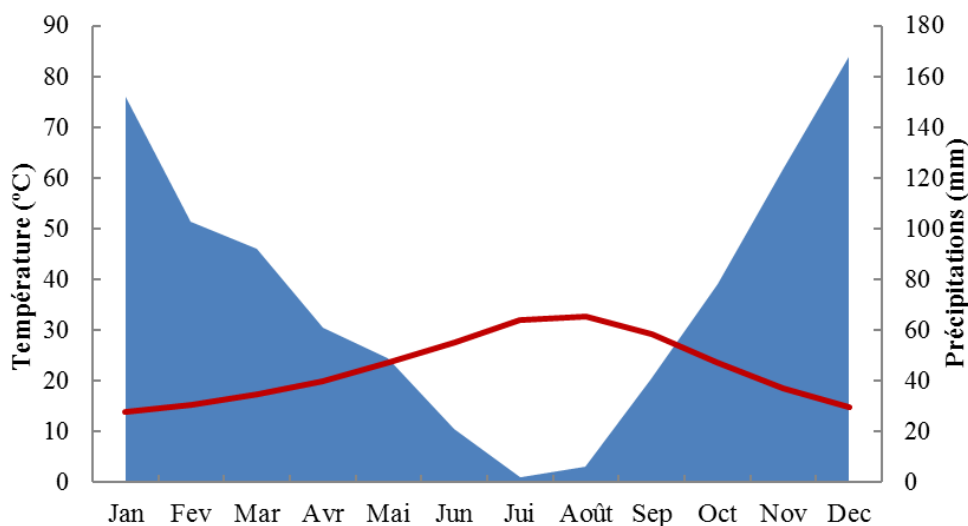
#### - Provenance de Tizi Ouzou

La commune de 'Draa ben Khada' se localise à une distance de 11 Km de la wilaya de 'Tizi-ou zou', elle est limité par une longitude 3°95 Est et une latitude 36°72 Nord et s'élève sur une altitude de 45 m.

Selon les résultats obtenus, le sol de cette provenance est de texture argilo-limoneuse, pauvre en matière organique (1.51 %) et moyennement calcaire.

La provenance de 'Tizi Ouzou' est soumise à un climat tempéré chaud. Les précipitations sont plus importantes en hiver qu'en été. Selon la classification de Köppen-Geiger, le climat est de type méditerranéen chaud-été (Csa). La température annuelle moyenne est de 17.9 °C et les précipitations annuelles sont autour de 896 mm.





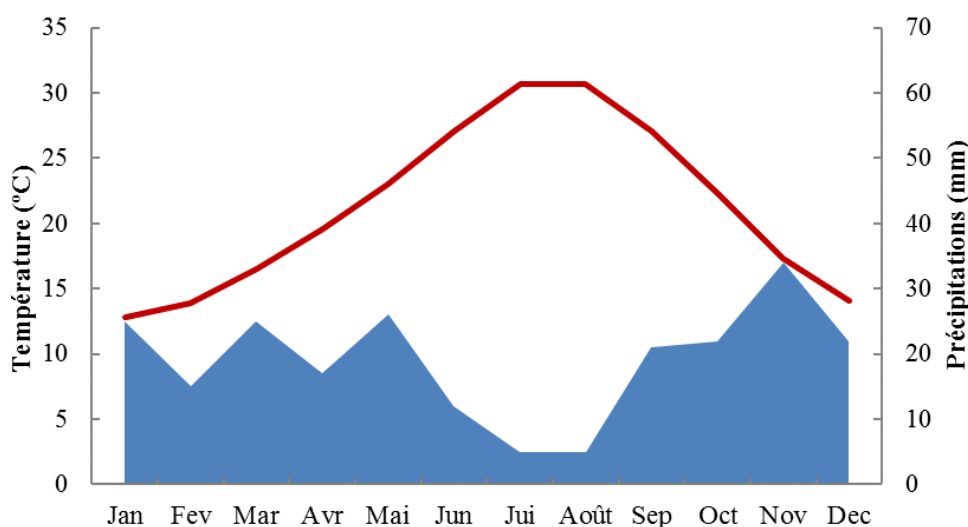
**Figure 15.** Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gausсен relatif à la provenance de Tizi Ouzou.

La différence de précipitations entre le mois le plus sec et le mois le plus humide est de 166 mm alors que la différence de températures est de 17.3 °C.

**- Provenance de M’sila**

La région de ‘Dehahena’ située à 60 km au nord-est du chef-lieu de la wilaya ‘Msila’ monte à une altitude moyenne de 814 m et longitude 5°15 Est, latitude 35°45 Nord.

Les sols de cette région sont de nature argilo-limoneuse, moyennement calcaire, salés et pauvres en matière organique. La provenance de ‘Msila’ se trouve sous l’influence d’un climat de steppe où il y a peu de précipitations tout au long de l’année. La carte climatique de Köppen-Geiger y classe le climat comme étant de type froid semi-aride (BSk). La température moyenne annuelle est de 15.8 °C et les précipitations sont de 229 mm.



**Figure 16.** Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gausсен relatif à la provenance de Msila.

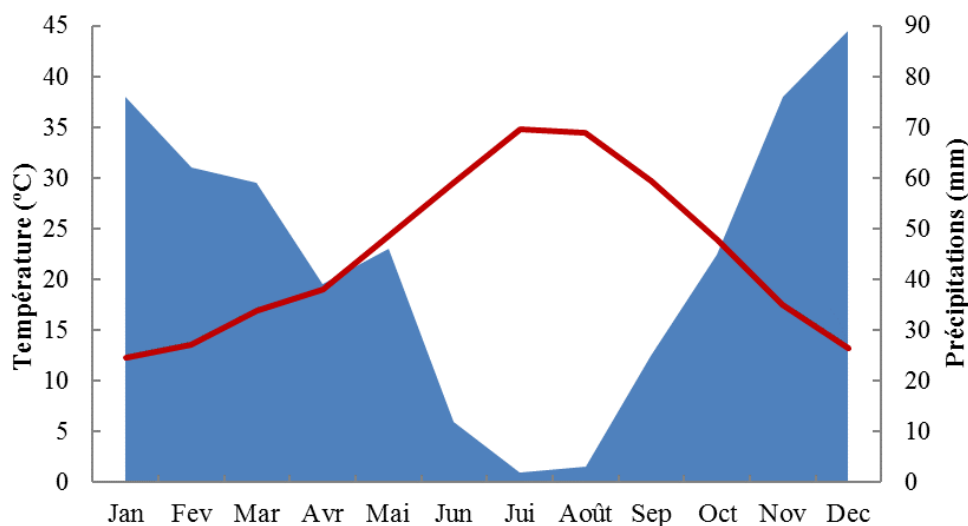
Les précipitations varient de 29 mm entre le mois le plus sec et le plus humide alors que la température la plus basse et la plus élevée de l'année enregistre une différence de 15.6 °C.

### - Provenance d'Ain Defla

La commune de 'Tarik Ibn Ziad' est située dans les monts de l'Ouarsenis, la localité est à environ 850 mètres d'altitude (Longitude 2°70 Est, Latitude 35°59 Nord).

D'après nos résultats la nature de sol de cette provenance est sablo- limoneuse, très pauvre en matière organique et non calcaire.

La provenance de 'Ain Defla' est soumise à un climat chaud et tempéré de type méditerranéen chaud-été (Csa). La température moyenne est de 18.6 °C et les précipitations sont de 534 mm.



**Figure 17.** Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gausson relatif à la provenance de Ain Defla.

L'amplitude des précipitations est de 87 mm et l'écart thermique mensuel est de 21.2 °C.

## 5.2. Caractérisation de la plante

### 5.2.1. Caractérisation du fruit

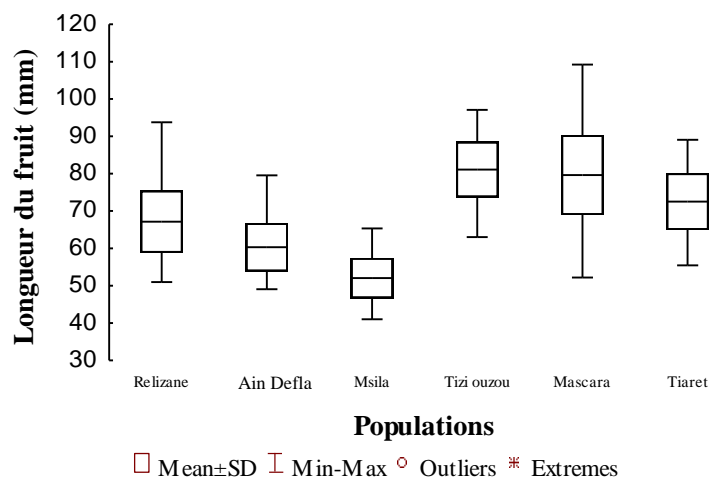
L'analyse de variance a montré que la longueur, le diamètre des fruits et des réceptacles ainsi que le nombre des aréoles par fruit diffèrent significativement entre les six populations échantillonnées ( $p < 0.001^{***}$ ).

**Tableau 3.** Analyse de la variance à un seul facteur au seuil de sécurité 95% de l'effet de la provenance sur la variabilité enregistrée de la morphologie du fruit d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.

Source de variabilité	DII	C.M	Fisher	P
Longueur du fruit	5	12 145.02	197.35	0.000***
Diamètre du fruit	5	1463.81	83.20	0.000***
Diamètre du réceptacle	5	412.66	112.46	0.000***
Poids du fruit	5	28236.58	141.13	0.000***
Nombre des aréoles	5	1839.87	39.38	0.000***

- **Longueur**

La longueur des fruits varie autour d'une valeur moyenne de  $68.38 \pm 7.65$  mm pour l'ensemble des populations. Elle oscille entre une longueur maximale de  $109.22 \pm 10.69$  mm enregistrée chez la population de 'Mascara' et une longueur minimale de  $41.05 \pm 5.39$  mm enregistrée chez la population de 'Msila'. Les populations de 'Mascara' et 'Tizi Ouzou' produisent des fruits de longueur comparable alors que ce paramètre diffère entre les autres populations (Figure 18).



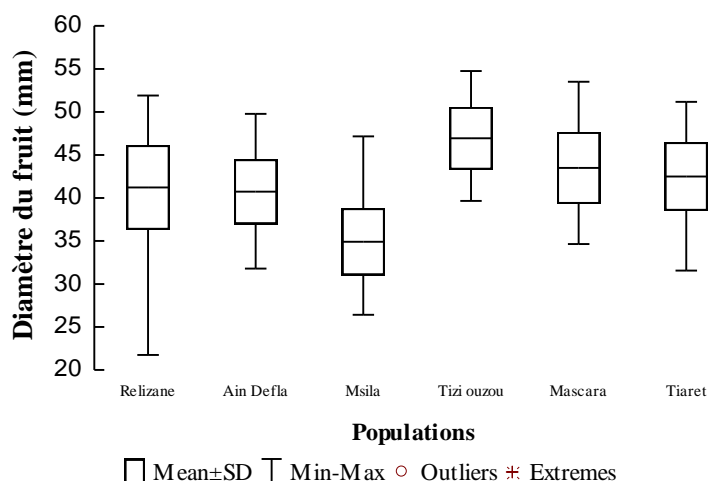
**Figure 18.** Description statistique de la variabilité enregistrée dans la longueur du fruit de six populations d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.

Quant à la variabilité intra-populationnelle, la population de ‘Msila’ semble être la plus homogène pour l’expression de ce paramètre ( $\sigma=5.39$ ) alors que celle de ‘Mascara’ s’avère la plus hétérogène ( $\sigma=10.69$ ).

• **Diamètre**

L’analyse de variance pour le variable diamètre des fruits, a révélé une différence hautement significative entre les provenances ( $P = 0.0***$ ).

Les diamètres des fruits varient considérablement autour d’une valeur moyenne pour l’ensemble des sites d’échantillonnage de 41.46 mm. Cette variation est comprise entre une valeur maximale de 54,75 mm enregistrée dans la population de ‘Tizi Ouzou’ et une valeur minimale de 21,75 mm enregistrée dans la population de ‘Relizane’.

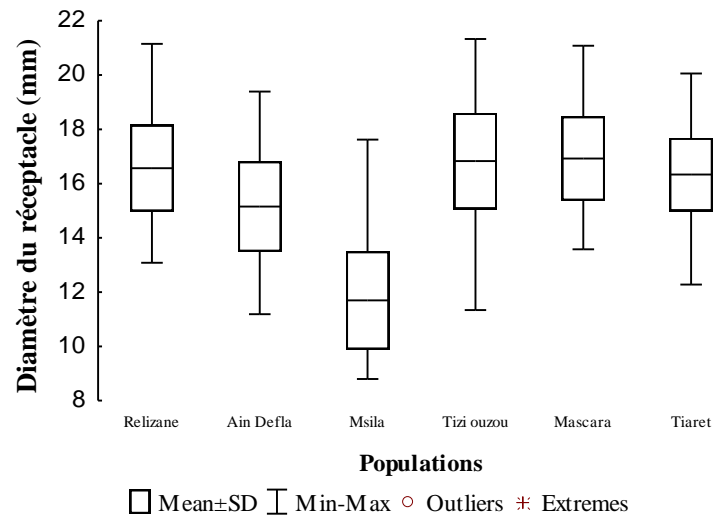


**Figure 19.** Description statistique de la variabilité enregistrée dans le diamètre du fruit de six populations d’*O. ficus-indica* L.

La population de ‘Tizi ouzou’ présentent une homogénéité plus importante par rapport aux autres populations ( $\sigma = 3.64$ ), alors que les diamètres des fruits de la population de ‘Relizane’ sont les plus hétérogènes ( $\sigma = 4.90$ ).

• **Diamètre du réceptacle**

Le réceptacle du fruit est d’un diamètre moyen de  $15.58 \pm 2.68$  mm pour l’ensemble des populations retenues dans cette étude. Il atteint son maximum dans la population de ‘Tizi Ouzou’ ( $21.49 \pm 3.26$  mm), qui présente une hétérogénéité très remarquable ( $\sigma = 3.26$ ), alors que le diamètre le plus petit a été présent dans la population de ‘Msila’ ( $8.8 \pm 1.8$  mm).

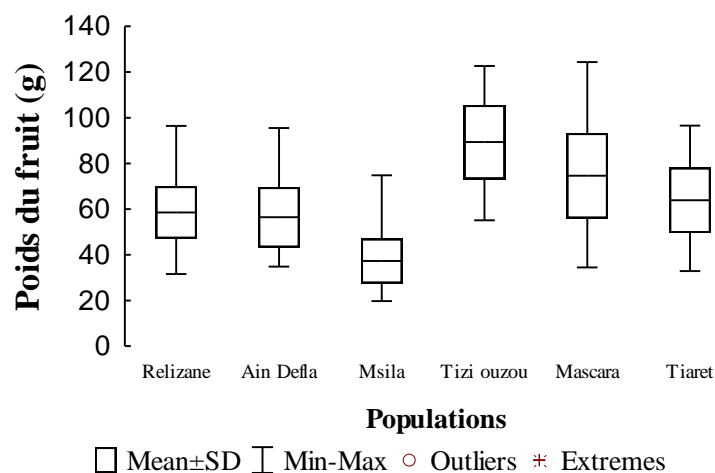


**Figure 20.** Description statistique de la variabilité enregistrée dans le diamètre du réceptacle de six populations d’*O. ficus-indica* L. en Algérie.

L’analyse de la variabilité intra-populationnelle montre que le diamètre du réceptacle s’avère comparable autour de  $16.6 \pm 1.49$  mm entre les populations de ‘Tiaret’, ‘Relizane’ et ‘Mascara’ (Figure 20). Cependant, il diffère significativement entre les autres populations.

- **Poids**

Le poids du fruit fluctue largement autour d’une valeur moyenne de  $(62.46 \pm 21.02)$  g pour les sites d’échantillonnage choisis. Cette variation change entre une valeur minimale de  $(19.74 \pm 9.77)$  g enregistrée dans la provenance de ‘Msila’ et une valeur maximale de  $(124.39 \pm 18.64)$  g enregistrée dans la provenance de ‘Mascara’.

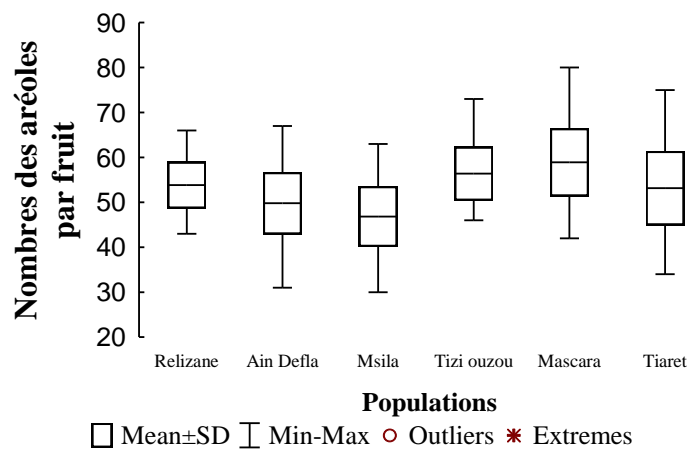


**Figure 21.** Description statistique de la variabilité enregistrée dans le poids du fruit de six populations d’*O. ficus-indica* L. en Algérie.

Les échantillons prélevés de la population de ‘Msila’ semblent les plus homogènes parmi l’ensemble des populations ( $\sigma=9.77$ ), par contre, la variabilité la plus importante est observée dans la population de ‘Tizi ousou’ ( $\sigma= 16.18$ ).

- **Nombre des aréoles**

Le nombre moyen des aréoles est de  $(53,1 \pm 7.90)$  pour l’ensemble des individus étudiés. Cette valeur est comprise entre une valeur minimale de  $(30 \pm 6.69)$  aréoles enregistrées par les fruits de ‘Msila’ et une valeur maximale de  $(80 \pm 7.52)$  aréoles enregistrées par celles de ‘Mascara’.



**Figure 22.** Description statistique de la variabilité enregistrée dans le nombre des aréoles par fruit de six populations d’*O. ficus-indica* L. en Algérie.

La variabilité mesurée à l’intérieur de chaque provenance atteint son minimum dans la population de ‘Relizane’ qui semble la plus homogène parmi les autres ( $\sigma=5.14$ ), alors qu'elle touche à son maximum dans la population de ‘Tiaret’ ( $\sigma=8.21$ ).

### 5.2.2. Caractérisation de l’écorce

Le poids et l’épaisseur de l’écorce du figuier de barbarie semble être très hautement significatif ( $P < 0^{***}$ ) entre les six populations analysées.

Les résultats de l’analyse de variance illustrée dans le tableau suivant montre que la différence de poids et la variation de l’épaisseur de l’écorce du fruit de cette espèce entre les six populations est très hautement significatif.

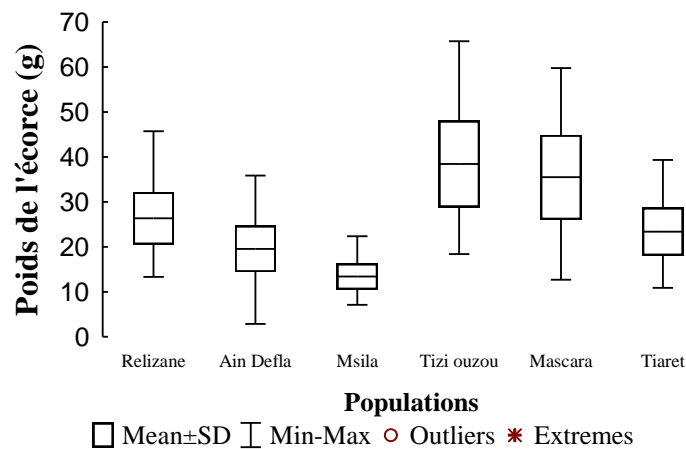
**Tableau 4.** Analyse de la variance à un seul facteur au seuil de sécurité 95% de l'effet de la provenance sur la variabilité de la morphologie de l'écorce de six populations d'*O. ficus-indica* L en Algérie.

Source de variabilité	dll	CM	Fisher	P
Poids de l'écorce	5	8408.07	188.67	0.000***
L'épaisseur de l'écorce	5	23.41	54.63	0.000***

• **Poids**

Le poids de l'écorce fluctue largement autour d'une valeur moyenne de  $(25.69 \pm 10.18)$  g pour les sites d'échantillonnage choisis. Cette variation change entre une valeur moyenne minimale de  $(9.88 \pm 5.14)$  g enregistrée à 'Msila' et une valeur moyenne maximale de  $(65.74 \pm 9.59)$  g enregistrée au niveau de la population de 'Tizi Ouzou'.

L'hétérogénéité observée entre les différentes provenances dans l'expression de ce caractère est exprimée par des valeurs plus élevées dans la population de 'Tizi Ouzou' ( $\sigma = 9.59$ ). La population de 'Msila' semble être la plus homogène ( $\sigma = 2.86$ ).



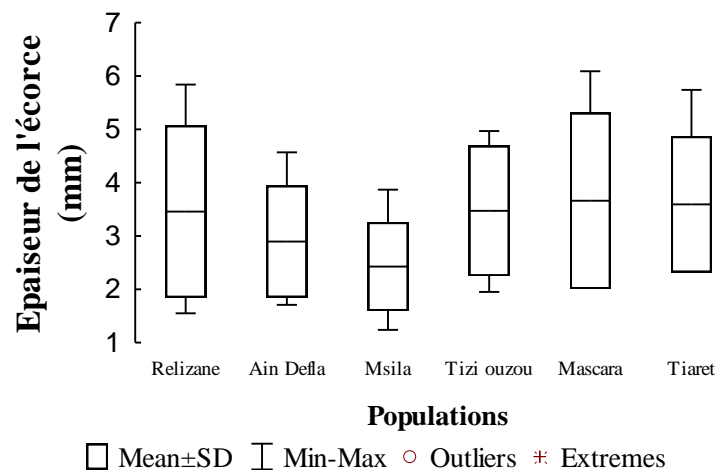
**Figure 23.** Description statistique de la variabilité enregistrée dans le poids de l'écorce du fruit des six populations d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.

Le test d'homogénéité de Tukey fait ressortir six ensembles homogènes ; dans chaque ensemble figure une population.

• **Épaisseur**

L'épaisseur moyenne de l'écorce est de  $(3.24 \pm 0.79)$  mm, elle varie autour d'une valeur minimale de  $(1.24 \pm 0.41)$  mm au niveau de la population de 'Msila' et une valeur maximale de  $(6.09 \pm 0.82)$  mm marquée par la population de 'Mascara'.

La variabilité la plus hétérogène est enregistrée chez la provenance de 'Mascara' ( $\sigma = 0.82$ ), par contre, la provenance de 'Msila' semble être la plus homogène avec ( $\sigma = 0.41$ ).



**Figure 24.** Description statistique de la variabilité enregistrée dans l'épaisseur de l'écorce du fruit des six populations d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.

Selon le test d'homogénéité de Tukey, il existe trois ensembles statistiquement homogènes. Le premier regroupe les populations de 'Relizane', 'Tizi Ouzou', 'Tiaret' et 'Mascara' dont l'épaisseur de l'écorce varie autour d'une moyenne de  $(3.54 \pm 0.72)$  mm, Le deuxième groupe renferme la population de 'Ain Defla' avec une moyenne de  $(2.89 \pm 0.52)$  mm et le troisième groupe comporte la population de 'Msila' avec une épaisseur de  $(2.42 \pm 0.41)$  mm.

**5.2.3. Caractérisation des graines**

L'analyse de la variance du poids des graines et le nombre des graines avortées par fruit, a révélé une différence très hautement significative entre les six provenances ( $P < 0^{***}$ ). Alors qu'on ne note pas une différence significative entre ces mêmes populations pour la variable nombre de graines fertiles par fruit ( $p > 0.05$ ).



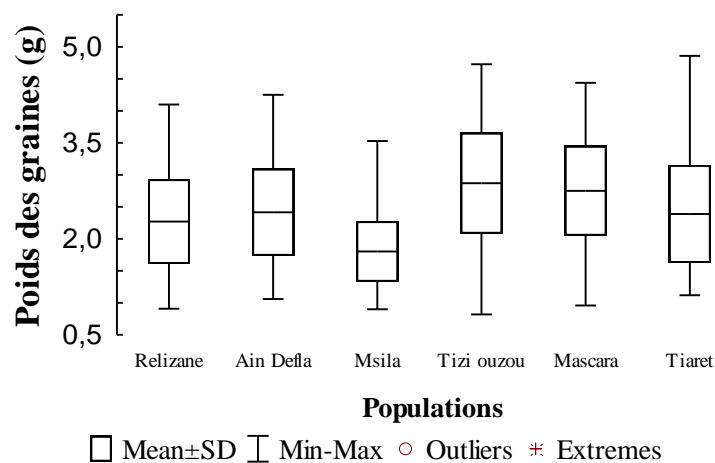
**Tableau 5.** Analyse de la variance à un seul facteur au seuil de sécurité 95% de l'effet de la provenance sur la variabilité morphologique des graines des six populations d'*O. ficus-indica* L en Algérie.

Source de variabilité	dll	CM	Fisher	P
Poids des graines	5	13.50	27.14	0.000***
Nbr des graines fertiles	5	1155.43	0.72	0.609
Nbr des graines avortées	5	53215.54	32.63	0.000***

• **Poids**

Le poids des graines s'avère très variable entre les populations avec une moyenne de  $(2.39 \pm 0.78)$  g. Il oscille entre une valeur minimale de  $(0.91 \pm 0.74)$  g à la population de 'Relizane' et une valeur maximale  $(4.86 \pm 0.80)$  g enregistrés dans la provenance de 'Tiaret'.

La population de 'Msila' présente une homogénéité pour le poids de grains avec  $(\sigma = 0.47)$  et pour le nombre des graines fertiles avec  $(\sigma = 0.3)$ , comparativement aux autres populations.



**Figure 25.** Description statistique de la variabilité enregistrée dans le poids des graines de six populations d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.

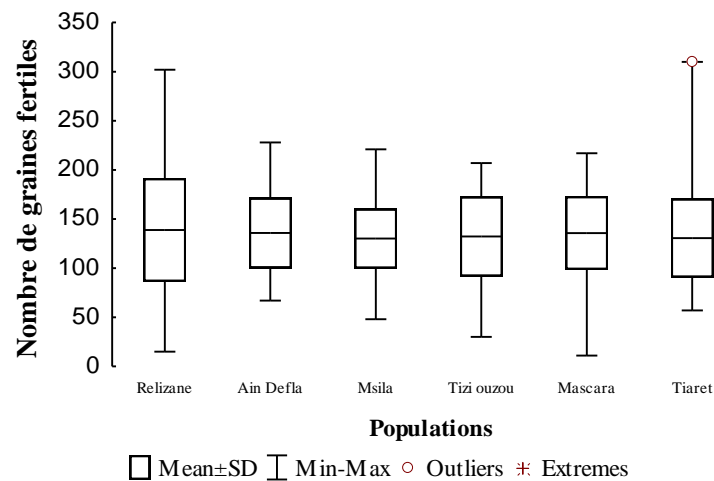
L'étude d'homogénéité des groupes indique la présence de trois groupes homogènes. Le premier regroupe les populations de 'Relizane', 'Tiaret', 'Ain Defla', Avec un poids moyen de  $(2.35 \pm 0.74)$  g, le deuxième groupe renferme deux populations 'Mascara' et 'Tizi Ouzou', le poids moyen des graines de cet ensemble est de  $(2.81 \pm 0.75)$  g.

Le troisième ensemble comporte uniquement la population de 'Msila' avec un poids moyen de  $(1.804 \pm 0.47)$  g.

- **Nombre de graines fertiles**

D'après la figure 26, le nombre des graines fertiles par fruit varie autour d'une moyenne de  $(133.89 \pm 40.03)$ , Alors que la moyenne la plus élevées  $(310 \pm 39.93)$  est enregistrée à l'intérieur de la population de 'Tiaret', tandis que la plus faible  $(11 \pm 37.16)$  est rencontrée au niveau de la population de 'Mascara'.

La population de 'Msila' présente une homogénéité pour ce caractère comparativement aux autres populations avec  $(\sigma= 3.18)$ . Par contre, la population de 'Relizane' semble être la plus hétérogène.



**Figure 26.** Description statistique de la variabilité enregistrée dans le nombre de graines fertiles des six populations d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.

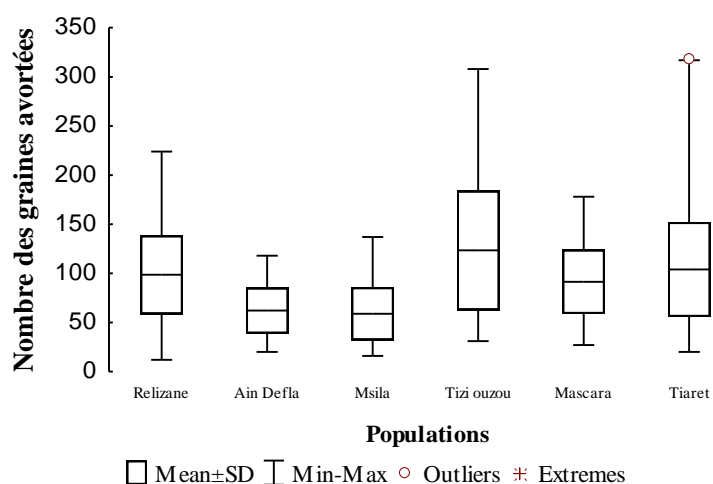
Le test d'homogénéité identifie un seul groupe homogène qui comporte toutes les populations prélevées.

- **Nombre de graines avortées**

La valeur moyenne du nombre des graines avortées des six populations fluctue autour d'une valeur moyenne de  $(89.96 \pm 45.85)$ .

Le nombre maximal des graines avortées  $(317 \pm 48.13)$  est signalé dans la population de 'Tiaret', le minimal  $(12 \pm 39.89)$  est mentionné dans la population de 'Relizane'.

La population de 'Tizi Ouzou' semble être la plus hétérogène avec  $(\sigma= 6.56)$ . Par contre, la population de 'Ain Defla' présente une homogénéité élevée par rapport aux autres populations  $(\sigma= 2.21)$ .



**Figure 27.** Description statistique de la variabilité enregistrée dans le nombre des graines avortées par fruit des six populations d’*O. ficus-indica* L. en Algérie.

Le test d’homogénéité identifie trois groupes homogènes, les populations de ‘Msila’ et ‘Ain De fla’ représentent le premier groupe qui enregistre une moyenne de  $(60 \pm 2.01)$  graines avortées par fruit, les populations de ‘Mascara’, ‘Relizane’ et ‘Tiaret’ appartiennent au deuxième groupe qui marque une moyenne variant autour de  $(98 \pm 4.19)$ , le troisième groupe comporte uniquement la population de ‘Tizi Ouzou’ avec une moyenne de  $(123.39 \pm 6.56)$  graines avortées par fruit.

#### 5.2.4. Caractérisation de cladode

Nous avons remarqué une grande variation mesurée pour la longueur et l’épaisseur de cladode entre les différentes provenances qui semblent enregistrer une hétérogénéité pour ce caractère ( $p < 0^{***}$ ).

Tandis que les résultats obtenus pour la largeur de cladode, nombre des aréoles et nombre des fruits par cladode des populations d’*O. ficus-indica* L échantillonnés montrent qu’il n’y a pas un effet significatif de la provenance sur ces paramètres ( $p > 0.05$ ).

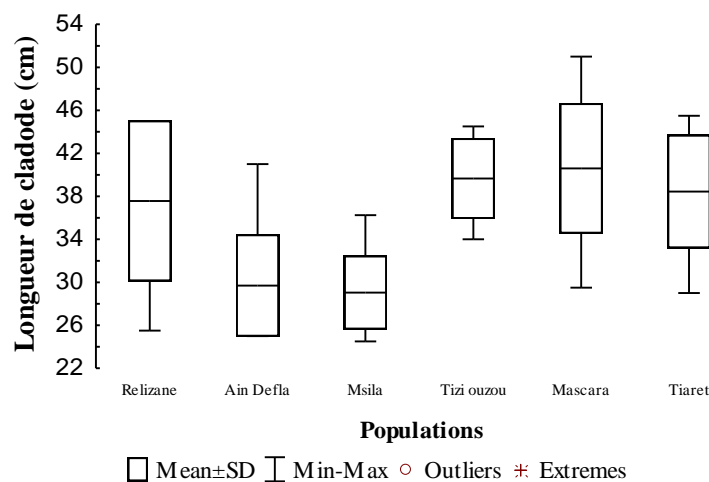
**Tableau 6.** Analyse de la variance à un seul facteur au seuil de sécurité 95% de l'effet de la provenance sur la variabilité de la morphologie de cladode des six populations d'*O. ficus-indica* L en Algérie.

Source de variabilité	dll	CM	Fisher	P
Longueur de cladode	5	61 462	2135.2	0.000***
Largeur de cladode	5	11.853	1.86	0.15
Épaisseur de cladode	5	15245.9	3159.7	0.000***
Nombre des aréoles	5	75.62	1.71	0.165
Nombre des fruits	5	15.65	1.64	0.167

• **Longueur**

La longueur de cladode varie autour d'une moyenne de  $(37.25 \pm 6.69)$  cm, elle oscille entre une longueur minimale de  $(24.5 \pm 7.36)$  cm au niveau de la population de 'Msila' et une longueur maximale de  $(51 \pm 5.51)$  cm enregistrée dans la population de 'Mascara'.

L'hétérogénéité de ce caractère pour les différentes populations change entre un minimum et un maximum de  $(\sigma= 5.514)$  et  $(\sigma= 8.021)$  chez les populations de 'Mascara' et 'Ain Defla' respectivement.



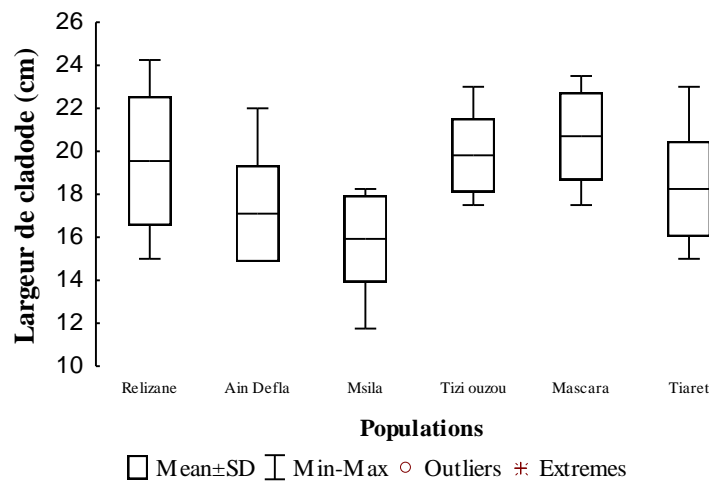
**Figure 28.** Description statistique de la variabilité enregistrée dans la longueur de cladode de six populations d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.

L'étude d'homogénéité des groupes montre la présence de deux groupes homogènes, le premier rassemble les populations de 'Relizane', 'Tiaret', 'Tizi Ouzou' et 'Mascara' avec une moyenne variant autour de  $(39.65 \pm 3.83)$  cm. Le deuxième ensemble regroupe les populations de 'Msila' et 'Ain Defla' avec une moyenne de  $(29.05 \pm 7.69)$  cm.

- **Largeur**

La largeur fluctue largement autour d'une valeur moyenne de  $(18.76 \pm 2.74)$  cm pour les sites de prélèvements. Cette variation change entre une valeur minimale de  $(11.75 \pm 0.70)$  cm enregistrée chez la population de 'Msila' et une valeur maximale de  $(24.25 \pm 3.21)$  cm signalée dans la population de 'Relizane'.

La plus faible variabilité à l'intérieur des populations est observée dans la population de 'Msila' qui présente les spécimens les plus homogènes relativement aux autres ( $\sigma = 0.707$ ). Cependant, la variabilité la plus remarquable est mentionnée dans la population de 'Ain Defla' ( $\sigma = 3.304$ ).



**Figure 29.** Description statistique de la variabilité enregistrée dans la largeur de cladode des six populations d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.

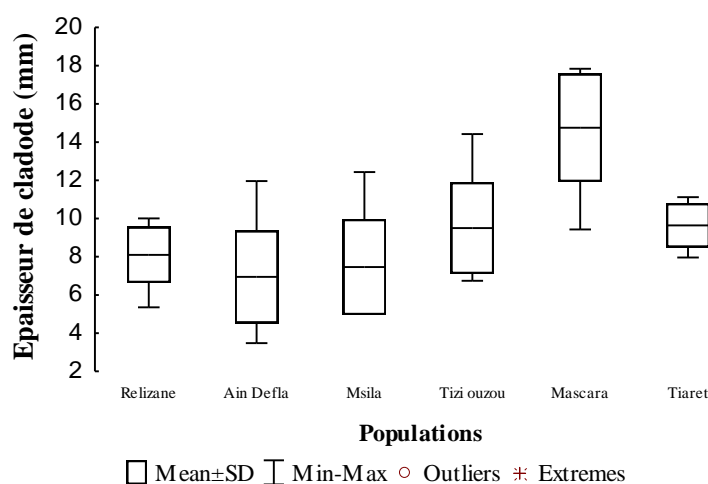
Le test d'homogénéité identifie un seul phénotype qui regroupe l'ensemble des populations prélevées.

- **Épaisseur**

Un effet très hautement significatif de la provenance sur l'épaisseur de cladode d'*Opuntia ficus-indica* est observé ( $P < 0$ ).

L'épaisseur des cladodes varie autour d'une moyenne de  $(9.4 \pm 0.70)$  mm, entre une valeur minimale de  $(3.48 \pm 0.69)$  mm enregistrée dans la population de 'Ain Defla' et une valeur maximale de  $(17.84 \pm 0.89)$  mm enregistrée dans la population de 'Mascara'.

L'épaisseur des cladodes de la population de 'Tiaret' s'avère un caractère très homogène ( $\sigma = 0.36$ ) par rapport aux autres surtout celles de la population populations Tandis que La de 'Mascara' ( $\sigma = 0.89$ ).



**Figure 30.** Description statistique de la variabilité enregistrée dans l'épaisseur de cladode des six populations d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.

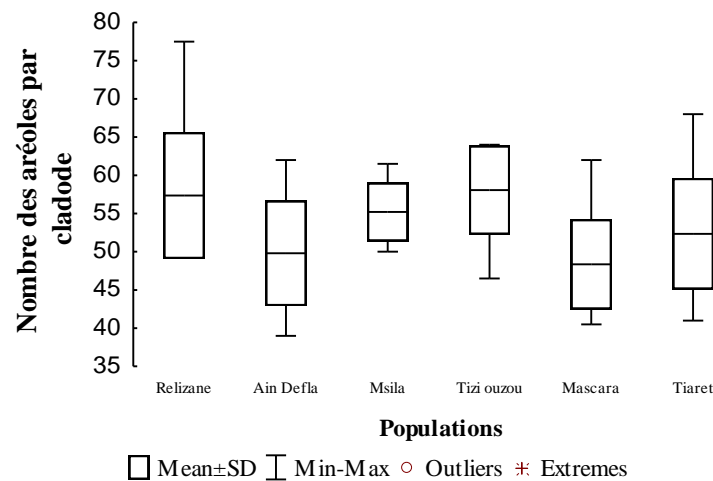
Sur le plan phénotypique, deux groupes homogènes peuvent être distingués ; la population de 'Mascara' se distingue par des cladodes plus épais ( $14.75 \pm 0.89$  mm). Cependant les cinq autres populations possèdent des cladodes moins épais ( $8.33 \pm 0.69$  mm).

- **Nombre des aréoles**

L'analyse de variance pour la variable nombre des aréoles par cladodes, a montré une différence non significative entre les provenances ( $P > 0, 05$ ).

Le nombre d'aréoles par cladode fluctue autour d'une moyenne de ( $53 \pm 6.99$ ) chez l'ensemble des provenances. Les cladodes de la population de 'Relizane' ( $77.5 \pm 4.96$ ) quoique le faible nombre d'aréoles est enregistré dans la population de 'Ain Defla' ( $39 \pm 7.34$ ).

Pour le nombre d'aréoles, la population de 'Msila' semble la plus homogène parmi les populations analysées ( $\sigma=1.41$ ). En revanche, la population de 'Tiaret' est la plus hétérogène ( $\sigma=16.79$ ).



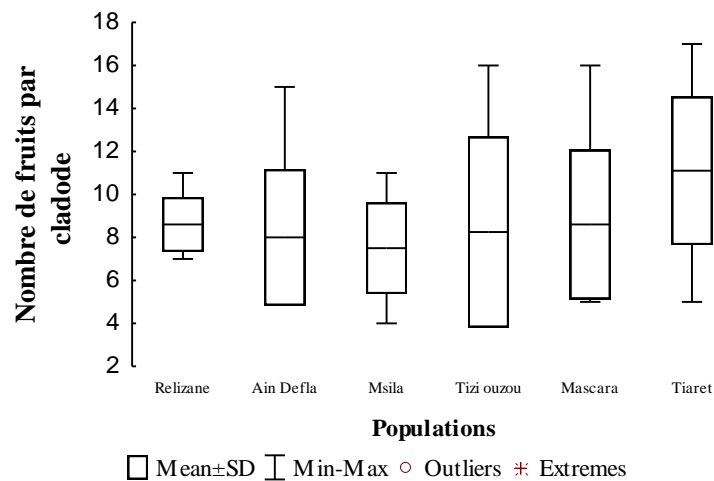
**Figure 31.** Description statistique de la variabilité enregistrée dans le nombre des aréoles par cladode des six populations d’*O. ficus-indica* L. en Algérie.

- **Nombre de fruits**

L'analyse de variance ne révèle aucun effet significatif de la provenance sur la variabilité enregistrée dans le nombre de fruits par cladode ( $p > 0.05$ ) (tableau 6).

Le nombre moyen de fruits par cladode varie autour d’une moyenne de  $(8.7 \pm 3.18)$ , entre un maximum de  $(17 \pm 3.44)$  fruits enregistrée dans la population de ‘Tiaret’ et un minimum de  $(4 \pm 2.12)$  fruits enregistré chez les cladode de ‘Msila’(Fig.30).

La variabilité mesurée à l’intérieur de chaque provenance atteint son maximum dans la provenance de ‘Tizi Ouzou’ ( $\sigma=4.43$ ), alors qu'elle touche son minimum dans la population de ‘Relizane’ qui semble la plus homogène parmi les autres ( $\sigma=1.26$ ) (Fig.30).



**Figure 32.** Description statistique de la variabilité enregistrée dans le nombre de fruits par cladode des six populations d’*O. ficus-indica* L. en Algérie.

### 5.2.5. Caractérisation de la hauteur de pied

Le traitement statistique de données énonce un effet très hautement significatif de la provenance sur la variabilité observée dans hauteur de pied des six populations de figuier de barbarie analysées ( $p < 0$ , Tableau 8).

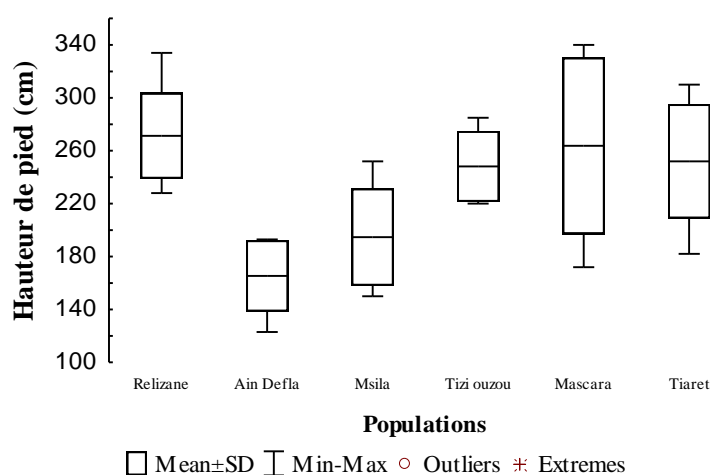
**Tableau 7.** Analyse de la variance à un seul facteur au seuil de sécurité 95% de l’effet de la provenance sur la variabilité de la hauteur de pied des six populations d’*Opuntia ficus-indica* L en Algérie.

Source de variabilité	dll	CM	F	P
Population	5	17968.5	10.38	0.000***

La hauteur de pied varie autour d’une moyenne de  $(232 \pm 5.18)$  cm chez l’ensemble des populations étudiées. Cette hauteur fluctue entre un maximum de  $(271,3 \pm 3.34)$  cm enregistré dans la population de ‘Relizane’ et un minimum de  $(165.4 \pm 2.94)$  cm inscrit au niveau de la population de ‘Ain Defla’.

Les populations retenues manifestent une hétérogénéité importante. La population de ‘Ain Defla’ semble être la plus homogène pour ce caractère ( $\sigma=2.95$ ). Par contre la population de ‘Mascara’ présente une variabilité très marquée de ( $\sigma=6,74$ ) (Fig. 31).





**Figure 33.** Description statistique de la variabilité enregistrée dans la hauteur de pied des six populations d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.




Trois phénotypes peuvent être distingués ; les populations de 'Ain Defla' et 'Msila' sont caractérisées par une faible hauteur de pied ( $180.05 \pm 3.85$ ) cm. Le deuxième phénotype se manifeste chez les provenances de 'Msila' et 'Tizi Ouzou', par une hauteur moyenne de ( $211.41 \pm 3.75$ ) cm. Alors que la hauteur la plus importante ( $258.78 \pm 4.29$ ) cm est constatée chez les populations de 'Tizi Ouzou', 'Tiaret', 'Mascara' et 'Relizane'.

### 5.2.6. Caractérisation qualitative

- **Formes de fruit**

Nous avons constaté trois formes différentes de fruit à l'intérieur des populations échantillonnées d'*O. ficus-indica* L. en Algérie, à savoir, la forme elliptique étroite, elliptique ou circulaire (**Tableau 9**). Les fruits de chaque population traitée sont caractérisés par une unique forme. La forme elliptique caractérise les fruits de la majorité des populations analysées, alors que les formes elliptique étroite et circulaire sont spécifiques pour les fruits des populations de 'Relizane' et 'Msila' respectivement.

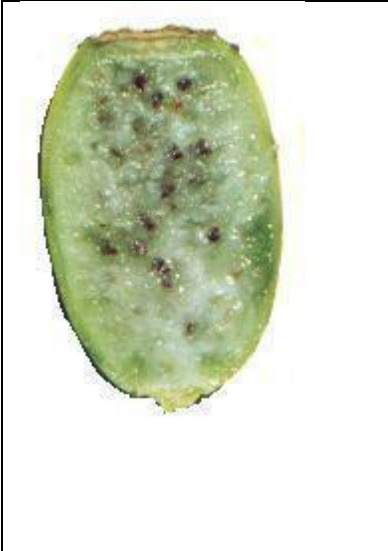
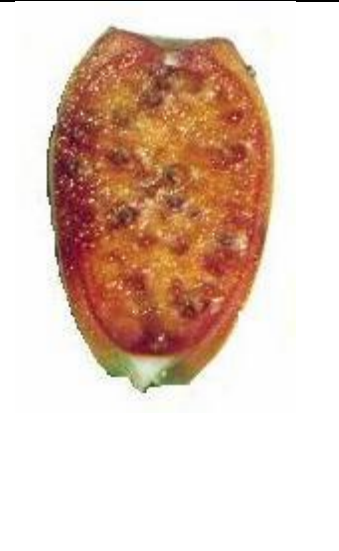
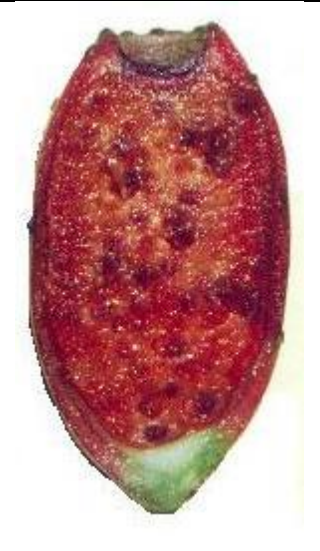
**Tableau 8.** Forme du fruit des six populations d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.

			
<b>Forme du fruit</b>	Elliptique étroite	Elliptique	Circulaire
<b>Populations</b>	Relizane	Ain Defla Tizi Ouzou Mascara Tiaret	Msila

- **Réceptacle**

L'analyse du fruit a permis de détecter la présence de trois types de réceptacles caractérisant les fruits des six provenances à savoir, le réceptacle légèrement déprimé, moyen ou fortement déprimé (Tableau 10). Il est à noter qu'à l'intérieur de chaque population, seulement une des trois formes signalées de réceptacle est présente. Les fruits des populations de 'Ain Defla', 'Tizi Ouzou', 'Mascara' et 'Tiaret' manifestent la même forme de réceptacle (modérément déprimée), alors que les fruits des populations de 'Relizane' et 'Msila' expriment les formes (nulle ou légèrement déprimée) et (Fortement déprimée) respectivement.

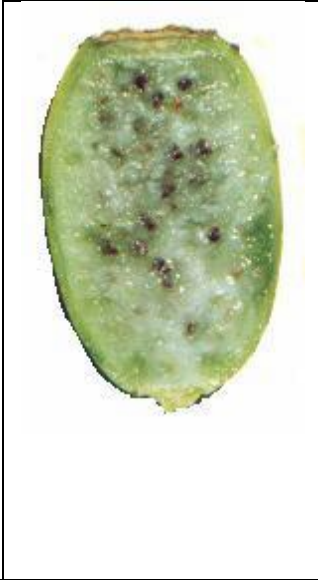

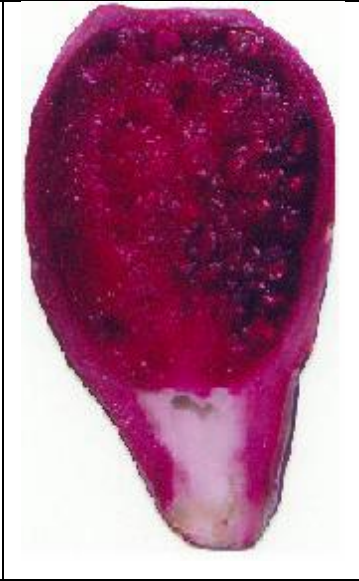
**Tableau 9.** Forme de réceptacle des six populations d'*O. ficus-indica* L en Algérie.

			
<b>Forme de réceptacle</b>	Nulle ou légèrement déprimée	Modérément déprimée	Fortement déprimée
<b>Populations</b>	Relizane	Ain Defla Tizi Ouzou Mascara Tiaret	Msila

- **Pédoncule**

Nous avons remarqué une hétérogénéité du trait forme du pédoncule au niveau des échantillons collectés (tableau 11), dans l'ensemble des fruits, trois types de pédoncules ont été observés à savoir, type court, type moyen et type long. Les mêmes constatations qui ont été signalées sur les deux traits qualitatifs cités ci-dessus sont aussi valables sur le trait de la forme du pédoncule, c'est-à-dire qu'à l'intérieur de chaque population traitée, les fruits manifestent un seul phénotype de la forme du pédoncule. Le type moyen du pédoncule prédomine sur les deux autres types puisqu'il est présent au niveau des fruits de la moitié des échantillons analysés, il caractérise les populations de 'Ain Defla', 'Mascara' et 'Tiaret'. En revanche le type long caractérise uniquement les échantillons provenant de 'Tizi Ouzou', alors que le type court est exprimé par les fruits des populations de 'Relizane' et 'Msila'.

**Tableau 10.** Forme de pédoncule des six populations d'*O. ficus-indica* L en Algérie.

			
<b>Forme du pédoncule</b>	Court	Moyen	Long
<b>Populations</b>	Relizane Msila	Ain Defla Mascara Tiaret	Tizi Ouzou

- **Forme de cladode**

Les observations effectuées in situ lors du prélèvement des échantillons nous ont permis de distinguer deux catégories de cladodes, une épineuse qui caractérise l'ensemble des individus des populations de 'Relizane', 'Msila' et 'Tizi Ouzou', et l'autre inerme qui caractérise les populations de 'Ain Defla', 'Mascara' et 'Tiaret'.

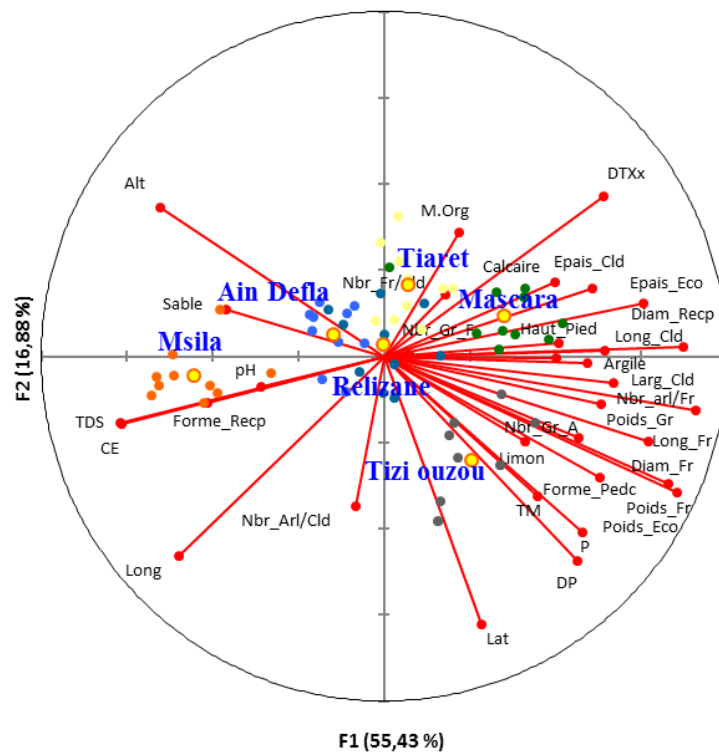
### 5.3. Etude des relations phénotype-environnement

Une analyse en composantes principales (ACP) a été élaborée pour mettre en évidence les liens possibles entre les différentes variables mesurées et les facteurs de leurs milieux.

L'analyse en composante principale renforcée par l'analyse hiérarchique en cluster selon la méthode de Ward établie afin de divulguer les groupes de provenances homogènes révèle l'existence de deux ensembles bien distincts.

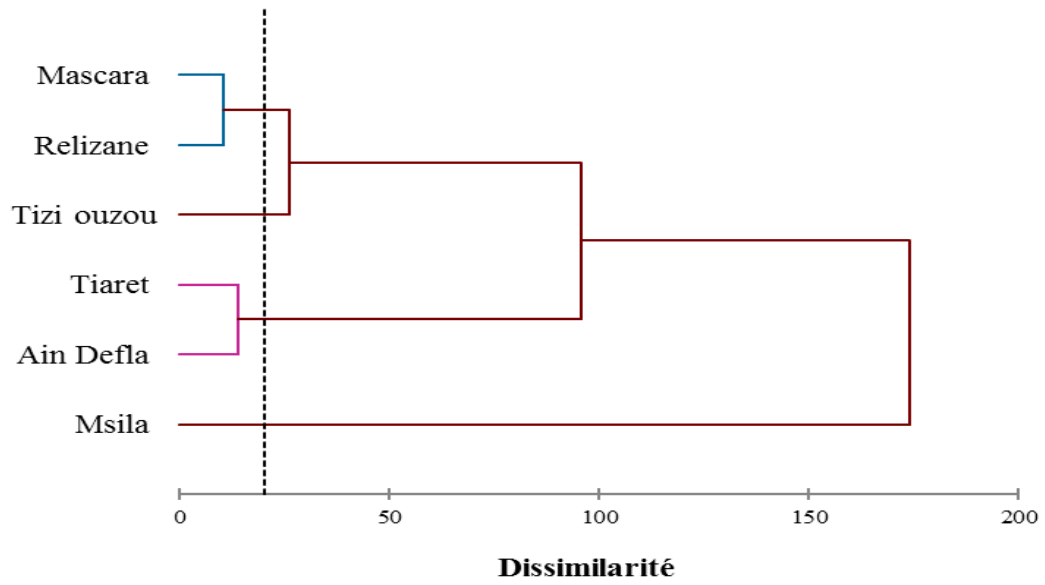
La projection des populations sur la première composante a fait ressortir deux ensembles dans le sens positif et deux ensembles dans le sens négatif. Cependant, la projection sur la deuxième composante révèle l'existence de deux ensembles bien distincts ; la population de

‘Relizane’ et ‘Tizi Ouzou’ s’isole vers le côté négatif quoique les quatre autres populations de ‘Ain Defla’, ‘Mascara’, ‘Msila’ et ‘Tiaret’ se rassemblent sur le côté positif de cette composante.



**Figure 34.** Analyse en composantes principales élaborée sur les traits mesurées et les variables environnementales.

L'analyse en dendrogramme montre la présence de trois phénotypes distincts en se basant sur les traits végétatifs et de reproductions d'ordre quantitatif, le premier regroupe les populations de ‘Mascara’, ‘Relizane’ et ‘Tizi Ouzou’, le deuxième regroupe les populations de ‘Ain Defla’ et ‘Tiaret’, alors que la population de ‘Msila’ forme un groupe à part.



**Figures 35.** Classification automatique hiérarchisée regroupant toutes les variables.

### Discussion

La connaissance de la variabilité génétique est essentielle en sélection variétale. La mise en évidence de cette variabilité génétique pour certains caractères morphologiques constitue la première étape indispensable dans la description des ressources phytogénétiques (Radhouane 2004). La gestion et la conservation des ressources phytogénétiques nécessitent une description des individus, des populations et des espèces ainsi que la détermination des niveaux de leur diversité (Kremer 1994). Cette description repose sur le degré de diversité à l'intérieur et entre les différentes populations (Part et al. 2006).

L'objectif de cette étude est la caractérisation de la variabilité morphologique de quelques populations d'*O. ficus-indica* L. localisées sur six sites situés dans différents étage bioclimatique en Algérie sur la base des descripteurs morphologiques des traits végétatifs et de reproduction.

Les résultats obtenus à travers l'étude portant sur la variabilité phénotypique, ont permis de déceler un niveau élevé de polymorphisme intra populationnel et inter populationnel de l'espèce *O. ficus-indica* L. à l'exception de largeur des cladodes et aussi nombre des fruits et des aréoles par cladode qui manifestent une homogénéité entre ses individus et entre les six populations.

Les résultats obtenus montrent que les fruits des populations de 'Tizi Ouzou' et 'Mascara' sont plus longues que celles des autres populations. La longueur du fruit d'*O. ficus-indica* L. est corrélée significativement avec la majorité des paramètres étudiés. Les longueurs moyennes des fruits sont similaires avec celles notées par Aguero et al. (2005) pour des cultivars mexicains.

Le diamètre de fruit des populations de 'Mascara' et 'Tizi Ouzou' semble être plus grand par rapport aux autres populations. Des résultats similaires ont été signalés par Aguero et al. (2005). El finti et al. (2013) indiquent des valeurs réduites de diamètre des fruits de figuier de barbarie collectés de différentes provenances marocaines. Une forte corrélation a été notée entre le diamètre de fruit et la longueur du fruit ( $r= 0,730^{**}$ ) et le poids du fruit ( $r= 0,879^{**}$ ).

La population de 'Msila' présente les plus petits diamètres de réceptacle des fruits collectés. Ce diamètre est corrélé positivement avec la longueur du fruit ( $r= 0,674^{**}$ ) et le poids du fruit ( $r= 0,879^{**}$ ). Le diamètre moyen du réceptacle chez l'ensemble des populations est plus faible contrairement à ceux signalés par Aguero et al. (2005).

Les populations de 'Mascara' et 'Tizi Ouzou' enregistrent les poids les plus importants des fruits d'*O. ficus-indica* L. à l'opposé la population de 'Msila' présente les plus faibles poids de fruit. La différence de poids moyen des fruits entre les six populations est remarquable, ce même phénomène a été noté par Aguero et al. (2005), Chaouche et Abdul (2008), Walali (1995) et Mimouni et al. (2009). Le poids du fruit s'élève considérablement avec la longueur et le diamètre

du fruit  $r=0,809^{**}$ ,  $r=0,879^{**}$  ainsi qu'avec le diamètre du réceptacle, le poids de l'écorce et les précipitations ( $r=0,676^{**}$  et  $r=0,851^{**}$ ,  $r=0,606^{**}$ ).

Le nombre des aréoles par fruit se situe dans l'intervalle indiqué par Agüero et al. (2005). Le nombre des aréoles par fruit s'accroît largement avec la longueur, le diamètre et le poids du fruit ( $r=0,579^{**}$ ,  $r=0,486^{**}$  et  $r=0,531^{**}$ ).

Le poids de l'écorce varie considérablement entre les sites d'échantillonnage choisis ; les populations de 'Tizi Ouzou' et 'Mascara' présentent des poids remarquables. Les résultats obtenus sont inférieurs à ceux de Bouzoubaa et al. (2014).

Le poids de l'écorce est influencé fortement par les différentes dimensions du fruit, c'est ce qui a été constaté à travers la haute corrélation positive et significative qui existe entre la longueur, le diamètre et le diamètre du réceptacle ainsi qu'avec le poids du fruit ( $r=0,788^{**}$ ,  $r=0,741^{**}$ ,  $r=0,622^{**}$ ,  $r=0,851^{**}$ ).

Pour l'épaisseur de l'écorce, aucune différence n'a été remarquée entre les six populations. L'épaisseur de l'écorce est corrélée positivement avec les traits du fruit et surtout le poids de l'écorce ( $r=0,478^{**}$ ).

Le poids des graines s'avère très variable entre les populations ; les résultats du poids des graines sont similaires avec ceux trouvés par Bouzoubaa et al. (2014). L'accroissement du nombre de graines fertiles et avortées ainsi que le poids de ces derniers sont concomitants avec la longueur, le diamètre, le poids et le nombre des aréoles par fruit.

De plus, des corrélations positives sont constatées entre les différents traits étudiés sur les graines à savoir entre nombre de graines fertiles et le nombre de graines stérile et entre le poids du fruit ( $r=0,311^{**}$ ,  $r=0,311^{**}$ ), entre le poids de grains et le nombre de graines fertiles et le nombre de graines avortées ( $r=0,747^{**}$ ,  $r=0,627^{**}$ ). Ces résultats sont comparables avec ceux obtenus par Barbera et al. (1994) qui démontrent que la masse de fruit de cactus est affectée par le nombre des graines.

La population de 'Mascara' manifeste les longueurs des cladodes les plus marquantes. Ces résultats s'accordent avec ceux obtenus par Adli et al. (2017), Neffar (2012), Bhira (2012) et avec ceux de Barbera et al. (1992). La longueur de cladode dans toutes les populations étudiées est très importante par rapport aux résultats de El kharrasi (2015).

Pour la largeur des cladodes à savoir, l'ensemble des valeurs se rapprochent de celles signalées par Adli et al. (2017), Neffar (2012), ainsi que celles trouvées par Barbera et al. (1992).

L'épaisseur des cladodes des différentes provenances est inférieure par rapport à l'intervalle indiqué par Adli et al. (2017) et Neffar (2012).

Le nombre des aréoles par cladode est situé dans l'intervalle des moyennes obtenues par Adli et al. (2017) et Agüero et al. (2005).



La longueur du fruit est liée positivement et significativement avec la longueur et la largeur du cladode ( $r= 0,614^{**}$ ,  $r= 0,605^{**}$ ). De même la longueur du cladode est corrélée positivement avec sa largeur ( $r= 0,800^{**}$ ). La valeur moyenne trouvée, pour la hauteur de pied, se situe dans l'intervalle de celle notée par Agüero et al. (2005) au Mexique.

La hauteur à l'intérieur des populations échantillonnées corrobore avec celle trouvée par Barbera et al. (1992).

De fortes corrélations ont été soulevées entre la majorité des traits de reproduction et les précipitations. Dès lors, les précipitations favorisent le développement de la taille de certaines parties de *O. ficus-indica* L. à savoir la longueur du fruit, le diamètre du fruit, le poids du fruit, le nombre des aréoles par fruit, le poids de l'écorce et le poids des grains, l'épaisseur de l'écorce du fruit ainsi que l'épaisseur du cladode. Une étude menée par Felker et al. (2002) révèle que les précipitations élevées pendant la maturation vont augmenter la taille des fruits et le pourcentage de la pulpe. Selon Chaouche et Abdul (2008), les dimensions et le poids du fruit semblent être influencés par la période sèche et les précipitations annuelles. Par contre, les fortes précipitations influencent négativement le nombre d'aréoles par cladode qui est considéré une forme d'adaptation à la sécheresse.

Des corrélations significatives négatives ont été observées entre l'altitude et les traits végétative et les traits de reproduction. L'étude des traits qualitatifs a permis de classer les six populations échantillonnées en deux groupes. L'un rassemble celles portant des cladodes inermes avec un réceptacle moyen et un fruit moyennement elliptique, le cas des provenances de 'Ain defla', 'Mascara' et 'Tiaret' et l'autre renferme les populations de 'Msila', 'Relizane' et 'Tizi ouzou' avec la forme épineuse, réceptacle légèrement déprimé et un fruit elliptique.

**Chapitre 2 :**  
**Etude**  
**phytochimique**

## Chapitre 2 : Etude phytochimique

La demande croissante de substances bioactives et de métabolites secondaires peut être satisfaite en toute sécurité dans le cas où on pourra cartographier la variation de leurs teneurs dans les plantes en fonction de la variation des conditions environnementales (Alonso et al. 2005). C'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail dont le but est la caractérisation phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante de quelques populations du figuier de barbarie *Opuntia ficus-indica* L. en Algérie.

Les parties végétatives utilisées pour la caractérisation phytochimique portent sur l'écorce, le jus de pulpe, les graines, les cladodes et les fleurs.

La collecte des cladodes d'*O. ficus-indica* L. a été réalisée durant le mois de Mars (2016) ; les cladodes ont été prélevés aléatoirement ensuite, les échantillons ont été placés immédiatement dans une glacière et transportés au laboratoire. Les échantillons ont été rincés à l'eau puis séchés immédiatement avec du papier buvard avant leur conservation dans un réfrigérateur à 4 °C.

Cependant, la récolte des fruits a été faite durant les mois juillet et août (2016) des différentes régions. L'écorce a été récupérée après épluchage du fruit puis en passant la pulpe dans un mixeur afin de récupérer le jus d'un côté et les graines de l'autre côté. Les graines ont été nettoyées avec de l'eau distillée puis séchées à l'ombre dans une salle aérée. Les fleurs ont été récoltées au début du mois de juin au cours du stade postfloraison.

### 1. Préparation des échantillons

L'écorce et les cladodes ont été coupés en tranches fines et séchés dans une étuve sous une température de 50 °C pendant 48 heures. Les fleurs ont été récoltées dans le stade postfloraison quand elles sont devenues fermées et sèches. Les échantillons ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre fine obtenue a été conservée dans un bocal hermétique à température ambiante pour que ça soit ultérieurement utilisée pour la préparation des extraits.

Les graines, dures et sèches, ont été broyées à l'aide d'un vibro-broyeur. La poudre obtenue a été également conservée dans un bocal hermétique à une température ambiante pour la préparation ultérieure des extraits.

## 2. Extraction par macération à froid

5 g de la poudre ont été macérés dans 50 ml d'eau distillée sous agitation mécanique pendant 24 heures à une température ambiante. La solution obtenue a été filtrée sur papier filtre (Sanogo et al. 2006).

## 3. Quantification des métabolites

### 3.1. Polyphénols

La méthode de Folin-Ciocalteu (Li et al. 2007) a été utilisée pour le dosage des composés phénoliques totaux. L'ensemble de ces composés est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu, ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (WO<sub>4</sub>) et d'acide phosphomolybdique (MoO<sub>4</sub>) qui sont réduits en milieu alcalin lors de l'oxydation, des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques et possède une absorption maximale à 750 nm.

Cette méthode consiste à mettre un volume de 200 µl de l'extrait dans un volume de 1,5 ml du réactif Folin-Ciocalteu (dilué dix fois). Après 4 mn de réaction, un volume de 1,5 ml de Carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 5%) a été versé sur la solution et les tubes ont été placés à l'obscurité. Après deux heures, les résultats ont été lus par spectrophotométrie UV-Visible à 750 nm.

La teneur en polyphénols totaux a été déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g extrait). La formule suivante permet le calcul de la teneur en phénols totaux :

$$T = c \times \frac{V \times c}{P_s}$$

T : teneur en phénols totaux, C : concentration des polyphénols en équivalent d'acide gallique déduit de la courbe, V : Volume de l'extrait, D : facteur de dilution, Ps : poids de la matière sèche.

### 3.2. Flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) a été utilisée pour quantifier les flavonoïdes (Bahorun et al. 1996). Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons.

1 ml de chaque extrait (avec la dilution convenable) a été ajouté à 1 ml de la solution d'AlCl<sub>3</sub> (2 % dans le méthanol). Après 10 mn de réaction, l'absorbance est mesurée à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0 - 100 µg/ml).

La teneur en flavonoïdes a été déterminée à partir d'une équation de régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligramme équivalent de rutine par gramme d'extrait (mg ER/g extrait).

### **3.3. Tanins condensés**

La méthode de détermination du taux des proanthocyanidines a été proposée par Vermerris et Nicholson (2006). Cette méthode est basée sur l'utilisation du mélange butanol/HCl. 250 µl de chaque extrait ont été mélangés avec 2,5 ml d'une solution d'acide de sulfate ferreux (77 mg de sulfate d'ammonium ferrique : Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> dissous dans 500 ml de (3: 2 n-butanol: HCl). Après incubation à 95 °C pendant 50 minutes, l'absorbance a été mesurée à 530 nm.

$$T = \frac{A_{530 \text{ nm}} \times DF \times MW}{(\epsilon * 1)}$$

Où :

DF : est le facteur de dilution, MW : la masse moléculaire de la cyanuration (287 g/mol), E : le coefficient d'extinction moléculaire (34700 l/mol/cm).

Les proanthocyanidines ont été exprimés en mg de cyanidine équivalent/100 g matière sèche.

### **3.4. Sucres totaux**

Les sucres totaux ont été dosés par la méthode de Dubois et al. (1956). Cette méthode consiste à prendre 100 mg de poudre dans un tube à essai. 2 ml d'éthanol à 80% ont été ajoutés à chaque échantillon pour faire l'extraction des sucres puis les tubes ont été conservés à température ambiante à l'obscurité. Après 48 heures d'extraction, les tubes ont été transférés dans un bain-marie à 70 °C pour faire évaporer l'alcool. Après refroidissement, 20 ml d'eau distillée a été ajoutée à chaque échantillon. Par la suite, à chaque 1 ml de la solution d'extraction, 1 ml de phénol (5 %) puis 5 ml d'acide sulfurique concentré ont été ajoutés à la solution qui a été homogénéisée par agitation au vortex. Les tubes ont été laissés au repos pendant 10 mn puis ont été placés ensuite une autre fois dans le bain marie pendant 15 mn sous une température de 30 °C. La longueur d'onde de la solution a été déterminée à 490 nm et les densités optiques ont été converties selon la courbe d'étalonnage en µg.g<sup>-1</sup> MF.

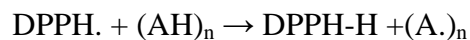
### **3.5. Sels minéraux**

La teneur en sels minéraux dans les aliments peut être potentiellement utile en tant qu'information complémentaire sur leur composition. L'analyse du sodium (Na), du potassium (K) et du calcium (Ca) a été réalisée en incinérant les échantillons dans un four à moufle à 450 °C pendant 4 h. En bref, 100 mg de cendres de chaque organe ont été digérés dans une solution contenant 20 ml d'acide chlorhydrique (HCl 0,1 N) et 8 ml d'acide nitrique absolu (HNO<sub>3</sub>), en utilisant la technique de digestion humide (Cwiertny et al. 2008). La teneur en minéraux a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre à flamme et exprimée en mg/g de poids sec d'extraits.

## **4. Evaluation de l'activité antioxydante**

### **4.1. Méthode de Di-Phényl-Picryl-Hydrazyl (DPPH)**

Le diphényle picryl-hydrazyle (DPPH), un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu donner des protons) (Sanchez-Moreno 2002). On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Où (AH)<sub>n</sub> représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine (jaune). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm.

Un volume de 1 ml de chaque extrait (avec dilution convenable) est incubé (30 mn) avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (33 mg/l). Les absorbances à 517 nm ont été enregistrées. Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour l'Acide Ascorbique pris comme un antioxydant standard. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante (Prakash et al. 2007) :

$$\text{Activité anti radicalaire (\%)} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

La concentration effective à 50%, EC50 = IC50/mg de DPPH/ml.

### **4.2. Méthode de réduction du fer (FRAP, Ferric Reducing Antioxidant Power)**

Cette méthode est basée sur la réaction de réduction du Fe<sup>3+</sup> présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe<sup>2+</sup>, la réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>), l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm.

Le protocole expérimental de Yildirim et al. (2001) consiste à prendre 0.5 ml de l'échantillon à différentes concentrations et les mélanger avec 1.25 ml d'une solution tampon phosphate à 0.2 M (pH= 6.6) et 1.25 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1 %. Le tout est incubé à 50 °C pendant 20 min, puis refroidi à température ambiante. 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10 % sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000 g pendant 10 min. 1.25 ml du surnageant sont ajoutés à 1.25 ml d'eau distillée et 250 µl d'une solution de chlorure de fer ( $FeCl_3, 6H_2O$ ) à 0.1% (Figure 20). La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

### **5. Analyse statistique**

Les expériences ont été répliquées au moins cinq fois et les données obtenues ont été soumises à une analyse de la variance à un seul facteur de variation. La comparaison entre les groupes homogènes a été réalisée par le test de Duncan.

L'analyse en composantes principales (ACP) a été utilisée afin d'identifier les différences entre les populations et pour comprendre la nature de la relation entre les différentes variables mesurées et les conditions environnementales.

## 6. Résultats

### 6.1. Teneurs en métabolites

- **Polyphénols**

Le dosage des polyphénols a été effectué par la méthode spectrophotométrique au réactif de Folin-Ciocalteu ; basée sur l'oxydation des phénolates et la réduction des polyhétérocycles, suivi par la formation du complexe molybdène-tungstène bleu qui est proportionnelle à la concentration en ces composés.

**Tableau 11.** Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs en polyphénols d'*O. ficus-indica* L. provenant de six populations en Algérie.

Source de variation	SCE	ddl	CM	F	Signification
Populations	112.629	5	22.526	4.509	0.001**
Organe	10387.55	4	2596.888	519.784	0.0***
Populations x Organe	301.077	20	15.054	3.013	0.0***
Erreur	389.695	78	4.996		
Total	16254.244	108			

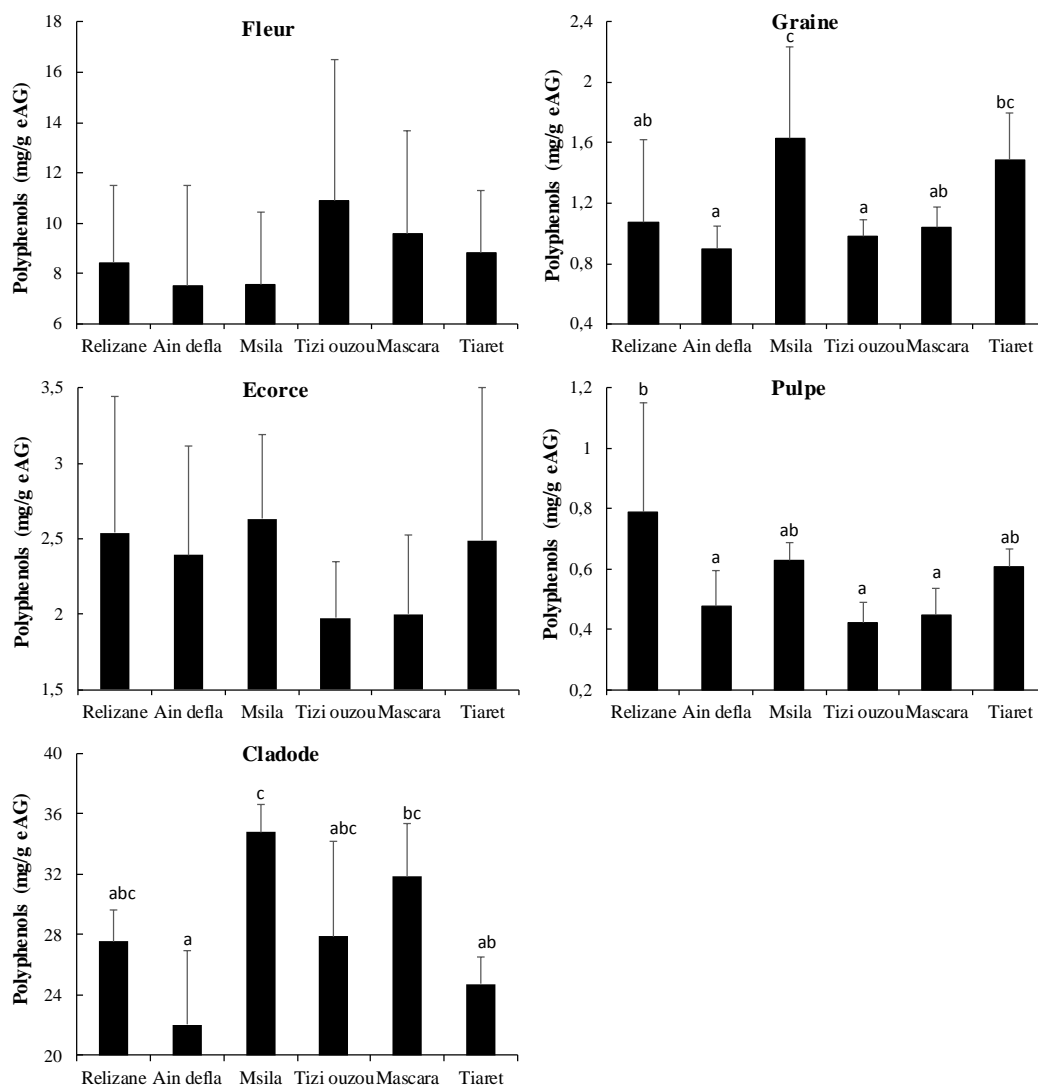
Les astérisques (\*) indiquent les différences significatives. ns : différence non significative.

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en polyphénols varient considérablement entre les différents organes d'*O. ficus-indica* L. De même, cette variation est fortement corrélée avec la provenance de la population étudiée et de l'interaction 'population x organe' (Tableau 12).

Les teneurs les plus élevées en polyphénols sont enregistrées dans les cladodes ( $28.13 \pm 3.42$  mg/g eAG). Néanmoins, les fleurs contiennent autour du tiers des teneurs des cladodes ( $8.80 \pm 3.27$  mg/g eAG). Cependant, les teneurs des graines, de l'écorce et de la pulpe sont les plus faibles et tournent au voisinage de  $1.38 \pm 0.37$  (mg/g eAG) seulement.

Concernant les cladodes, les populations de 'Msila' et 'Mascara' contiennent les teneurs les plus élevées alors que les teneurs les plus faibles sont enregistrées dans la population de 'Ain Defla'. De même, les populations de 'Relizane', 'Msila' et 'Tialet' sont caractérisées par leurs teneurs élevées en polyphénols contenus dans la pulpe et les graines. Cependant, les teneurs les plus faibles dans ces organes sont signalées dans les populations de 'Ain Defla' et 'Tizi ouzou'. Toutefois, aucune variation statistiquement significative n'a été observée entre les différentes populations concernant les teneurs en polyphénols dans les écorces et les fleurs (Figure 36).





**Figure 36.** Variation de la teneur en polyphénols dans les différents organes d'*O. ficus-indica* L. provenant de six populations en Algérie.

\* Les lettres alphabétiques au-dessus des histogrammes renseignent les groupes homogènes selon le test de Duncan.

### • Flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été déterminés par la méthode colorimétrique qui donne une coloration jaunâtre suite à la chélation de trichlorure d'aluminium. Les teneurs en flavonoïdes des différentes parties sont exprimées en mg équivalent de quercétine par gramme de l'extrait.

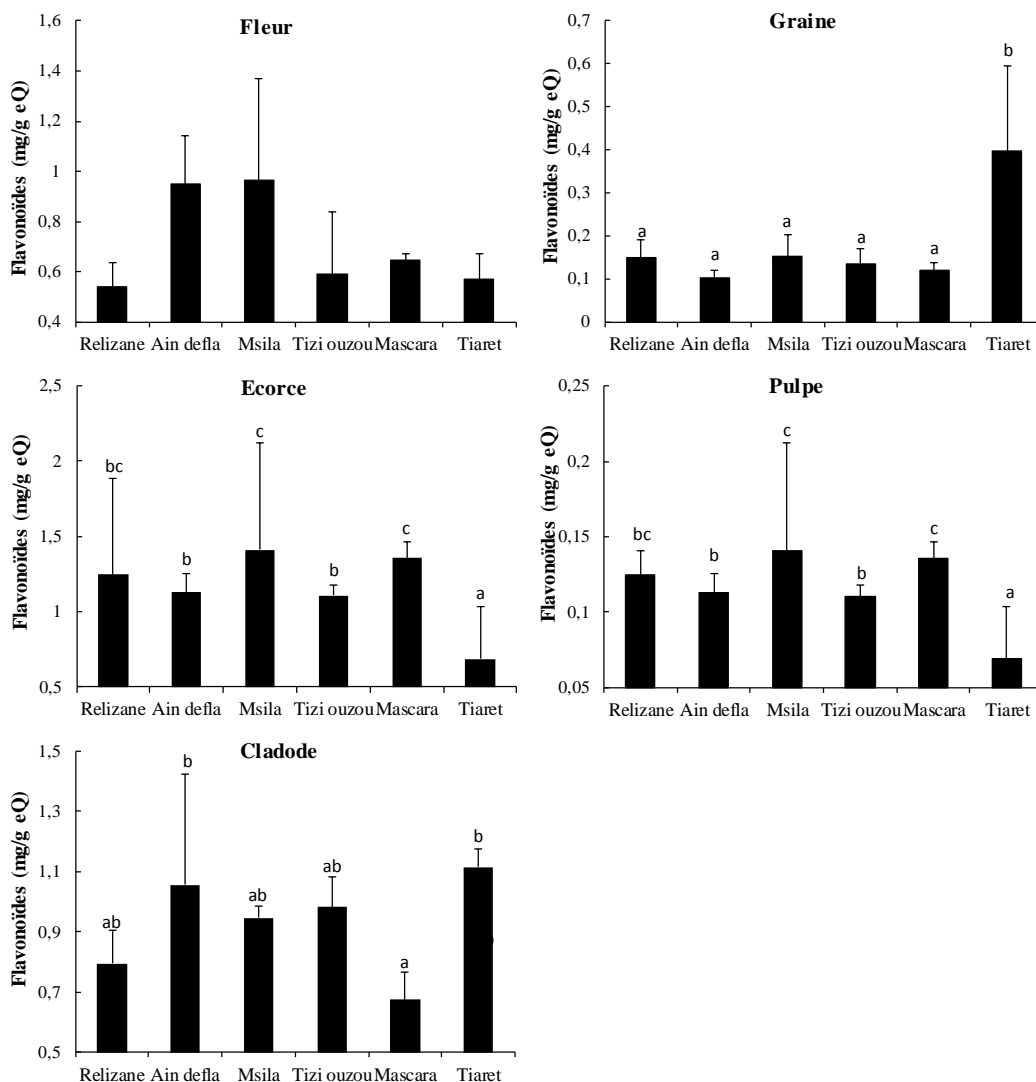
L'analyse statistique des données montre que, dans l'ensemble, les différentes populations étudiées manifestent des valeurs comparables en flavonoïdes sans aucune différence significative. Les principales différences dans les teneurs en flavonoïdes sont corrélées à l'organe et à l'interaction 'population x organe' (Tableau 13).

**Tableau 12.** Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs en flavonoïdes d’*O. ficus-indica* L. provenant de six populations en Algérie.

Source de variation	SCE	ddl	CM	F	Signification
Populations	0.406	5	0.081	1.488	0.2ns
Organe	16.733	4	4.183	76.566	0.0***
Populations x Organe	2.287	20	0.114	2.093	0.01*
Erreur	4.262	78	0.055		
Total	57.201	108			

Les astérisques (\*) indiquent les différences significatives. ns : différence non significative.

Les résultats obtenus révèlent que les écorces, les cladodes et les fleurs sont les organes les plus riches en flavonoïdes dans l’*O.ficus-indica* par des teneurs respectives de 1.14±0.09 mg/g eQ, 0.92±0.12 mg/g eQ et 0.71±0.17 mg/g eQ. Cependant, les graines (0.18±0.03 mg/g eQ) et la pulpe (0.11±0.01) enregistrent les teneurs les plus faibles.



**Figure 37.** Variation de la teneur en flavonoïdes dans les différents organes d’*O. ficus-indica* L. provenant de six populations en Algérie.

Les populations de ‘Msila’ et ‘Mascara’ possèdent les teneurs les plus élevées en flavonoïdes dans la pulpe et l’écorce alors que la population de ‘Tiaret’ enregistre les valeurs les plus faibles dans ces organes. A l’opposé, la population de ‘Tiaret’ enregistre les teneurs en flavonoïdes les plus élevées dans les cladodes et les graines. Néanmoins, aucune variation significative n’a été constatée entre les fleurs des différentes populations (Figure 37).

- **Tanins condensés**

Les tanins condensés sont déterminés par un clivage oxydant des proanthocyanidines avec les sulfates ferreux selon la méthode décrite par Vermerris et nicholson (2007). Les résultats sont exprimés en mg de cyanidine équivalent un gramme de matière sèche.

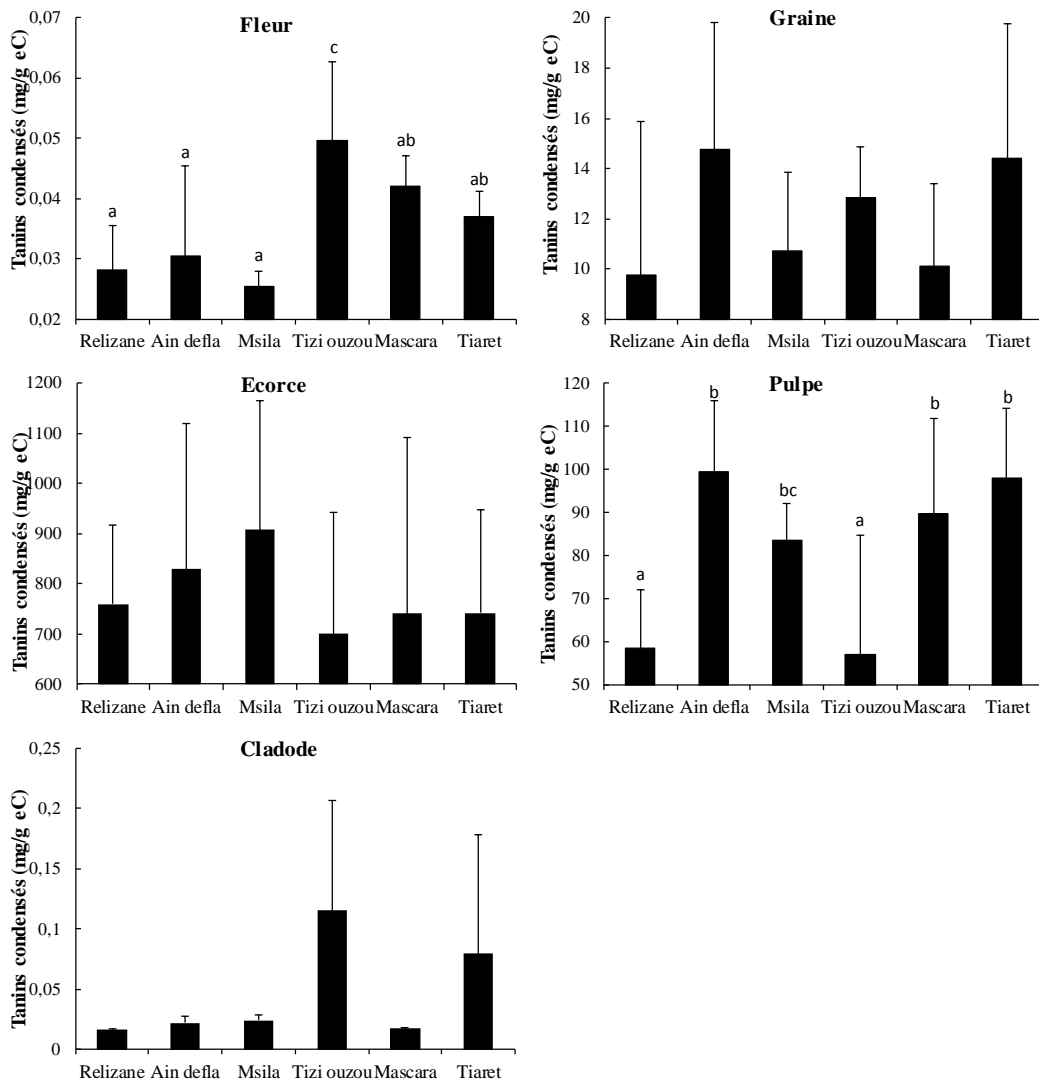
Dans l’ensemble, l’analyse de la variance à un seul facteur de variabilité montre que la variation des teneurs en tanins condensés est enregistrée principalement et exclusivement entre les différents organes de la plante. Il s’avère que l’origine de la population et l’interaction entre ces deux facteurs ‘population x organe’ n’induit aucun effet statistiquement significatif sur la variation de ce paramètre (Tableau 14).

**Tableau 13.** Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs en tanins condensés d’*O. ficus-indica* L. provenant de six populations en Algérie.

<b>Source de variation</b>	<b>SCE</b>	<b>ddl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Signification</b>
Populations	0.006	5	0.001	1.291	0.27ns
Organe	0.258	4	0.064	68.356	0.0***
Populations x Organe	0.027	20	0.001	1.437	0.13ns
Erreur	0.074	78	0.001		
Total	0.611	108			

Les astérisques (\*) indiquent les différences significatives. ns : différence non significative.

Les teneurs les plus élevées en tanins condensés ont été marquées dans l’écorce par rapport aux autres organes ( $0.13 \pm 0.04$  mg/g eC). Cependant, les teneurs des cladodes, des fleurs, des pulpes et des graines sont significativement inférieures ; respectivement de l’ordre de  $0.04 \pm 0.03$ ,  $0.03 \pm 0.007$ ,  $0.01 \pm 0.003$  et  $0.005 \pm 0.002$  mg/g eC (Figure 38).



**Figure 38.** Variation de la teneur en tanins condensés dans les différents organes d’*O. ficus-indica* L. provenant de six populations en Algérie.

La population de ‘Tizi ouzou’ enregistre les teneurs en tanins les plus élevées dans les fleurs et les teneurs les plus faibles dans la pulpe. Cependant, les populations de ‘Tiaret’, ‘Ain Defla’ et ‘Mascara’ enregistrent les teneurs les plus élevées de tanins condensés dans la pulpe. Il est à noter que les teneurs des cladodes, écorces et graines en tanins condensés ne diffèrent pas significativement entre les différentes populations en étude (Figure 38).

- **Sucres**

Les sucres sont des composés très important pour la nourriture humaine. La teneur en sucres totaux est déterminée selon la méthode rapportée par Dubois et al. (2003).

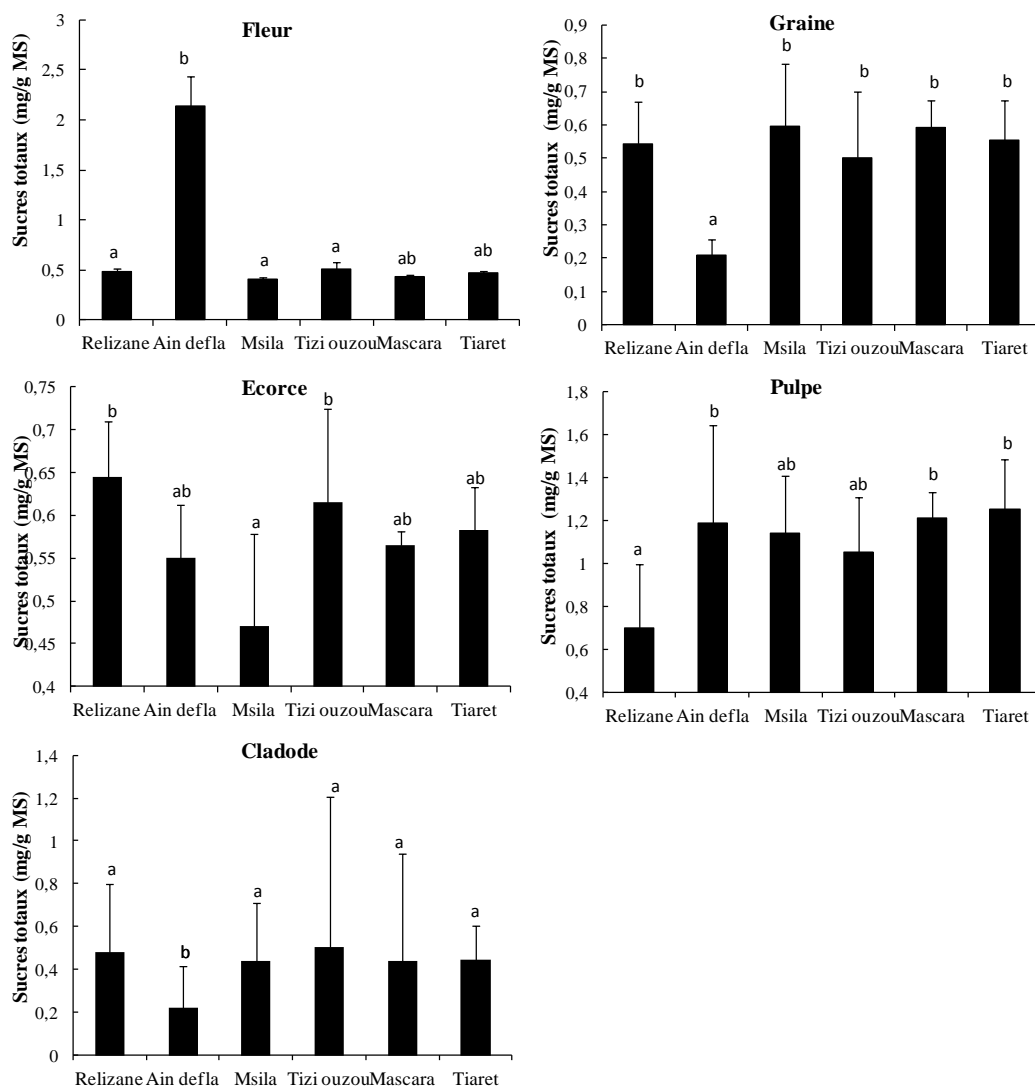
L'analyse de la variance à un seul facteur de variabilité a montré que les teneurs en sucres totaux diffèrent significativement entre les six populations d'*O. ficus-indica* et aussi entre les différents organes ainsi que de l'interaction 'Population x Organe'.

**Tableau 14.** Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs en sucres totaux d'*O. ficus-indica* L. provenant de six populations en Algérie.

Source de variation	SCE	ddl	CM	F	Signification
Populations	6.042	5	1.208	42.461	0.0***
Organe	5.035	4	1.259	44.229	0.0***
Populations x Organe	12.027	20	0.601	21.132	0.0***
Erreur	2.22	78	0.028		
Total	80.813	108			

Les astérisques (\*) indiquent les différences significatives. ns : différence non significative.

Les résultats obtenus montrent que les différents organes présentent des teneurs similaires en sucres dans toutes les populations étudiées autour d'une valeur moyenne de  $0.49 \pm 0.08$  mg/g MS. En revanche, la pulpe présente des valeurs doubles que celles des autres organes ( $1.09 \pm 0.27$  mg/g MS).



**Figure 39.** Teneur en sucres totaux dans différents organes de six populations d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.

La population de 'Tiaret' présente les teneurs les plus élevées en sucres dans la pulpe. Toutefois, les teneurs enregistrées dans les différents organes des plantes issues de cette population demeurent significativement importantes.

Il est à noter que la teneur la plus faible en sucres est enregistrée dans les graines de la population de 'Ain Defla'. Cette population enregistre aussi les teneurs les plus élevées en sucres dans les cladodes et les fleurs (Figure 39).

#### • Sodium

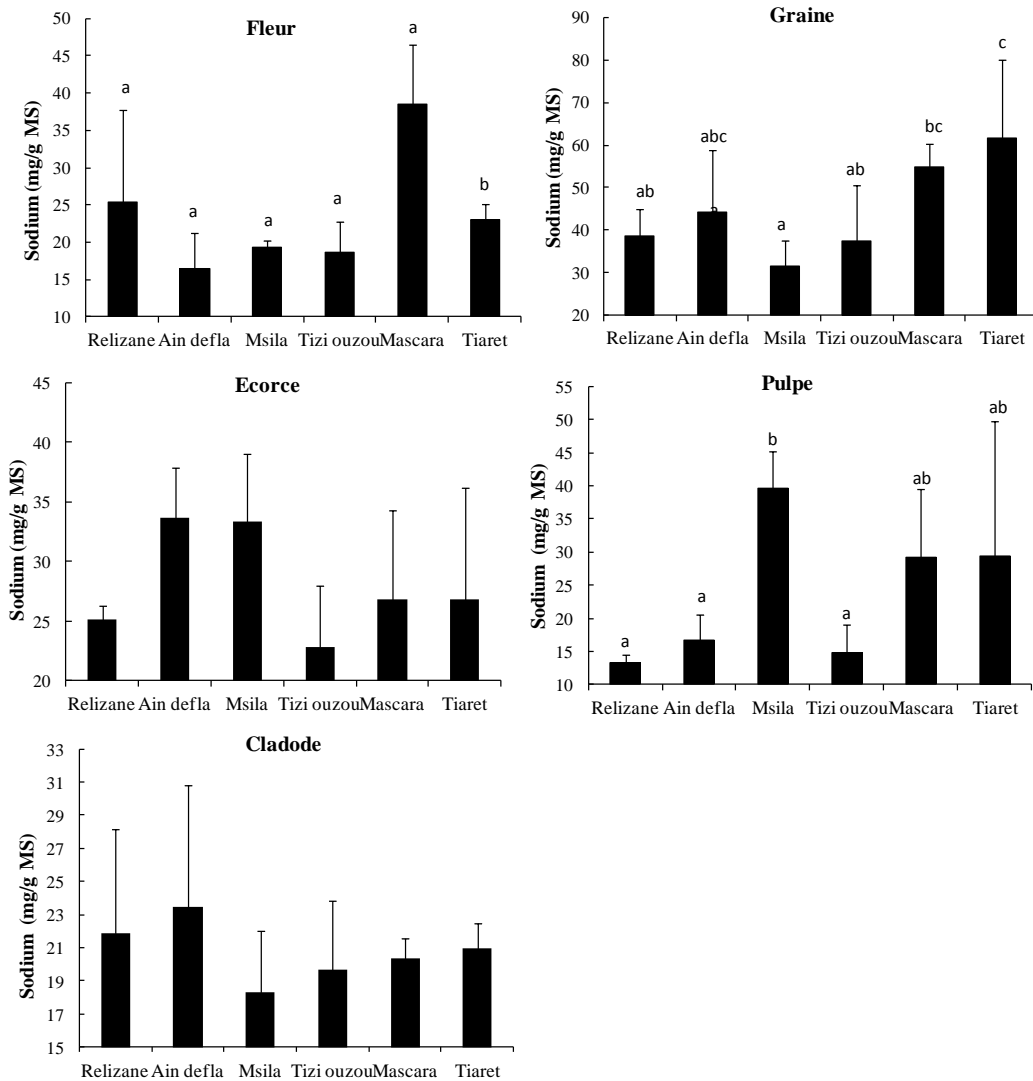
L'analyse de la variation des teneurs d'*O. ficus-indica* L. en macroéléments sodium révèle une différence très hautement significative entre les différents organes et une différence significative entre les populations et l'interaction entre ces deux facteurs.

**Tableau 15.** Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs en sodium d'*O. ficus-indica* L. provenant de six populations en Algérie.

Source de variation	SCE	ddl	CM	F	Signification
Populations	1417.541	5	283.508	4.185	0.003**
Organe	6640.858	4	1660.214	24.506	0***
Populations x Organe	3526.468	20	176.323	2.603	0.002**
Erreur	4064.857	60	67.748		
Total	87213.46	90			

Les astérisques (\*) indiquent les différences significatives. ns : différence non significative.

Les résultats montrent que la teneur en sodium est très importante dans les graines ( $44.72 \pm 10.69$ mg/g MS). Ces valeurs représentent le double des valeurs enregistrées dans les autres organes ( $24.06 \pm 5.64$  mg/g MS).



**Figure 40.** Teneur en sodium (Na) dans différents organes de six populations d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.

La population de ‘Msila’ possède des teneurs plus élevés en sodium dans la pulpe et l’écorce tandis qu’elle renferme des teneurs plus faibles dans les graines et les cladodes. La population de ‘Tizi ouzou’ marque des teneurs moins importantes dans la plupart des organes étudiés. Les autres populations présentent des teneurs qui varient considérablement entre les différents organes.

- **Potassium**

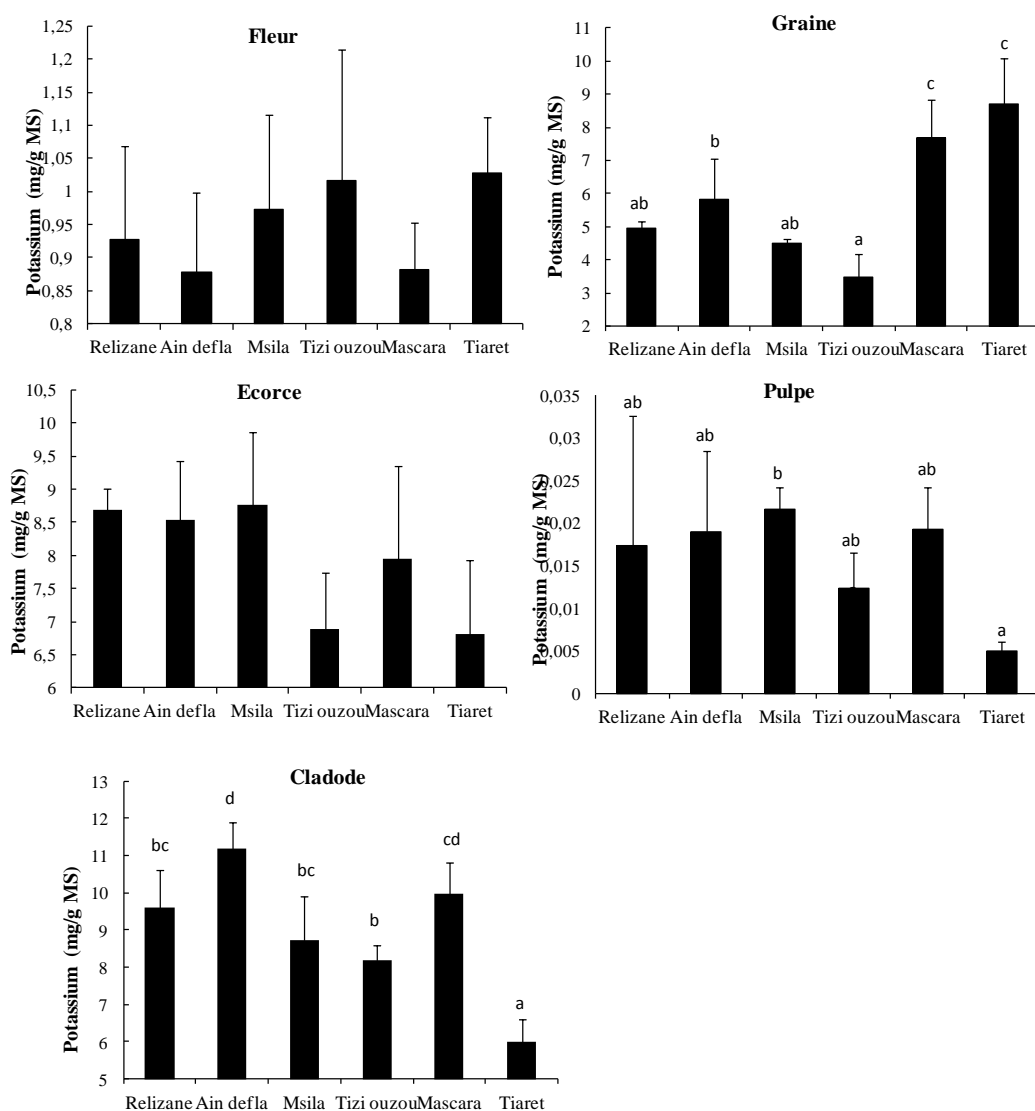
L’analyse statistique à un seul facteur de variabilité montre qu’il existe une différence significative entre les teneurs en potassium dans les différentes populations et entre les différents organes d’*O. ficus-indica* étudiés dans la même population.

**Tableau 16.** Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs en potassium d’*O. ficus-indica* L. provenant de six populations en Algérie.

Source de variation	SCE	ddl	CM	F	Signification
Populations	20.862	5	4.172	7.875	0***
Organe	1184.587	4	296.147	558.97	0***
Populations x Organe	98.086	20	4.904	9.257	0***
Erreur	31.788	60	0.53		
Total	3358.252	90			

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en potassium varient considérablement entre les différents organes ; les teneurs les plus élevées sont enregistrées dans les cladodes et l’écorce avec une teneur qui varie autour de  $8.44 \pm 0.87$  mg/g MS. La pulpe comporte les teneurs les plus faibles de  $0.015 \pm 0.01$  mg/g MS en cet élément minéral par rapport aux autres organes.





**Figure 41.** Teneur en potassium (K) dans différents organes de six populations d’*O. ficus-indica* L. en Algérie.

La population de ‘Tizi ouzou’ présente les teneurs les plus élevées en potassium dans les fleurs par rapport aux autres provenances. A l’opposé, elle marque des teneurs faibles dans l’écorce, la pulpe et les graines. La population de ‘Msila’ marque des teneurs importantes en cet élément dans les différents organes.

Concernant les cladodes, la population de ‘Ain Defla’ enregistre une quantité marquante en potassium ( $11.19 \pm 0.70$  mg/g MS) alors que la population de ‘Tiaret’ présente les teneurs les plus faibles.

- **Calcium**

D’après l’analyse statistique la variance à un seul facteur de variabilité, les teneurs en calcium diffèrent significativement entre les différents organes et l’interaction ‘Population x

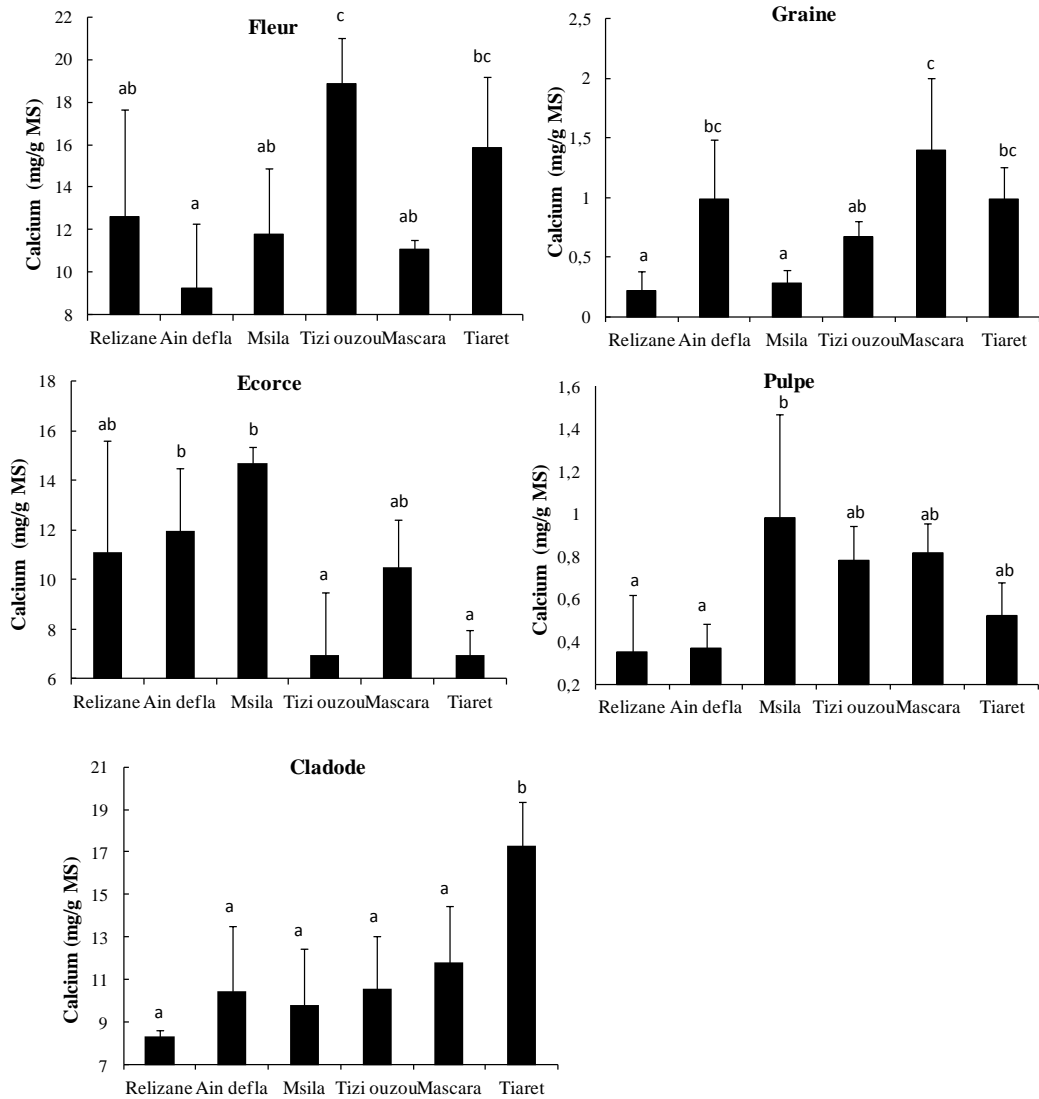
Organe'. A l'opposé, on remarque qu'il n'existe pas une différence significative entre les différentes populations retenues dans cette étude.

**Tableau 17.** Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs en calcium d'*O. ficus-indica* L. provenant de six populations en Algérie.

<b>Source de variation</b>	<b>SCE</b>	<b>ddl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Signification</b>
Populations	50.368	5	10.074	0.996	0.426 ns
Organe	2980.037	4	745.009	73.66	0***
Populations x Organe	405.198	20	20.26	2.003	0.016*
Erreur	788.904	78	10.114		
Total	8172.971	108			

Les astérisques (\*) indiquent les différences significatives. ns : différence non significative.

Les teneurs les plus importantes en calcium sont enregistrés dans les fleurs ( $13.24 \pm 2.84$  mg/g MS), cladode ( $11.37 \pm 2.20$  mg/g MS) et écorce ( $10.35 \pm 2.20$  mg/g MS) respectivement.



**Figure 42.** Teneur en calcium (Ca) dans différents organes de six populations d’*O. ficus-indica* L. en Algérie.

La population de ‘Relizane’ présente les teneurs les plus faibles en calcium dans les graines  $0.21 \pm 0.16$  mg/g MS et la pulpe  $0.34 \pm 0.27$  comparativement aux autres populations.

## 6.2. Evaluation de l'activité antioxydante

- **Activité anti-radicalaire**

L'activité anti-radicalaire reflétée par la réduction des radicaux libres DPPH est exprimée en concentration inhibant 50 % des radicaux (CI50) ainsi qu'en mg équivalent d'acide ascorbique et d'acide gallique.

- **Equivalent Acide ascorbique**

L'acide ascorbique ou vitamine C est une vitamine très connue par ses propriétés antioxydantes.

L'analyse de la variance indique un effet très hautement significatif de la provenance, l'organe et leur interaction 'Population x Organe' sur la variation des teneurs exprimées en équivalents acide ascorbique des six populations d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.

**Tableau 18.** Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs exprimées en équivalent acide ascorbique d'*O. ficus-indica* L. provenant de six populations en Algérie.

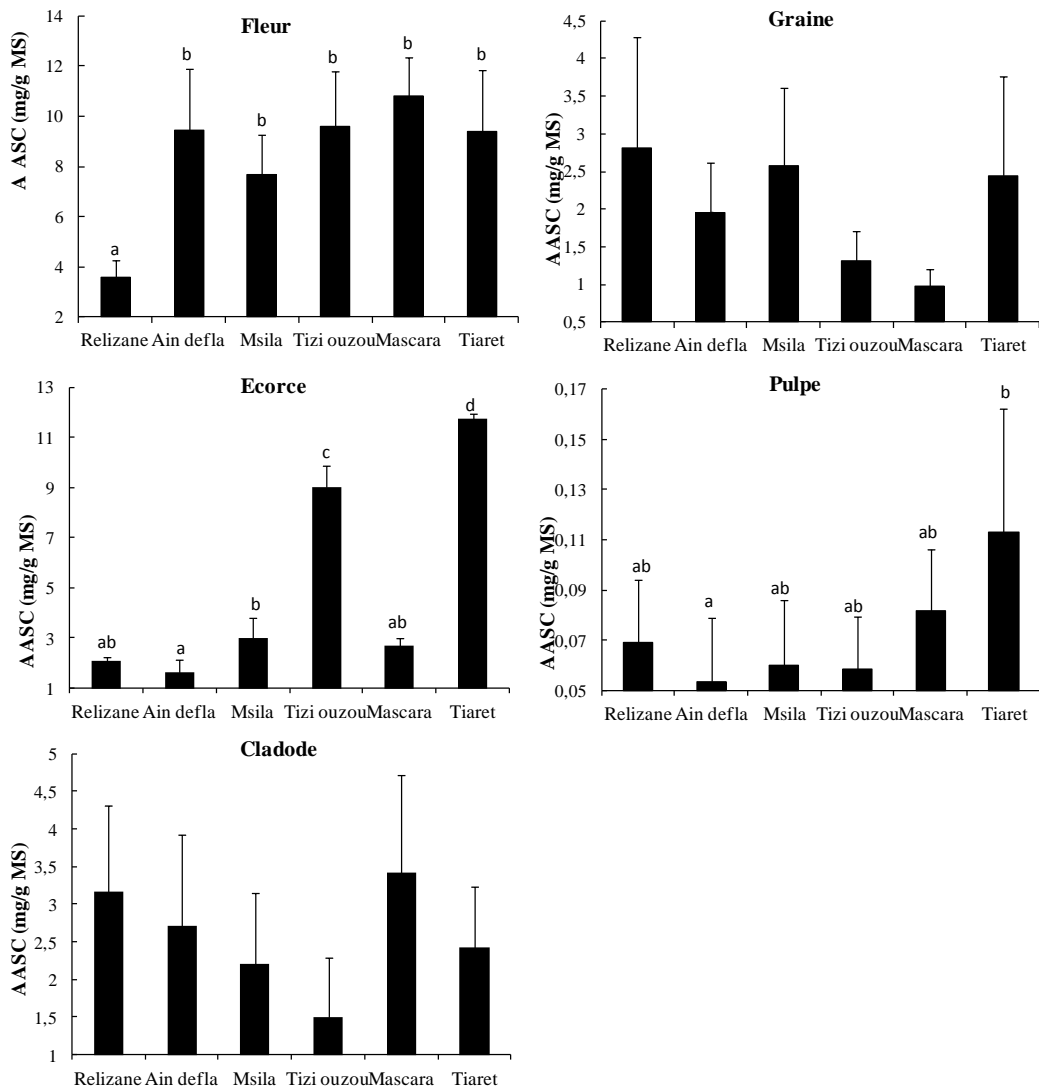
Source de variation	SCE	ddl	CM	F	Signification
Populations	70.358	5	14.072	11.478	0***
Organe	734.227	4	183.557	149.72	0***
Populations x Organe	260.793	20	13.04	10.636	0***
Erreur	69.881	57	1.226		
Total	2150.701	87			

Les astérisques (\*) indiquent les différences significatives. ns: différence non significative.

Les résultats obtenus montrent que les teneurs exprimées en équivalent acide ascorbique varient considérablement entre les différents organes. Les teneurs les plus importantes sont enregistrées dans les fleurs avec une moyenne varie autour de  $8.41 \pm 1.90$  mg/g de MS EAA tandis que la pulpe présente les teneurs les plus faibles avec une moyenne de  $0.07 \pm 0.03$  mg/g de MS EAA.

Toutefois, les cladodes et les graines présentent des teneurs quatre fois inférieures que les fleurs avec des moyennes de  $2.56 \pm 0.98$  et  $2.01 \pm 0.85$  mg/g de MS EAA respectivement.

Dans l'écorce et la pulpe, la population de 'Tiaret' montre les teneurs les plus élevées. Au contraire, les teneurs les plus faibles sont enregistrées dans la provenance de 'Ain Defla'.



**Figure 43.** Teneur exprimées en équivalent acide ascorbique dans différents organes de six populations d’*O. ficus-indica* L. en Algérie.

○ **Acide gallique**

L’analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs exprimées en équivalent acide gallique des six populations d’*O. ficus-indica* L. étudiées énonce un effet très hautement significatif de la population, l’organe et l’interaction ‘Population x Organe’.

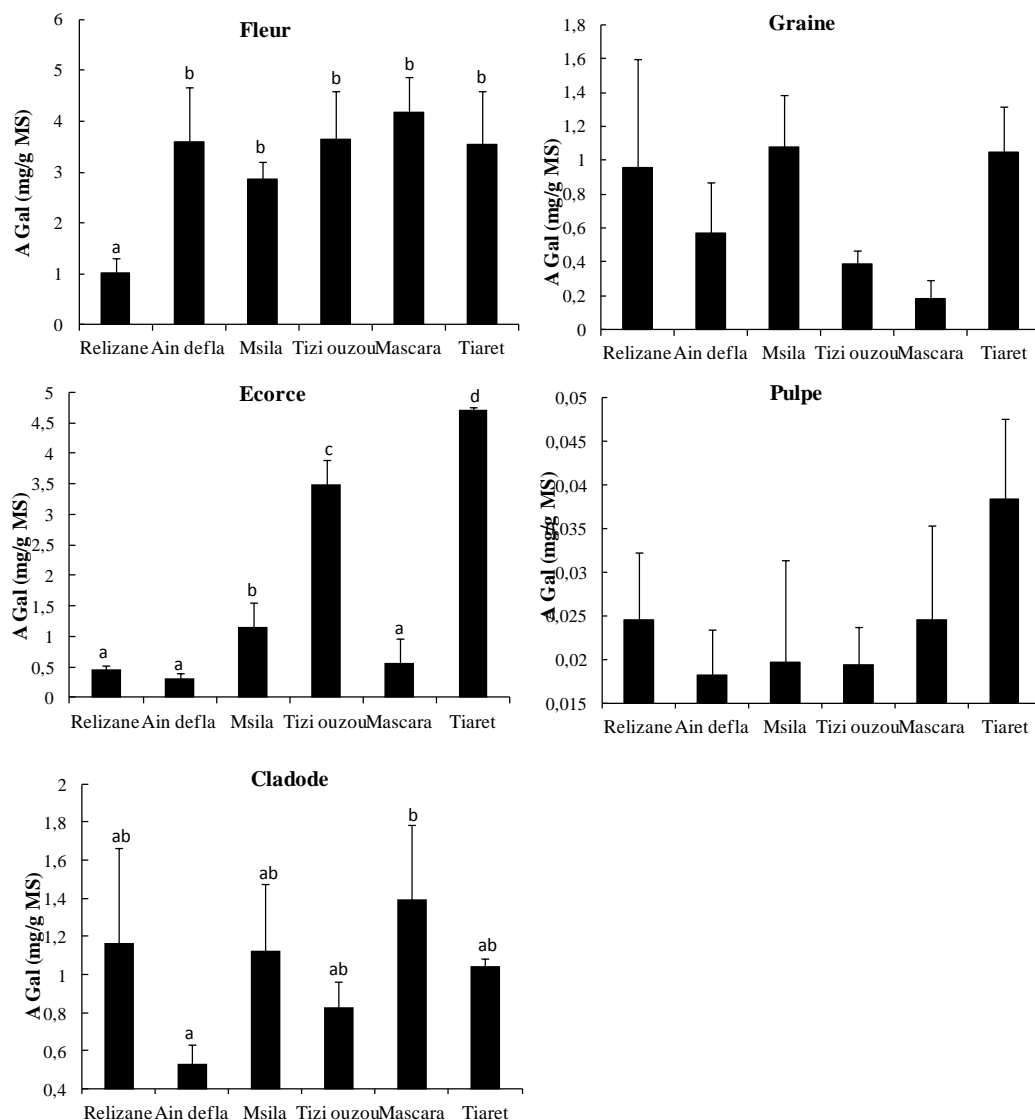
**Tableau 19.** Analyse de la variance à un seul facteur de variabilité de la variation des teneurs exprimées en équivalent acide gallique d’*O. ficus-indica* L. provenant de six populations en Algérie.

Source de variation	SCE	ddl	CM	F	Signification
Populations	13.96	5	2.792	12.443	0***
Organe	90.841	4	22.71	101.21	0***
Populations x Organe	44.966	20	2.248	10.019	0***
Erreur	10.546	47	0.224		
Total	308.134	77			

Les astérisques (\*) indiquent les différences significatives. ns : différence non significative.

Les résultats obtenus montrent des teneurs comparables en acide gallique dans les cladodes ( $1.01 \pm 0.26$  mg/g EAG MS) et l'écorce ( $1.78 \pm 0.23$  mg/g EAG MS).

Les teneurs les plus importantes exprimées en équivalent acide gallique sont marquées dans les fleurs avec une teneur moyenne de  $3.14 \pm 0.75$  mg/g EAG MS. A l'opposé, les teneurs les plus faibles sont enregistrées dans la pulpe avec  $0.02 \pm 0.01$  mg/g EAG MS.



**Figure 44.** Teneur exprimées en équivalent acide gallique dans différents organes de six populations d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.

Pour les graines, la population de 'Msila' présente les teneurs les plus élevées alors que la population de 'Mascara' possède les teneurs les plus faibles comparativement aux autres organes.

### ○ DPPH IC50

La méthode DPPH basée sur la capacité des composés à agir en tant que piègeurs de radicaux en donnant un atome d'hydrogène. Le test du radical DPPH est la méthode la plus utilisée pour évaluer l'activité antioxydantes, parce qu'elle est rapide, fiable et reproductible.

Les résultats sont exprimés en IC 50 qui est la concentration d'échantillon qui cause une inhibition de 50 % du radical DPPH, plus l'IC50 est petite, plus la molécule est antioxydante.

**Tableau 20.** Concentration d'inhibition (IC 50) des radicaux DPPH exprimée en mg/ml dans les différents organes de six populations d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.

CI 50	Ecorce (mg/ml)	Pulpe (ml)	Graine (mg/ml)	Cladode (mg/ml)	Fleur (mg/ml)	Acide ascorbique (mg/ml)
Relizane	26.71	0.96	47.61	76.61	7.41	1x10 <sup>-2</sup>
Ain Defla	27.87	0.76	52.34	33.06	7.98	
Msila	1.63	2.2	41.66	11.32	3.67	
Tizi Ouzou	3.28	0.2	45.83	22.08	2.85	
Mascara	2.58	1.5	37.01	29.63	7.95	
Tiaret	11.59	1.7	57.91	37.65	9.1	

Les résultats obtenus montrent que les graines et les cladodes présentent les valeurs de l'IC 50 les plus élevées avec une moyenne de  $47.06 \pm 7.45$  et  $33.70 \pm 20.72$  mg/ml dans les différentes provenances. Cependant, la pulpe et les fleurs présentent l'activité antiradicalaire la plus importante avec les IC 50 les plus faibles ( $1.2 \pm 0.07$  et  $6.42 \pm 2.36$  mg/ml respectivement).

La population de 'Msila' présente la meilleure activité antioxydante dans l'écorce et les cladodes par rapport aux autres populations. A l'inverse, elle possède l'activité la plus faible chez la pulpe.

Les populations de 'Ain Defla' et 'Relizane' présentent une similarité d'IC 50 élevée dans l'écorce, les fleurs et les graines.

### ○ FRAP EC 50

La méthode de FRAP est un essai simple, rapide et reproductible basé sur la capacité de l'échantillon à réduire le fer ferrique ( $Fe^{+3}$ ) du ferrocyanure de potassium pour donner du fer ferreux ( $Fe^{+2}$ ) qui s'appelle la capacité réductrice.

Cette dernière est considérée comme un indicateur significatif du pouvoir antioxydant d'un substrat. Elle est exprimée par EC 50 (concentration efficace d'échantillon de réduire 50 % des ions). Plus l'EC 50 est faible plus la capacité réductrice est importante.

**Tableau 21.** Concentration efficace (EC 50) évaluée par le test FRAP exprimée en mg/ml dans les différents organes de six populations d'*O. ficus-indica* L. en Algérie.

<b>CE 50</b>	<b>Ecorce (mg/ml)</b>	<b>Pulpe (ml)</b>	<b>Graine (mg/ml)</b>	<b>Cladode (mg/ml)</b>	<b>Fleur (mg/ml)</b>	<b>Acide ascorbique (mg/ml)</b>
Relizane	12.40	0.11	15.01	9.02	11.28	$1 \times 10^{-2}$
Ain Defla	22.78	0.23	8.35	20.8	6.9	
Msila	3.99	0.18	4.42	6.38	8.4	
Tizi Ouzou	8.99	0.17	4.06	35.86	6.6	
Mascara	9.95	0.014	8.69	2.74	5.4	
Tiaret	4.08	0.03	2.08	23.77	7.5	

La pulpe présente la capacité réductrice la plus importante comparativement aux autres organes avec un EC 50 varie autour de  $0.12 \pm 0.22$  mg/g MS.

Les fleurs et les graines expriment des valeurs similaires d'EC 50 dans les différentes populations avec une moyenne de  $7.68 \pm 0.59$  et  $7.10 \pm 0.34$  mg/g respectivement.

Dans les cladodes, la population de 'Tizi ouzou' possède la plus faible capacité réductrice. A l'opposé, la population de 'Mascara' présente la capacité réductrice la plus importante.

### **6.3. Relations entre les métabolites, l'activité antioxydante et les conditions du milieu**

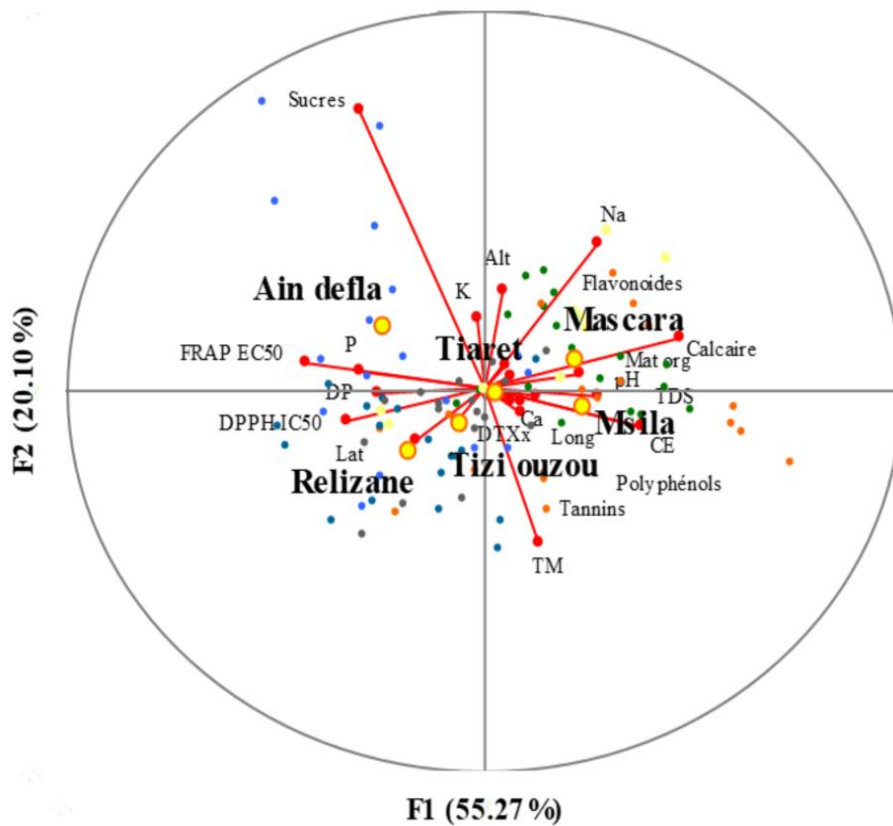
L'analyse en composantes principales (ACP) a été élaborée afin de mettre en relation les liens possibles entre les teneurs en métabolites, l'activité antioxydante et les facteurs environnementaux des populations étudiées.

Les deux premières composantes expriment respectivement 55.27 % et 20.1 % de la variabilité totale ce qui fait un total de 75.37 %.

La projection des populations sur la première composante a fait ressortir deux ensembles l'un dans le sens positif (regroupe les populations de 'Tiaret', 'Mascara' et 'Msila') et l'autre dans le sens négatif ('Ain Defla', 'Tizi ouzou' et 'Relizane'). Les populations de 'Tiaret', 'Mascara' et 'Msila' manifestent des teneurs comparables en polyphénols, flavonoïdes, tanins condensés, sodium et calcium. Ces populations partagent les mêmes conditions du sol alors que les autres populations partagent les mêmes conditions pluviométriques. Cependant, les



populations réunies dans le deuxième ensemble sont caractérisées principalement par des teneurs en sucres et une activité antioxydante similaires.



**Figure 45.** Analyse en composantes principales élaborée sur les teneurs en métabolites et les variables environnementales.

Nonobstant, la projection sur la deuxième composante révèle l'existence de deux ensembles bien distincts ; les populations de 'Relizane', 'Tizi ouzou' et 'Msila' sont regroupées dans le sens négatif alors que les populations de 'Ain Defla', 'Tiaret' et 'Mascara' se rassemblent dans le côté positif de cette composante. Ces dernières sont caractérisées par leurs teneurs en sucres, flavonoïdes, potassium et sodium en parallèle avec l'activité antioxydante déterminée par la méthode FRAP.

## Discussion

La tendance de la recherche actuelle porte sur la quête et l'utilisation des produits naturels dans les différents secteurs telle que l'industrie des aliments et la pharmacologie en raison de leurs utilisation potentielle comme sources de composés biologiquement actifs ayant peu ou pas d'effets secondaires sur la santé de l'environnement et celle du consommateur (Mata et al. 2016).

Cette étude vise à évaluer les teneurs en métabolites d'intérêts à savoir les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins condensés, les sels minéraux et les sucres totaux d'une part, et l'activité antioxydante des extraits des différents organes d'*Opuntia ficus-indica* L. appartenant à six populations en Algérie d'autre part dans une perspective de valorisation des produits et sous-produits de cette plante miracle.

L'extraction des métabolites des différents organes a été réalisée en utilisant de l'eau ; ce choix est justifié par le fait que l'extrait aqueux est le plus utilisé par la population locale dans ses pratiques traditionnelles d'une part, et parce que la présence des traces des autres solvants dans les extraits peut entraîner des effets secondaires indésirables alors que l'extrait aqueux conserve l'état bioactif des molécules extraites (Ammar et al. 2015).

Les résultats obtenus révèlent des différences significatives entre les différentes populations testées en termes de teneur en composés phytochimiques et activité biologique :

Les populations de 'Msila', 'Mascara' et Relizane' contiennent les teneurs les plus élevées en polyphénols alors que les teneurs les plus faibles sont enregistrées dans les populations de 'Ain Defla' et 'Tizi ousou' dans les cladodes, pulpe et graines.

Aucune variation n'a été marquée entre les différentes populations concernant les teneurs en polyphénols dans les écorces et les fleurs.

Les populations de 'Msila', 'Mascara' et 'Tiaret' possèdent les teneurs les plus élevées en flavonoïdes dans la majorité des organes étudiés.

Les populations de 'Tizi ousou' et 'Ain Defla' enregistrent les teneurs les plus élevées de tanins condensés. Il est à noter que les teneurs des cladodes, écorces et graines en tanins condensés ne diffèrent pas significativement entre les six populations.

La population de 'Tiaret' présente les teneurs les plus importantes en sucres dans les différents organes de la plante. Cependant, la teneur la plus faible en sucres est marquée dans les graines de la population de 'Ain Defla'.

Les teneurs les plus élevées en sodium sont enregistrées dans la pulpe de la population de 'Msila'. De même pour l'écorce et les cladodes de la population de 'Ain Defla'. La population de 'Tizi ousou' exprime des teneurs moins importantes dans la plupart des organes étudiés. Les

autres populations ne présentent aucune différence significative entre les différents organes.

Les populations de 'Msila', 'Tizi ouzou' et 'Ain Defla' présentent des teneurs en potassium importantes dans les différents organes alors que la population de 'Tiaret' possède les teneurs les plus faibles.

Il est à noter qu'il n'y a pas une différence statistiquement significative entre les teneurs en calcium dans les différentes populations d'*O. ficus-indica* L. étudiées.

Les populations de 'Tiaret' et 'Tizi ouzou' présentent des teneurs plus élevées en acide ascorbique. A l'inverse, les teneurs les plus faibles sont enregistrées dans les provenances de 'Ain Defla' et 'Relizane'.

La population de 'Msila' et 'Tiaret' montre les teneurs en acide gallique les plus élevées alors que les populations de 'Relizane' et 'Ain Defla' enregistrent les teneurs les plus faibles.

La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que sa CI50 est petite. Les populations de 'Msila' et 'Tizi Ouzou' possèdent la meilleure activité antiradicalaire. Les populations de 'Ain Defla' et 'Relizane' présentent une similarité d'une faible activité antioxydante par rapport aux autres populations.

Pour la capacité réductrice, la population de 'Msila' exprime la capacité réductrice la plus importante alors que la plus faible capacité est marquée chez la population de 'Ain Defla'.

La variation qualitative et quantitative des composés phytochimiques du genre *Opuntia* pourrait être attribuée à la variabilité génétique, aux conditions édaphoclimatiques et aux procédures technologiques utilisées pour extraire et quantifier ces composés (Bari et al. 2012 ; Rabeta et al. 2013). Astello-García et al. (2015) ont rapporté des différences de contenu phénolique entre quinze cultivars de cinq espèces d'*Opuntia* cultivées dans des conditions édaphoclimatiques identiques. En fait, les composés phytochimiques et principalement les métabolites secondaires des plantes peuvent être synthétisés et accumulés progressivement dans des conditions environnementales spécifiques, telles que les stress abiotiques et biotiques, et peuvent donc être considérés comme un comportement des plantes vis-à-vis des stimuli environnementaux (Yang et al. 2018).

De plus, des études ont prouvé que la disponibilité des éléments nutritifs des plantes constituait un facteur déterminant du métabolisme secondaire et de l'activité antioxydante des plantes. En outre, les carences nutritionnelles des plantes se traduisent généralement par une accumulation de flavonoïdes (Sampaio et al. 2016).

Une relation directe a été établie entre les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en sucres solubles et l'altitude d'origine. Il apparaît clairement que les populations provenant des plus hautes altitudes, principalement les populations de 'Ain Defla', 'Msila' et 'Tiaret' se

caractérisent par leurs faibles teneurs en polyphénols ainsi que par une accumulation plus importante de flavonoïdes et de sucres. Au contraire, dans les populations situées à basse altitude, principalement la population de 'Tizi Ouzou', les fleurs d'*O. ficus-indica* accumulent des teneurs élevées en polyphénols et tannins condensés contre une faible accumulation de sucres.

L'intensité du rayonnement UV qui augmente avec l'altitude, en particulier dans les régions montagneuses, peut être à l'origine de cette variation (Zhang et al. 2005). Le rayonnement UV est l'un des principaux facteurs environnementaux influant sur la biosynthèse des anthocyanes en prolongeant l'activité de la phénylalanine ammoniac lyase, enzyme clé de la voie de biosynthèse des flavonoïdes (Berli et al. 2015). De plus, on sait que la différence de température entre le jour et la nuit en haute altitude a un effet direct sur l'accumulation des sucres, qui pourraient être associés à la conversion d'anthocyanes.

Les résultats obtenus révèlent que et les fleurs de six populations étudiées sont les organes les plus riches en polyphénols, flavonoïdes, acide ascorbique et l'acide gallique. Elles possèdent aussi l'activité antioxydante la plus importante par rapport aux autres organes. Et ça confirme l'importance de notre travail comme premier recherche réalisé sur les propriétés antioxydantes des fleurs d'*O. ficus-indica* en Algérie.

Les cladodes présentent des teneurs importantes en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensées, à l'opposé ces organes manifestent une faible activité antioxydante. L'écorce d'*O. ficus-indica* L. est un sous-produit qui mérite une attention particulière pour toute éventuelle valorisation.

D'après les résultats obtenus, l'écorce enregistre des teneurs doubles en tanins condensées comparativement aux autres organes. Elle est riche en sels minéraux et en acide ascorbique et acide gallique.

La pulpe comporte les teneurs les plus faibles en composés phénoliques, cet organe marque des teneurs élevées en sucres par rapport aux autres organes. Elle marque des teneurs importantes en acide ascorbique et en acide gallique.

Les résultats obtenus montrent que la teneur en sels minéraux est très importante dans les graines qui marquent des teneurs deux fois supérieures aux autres organes dans les six populations. A l'opposé, les graines enregistrent des teneurs faibles en composés phénoliques et une faible activité antioxydante.

Le figuier de barbarie étant riche en polyphénols a suscité l'intérêt de plusieurs chercheurs notamment Jacques Couderc (1997) qui a signalé que les polyphénols d'*O. ficus-indica* réduisent le taux de glucose dans le sang, abaissent le taux du mauvais cholestérol et agissent comme des

calmants et défatigants naturels. Leurs actions sédatives se manifestent sur les angines, la poitrine, les spasmes cardiaques, les maux de tête et d'estomac. Les résultats obtenus relatifs aux polyphénols varient considérablement d'une partie de la plante à l'autre ; les teneurs les plus élevées sont enregistrées dans les cladodes. L'origine géographique semble avoir une forte influence sur la synthèse des polyphénols. Ces résultats sont similaires à ceux de Hadj Sadok et al. (2008).

Les flavonoïdes constituent la classe phénolique la plus importante avec plus de 5000 composés déjà décrits (Gomez-Caravaca et al. 2006). Les flavonoïdes sont reconnus des antioxydants par excellence (Husain et al. 1987 ; Abrosca et al. 2007). Outre leur pouvoir antioxydant, ils sont des antiulcéreux, antispasmodiques, analgésiques, anti-sécréteurs et des anti-diarrhéiques (Di Carlo et al. 1999). Les résultats obtenus montrent qu'il n'y a pas de différences significatives dans les teneurs en flavonoïdes en fonction de l'organe et la population. Ces résultats sont en contradiction avec ceux obtenus par Nizar et al. (2014).

De plus, les tanins manifestent les propriétés de la vitamine P. Ils renforcent les vaisseaux sanguins et contribuent à l'accumulation de la vitamine C dans l'organisme (Lazurevskii et al. 1966). Les polyphénols en général possèdent un effet de rétention potassique qui fait d'eux des diurétiques (N'guessan 2008). La teneur en tanins condensés dans les cladodes est moins importante que celle des écorces ce qui confirme les résultats obtenus par Leinmuller et al. (1991).

Dans cette étude, la méthode du DPPH a été choisie pour évaluer l'activité antioxydante des extraits car cette méthode est reconnue comme étant simple, rapide et efficace en raison de la grande stabilité du radical (Bozin et al. 2008). Les résultats obtenus montrent que la concentration d'inhibition (IC 50) est importante dans les différents organes et varie significativement entre les six populations.

La majorité des travaux sur l'*O. ficus-indica* L. ont porté sur les cladodes, en raison de leur teneur en minéraux, teneurs en protéines, en fibres alimentaires et phytochimiques. Alors l'originalité de notre travail est faire une étude comparative entre les différents organes d'*O. ficus-indica* L. pour une meilleure valorisation de ces organes.

D'après nos résultats cette partie est riche en composés phytochimiques mais a une activité antioxydante faible par rapport aux fleurs et la pulpe de fruit.

La comparaison entre les extraits de l'écorce et les extraits des cladodes montre une différence hautement significative avec un pouvoir de piégeage des radicaux du DPPH supérieur des extraits de l'écorce. Dans le test DPPH les extraits riches en polyphénols sont les plus actifs suivis par les autres extraits. Ce résultat est prévu car les composés phénoliques présentent une

activité antiradicalaire certaine. Nos résultats confirment ceux trouvés par Ait Abderrahim et al. (2017) et Bari et al. (2012).

Après la consommation du fruit l'écorce est considérée comme un déchet. Peu des travaux ont été réalisés sur l'écorce, le but de notre étude est la valorisation des sous-produits d'*O. ficus-indica* L. en Algérie. Nos résultats ont montrés que cette partie est riche en sels minéraux et en acide ascorbique, elle présente des valeurs très importantes en tanins condensés.

Les graines d'*O. ficus-indica* constituent une bonne source d'huiles de haute qualité mais elles renferment, aussi, d'autres composés bioactifs qu'il faudra prendre en considération et qui pourraient être exploités dans différents secteurs. Les résultats obtenus montrent que les teneurs en polyphénols dans les graines des six populations d'*O. ficus-indica* sont faibles comparativement aux résultats rapportés par Cardador-Martínez et al. (2011). Cette différence peut être attribuée aux méthodes d'extraction et d'analyses, à l'origine géographique de l'échantillon, au degré de maturité ou aux conditions de stockage. En effet, les graines utilisées dans cette étude dérivent des fruits qui ont été récoltés en août 2016 et il est probable que, pendant leur conservation, il y a eu dégradation de certains composés.

Les teneurs en flavonoïdes dans les graines des six populations étudiées de d'*O. ficus-indica* s'avèrent faibles par rapport aux autres organes. Ces valeurs sont, aussi, inférieures à celles rapportées par Cardador-Martínez et al. (2011). La même observation est valable si on compare ces valeurs avec celles obtenues des graines d'autres espèces telles que la tomate (Toor et Savage 2005).

La méthode basée sur le n-butanol est une méthode colorimétrique qui consiste en un clivage oxydant de proanthocyanidines avec du sulfate ferreux pour permettre la détermination de la teneur en tannins condensés (Vermerris et Nicholson 2007). Les teneurs en tannins des échantillons de graines des six populations étudiées. Les graines de la population de 'Ain defla' s'avèrent les plus riches en tanins condensés suivies par celles de la population de 'Tiaret'. Ces teneurs sont, également, très faibles comparativement à celles enregistrées par Cardador-Martínez et al. (2011). Toutefois, les facteurs environnementaux pourraient être à l'origine de ces différences.

De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant (Gulçin et al. 2005 ; Huang et al. 2005 ; Hinneburg et al. 2006). Les résultats de l'évaluation du pouvoir réducteur des extraits de graines montrent que le pouvoir réducteur varie significativement en fonction de la population. Cette observation a été confirmée par plusieurs auteurs (Nagulendran et al. 2007 ; Ozsoy et al. 2008 ; Lee et al. 2011).

L'activité antiradicalaire des extraits d'*O. ficus-indica* L. a été testée en utilisant une solution méthanolique stable par radical libre Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Suhaj 2006 ; Mohsen et Ammar 2009) et comparé à la quercétine utilisée en tant que standard. La méthode de DPPH est basée sur la capacité des composés à agir en tant que piègeurs de radicaux en donnant un atome d'hydrogène (Leong et al. 2009).

D'après les résultats obtenus, le pouvoir anti-radicalaire des extraits des graines des six populations est le plus important comparativement aux autres organes, mais il ne présente pas une différence significative entre les différentes provenances.

Il est à noter que les infusions de fleurs de cactus ont été largement utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies telles que l'inflammation, le diabète, les maladies rénales et les ulcères d'estomac (Kaur et al. 2012 ; Benayad et al. 2014). Les infusions des fleurs d'*O. ficus-indica* L. sont connues dans la médecine traditionnelle sicilienne vues leurs effets dépuratifs, diurétiques et relaxants principalement sur les voies excrétrices rénales (Arcoleo et al. 1966).

Les résultats obtenus révèlent que les extraits aqueux des fleurs présentent des teneurs remarquables en composés bioactifs et en sels minéraux. De même que l'activité antioxydante élevée ce qui démontre l'importance de l'extrait de fleurs d'*O. ficus-indica* en tant que source potentielle de substances bioactives pour l'alimentation, les cosmétiques et les industries pharmaceutiques.

Malheureusement, peu de recherches ont été consacrées à l'étude de l'activité antioxydante des fleurs d'*Opuntia* par rapport aux cladodes et aux fruits (Valente et al. 2010). Alimi et al. (2011) ont mesuré l'activité antioxydante par la méthode DPPH dans des extraits méthanoliques de fleurs d'*O. ficus-indica* tandis qu'Ammar et al. (2012) ont utilisé des extraits d'hexane comme solvant. Il est certain que le choix du solvant d'extraction est important pour extraire les composés antioxydants à partir de matières végétales (Rabeta et al. 2013). Cependant, le moyen simple, sûr et pratique d'utiliser les fleurs de cactus par la population locale est l'extrait aqueux. De plus, l'activité de piégeage des radicaux libres du DPPH et les tests FRAP utilisés tout au long de cette étude peuvent constituer un reflet significatif de l'activité antioxydante dans la mesure où ils évaluent la capacité de l'extrait à neutraliser les radicaux libres.

La richesse des fleurs d'*O. ficus-indica* L. en composés bioactifs la suggère comme une bonne source de tous les composés phytochimiques et de l'activité antioxydante étudiés. Les populations 'Tizi Ouzou', 'Msila' et 'Mascara' ont présenté l'activité antioxydante la plus élevée en termes d'activité DPPH et FRAP. Il convient de noter que la capacité antioxydante de l'extrait aqueux de fleurs est cumulative et, comme le rapportent plusieurs auteurs pour de nombreux

aliments, agit en synergie avec des composés phénoliques, des caroténoïdes, des bétalaïnes, des anthocyanes, des glucides, des vitamines et des enzymes, entre autres (Ferreira et al. 2010 ; Yahia et al. 2011 ; Bakari et al. 2017).

Les études de Guevara-Figueroa et al. (2010) et Astello-García et al. (2015) ont révélé que l'activité antioxydante d'extraits aqueux d'*Opuntia spp* est attribuée principalement aux composés phénoliques et aux flavonoïdes. De plus, Chahdoura et al. (2014) ont montré que la fleur d'*O. microdasys* au stade postfloraison présentait également une teneur élevée en phénols et en flavonoïdes. En outre, plusieurs études ont démontré la corrélation directe entre l'activité antioxydante et le contenu phénolique (Ait Abderrahim et al. 2017) ce qui correspond parfaitement aux résultats obtenus à travers cette étude. Les composés phénoliques sont des molécules antioxydantes efficaces car ils agissent en tant que donneurs d'hydrogène ou d'électrons. Ils jouent un rôle important dans l'absorption et la neutralisation des radicaux libres, la désactivation de l'oxygène singulier et triplet, les peroxydes chélatant ou décomposant les ions métalliques. Alimi et al. (2011) ont également signalé des teneurs élevées en phénols et en flavonoïdes dans l'extrait de méthanol de fleurs d'*O. ficus-indica* L. Ces composés ont démontré une capacité antioxydante élevée qui pourrait offrir une protection efficace contre les maladies liées aux stress oxydant tel que les cancers (Khomdram et Singh 2011).

De plus, l'activité antioxydante des flavonoïdes est attribuée à leur capacité à piéger les radicaux libres et à chélater les ions métalliques impliqués dans leur production (Ait Abderrahim et al. 2017). La présence de flavonoïdes et de tanins dans les différentes parties d'*O. spp.* a été rapporté par Brás (2011), Bari et al. (2012) et Mendez et al. (2012).

Dans cette étude, des quantités appréciables de flavonoïdes ont été enregistrées dans les fleurs des différentes populations, avec des quantités plus élevées dans les populations de 'Msila' (0,96 mg/g QE), 'Ain Defla' (0,95 mg/g QE) et 'Tizi Ouzou' (0,8 mg/g de QE). Les valeurs obtenues pour les flavonoïdes sont inférieures à celles trouvées par Guevara-Figueroa et al. (2010) sur *O. spp.* (2,00 à 9,80 mg / g de QE) et dans la même plage de variation décrite par Kunyanga et al. (2014) concernant la pelure d'*O. dillenii* (0,32 mg/g QE), la pulpe (0,29 mg/g QE) et les graines (1,44 mg/g QE). De plus, De Leo et al. (2010) ont révélé la présence de dérivés de la quercétine, du kaempférol et de l'isorhamnetin glycoside dans des fleurs d'*O. ficus-indica*. Néanmoins, la quercétine s'est avéré une activité potentielle de piégeage des radicaux basée sur sa capacité à donner des électrons à partir de leur groupe hydroxyde (Inal et al. 2000).

Par ailleurs, une teneur élevée en tanins condensés a été enregistrée dans les populations de 'Tizi Ouzou' (77,6 mg/g eC), 'Mascara' (58,57 mg/g eC) et 'Ain Defla' (51,86 mg/g eC). Les tanins condensés sont des métabolites phénoliques hydrosolubles que l'on trouve couramment



dans presque toutes les parties de la plante. Ils jouent un rôle clé dans les propriétés bénéfiques du fruit pour la santé. Kunyanga et al. (2014) ont rapporté une quantité de 15 mg/g eC de tanins condensés dans les fruits d'*O. stricta* collectés au Kenya. Les plantes riches en tanins ont montré une activité de piégeage radicalaire élevée conférant une protection contre la peroxydation lipidique et se sont avérées neutraliser *in vivo* la peroxydation lipidique induite par Fe(II) (Smeriglio et al. 2017).

De plus, les populations de 'Msila' et 'Ain Defla' ont montré des quantités relativement élevées en sucres solubles. Zhong et al. (2010) ont démontré que les polysaccharides d'*O. ficus-indica* présentaient une activité remarquable de piégeage des radicaux libres. Les polysaccharides d'*O. ficus-indica* constituent un polymère de monosaccharides comportant des groupes répétitifs d'hydrogène, d'hydroxyde et d'acides (Panico et al. 2007). Leurs mécanismes antioxydants ont été attribués à leur capacité de donner de l'hydrogène, des groupes hydroxydes pouvant agir en tant que donneurs d'électrons et à la présence de composés liés aux antioxydants tels que les polyphénols (Li et al. 2007).

De plus, le calcium, le sodium et le potassium sont classés parmi les principaux sels minéraux dont le corps humain a besoin en grandes quantités. Les populations de 'Mascara', 'Relizane' et 'Tiaret' présentent une teneur en sodium plus élevée par rapport aux autres populations. Cependant, la population de 'Tizi Ouzou' présente une teneur en calcium plus élevée alors que la teneur en potassium était presque pareille dans toutes les populations. Selon l'Organisation mondiale de la santé, le calcium est la principale composante des os et contribue au développement des dents. Il intervient dans la constriction et le relâchement des vaisseaux sanguins, la transmission des impulsions nerveuses, la contraction musculaire et la sécrétion d'hormones. De plus, le potassium en tant que principal cation intracellulaire est principalement impliqué dans le potentiel membranaire et l'excitation électrique des cellules nerveuses et musculaires. De plus, le sodium joue un rôle dans le maintien du volume plasmatique, de l'équilibre acido-basique, de la transmission de l'influx nerveux et du fonctionnement cellulaire normal (Rabeta et al. 2013).

# **Chapitre 3 :**

# **Caractérisation**

# **moléculaire**

## Chapitre 3 : Caractérisation moléculaire

La caractérisation des ressources phylogénétiques constitue une étape très importante pour la conservation du germoplasme et l'amélioration des plantes cultivées (Reis 2018). Ces dernières années, les marqueurs moléculaires ont été très utilisés dans les études portant sur l'analyse de la variabilité moléculaire des plantes. Les marqueurs multigéniques de type ISSR sont développés pour accéder à la variabilité au niveau et entre les différentes populations végétales issues de différentes conditions environnementales (Boussaid et al. 2010). La technique ISSR repose sur un principe simple ; elle consiste en une amplification de l'ADN génomique à l'aide d'une amorce unique des fragments comprise entre des microsatellites de même séquence mais en conformation inverse (Zietkiewicz et al. 1994). Les amorces utilisées correspondent à un motif répété complémentaire de la séquence d'un brin de microsatellite, et de résidus nucléotidiques ancrés en 5' ou 3'.

### 1. Matériel et méthodes

#### 1.1. Extraction de l'ADN génomique

L'extraction l'ADN a été réalisé à partir des graines d'*Opuntia ficus-indica* L. provenant des six populations étudiées. L'extraction d'ADN est faite à l'aide du kit NZY Plant/Fungi gDNA Isolation (Prates 2014). 20 mg de graines ont été homogénéisés et utilisés pour extraire l'ADN génomique qui a été stocké ensuite à -20 °C. Les quantités d'acides nucléiques extraits ont été déterminées en utilisant un Spectrophotomètre NanoDrop®.

10 marqueurs ISSR ont été retenus dans cette étude. Les tampons de PCR standard ont été préparés avec NZY Taq 2x Green Master Mix. Chaque réaction PCR contenait 10 µL de NZY Taq 2x Green Master Mix, 1 µL de chaque amorce, 30 ng d'ADN et de nucléase (3 µL de 10 ng / µL) et 6 µL d'eau ultrapure pour obtenir un volume final de 20 µl. La procédure de cyclage a été effectuée en utilisant le thermocycleur PTC-100 (MJ Research, Inc.).

Le programme d'amplification comprend cinq étapes :

- une dénaturation initiale (1),
- une dénaturation (2),
- une hybridation (3),
- une élongation (4) et
- une élongation finale (5).

Les étapes 2, 3, et 4 sont répétées quarante-cinq fois, c'est le cycle proprement dit. Les réactions d'amplification sont conduites dans le thermocycleur programmé pour une première étape de dénaturation à 94°C pendant 5 minutes, puis pour faire 45 cycles comportant chacun, une étape de dénaturation de 30 secondes à 94°C, une étape d'hybridation de 45 secondes à 52°C et une étape d'élongation de 2 minutes à 72°C, et enfin pour une élongation finale de 6 minutes à 72°C. Le tableau n° 15 indique les différents temps utilisés.

Les solutions (produit de l'amplification) des différents échantillons sont conservées à 4 °C jusqu'à leur utilisation dans un gel d'électrophorèse pour visualiser les produits d'amplification.

### **1.2. Electrophorèse sur gel d'agarose**

10 ul d'échantillons des produits amplifiés par PCR ont fait l'objet d'analyse par électrophorèse sur des gels d'agarose 1.5% sous une tension de 90 Volts pendant 2 heures.

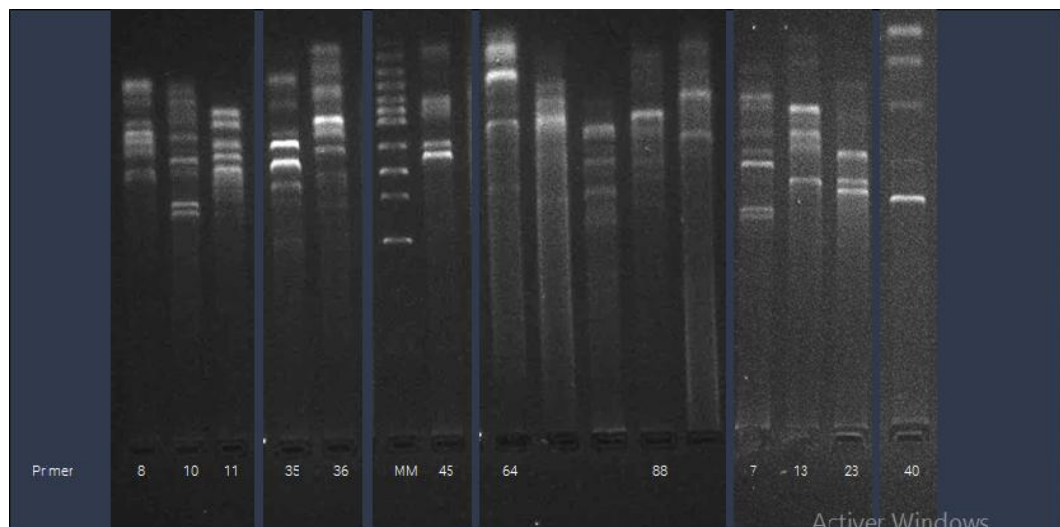
Les gels sont préparés à base d'agarose à 1.5% avec TAE 50X et D-2 (PRONADISA) dans un bac de dimension 15 x 18 x 4 cm qui baigne dans une cuve remplie de solution tampon (Tris/Acétate/EDTA "TAE") reliée à un transformateur utilisé pour l'électrophorèse horizontale. Les bandes de l'ADN sont révélées grâce au bromure d'éthidium, agent d'intercalation couramment utilisé comme marqueur d'acide nucléique. Lorsqu'il est exposé à des rayonnements ultraviolets, il devient fluorescent avec une couleur rouge-orangée, 20 fois plus intense lorsqu'il est lié à l'ADN, ce qui permet d'observer les bandes d'ADN fluorescentes après la migration d'électrophorèse. Dans chaque puits du gel on dépose un volume total de 12 ul qui représente 10ul du produit d'amplification en plus de 02 ul de colorant, soit le bleu de bromophénol comme marqueur afin de mieux visualiser les différentes bandes qui se colorent en bleu et de vérifier le bon déroulement de l'électrophorèse sur gel d'agarose.

## 2. Résultats et discussion

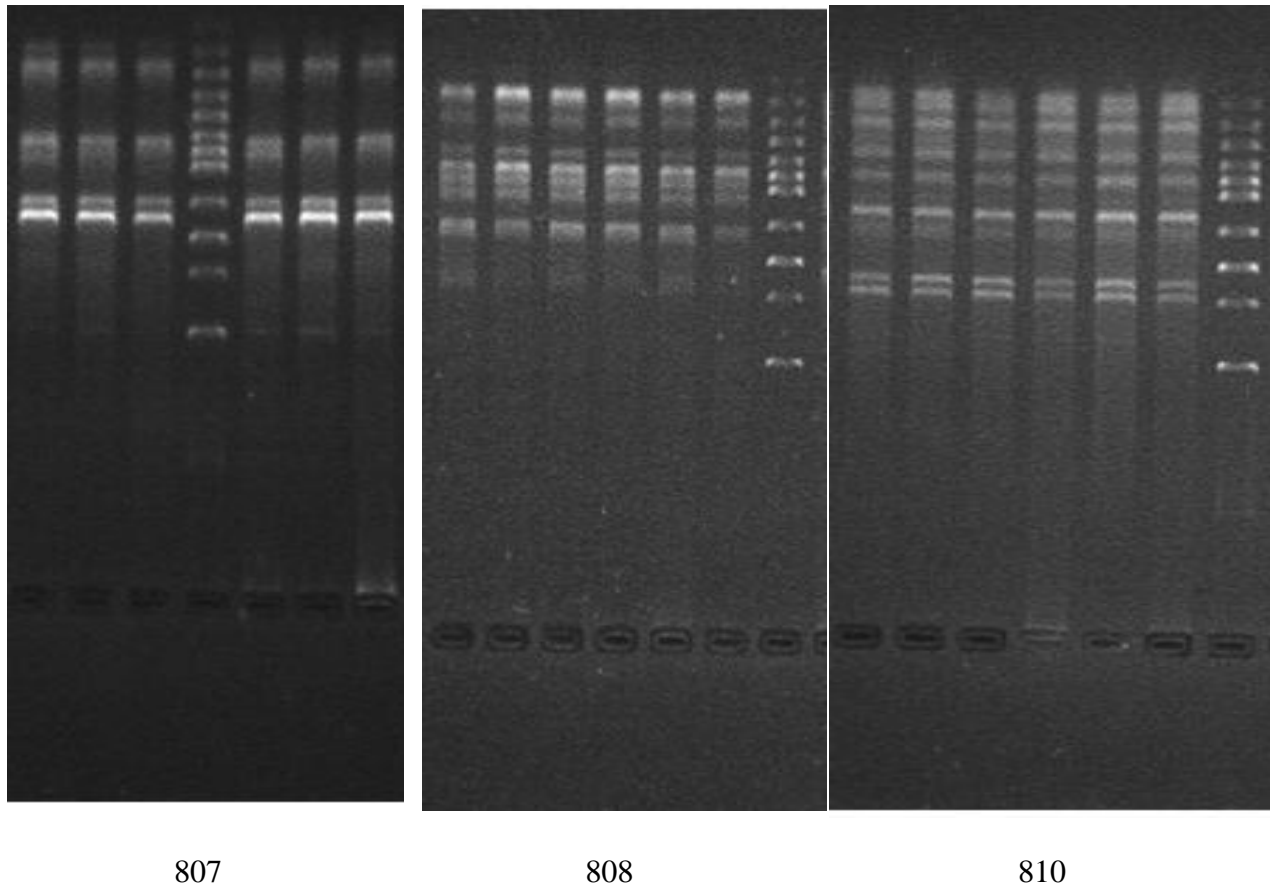
Les résultats obtenus présentent une similarité génétique élevée entre les différentes populations d'*O. ficus-indica* L. étudiées. Ces résultats sont en contradiction avec ceux obtenus par Valadez-Moctezuma et al. (2014) qui ont évalué la variabilité génétique des cultivars mexicains où ils indiquaient qu'il y avait une complexité de taxonomie du genre *Opuntia* parce qu'ils ont trouvés une similarité génétique entre les espèces *O. ficus-indica*, *O. albicarpa* et *O. megacantha* mais au niveau intraspécifique, il existe une grande variabilité génétique.

**Tableau 22.** Les 10 amorces sélectionnées

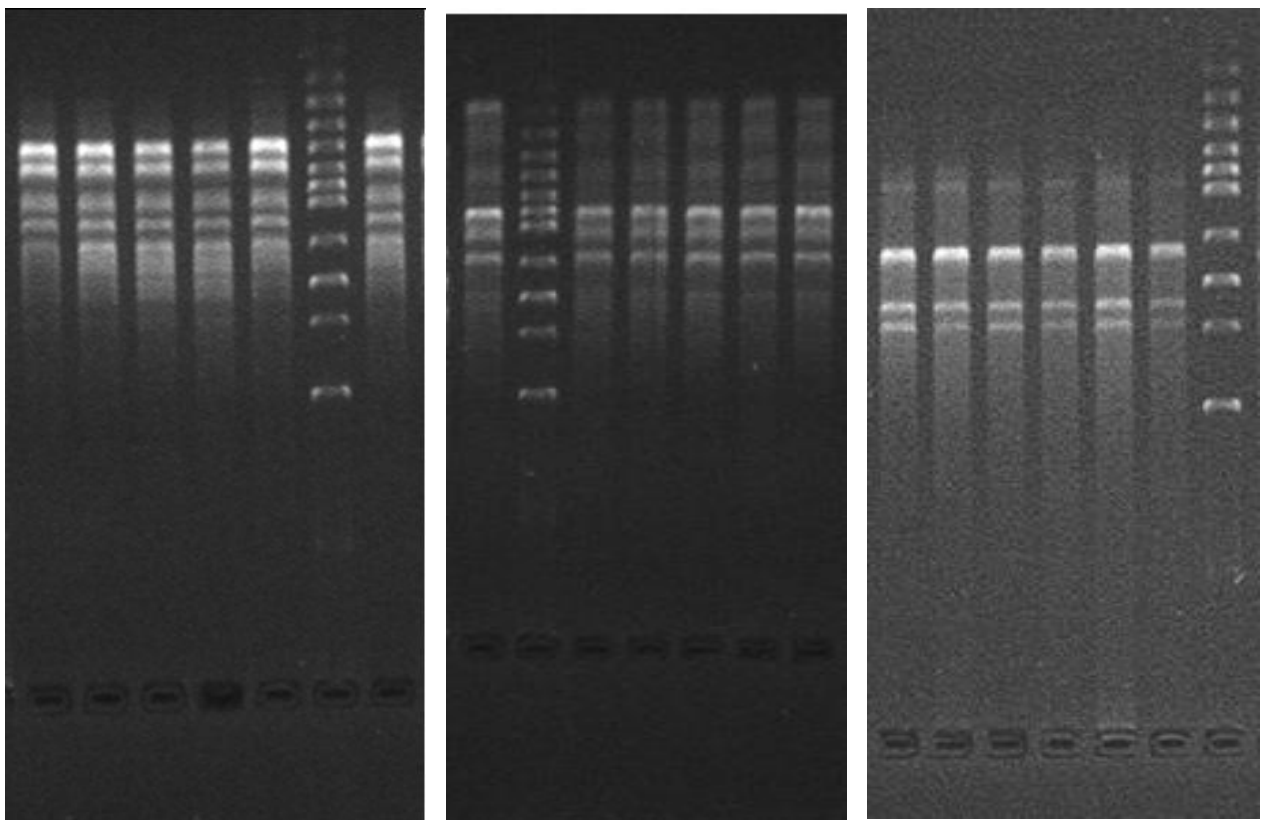
Amorce	Séquence 5'-3'
807	(AG)8T
808	(AG)8C
810	(GA)8T
811	(GA)8C
813	(CT)8T
823	(TC)8C
835	(AG)8YC
845	(CT)8RG
864	(ATG)6
888	BDB(CA)7



**Figure 46.** Bandes amplifiées générées par quelques amorces ISSR



**Figure 47.** Gel d'électrophorèse des produits d'amplification ISSR en utilisant l'amorce 807, 808,810 sur les six populations d'*O. ficus indica* L.

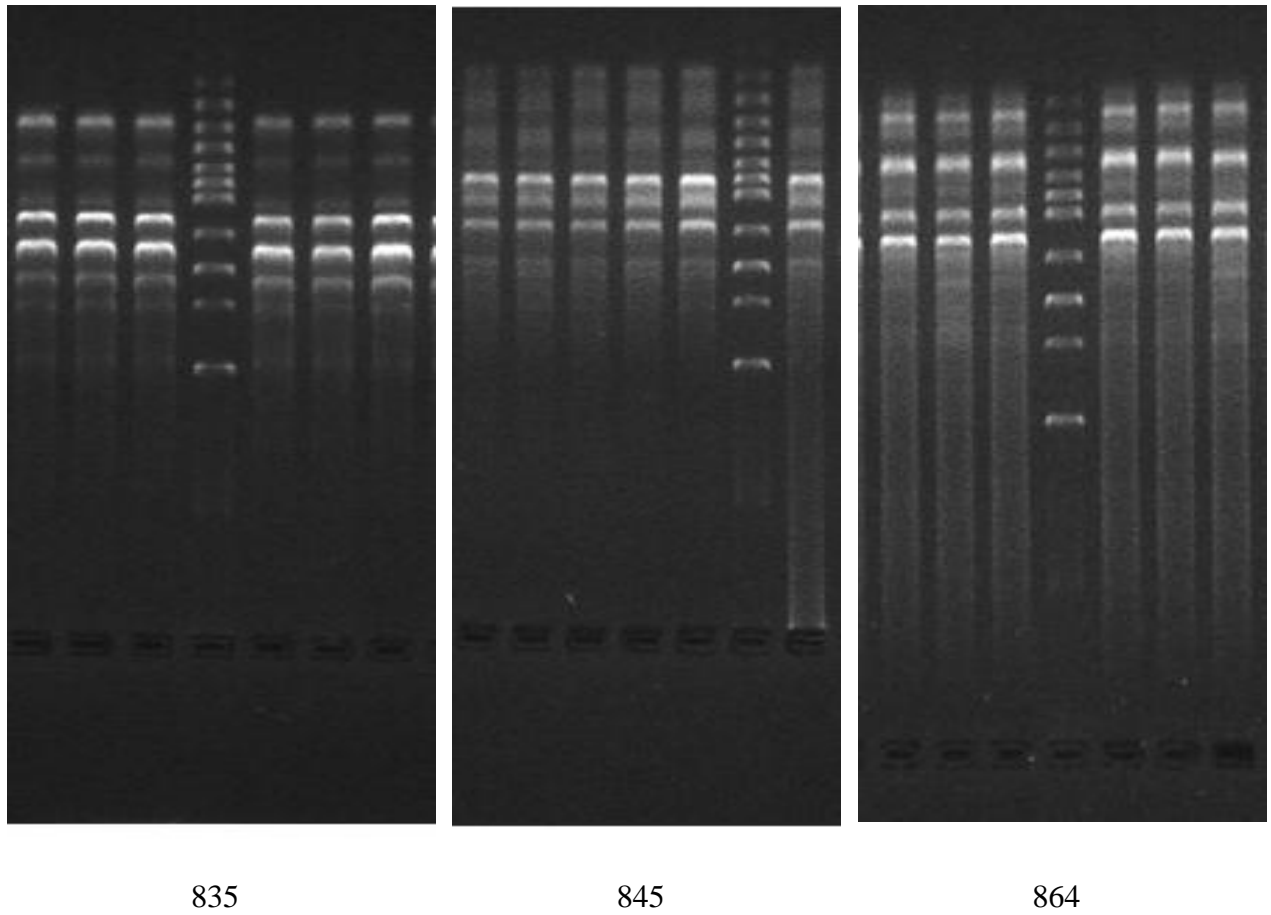


811

813

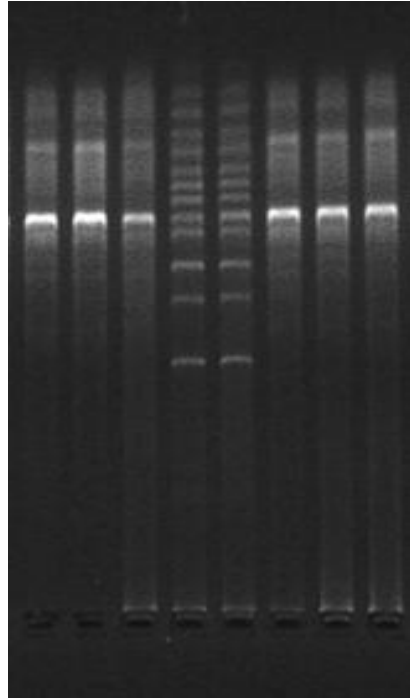
823

**Figure 48.** Gel d'électrophorèse des produits d'amplification ISSR en utilisant l'amorce 811, 813, 823 sur les six populations d'*O. ficus indica* L.



**Figure 49.** Gel d'électrophorèse des produits d'amplification ISSR en utilisant l'amorce 835, 845, 864 sur les six populations d'*O. ficus indica* L.





888

**Figure 50.** Gel d'électrophorèse des produits d'amplification ISSR en utilisant l'amorce 888 sur les six populations d'*O. ficus indica* L.

Les marqueurs moléculaires ISSR utilisés dans cette étude sont faciles à utiliser et hautement reproductibles (Boussaid et al. 2010). El kharassi (2015) indique que les marqueurs ISSR sont les plus efficaces et informatif des espèces d'*Opuntia*.

Il y a beaucoup de travaux qui ont été réalisés en Argentine, Mexique et Portugal sur les différentes espèces d'*Opuntia* à la base des amorces ISSR et ont donné une bonne information de la variabilité génétique de ces espèces. Cependant, Moctezuma et al. (2014) ont indiqué que l'évaluation de la variabilité génétique avec des marqueurs RAPD a été relativement plus efficace que des marqueurs ISSR.

Sur la base des amorces RAPD, les travaux de Zoghلامي et al. (2007) sur les accessions tunisiennes d'*Opuntia ficus-indica* montrent une variation génétique. D'autre part, El Finti et al. (2013) dans leur recherche basée sur les mêmes amorces, ont montré qu'il y avait un effet important de l'origine géographique sur la variabilité génétique des écotypes marocains d'*O. ficus-indica*.

À notre connaissance, c'est la première étude pour évaluer la variabilité génétique de plusieurs populations d'*O. ficus-indica* en Algérie à l'aide des marqueurs moléculaires ISSR.

D'après les résultats obtenus, les six populations d'*O. ficus-indica* retenues dans cette étude ne présentent pas une diversité génétique sur la base de ce marqueur. Cette conclusion ne peut être généralisée vu que l'étude a porté sur 10 amorces seulement. Autrement, cela peut être expliqué par le fait que le principal mode de reproduction de cette espèce est la voie asexuée. Selon Erre et al. (2009), les populations naturalisées d'*Opuntia* présentent une hétérogénéité génétique inférieure par rapport à la région d'origine.

# Conclusion

## Conclusion

L'Algérie, par ses caractéristiques géographiques et climatiques, renferme une richesse floristique importante et diversifiée dont les plantes à usage médicinale occupent une place importante d'un point de vue socioculturel et socioéconomique. Aujourd'hui, plus de 500 plantes sont connues par les populations indigènes dont plusieurs centaines sont utilisées en médecine traditionnelle.

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et est devenue aussi importante dans les pratiques quotidiennes. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs, d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce et sans effets secondaires.

Le présent travail a été consacré à la caractérisation morphologique, phytochimique et génétique de six populations d'*Opuntia ficus indica* L. pour une meilleure valorisation du germoplasme national de cactus.

L'étude phénotypique basée sur les traits des différentes parties de l'appareil végétatif et reproducteur de différentes provenances de figuier de barbarie a permis de révéler un polymorphisme inter et intra populationnelle important ; tous les traits de reproductions étaient corrélés significativement entre eux. Par contre, les traits végétatifs n'ont pas manifesté des corrélations importantes. Cette situation est similaire entre les traits de reproductions et les traits végétatifs où le nombre des corrélations est très réduit. De plus, des corrélations hautement significatives ont été décelées entre les précipitations annuelles et les traits de reproduction alors que ce phénomène n'a pas été révélé pour les traits végétatifs.

Les différentes analyses effectuées sur les traits végétatifs et reproducteurs ont conduit à distinguer deux groupes de populations ; l'un rassemble celles portant des cladodes inermes avec un réceptacle moyen et un fruit moyennement elliptique, c'est le cas des provenances de 'Ain Defla', 'Mascara' et 'Tiaret' et l'autre renferme les populations de 'Msila', 'Relizane' et 'Tizi ouzou' avec la forme épineuse, réceptacle légèrement déprimé et un fruit elliptique. La population de 'Mascara' renferme peu de graines par fruit ce qui nous pousse à dire que ses fruits seront les plus appréciés par le consommateur.

La présence des épines sur les individus échantillonnés de 'Msila', 'Relizane' et 'Tizi ouzou' présente un handicap, pour la consommation des cladodes par le bétail. L'épaisseur moyenne et le faible nombre des aréoles caractérisent l'écorce des fruits de la provenance de 'Tiaret', ce qui la qualifie à être un bon fourrage pendant les périodes de disette par rapport aux deux autres provenances.

L'estimation quantitative des métabolites dans les six populations étudiées montre que les organes d'*Opuntia ficus-indica* L. recèlent une variation importante des composés phénoliques ; la population de 'Msila' présente la quantité la plus importante en polyphénols au niveau de cladode alors que la teneur la plus faible en polyphénols au niveau de la pulpe a été marquée chez la population de 'Tizi ouzou'. Les flavonoïdes sont présents en teneurs élevées dans les cladodes et les fleurs par contre, les teneurs les plus faibles sont enregistrées au niveau de l'écorce. L'écorce renferme des teneurs très élevées en tanins alors que les autres organes accumulent de faibles quantités.

L'activité antioxydante étudiée avec la méthode de réduction du radical libre 1,1-diphényl-2-picryl-hydrasyl (DPPH) et le pouvoir réducteur (FRAP) a permis de constater que les extraits des six populations étudiées présentent des activités antioxydantes intéressantes corrélées principalement avec le contenu en polyphénols et en flavonoïdes.

La détermination des teneurs en métabolites secondaires, particulièrement les composés phénoliques, dans les différentes parties de la plante d'*O. ficus-indica* (cladode, écorce, pulpe, graine et fleur) provenant de différentes provenances, a montré que les cladodes et les fleurs sont les parties les plus riches en composés phénoliques par rapport aux autres parties de la plante.

Les résultats obtenus constituent la première information sur la composition phytochimique et l'activité antioxydante des fleurs d'*O. ficus-indica* à partir de matériel génétique algérien. Ils ont également démontré l'impact des conditions environnementales sur la biosynthèse et l'accumulation de composés phytochimiques, en plus de l'activité antioxydante d'*O. ficus-indica* appartenant à différentes provenances.

Cette découverte suggère que les fleurs d'*O. ficus-indica* au stade post-floral constituent une bonne source de substances bioactives pouvant être utilisées dans les aliments, les cosmétiques ou les produits pharmaceutiques. De plus, une relation significative a été établie entre l'activité antioxydante et la teneur en polyphénols indiquant que les composés phénoliques pourraient être des contributeurs majeurs à l'activité antioxydante.

L'évaluation de la diversité génétique sur la base du marqueur moléculaire ISSR montre une similarité génétique entre les différentes populations d'*O. ficus-indica* L. étudiées concernant les amorces testées.

L'ensemble de ces résultats pourra servir comme base de décision pour une meilleure exploitation, utilisation et valorisation d'*O. ficus-indica* L. en Algérie. Ces recherches aideront à mieux orienter les choix des provenances pour les programmes de développement ou de plantation de cette ressource phytogénétique.

Enfin, ces résultats ouvrent des perspectives d'utilisation de cette plante pour différents usages et ne constituent qu'un début dans le domaine de la recherche des ressources phytogénétiques en Algérie et par conséquent, il est recommandé :

- L'élargissement des stations de collecte de données relatives à l'*Opuntia ficus-indica* L. à travers toutes les aires de sa répartition en Algérie.

- Mettre en œuvre des marqueurs biochimiques et moléculaires dans l'étude de la variabilité intra- et inter- spécifique.

- Séparer et caractériser les composés bioactifs et étudier leurs mécanismes d'action séparément.

- Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires *in vivo* de l'activité antibactérienne, antioxydante et anti-inflammatoire des composés polyphénoliques.

- Augmenter le nombre de populations étudiées, étudier la diversité génétique au sein des populations et tester d'autres marqueurs moléculaires pouvant donner des résultats plus efficaces.

- Confronter les résultats d'analyse des ressources génétiques algériennes de l'*O. ficus-indica* à ceux des autres pays méditerranéens afin de construire un arbre phylogénétique global permettant d'élucider les relations généalogiques et de déceler le processus évolutif de cette espèce.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

- Abdelguerfi A. (2009). Quatrieme Rapport National sur la mise en œuvre de la convention sur la diversité biologique au niveau national.
- Abou-Elella F, M., R. F. M. Ali., (2014). "Antioxidant and anticancer activities of different constituents extracted from Egyptian prickly pear Cactus (*Opuntia Ficus-Indica*) Peel." *Biochemistry and Analytical Biochemistry* 3(2): 1.
- Abrosca B., Pacifico S., Cefarelli G., Mastellone C., (2007). Fiorentino A. Limoncella' apple, an Italian apple cultivar: Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. *Food Chemistry*; 104:1333-1337.
- Adli, B., Boutekrabet, A., Touati, M., Bakria, T., Touati, A., Bezini, E. (2017). Phenotypic diversity of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. in the Algerian steppe. *S. Afr. J. Bot.* 109. [https:// doi.org/10.1016/j.sajb.2016.12.024](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.12.024).
- AFNOR. (1990). Granulats, analyse granulométrique par tamisage. Norme P18-560.
- Aguero J., Rivera J., Hernandez H. (2005). Notas sistematicas y una descripcion detallada d'*Opuntia ficus indica* (L.)MILL. (cactaceae). Publicado como ENAYO en *Agrociencia*, 39: 395-408.
- Ait Abderrahim L., Taïbi K., Ait Abderrahim C. (2017). Assessment of the Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Ziziphus lotus* and *Peganum harmala*. *Iran J Sci Technol Trans Sci*, 43 : 409–414.
- Alimi H, Hfaiedh N, Bouoni Z, Sakly M, BenRhouma K. (2011). Evaluation of antioxidant and antiulcerogenic activities of *Opuntia ficus indica* f. inermis flowers extract in rats. *Environ. Toxicol. Pharmacol* 32:406–416.
- Allain M. (2009). Jean les cactacées est succulentes, histoire des plantes Succulentes, Edition rustica, p.14.
- Alonso C., Pérez R., Nieto Pedro M., Delgado J. (2005). Gender dimorphism and altitudinal variation of secondary compounds in leaves of the gynodioecious shrub *Daphne laureola*. *J Chem Ecol* 3:139-150.
- Ames B.M. (1993). Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radicals and degenerative diseases. *Science*, 221, 1256- 1263.
- Ammar I., Ennouri M., Attia H. (2015). Phenolic content and antioxidant activity of cactus (*Opuntia ficus-indica* L.) flowers are modified according to the extraction method. *Industrial Crops and Products*, Vol. 64, 97-104.



- Ammar I., Ennouri M., Khemakhem B., Yangui T., Attia H (2012). Variation in chemical composition and biological activities of two species of *Opuntia* flowers at four stages of flowering. *Ind. Crops Prod* 37:34–40.
- Araba A., El Aich A., Sarti B., Belbahri L., Boubekraoui A., Ait Hammou A., Zemmouri A., and Sbaa A. (2000). Valorisation du figuier de barbarie en élevage. *Transfert de technologie en agriculture*, 1-4.
- Arcoleo A., Ruccia M., Natoli MC. (1966). Beta-sitosterolo dai fiori di *Opuntia ficus indica* Mill. (Cactaceae). *Atti Accademiatic Scienze Lettere e Arti (Palermo)* 25:323–332.
- Arisi, A.-C. M., Cornic, G., Jouanin, L. & Foyer, C. H. (1998). Overexpression of iron superoxide dismutase in transformed poplar modifies the regulation of photosynthesis at low CO<sub>2</sub> partial pressures or following exposure to the prooxidant herbicide methyl viologen. *Plant Physiology* 117 (2), 565-574.
- Astello-García MG., Cervantes I., Nair V., Santos-Díaz M., Reyes-Agüero A., Guéraud F., Negre-Salvayre A., Rossignol M., Cisneros-Zevallos L., Barba de la Rosa AP. (2015). Chemical composition and phenolic compounds profile of cladodes from *Opuntia* spp. cultivars with different domestication gradient. *Journal of Food Composition and Analysis* 43(1):119-130.
- Bagnouls F., Gaussen H. (1953). Saison sèche et indice xérothermique. *Doct. Cart. Prod. Vég. Ser. Gen II*, 1, art. VIII, Toulouse, 47 p. 1 carte.
- Bahorun T., Grinier B., Trotin F., Brunet G., Pin T., Luncky M., Vasseur J., Cazin M., Cazin C., Pinkas M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Journal of Arzneimittelforschung*. Pp1086-1089.
- Bahukhandi K D., Bartarya S.K. (2014). major ion chemistry of asanrivercatchment of dehradun district (impact assessment of anthropogenic sources), *Octa Journal of Environmental Research*, 2014, Vol. 2(2): 168-177.
- Bakari S. Daoud A., Felhi S., Smaoui S., Gharsallah N., Kadri A. (2017). Proximate analysis, mineral composition, phytochemical contents, antioxidant and antimicrobial activities and GC-MS investigation of various solvent extracts of cactus cladode. *Food Sci Tech* 37(2): 286-293.
- Barbera G., Carimi F., Inglese P. (1992). Past and present role of the Indian Fig Prickly-Pear (*Opuntia Ficus-Indica* (L.) Miller, Cactaceae) in the agriculture of Sicily. *Economic botany*, 46(1): 10-20.

- Barbera G., Inglese P., Lamantia T. (1994). Seed content and fruit characteristics in cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill.). *Sci. Hort*, 58: 161–165.
- Bari M.N., Zubair M., Rizwan K., Rasool N., Bukhari I.H., Akram S., Bokhari T.H., Shahid M., Hameed M., Viqar U.A. (2012). Biological Activities of *Opuntia Monacantha* Cladodes. *J. Chem. Soc. Pak*. Pp 990-995.
- Bédane C. (2008). *Photodermatologie : Photobiologie cutanée, photoprotection et photothérapie. Edition Wolters Kluwer France*, p 20.
- Bemard M., Bemard S. (1992). Développement et applications des techniques de coloration différentielle des chromosomes chez les végétaux : caryotypes et structures chromosomiques, identification des espèces et relations phylétiques. *Société Française de Génétique*, 3(8): 1-10.
- Benayad Z., Martinez-Villaluenga C., Frias J., Gomez-Cordoves C., Es-Safi NE. (2014) Phenolic composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from Moroccan *Opuntia ficus-indica* flowers obtained by different extraction methods. *Industrial Crops and Products* 62: 412-420 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.08.046>.
- Benhammou N. (2011). *Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat en biologie. Université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen. Algérie. 113 p.*
- Benhouhou S., Vela E. (2007). Evaluation d'un nouveau point chaud de biodiversité végétale dans le bassin méditerranéen (Afrique du nord). *C.R. Biologies* 2007 ; 330 : 589-605.
- Berli FJ., Alonso R., Beltrano J., Bottini R. (2015). High-elevation solar UV-B and abscisic acid sprays increase grape berry antioxidant capacity. *Am. J. Enol. Vitic* 66:65-72.
- Bhira O. (2012). *Potentialité thérapeutique d'Opuntia Ficus Indica. Thèse, Université Mohamed V, Rabat.*
- Blondel J., Aronson J., Bodieu J., Bœuf G. (2010). *The Mediterranean Region .Biological diversity in space and time, Oxford University Press, Oxford, seconde édition, P. 376.*
- Booken N. (1980). Developmental morphology and anatomy in Cactaceae. *Bio. Science*, 30: 605-610.
- Boudjouref M. (2011). *Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 99 p.*
- Boujghagh M., Chajia L. (2001). 'Le Cactus: Outil de Gestion de la Sécheresse dans le Sud Marocain', *Terre et Vie*, 52 : 1 – 7.

- Boussaid M., Benito C., Kaid-Harche M., Naranjo T., Zedek M. (2010). Genetic Variation in Natural Populations of *Stipa tenacissima* from Algeria. *Biochem Genet.*
- Boussaid, M., Taïbi, K., Ait Abderrahim, L., Ennajah, A. (2018). Genetic diversity of *Ziziphus lotus* natural populations from Algeria based on fruit morphological markers. *Arid Land Research and Management*, 32(2), 184–197.
- Bouzoubaa Z., Essoukrati Y., Tahrouch S., Hatimi A., Gharby S., Harhar H. (2014). Etude physico-chimique de deux variétés de figuier de barbarie ('Achefri' et 'Amouslem') du Sud Marocain. *Les Technologies de laboratoire*, 8(34): 137-144.
- Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Goran A., Igic R. (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), *Food Chemistry*. Vol. 111; pp 925–929.
- Branlard G., Autran J., Monneveux P. (1989). High molecular weight glutenin subunit in durum wheat (*T. durum*). *Theor. Appl. Gen.*, 78: 353-358.
- Brás AAQ. (2011). Caracterização do extrato de *Opuntia ficus indica* (L.) Mill e avaliação de sua atividade fotoprotetora (Monografia de graduação). Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation. 3<sup>ème</sup> ed, Paris. France. 1120p.
- Bures P., Pavlicek T., Horova L., Nevo E. (2004). Microgeographic genome size differentiation of the carobtree, *Ceratonia siliqua*, at 'Evolution Canyon'. *Israel. An. Bot.*, 93: 529-535.
- Cano, N., Barnoud, D., Schneider, S. M., Vasson, M.-P., Hasselmann, M. & Leverve, X. (2006). *Traité de nutrition artificielle de l'adulte. Edition Springer*, p 255.
- Cantwell M., (1991). Quality and postharvest physiology of napolitos and tunas. *Proc. Second annual Texas prickly pear conferences Mc Allen.Texas*: P. 50-66.
- Cardador-Martínez, A., Jiménez-Martínez, C., & Sandoval, G. (2011). Revalorization of cactus pear (*Opuntia* spp.) wastes as a source of antioxidants. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31, 782–788.
- CDB, 1992 Convention sur la diversité biologique. (1992). "Convention on Biological Diversity", 1760, I-30619. Pp : 170-382.
- Chahdoura H, Barreira J, Barros L, Santos-Buelga C, Ferreira I, Achour L. (2014). Phytochemical characterization and antioxidant activity of *Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff flowers in different stages of maturity. *J Funct Foods* 9:27–37.
- Chaouche F., Abdul M. (2008). Contribution à l'étude de l'*Opuntia* et perspectives d'amélioration dans le milieu steppique. *Agricultura – Știință și practică*, 1-2 (65-66) : 24-31.

- Chaparzadeh N., Sofialan O., Javanmard A., Hejazi M., Zarandi L. (2008). Study of glutenin subunits in some wheat landraces from Northwest of Iran by SDS-PAGE technique. *Int. J. Agri. Biol*, 10: 101-104.
- Chavez-Santoscoy R.A., Gutierrez-Uribe J.A., Serna-Saldívar S.O. (2009). Phenolic composition, antioxidant capacity and in vitro cancer cell cytotoxicity of nine prickly pear (*Opuntia* spp.) juices. *Plant Foods Hum Nutr*. Pp146-52.
- Christophe, P. & Christophe S. (2011). Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. *Edition Springer*, p 84.
- Connolly JD., HILL RA. (1992). Dictionary of terpenoids. Ed. Chapman and Hall. CRC Press, New York. USA. 2156 p.
- Cowan M.M. (1999). Plants products as antimicrobial activity. *Clinical Microbiology Reviews*. Pp 564-582.
- Cui Z., Carter T., Burton J., Wells R. (2001). Phenotypic Diversity of Modern Chinese and North American Soybean Cultvars. *Crop Sci*, 41: 1954-1967.
- Cwiertny DM., Baltrusaitis J., Hunter GJ., Laskin A., Scherer MM., Grassian VH. (2008). Characterization and acid-mobilization study of iron-containing mineral dust source materials. *Journal of Geophysical Research* ;113:D05202, doi:10.1029/2007JD009332.
- Dajoz R. (2006). Précis d'écologie 8 ème édition. DUNOD. Paris, 631 p.
- De Léo M, De Abreu MB, Pawlowska AM, Cioni PL, Braca A. (2010). Profiling the chemical content of *Opuntia ficus-indica* flowers by HPLC–PDA-ESI-MS and GC/EIMS analyses. *Phytochem. Lett* 3:48–52.
- Deysson G. (1976). Cours de botanique générale (éd. 4e éd). Paris: CDU SEDES.
- Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A. (1999). Flavonoïds: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci*. PP 337-53.
- Dreux Ph. (1980). Précis d'écologie, ED, presses universitaires de France. Paris. 231p.
- Droillard M.-J. & Paulin A. (1990). Isozymes of Superoxide Dismutase in Mitochondria and Peroxisomes Isolated from Petals of Carnation (*Dianthus caryophyllus*) during Senescence. *Plant Physiology* 94 (3), 1187-1192.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F.(1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem* 28:350–356.
- Edeas, M. (2005). Les secrets de santé du thé : c'est naturel, c'est ma santé. *Alpen Editions s.a.m.*, p 18.

- El Finti A., El Boullani R., Fallah M., Msanda F E., El Mousadik A. (2013). Assessment of some agro technological parameters of cactus pear fruit (*Opuntia ficus-indica* Mill.) in Morocco cultivars. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(35): 2574-2583.
- El Kharrassi, Y. (2015). Highlighting the diversity of cactus populations (*Opuntia* spp.) in Morocco and modulation of lipid metabolism by natural extracts and phytosterols from cactus and Argan oil in microglial cells BV2, Université de Bourgogne.
- El Sayed A., Nagaty, M.A., Salman, M.S., Bazaid, S.A. (2014). Phytochemicals, nutritional and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus indica* Mill.) growing in Taif, KSA. *Food Chem.* 160: 31–38.
- Elizondo J E., Valdes J E., Arias S E., Hatch SL. (1994). Micromorfología de las semillas de algunas especies de la tribu Cactaceae (Cactaceae). *Cact.Suc. Mex*, 39: 59-67.
- El-Kossori R., Evillaume C., Boustani E., Sauvarie Y., M'ejean L. (1998). Composition of pulp, skin, seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus indica* sp.). *Plant Foods Hum Nutr*, 52: 263–270.
- Emberger L. (1939). Aperçu général sur la végétation du Maroc. Commentaire de la carte phytogéographique du Maroc à 1/1 500 000. *Veröff. geobot. Inst., Zürich*, 14 : 40-15.
- Emberger L. (1955). Une classification biogéographique des climats. *Rec. Trav. Lab. Géol. Bot. et 'Lool.*, Fac. Sc., Montpellier, 7 ; 1-43.
- Emberger L. (1971). *Travaux de botanique et d'écologie de Louis Emberger*. Masson, Paris. 291-301.
- Erre, P., Chessa, I., Nieddu, G., Jones, P.G. (2009). Diversity and spatial distribution of *Opuntia* spp. in the Mediterranean Basin. *Journal of Arid Environments* 73, 1058–1066.
- FAO E. (1996). Report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. FAO, Rome, p. 75.
- Felker P., Soulier C., Leguizamón G., Ochoa J. (2002). Comparison of the fruit parameters of 12 *Opuntia* clones grown in Argentina and the United States. *J Arid Environ*, 52: 361–370.
- Ferreira DS., Rosso VV., Mercadante AZ . (2010). Compostos bioativos presentes em amora-preta (*Rubus* spp.). *Revista Brasileira de Fruticultura* 32(3):664-674.
- Feugang MJ, Konarski P, Zou D, Stintzing F C, Zou C. (2006). Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Frontiers in Bioscience* 11:2574-2589.
- Galati E.M., Monforte M.T., Miceli N., Mondello M.R., Taviano M.F., Galluzzo M., Tripodo M.M. (2007). *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. mucilages show cyto-protective effect on gastric mucosa in rat. *Phyt other Res* , 21(4): 344–346.

- Ghimire S., Akashi Y., Masuda A., Washio T., Nishida H., Zhou Y., Yen C., Yoshino H., Kato K. (2006). Genetic diversity and phylogenetic relationship among east asian common wheat (*triticum aestivum* L.) populations. revealed by the analysis of five isozymes. *Breeding Science*, 56: 379-387.
- Ghimire S., Akashi Y., Maitani C., Nakanishi M., Kato K. (2005). Genetic diversity and geographical differentiation in asian common wheat (*triticum aestivum* L.). revealed by the analysis of peroxidase and esterase isozymes. *Breeding Science*, 55: 175-185.
- Gomez-Caravaca A.M., Gomez-Romero M., Arraez-Roman D., Segura-Carretero A., Fernandez-Gutierrez A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Pp1220-1234.
- Gorham J. (1977). Lunularic acid and related compounds in liverworts, algae and hydrangea. *Phytochemistry*. Vol. (16):249-253.
- Gottlieb L. (1977). Electrophoretic evidence and plant systematic. *Ann. Missouri Bot. Gard*, 64: 161-180.
- Goudable, J. & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 11,115-120.
- Grime J.P. (1983). Prediction of weed and crop response to climate based on measurement of DNA content. *Aspect of Appleid Biol*, 4:87-98.
- Guevara-Figueroa T, Jiménez-Islas H, Reyes-Escogido M, Mortensen AG, Laursen BB, Lin LW, León-Rodríguez A, Fomsgaard IS, Barba de la Rosa AP. (2010). Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *Journal of Food Composition and Analysis* 23(6):525-532.
- Gülcin I. (2005). The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. *Int J Food Sci Nutr*. 56:491–499.
- Guzman U., Arias S., Davila P. (2003). Catálogo de cactáceas Mexicanas. UNAM/CONABIO, México. P. 315.
- Habibi Y. (2004). Contribution à l'étude morphologique, ultrastructurale et chimique de la figue de Barbarie, les polysaccharides pariétaux : caractérisation et modifications chimiques. Thèse de Doctorat. Université Joseph Fourier. Faculté Sciences et Géographie (Grenoble I) et Université Cadi Ayyad . Faculté des Sciences (Semlalia, Marrakech).
- Habibi, Y., Heux, L., Mahrouz, M., and Vignon, M. R. (2008). Morphological and structural study of seed pericarp of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Polymers*, 72, 102-112.

- Hadj Sadok T., Aid F., Bellal M., Abdul Hussain M.S. (2008). Composition chimique des jeunes cladodes d'*Opuntia ficus indica* et possibilités de valorisation alimentaire. *Agricultural practice and science journal*. Pp 39-48.
- Halmi S. (2015). Etude botanique et phytochimique : approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia ficus indica*. Thèse de doctorat. Université des frères Mentouri de Constantine.
- Harrar A.E.N. (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magister Biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 73p.
- Haslam E. (1994). Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod.* Vol. (11): 41-66.
- Hellal Z. (2011). Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). mémoire de Magister en biologie, université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Algérie. 78p.
- Heller W., Forkmann G. (1993). The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. *Secondary Plant Products*. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman et Hall, London. UK. Pp 399-425.
- Hess M. (2002). *Alkaloids, Nature's Curse or Blessing* 1ère édition. Ed. Wiley- VCH, New York. USA. 297 p.
- Heywood V., Watson R. (1995). *Global Diversity Assessment*. United Nations Environmental Programme, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Hinneburg I., Dorman H J D., Hiltunen R. (2006). Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chem*, 97: 122-129.
- Husain, R., Srivastava, S., Srivastava, S.P., Seth, P.K. (1986). Effect of acrylamide on energy-linked functions in rat brain. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 37:427-432.
- Ichai, C., Quintard, H. & Orban, J.-C. (2011). Désordres métaboliques et réanimation : de la physiopathologie au traitement, *Edition Springer*, p 427.
- Inal ME, Kahraman A. (2000). The protective effect of flavonol quercetin against ultraviolet A induced oxidative stress in rats. *Toxicology* 154:21-29.
- Kamra D.N., Agarwal N., Chaudhary L.C. (2006). Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series*. Vol. (1293) : 156-163.

- Kaur M, Kaur A, Sharma R. (2012). Pharmacological actions of *Opuntia ficus indica*: a review. J App Pharm Sci 02: 15–18.
- Khenaka K. (2011). Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Thèse de Magister En Microbiologie Appliquée. Université Mentouri- Constantine. Algérie. 81p.
- Khomdram SD, Singh PK. (2011). Polyphenolic compounds and free radical scavenging activity in eight lamiaceae herbs of Manipur. Notulae Sci. Biol 3:108–113.
- Kim J., Park S., Ha H.J., Moon C.J., Shin T., Kim J.M., Lee N., Kim H.C., Jang K.J., Myung-Bokwie M.B. (2006). *Opuntia ficus-indica* attenuates neuronal injury *in vitro* and *in vivo* models of cerebral ischemia. Ethno pharmacol, 104(1–2): 257–262.
- Koutecky P. (2007). Morphological and ploidy level variation of *Centaurea Phrygia* Agg, (Asteraceae) in the Czech Republic, Slovakia and Ukraine, Folia Geobot , 42: 77–102.
- Kremer A. (1994). Diversité génétique et variabilité des caractères phénotypiques chez les arbres forestiers. INRA, France, pp. 105-123.
- Kunyanga CN, Vellingiri V, Imungi K.J. (2014). Nutritional quality, phytochemical composition and health protective effects of an under-utilized prickly cactus fruit (*Opuntia stricta* haw.) collected from Kenya. Afr J Food, Agr, Nut Develop. 14 (7): 9561-9577.
- Kurth C. et Thurre D. (2006). La biodiversité. APED, Muséum d'histoire naturelle, Genève, 19 p.
- Lazureskii G.V., Terenteva I.V. & Chamchurin A.A. (1966). Pratiqueskii raboti po khimii soedinienii. Édition Vischaya Chkola, Moscou (Russie); 334 pp.
- Leinmüller E., Steingass H., Menke K.H. (1991). Tannins in Ruminant feed stuff. Institute of Animal Nutrition, University of Hohenheim (Germany).
- Leong, G.R., Goulding, K.R., Amin, N., Richardson, H.E., Brumby, A.M. (2009). scribble mutants promote aPKC and JNK-dependent epithelial neoplasia independently of Crumbs. BMC Biol. 7: 62.
- Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., chen F., Tian Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. Food Chimestry. Pp771-776.
- Makkar H.P.S. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*. Vol. (49) : 241-256.



- Mata A., Ferreira JP., Semedo C., Serra T., Duarte CM., Bronze MR. (2016). Contribution to the characterization of *Opuntia* spp. juices by LC–DAD ESI-MS/MS. *Food Chem* 210:558–565.
- Médail F., Quézel P. (1997). Hot-spots analysis for conservation of plant biodiversity in the Mediterranean Basin. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 84: 112–127.
- Mendez M., Rodríguez R., Ruiz J., Morales-Adame D., Castillo F., Hernández-Castillo FD., Aguilar CN. (2012). Antibacterial activity of plant extracts obtained with alternative organics solvents against food-borne pathogen bacteria. *Ind Crops Prod* 37(1):445-450.
- Metakovsky E., Baboev K. (1992). Polymorphism of gliadin and un usual gliadin alleles in *Triticum aestivum*. *Genome*, 35: 1007-1012.
- Mimouni A., Ait Lhaj A., Wifaya A., Boujghagh M., Sedki M. (2009). Le cactus. *Agriculture du Maghreb*, 35 : 49-51.
- Mittermeier R., Robles G., Hoffmann M., Pilgrim J., Brooks T., Mittermeier C., Lamoreux J., Dafonseca G. (2004). Hotspots revisited: Earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. Preface by Peter A. Seligmann, Foreword by Harrison Ford, Cemex/Conservation International/Agrupacion, Sierra Madre/Monterrey/Mexico, P. 392.
- Mittermeier R., Robles G., Hoffmann M., Pilgrim J., Brooks T., Mittermeier C., Lamoreux J., Dafonseca G. (2004). Hotspots revisited: Earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. Preface by Peter A. Seligmann, Foreword by Harrison Ford, Cemex/Conservation International/Agrupacion, Sierra Madre/Monterrey/Mexico, P. 392.
- Mobhammer M., Stintzing F., Carle R. (2006). Evaluation of different methods for production of juice concentrates and fruit powders from cactus pear. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7: 275-287.
- Mohsen S.M., Ammar A.S.M. (2009). Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chem.*, 112: 595-598.
- Monjauze A., Le Houerou H. (1965). Le rôle des *Opuntia* dans l'économie agricole nord-africaine. *Bulletin de l'Ecole Supérieure Agricole de Tunis*, 8 (9) :85-164.
- Myres N., Mittermeier R., Mittermeier C., DA Fonseca G., Kent K. (2000). *Canephora Pierre: connaissances acquises. stratégies et perspectives*. *Cah Agric*, 8(21) : 143-153.
- Nagulendran, K. R., Velavan, S., Mahesh, R., & Begum, V. H. (2007). In vitro antioxidant activity and total polyphenolic content of *Cyperus rotundus* rhizomes. *Journal of Chemistry*, 4(3), 440–449 ISSN: 0973–4945.

- Neffar S. (2012). Etude de l'effet de l'âge des plantations de figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica* L. Miller) sur la variation des ressources naturelles (sol et végétation) des steppes algériennes de l'Est. Cas de Souk- ahras et Tébessai. Annaba: these de doctorat. Université Badji Mokhtar.
- Nefzaoui A., Ben Salem H., Zaafour M., Chouki S. (2002). Tunisian experience with fodder shrubs. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. I: 210-228.
- Newman D.J., Cragg G.M. (2012). Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* Vol. (75): 311-335.
- Nicholls, P. (2012). Classical catalase: Ancient and modern. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 525, 95–101.
- Nizar Y., Cherif J.K., Trabelsi Ayadi M. (2014). Comparative Study of Antioxidant Power, Polyphenols, Flavonoids and Betacyanins of Peel and Pulp of Three Tunisian *Opuntia* Forms. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. Pp 650-658.
- Nobel P.S., Garcia-Moya E., Quero E. (1992). High annual productivity of certain agaves and cacti under cultivation. *Plant , Cell and Environment*, 15 329-335.
- Orwa C., Mutua A., Kindt R., Jamnadass R., Simons A. (2009). Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0 <http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/>
- Références bibliographiques.
- Oued Zenati., Kaddem S. (1990). Les plantes médicinales en Algérie, (éd. 3 eme édition, Vol. 45). Perscott: L-M; Harley, J-P ; Klein, D-A.
- Packer L., Kraemer K. & Rimbach G. (2001). Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition* 17(10), 888-895.
- Panico AM, Cardile V, Garufi F, Puglia C, Bonina F, Ronsisvalle G. (2007). Effect of hyaluronic acid and polysaccharides from *Opuntia ficus indica* (L.) cladodes on the metabolism of human chondrocyte cultures. *J. Ethnopharmacol* 111:315–321.
- Papazian L. & Roch A. (2008). Le syndrome de détresse respiratoire aiguë, *Edition Springer*, p 153.
- Parizeau M. (1997). La biodiversité. Tout conserver ou tout exploiter. Deboeck et larciers.a, sciences, Ethiques, sociologies, Paris, p. 214.
- Pathak, M. A. (1962). "Melanin Formation in Human Skin Induced by Long-Wave Ultra-Violet and Visible Light." *Nature* 193(4811): 148-150.

- Peeking a., Picand b., Hacene k., lokiec., Guerin p. (1987). Oligimères procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. *Artères et Veines. Publications médicales AGCF*. Vol. (6): 512-513.
- Pelletier, E., Campbell, P. G. C., Denizeau, F. (2004). Écotoxicologie moléculaire : Principes fondamentaux et perspectives de développement. *Edition PUQ*, p 182.
- Pielou E., (1994). Biodiversity versus old-style diversity: measuring biodiversity for conservation. In: *Measuring and monitoring biodiversity in tropical and temperate forests*. (Eds) Boyle, T. J. B. et Boontawee, B., CIFOR, Bogor, Indonésie, p. 5-17.
- Pimienta-Barrios, E., Zanudo, J., Yopez, and Nobel, P.S. (2000). Seasonal variation of net CO<sub>2</sub> uptake for cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) and pitayo (*Stenocereus queretaroensis*) in a semi-arid environment. *Journal of Arid Environments*, 44, 73-83.
- Piquet m.-a. Hébuterne x. (2007). Nutrition en pathologie digestive. *Edition Wolters Kluwer France*, p 93.
- Prakash, D., Singh, B.N. and Upadhyay, G. (2007). Antioxidant and free radical scavenging activities of phenols from onion (*Allium cepa*). *Food Chemistry* 102: 1389-1393.
- Prat D., Rampant F., Prado E. (2006). Analyse du génome et gestion des ressources génétiques forestières. *Inra*, p. 484.
- Prates J. (2014). NZY Plant/Fungi gDNA Isolation kit. *Nzytech genes & enzymes*. 6 p.
- Quezel P. (1995). La flore du bassin méditerranéen: origine, mise en place endémisme. *Ecologia Mediterranea*, 21: 19–39.
- Rabeta MS, Nur Faraniza R. (2013) Total phenolic content and ferric reducing antioxidant power of the leaves and fruits of *Garcinia atrovirdis* and *Cynometra cauliflora*. *Int. Food Res. J* 20(4):1691–1696.
- Radhouane L. (2004). Étude de la variabilité morpho-phénologique chez *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 138: 18-22.
- Ramade F (2014). *Éléments d'écologie : Ecologie fondamentale* 4<sup>ème</sup> édition. DUNOD. Paris, 689 p.
- Roger D. (2006). Précis d'écologie. In : *l'homme et la nature. Destruction et conservation de la biodiversité*. 8<sup>e</sup> édition, Dunod, paris, p. 631.
- Russel C., Felker P. (1987). The prickly pear (*Opuntia* spp., Cactaceae): a source of human and animal food in semi-arid regions. *Economic Botany*, 41: 433-445.
- Saenza Carmen. (2002). Utilizacion agro-industrial del nopal *Bulletin des services Agricoles de la FAO* 162, Roma, p. 107-109.

- Sampaio BL., Edrada-Ebel RA., Da Costa FB. (2016). Effect of the environment on the secondary metabolic profile of *Tithonia diversifolia*: a model for environmental metabolomics of plants. *Scientific Reports* 6: 29265.
- Sánchez-Moreno C. (2002). Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Technol Int*. Pp121-137.
- Sanogo R., Diallo D., Diarra S., Ekoumon C., Bougoudougou F. (2006). Activité antibactérienne et antalgique des deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite au Mali. *Mali Medical*. Pp18-24.
- Schauenberg P. (2005). Guide des plantes médicinales Analyse, description et utilisation de 400 plantes. 2<sup>ème</sup> édition. Ed. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel. Suisse. 396 p.
- Schofield, P., Mbugua, D. M., and Pell, A. N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology* 91, 21-40.
- Schweizer, M. (1997). "Docteur Nopal, le médecin du Bon Dieu," Aloe Plantes et Beauté KOEN D., 2004. Nutri- et phytothérapie. Développements récents-4. Ed. Garant : 41-42.
- Seenivasan P. (2006). In vitro antibacterial activity of som plant essential oils. *Jornal of complementary and alternative medicine* Vol (9): 6-39.
- Smeriglio A, Barreca D, Bellocco E, Trombetta D. (2017). Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects. *British Journal of Pharmacology* 174(11):1244-1262.
- Sneath P., Sokal R. (1973). Numerical taxonomy. San Francisco: Freeman.
- Solbrig O. (1991). From genes to ecosystemis: A Research Agenda for Biodiversity. IUBS UNESCO, Cambridge, USA.
- Stintzing F. C., Herbach K. M., Mosshammer M. R., Carle R., Yi, W., Sellappan S. (2005). Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53(2), 442–451.
- Stintzing F.C. & R. Carle: Cactus stems (*Opuntia* spp.).(2005). A review on their chemistry, technology, and uses. *Mol Nutr Food Res* 49, 175-194.
- Stocker, R., Yamamoto, Y., Mcdonagh, A. F., Glazer, A. N. & Ames, B. N. (1987). Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science* 235 (4792), 1043-1046.
- Stuessy T. (1990). The systematic evolution of comparative data. New York, USA: Columbia Univ, Press.
- Thompson J. (2005). Plant Evolution in the Mediterranean. Oxford University Press, Oxford.
- Toor, R.K., Savage, G.P. (2005). Antioxidant Activity in Different Fractions of Tomatoes. *Food Research International*, 38, 487-494.

- UPOV. (2004). Figuier de Barbarie et Xoconostles (*Opuntia*, groupe 1 et 2), principes directeurs pour la conduite de l'examen de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité TG/217/1. p. 31.
- Valadez-Moctezuma, E., Samah, S., Luna-Paez, A. (2014). Genetic diversity of *Opuntia* spp. varieties assessed by classical marker tools (RAPD and ISSR). *Plant Syst. Evol.* DOI 10.1007/s00606-014-1112-y.
- Valente LMM, da Paixão D, do Nascimento AC, dos Santos PFP, Scheinvar LA, Moura MRL, Tinoco LW, Gomes LNF, da Silva JFM. (2010). Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). *Food Chem* 123:1127–1131.
- Vanderhoeven S., Hardy O., Vekemans X., Lefèbre C., De Loose M., Lambinon J. (2002). Amorphometric study of populations of the *Centaureajacea* complex (Asteraceae) in Belgium. *Plant Biol*, 4: 403–412.
- Vermerris et Nicholson. (2006). Phenolic compound biochemistry. *springer*. Pp7-15.
- Walali L.D. (1995). Quelques espèces fruitières d'intérêt secondaire cultivées au Maroc. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 13, 47-62.
- Wallace R., Gibson A. (1997). Evolution and systematics. Dans *cacti :Biology and uses* ; P.S. Nobel Ed; p. 1-21.
- Weber W., Wricke G. (1994). Genetic markers in plants breeding. *Advances in plant breeding*, Paul Pare Y Scientific Publishers, Berlin, 105p.
- Westmen A., Kresovich S. (1997). Use of molecular marker techniques for description of plant genetic resources. *Biotechnology in agriculture series*, 19: 9-48.
- Yahia EM, Mondragon-Jacobo C. (2011). Nutritional components and anti-oxidant capacity of ten cultivars and lines of cactus pear fruit (*Opuntia* spp.). *Food Research International* 44(7): 2311-2318.
- Yang L, Wen KS, Ruan X, Zhao YX, Wei F, Wang Q. (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules* 23:762 doi:10.3390/molecules23040762.
- Yildirim A., Mavi A., Kara A. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Pp411-420.
- Yoshimoto M., Sakamoto H., Yoshimoto N., Kuboi R. & Nakao K. (2007). Stabilization of quaternary structure and activity of bovine liver : Catalase through encapsulation in liposomes. *Enzyme and Microbial Technology* 41, 849–858.

- Zaghloul S. (2004). Intérêt des réserves dans la conservation de la biodiversité. *In* : la biodiversité, Tome Sciences et Technologie, 97: 4- 9.
- Zhang SB, Zhou ZK, Hu H, Xu K, Yan N, Li SY. (2005). Photosynthetic performances of *Quercus pannosa* vary with elevation in the Hengduan Mountains, southwest China. *Forest Ecol. Manag* 212:291-301.
- Zheleva D., Todorovska E., Christov N., Ivanov I., Todorov I. (2007). Assessing the genetic variation of bulgarian bread wheat varieties by biochemical and molecular markers. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 21: 311-321.
- Zhong XK., Jin X., Lai FY., Lin QS., Jiang JG. (2010). Chemical analysis and antioxidant activities *in vitro* of polysaccharide extracted from *Opuntia ficus indica* Mill. cultivated in China. *Carbohydr. Polym* 82:722–727.
- Ziegler J., Facchini P.J. (2008). Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. *Annu Rev Plant Biol.* Vol (59): 735 – 769.
- Zietkiewicz, E., Rafłski, A. and Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics.* 20:176-183.
- Zoghlami, N., Chrita, I., Bouamama, B., Gargouri, M., Zemni, H., Ghorbel, A., Mliki, A. (2007). Molecular based assessment of genetic diversity within Barbary fig (*Opuntia ficus indica* L. Mill.) in Tunisia. *Sci. Hort.* 113, 134-141.



# Phytochemical composition and antioxidant properties of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) flowers from the Algerian germplasm

Hicham Berrabah<sup>1</sup> · Khaled Taïbi<sup>1</sup> · Leila Ait Abderrahim<sup>1</sup> · Mohamed Boussaid<sup>1</sup>

Received: 26 July 2018 / Accepted: 7 January 2019  
© Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2019

## Abstract

Prickly pear *Opuntia ficus-indica* L. is a widely used plant in traditional medicines and as edible food product mainly in arid regions. Its phytochemical properties are primarily due to secondary metabolites present in its different parts. Quantity and quality of different metabolites and their associated biological activities are influenced by the genetic structure of medicinal plants and environmental conditions to which plants are exposed. This study aimed to assess the aqueous extract of *O. ficus-indica* flowers belonging to six populations from the Algerian germplasm in terms of phenolics, flavonoids, tannins, sugars and minerals contents along with the antioxidant activity revealed by the free radical scavenging activity (DPPH) and ferric reducing power assays. Results revealed that populations from high altitudes ‘Ain Defla’, ‘Msila’ and ‘Tiaret’ were characterized by their low phenolics content along with high flavonoids and sugars contents. However, populations from low altitudes showed high contents of polyphenols and condensed tannins but less sugars. In addition, all populations demonstrated a variable antioxidant activity. Variation in antioxidant properties and bioactive compounds contents among *O. ficus-indica* populations must be used for harnessing the maximum potential of the species and for breeding programmes at large-scale multiplication for commercial cultivation. The obtained results demonstrated the importance of *Opuntia* flowers as a potential source of bioactive substances for food and medicines.

**Keywords** *Opuntia ficus-indica* L. · Flower · Aqueous extract · Phytochemical content · Antioxidant activity.

## Introduction

Medicinal plants and their derivatives have been used since ancient times as food and as healing agents in traditional medicine. Nowadays, almost 80% of populations around the world especially from poor regions rely on medicinal plants [1]. The Mediterranean region possesses thousands of potential plant species with various ecological, nutritional and medicinal properties which could be explored for bio-prospecting and value-addition through their use for the development of functional foods and natural therapeutic medications [2].

Besides, there is increasing evidence that medicinal plants may protect better against numerous chronic diseases, including cancer, cardiocerebrovascular and neurological diseases. The protective effect of aromatic and medicinal

plants has been attributed mainly to their antioxidant constituents, vitamins, carotenoids, glutathione and many phenolic compounds among unidentified other metabolites [3]. Secondary metabolites found ubiquitously in plants such as phenolic compounds have numerous potential biological and pharmacological properties with beneficial effects on human and animal health [4]. In recent times, the use of medicinal plants especially in primary health care has become prominent and the antioxidants and antimicrobial activities of plant extracts have created the basis of many applications in pharmaceuticals, alternative medicines and natural therapy [5].

Despite the rich plant diversity that the Mediterranean basin offers, most of it remains unsurveyed. Indeed, the knowledge on native plant species in the degraded and marginal regions represents a big handicap for their use and development. The identification and investigation of these plants properties is of the utmost importance. Moreover, the increasing rate of natural habitat destruction has caused plant resources including medicinal plants to get depleted or threatened [6].

✉ Khaled Taïbi  
khaledtaibi@hotmail.com

<sup>1</sup> Faculty of Life and Natural Sciences, Ibn Khaldoun University, Karman Campus, 14000 Tiaret, Algeria

Cactus species have emerged as promising candidates in arid, degraded and marginal regions of the world; natural products derived from plants belonging to the family of Cactaceae have been widely used as sources of food and medicine in the practice of pharmacy and folk medicine [7]. The genus *Opuntia* spp. includes more than 200 species mainly growing wild in arid and semi-arid regions, where the production of more succulent food-plants is strictly limited [8]. *Opuntia* species are known to be rich in minerals, vitamins, pectin polysaccharides and antioxidant compounds such as polyphenols and flavonoids which are demonstrated to have several beneficial effects [9].

Among the identified species *Opuntia ficus-indica* L., also known as prickly pear or cactus pear, is the most common. This species native to Mexico has a rapid growth and good adaptation to poor environments which allow it to be, up to now, the most spread and world-wide distributed [10]. The different parts of prickly pear namely cladodes, fruits and flowers have been widely used in traditional folk medicine or as functional constituents for food and pharmaceutical products [11]. Previous studies have demonstrated that fruits and cladodes hold various phytochemical compounds exhibiting potent antioxidant activity and further functional properties which has attracted the interest of nutraceutical and healthy food areas [8]. However, to the best knowledge of authors, the flowers of *O. ficus-indica* were poorly studied because of their limited bloom duration and their inaccessibility. Nonetheless, cactus flowers infusion has been widely used in traditional folk medicines for the treatment of numerous ailments such as inflammation, diabetes, renal diseases and stomach ulcers [11, 12]. In addition, even though their health-promoting potential and their wide use in traditional medicine as depurative, diuretic and relaxant of renal excretory tract, the *O. ficus-indica* flowers are considered as one of the by-products in cactus industry and are generally discarded by separation of the fruit. Among the few published studies dealing with this aspect, De Léo et al. [13] reported the chemical composition of methanolic extract *O. ficus-indica* flowers while Alimi et al. [14] reported the antioxidant and

antiulcerogenic activity of that extract in *O. ficus-indica* inermis flowers.

It should be noted that, besides genetic structure of medicinal plants, the different metabolites and their associated antioxidant activities are influenced by geographic and environmental conditions [15, 16]. Subsequently, these conditions in turn would affect the quality of plant material.

In view of above relevance, the present study was undertaken to provide major information and accurate data about *O. ficus-indica* flowers from the Algerian germplasm in the context of flowers valorization as raw materials for infusions or nutraceuticals.

In order to promote the use of such marginalized plants, the purpose of this study was to determine the phytochemical content (in terms of phenolics, flavonoids, tannins, sugars and mineral contents) and the antioxidant activity of *O. ficus-indica* flowers aqueous extract from six wild populations belonging to various environmental conditions in Algeria in the attempt to find out promising environmental conditions for harnessing the maximum potential of the species.

## Materials and methods

### Plant material and extract preparation

The coloured *O. ficus indica* flowers were collected from six wild populations growing in different environmental conditions and covering most of the widespread natural range of the species in Algeria, including zones with both humid and dry habitats (Table 1).

Samples were collected during the post-flowering stage in May–June 2016 from each population [17]. At least 20 adult shrubs were sampled randomly for measurement. Furthermore, 20 mature fruits per shrub were selected for random flowers sampling which leads to more than 400 flowers per population. All samples were collected from their natural origin with no treatments applied on. The fresh flowers were then kept for shade drying at room temperature. The dried samples were ground to fine powder using an electrical

**Table 1** Description of the selected provenances of *O. ficus-indica* L. in Algeria

Population	Lat	Long	Alt	TM	DTXx	P	DP	Climate
Tizi Ouzou	36.72	3.95	45	17.9	17.4	896	166	Subhumid
Relizane	35.44	0.41	175	17.4	18.9	413	63	Subhumid
Ain Defla	35.59	2.70	850	13.5	16.7	624	92	Semiarid
Mascara	35.33	0.05	232	16.6	18.7	487	75	Semiarid
Tiaret	35.34	1.00	808	15.9	20	421	56	Semiarid
Msila	35.45	5.15	814	15.8	15.6	229	29	Arid

*Lat* latitude, *Long* longitude, *Alt* altitude (m), *TM* annual mean temperature (°C), *DTXx* difference in temperatures between the coolest and the hottest months (°C), *P* annual precipitation (mm), *DP* difference in precipitation between the wettest and the driest months (mm)



hammer grinding machine and kept at 4 °C in dark bottles prior to experiment.

Ammar et al. [18] have demonstrated that aqueous and methanolic extracts show significant antioxidant activities, suggesting that they are the best effective solvent for extraction of antioxidants from *O. ficus-indica* flowers. Accordingly, in this study extraction was performed immediately after powder preparation using water (H<sub>2</sub>O) as solvent through macerating 15 g of *O. ficus-indica* flowers samples in 150 mL of distilled water during 24 h as described by Ammar et al. [18].

## Phytochemical characterization

### Total phenolic

The total phenolic content was determined by the Folin–Ciocalteu method as described by Singleton et al. [19]. The aqueous extract (1 mL) was mixed with 5 mL of Folin–Ciocalteu reagent previously diluted ten fold with distilled water. After 1 min, 15 mL of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20%) was added to the mixture and the volume was adjusted to 10 mL with distilled water. The solution was kept 2 h of incubation in dark at room temperature. The absorbance was then measured at 760 nm. The total polyphenol content is calculated from the calibration curve and the results are expressed as mg gallic acid equivalent (GAE)/g dry weight of the flowers extracts.

### Total flavonoid

Total flavonoid content was determined following the method described by Acharya et al. [20]. Briefly, 1 mL of the aqueous extract was added to 1 mL of AlCl<sub>3</sub> (2%). After 15 min, the absorbance was read at 430 nm. Total flavonoid content is calculated from the calibration curve and the results are expressed as mg quercetin equivalent (QE)/g dry weight of the flowers extracts.

### Condensed tannins

The analysis of condensed tannins (proanthocyanidins) was carried out according to the method of Ouerghemmi et al. [21]. An aliquot (50 mL) of flower extracts (50–600 mg/mL) was mixed with 3 mL of 4% methanol vanillin solution and 1.5 mL of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. After 15 min, the absorbance was measured at 500 nm. Condensed tannin contents of flowers were expressed as mg cyanidine equivalents/g dry weight through the calibration curve.

### Total carbohydrates

The content of sugars was determined by using phenol sulphuric acid as described by Sadasivam and Manickam [22].

The principle of this method is that carbohydrates, when dehydrated by reaction with concentrated sulfuric acid, produce furfural derivatives. Further reaction between furfural derivatives and phenol develops detectible color. Briefly, around 100 mg of ground samples were homogenized with 2 mL ethanol (80%) and incubated in dark at room temperature during 48 h. The homogenate was filtrated and 1 mL of each filtrate was treated with 1 mL phenol (5%) and 5 mL sulfuric acid (98%). Tubes were gently agitated during the addition of the acid and then allowed to stand in a water bath at 30 °C for 30 min. After incubation, the absorbance of the mixtures was measured at 485 nm. The blank standard curve was prepared by using known concentration of glucose. The quantity of sugars was expressed as mg/g dry weight of the flowers extracts.

### Mineral composition

Mineral content in foods may be potentially useful as supplementary information to current food composition. Analysis of sodium (Na), potassium (K) and calcium (Ca) was carried out by incinerating samples in a muffle oven at 450 °C, during 4 h. Briefly, 100 mg of flowers ashes were digested in a solution containing 20 mL of hydrochloric acid (HCl 0.1 N) and 8 mL of absolute nitric acid (HNO<sub>3</sub>), using the wet digestion technique [23]. The minerals content was determined using a flame spectrophotometer and the content was expressed as mg/g dry weight of the flowers extracts.

### Antioxidant activity

There are a multitude of antioxidants in foods mainly in foods of plant origin. Among the most widely used methods for evaluating the antioxidant activity of *O. ficus-indica* flowers extract are the measure of the free radical-scavenging activity and ferric reducing power assays (FRAP).

### Determination of free radical-scavenging activity

The free radical scavenging activity was evaluated by the DPPH (2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay based on the measurement of the reducing ability of antioxidants towards the DPPH radical [24]. Briefly, a volume of 5 mL of a methanol solution of DPPH (33 mg/L), with an initial absorbance of 0.493 is added to 1 mL of the sample. After 30 min, absorbance is measured spectrophotometrically at 517 nm. Ascorbic acid (AA) was used as a positive control.

The percentage DPPH free radicals inhibition of the test samples was calculated following the equation:

$$\text{DPPH scavenging effect(\%)} = ((A_0 - A_1)/A_0) \times 100$$

where A<sub>0</sub> is the absorbance of the blank and A<sub>1</sub> is the absorbance of the test.

The actual decrease in absorption induced by the test was compared with the positive control (AA). The IC<sub>50</sub> (concentration inhibiting 50% of DPPH radicals) values were used to compare between populations and with AA.

### Determination of ferric reducing power

The FRAP was determined according to the method of Ahmed et al. [25]. Briefly, 1 mL of the aqueous extract in different concentrations ranging from 1 to 5 mg/mL of stock solution was mixed with 2.5 mL of potassium phosphate buffer (0.1 M, pH 6.6) and 2.5 mL of 1% (w/v) potassium ferricyanide. The contents were incubated at 50 °C for 20 min then 2.5 mL of 10% (w/v) trichloroacetic acid were added. A 2.5 mL of the reaction mixture was combined with 2.5 mL of distilled water and 0.5 mL of a ferric chloride solution (0.1%, w/v) and incubated at 28 °C for 30 min. The absorbance was measured at 700 nm and compared to AA which was used as positive control. Amplified absorbance of the reaction mixture designated increased reducing power. The effective concentration (EC<sub>50</sub>) of the extracts was calculated using a calibration curve and compared to that of AA hence the lowest value has highest antioxidant power.

### Statistical analysis

All the experiments were replicated at least five times and data were subjected to one-way analysis of variance. Comparison between populations was carried out using the test of Duncan. The significant differences between means were determined at  $P < 0.05$  level. In all cases, data were examined for normality and homogeneity of variances and identified for any violations of assumptions.

Canonical discriminant analysis (CDA) was performed as a multivariate statistical method to identify differences among provenances and improve understanding the relationships among the measured variables within those provenances. The agglomerative hierarchical clustering procedure was based on Ward's method using Euclidian distances [26]. Results were presented for each variable as means  $\pm$  S.E.

## Results

The concentration of phytochemical compounds and minerals extracted from *O. ficus-indica* flowers as well as the related antioxidant activity differed significantly among the selected natural populations as revealed by the statistical analysis.

The total phenolic content as estimated by the Folin–Ciocalteu reagent method ranged around a value of  $8.81 \pm 3.14$  mg GAE/g for all the populations combined between a minimum of  $7.52 \pm 1.27$  mg GAE/g recorded in the aqueous extract of flowers belonging to the population of 'Ain Defla' and a maximum of  $10.89 \pm 5.6$  mg GAE/g in those from population of 'Tizi Ouzou' (Table 2).

Besides, total flavonoid content varied between  $0.51 \pm 0.15$  mg QE/g and  $0.96 \pm 0.41$  mg QE/g recorded respectively in 'Tiaret' and 'Msila' populations. The average value of total flavonoid content was  $0.74 \pm 0.29$  mg QE/g in all the examined populations (Table 2). However, condensed tannins content was comprised between  $27.86 \pm 11.6$  mg CE/g and  $77.61 \pm 42.45$  mg CE/g in 'Relizane' and 'Tizi Ouzou' populations in this order exhibiting a mean value of all the populations around  $49.25 \pm 28.01$  mg CE/g (Table 2).

Total carbohydrates content is not only the main photosynthate in higher plants, but also the main form of carbohydrate metabolism and temporary storage. Total carbohydrates content exhibited a significant variation among populations and ranged from  $0.31 \pm 0.05$  mg/g DW in 'Tizi Ouzou' to  $0.54 \pm 0.09$  mg/g DW in 'Msila' around a mean value of  $0.43 \pm 0.1$  mg/g DW (Table 2).

Regarding mineral elements, significant differences of accumulation pattern were noted among the tested populations. In general, sodium content was around  $23.55 \pm 8.99$  mg/g DW in the flower aqueous extract fluctuating amongst a highest value of  $38.56 \pm 7.97$  mg/g DW recorded in 'Mascara' and lowest value of  $16.43 \pm 4.89$  mg/g DW recorded in 'Ain Defla' population (Table 3). However, potassium content varied between a

**Table 2** Phytochemicals content of the aqueous extract of *O. ficus-indica* flowers belonging to various provenances from the Algerian germplasm

Population	Polyphenols (mg/g GAE)	Flavonoids (mg/g QE)	Condensed tannins (mg/g CE)	Sugars (mg/g DW)
Tizi Ouzou	$10.89 \pm 5.60^c$	$0.80 \pm 0.46^b$	$77.62 \pm 2.13^c$	$0.31 \pm 0.05^a$
Relizane	$8.42 \pm 3.07^{ab}$	$0.54 \pm 0.08^a$	$27.86 \pm 5.07^a$	$0.44 \pm 0.11^b$
Ain Defla	$7.52 \pm 1.27^a$	$0.95 \pm 0.16^c$	$51.86 \pm 2.99^{ab}$	$0.53 \pm 0.04^c$
Mascara	$9.59 \pm 4.11^b$	$0.69 \pm 0.09^{ab}$	$58.57 \pm 0.44^b$	$0.36 \pm 0.01^a$
Tiaret	$8.83 \pm 2.00^{ab}$	$0.51 \pm 0.15^a$	$39.52 \pm 3.32^a$	$0.40 \pm 0.03^{ab}$
Msila	$7.58 \pm 2.85^a$	$0.96 \pm 0.33^c$	$40.48 \pm 3.08^a$	$0.54 \pm 0.09^c$

The letters above mark the significant difference among the populations following the post hoc Duncan's test

**Table 3** Sodium, potassium and calcium contents (mg/g DW) of *O. ficus-indica* flowers belonging to various provenances from the Algerian germplasm

Population	Sodium (Na)	Potassium (K)	Calcium (Ca)
Tizi Ouzou	18.63 ± 4.21 <sup>a</sup>	11.85 ± 2.31 <sup>b</sup>	18.87 ± 2.13 <sup>c</sup>
Relizane	25.34 ± 9.43 <sup>ab</sup>	10.82 ± 1.63 <sup>a</sup>	12.59 ± 5.07 <sup>b</sup>
Ain Defla	16.43 ± 4.89 <sup>a</sup>	10.24 ± 1.41 <sup>a</sup>	9.27 ± 2.99 <sup>a</sup>
Mascara	38.56 ± 7.97 <sup>c</sup>	10.27 ± 0.83 <sup>a</sup>	11.07 ± 0.44 <sup>ab</sup>
Tiaret	23.04 ± 2.13 <sup>ab</sup>	11.99 ± 0.98 <sup>b</sup>	15.88 ± 3.32 <sup>c</sup>
Msila	19.33 ± 0.87 <sup>a</sup>	11.34 ± 1.67 <sup>ab</sup>	11.80 ± 3.08 <sup>ab</sup>

The letters above mark the significant difference among the populations following the post hoc Duncan's test

minimum of 10.24 ± 1.41 mg/g DW noted in 'Ain Defla' and a maximum of 11.99 ± 0.98 mg/g DW listed in 'Tiaret' population. The general mean value of all population was about 13.25 ± 1.93 mg/g DW (Table 3). Besides, the mean value of calcium content was about 11.08 ± 4.05 mg/g DW for all populations. The highest value was recorded in 'Tizi Ouzou' population (18.87 ± 2.13 mg/g DW) while the lowest one was noted in 'Ain Defla' (9.27 ± 2.99 mg/g DW) (Table 3).

The antioxidant activity of the aqueous extract was tested by the DPPH free radicals scavenging activity and FRAP assays. DPPH assay reveals the ability of compounds to scavenge free radicals or donate hydrogen. Flowers extract of 'Tizi Ouzou' population exhibited higher free radical scavenging activity (2.85 mg/mL) followed by 'Msila' population (3.67 mg/mL). However, the lowest activity was recorded in samples belonging to the population of 'Tiaret' (9.1 mg/mL). The average DPPH IC50% was around 6.5 mg/mL among the tested populations (Table 4).

The FRAP assay is used to study the capability of extracts to reduce the ferricyanide (Fe<sup>3+</sup>) complex to their ferrous form (Fe<sup>2+</sup>) by donating an electron. Reductive capability of flowers aqueous extract can serve as a significant indicator of

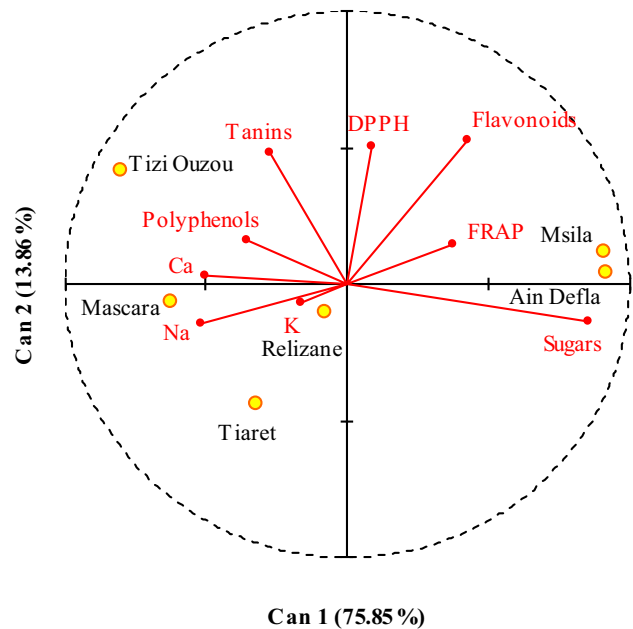
**Table 4** Antioxidant activity of aqueous extract of *O. ficus-indica* flowers belonging to various provenances from the Algerian germplasm

Population	DPPH (IC50, mg/mL)	FRAP (EC50, mg/mL)
Tizi Ouzou	2.85 <sup>a</sup>	6.6 <sup>ab</sup>
Relizane	7.41 <sup>b</sup>	11.28 <sup>d</sup>
Ain Defla	7.98 <sup>b</sup>	6.9 <sup>ab</sup>
Mascara	7.95 <sup>b</sup>	5.4 <sup>a</sup>
Tiaret	9.1 <sup>c</sup>	7.5 <sup>b</sup>
Msila	3.67 <sup>a</sup>	8.4 <sup>c</sup>

The letters above mark the significant difference among the populations following the post hoc Duncan's test

its potential antioxidant activity. It should be noted that the FRAP assay has also been used as part of a quality control system in the agri-food industry, and to assess the bioavailability of antioxidants in foods and to investigate the effects of genetic variation, growing conditions, season, storage, processing and cooking method on the total antioxidant content of foods. The overall mean of reducing power of the aqueous flowers extract is about 7.7 mg/mL. 'Mascara' population exhibited higher reducing activity (5.4 mg/mL) followed by 'Tizi Ouzou' (6.6 mg/mL), 'Ain Defla' (6.9 mg/mL) and Tiaret (7.5 mg/mL) populations. However, the lowest reducing activity is noted in the population of 'Relizane' (11.28 mg/mL) (Table 4).

Canonical discriminant analysis (CDA) was performed on the measured variables and provenances in order to elucidate similarity/dissimilarity and potential associations among provenances in terms of phytochemicals and antioxidant activity and to attribute the pattern of these associations to the measured variables (Fig. 1). CDA finds linear functions of quantitative variables that maximally separate groups of individuals (provenances) while keeping variation within provenances as small as possible. This approach distinguishes several uncorrelated canonical discriminant functions. These are linear combinations of the original variables that best separate the means of groups of observations relative to within-group variation. Taking into consideration the



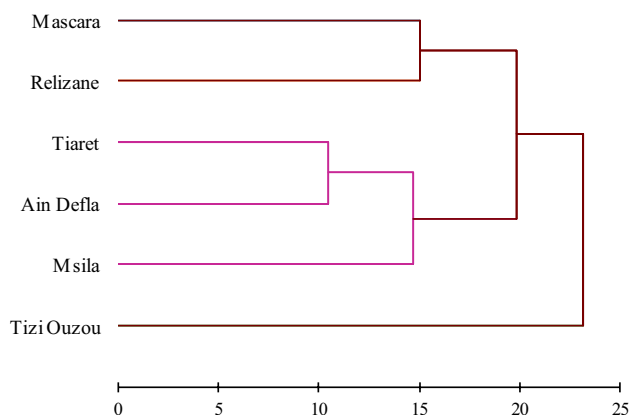
**Fig. 1** The scatter-plot of the first (Can1) and the second (Can2) canonical axes obtained by CDA performed on the phytochemical compounds and antioxidant activity of six *O. ficus indica* L. populations from the Algerian germplasm. Red circles with yellow shading indicate provenances while red vectors indicate the percentage of contribution of each measured variable regarding phytochemicals and antioxidant activity. (Color figure online)

effect of all quantitative variables, this discriminant function produces the statistical decision for guessing to which group of classification variable each subject belongs.

The first canonical axis (Can 1) had higher discriminant power (75.85%) than the second (Can 2) one (13.86%) in separating/regrouping provenances and variables. However, both axes explain around 90% of the total variability accumulated by both provenances and variables. A clear separation among provenances can be observed according to the first axis; ‘Msila’ and ‘Ain Defla’ populations, characterized by highest amount of soluble sugars ( $r=0.86^{**}$ ) and flavonoids ( $r=0.42^*$ ) along with higher antioxidant activity ( $r=0.37^*$ ), are on the right side of the axis. Nevertheless, ‘Relizane’, ‘Tiaret’, ‘Mascara’ and ‘Tizi Ouzou’ populations characterized mainly by their higher amounts of polyphenols ( $r=-0.35^*$ ) and condensed tannins ( $r=-0.27^*$ ) as well as minerals ( $r=-0.5^*$ ) appeared on the opposite side.

Regarding separation on the second axis (Can 2); ‘Tiaret’, ‘Relizane’ and ‘Mascara’ populations manifested high amounts of soluble sugars and minerals ( $r=-0.14^*$ ) and appeared on the opposite side of ‘Ain Defla’, ‘Msila’ and ‘Tizi Ouzou’ populations characterized by their high accumulation of secondary metabolites ( $r=0.5^{**}$ ) and the associated antioxidant activity ( $r=-0.4^{**}$ ).

Dendrograms constructed using the Euclidean distances between provenances revealed many similar associations (Fig. 2). Similar distances demonstrated by provenances indicated similar amounts of phytochemicals and the associated antioxidant activity under the different environmental conditions. Provenances are divided into three main groups; the first group was characterized by populations of ‘Mascara’ and ‘Relizane’. The second group encompasses populations of ‘Tiaret’, ‘Ain Defla’ and ‘Msila’. However,



**Fig. 2** Dendrograms based on Euclidean distances using clustering Ward’s method among six *O. ficus indica* L. populations from the Algerian germplasm in terms of phytochemicals and antioxidant activity of aqueous flowers extract

population of ‘Tizi Ouzou’ emerged as single cluster forming the third group (Fig. 2).

## Discussion

Research tendency is given recently to the study of natural products and healthy foods because of their potential use as a source of biologically active compounds and their subsequent involvement in alleviating and treating diseases [27].

This study aimed to assess the phenolics, flavonoids, tannins, minerals and sugars contents along with the antioxidant activity of *O. ficus-indica* flowers belonging to six populations from the Algerian germplasm in the context of flowers valorization as raw materials for infusions or nutraceuticals applications. The obtained results revealed that the flowers aqueous extracts exhibited remarkable contents of bioactive compounds and minerals and high antioxidant activity which demonstrate the importance of *Opuntia* flowers extract as a potential source of bioactive substances for food, cosmetics and medicine. Nevertheless, significant differences were observed among the tested populations in terms of compounds content.

Unfortunately, few researches have been focused on the study of antioxidant activity of *Opuntia* flowers compared to cladodes and fruits [28]. Alimi et al. [14] have measured the antioxidant activity by DPPH method in *O. ficus-indica* flowers methanol extracts while Ammar et al. [17] have used hexane extracts. Certainly, the choice of extraction solvent is important to extract antioxidant compounds from plant materials [29]. However, the easy, safe and practical way to use cactus flowers by the local population is the aqueous extract. In addition, the DPPH free radicals scavenging activity and FRAP assays used throughout this study may serve as a significant reflection of the antioxidant activity as they assess the ability of the extract to neutralize free radicals.

The richness of *O. ficus-indica* flowers in bioactive compounds suggests it as a good source of all investigated phytochemicals and antioxidant activity. ‘Tizi Ouzou’, ‘Msila’ and ‘Mascara’ populations presented the higher antioxidant activity in terms of DPPH and FRAP activity. It should be noted that the antioxidant capacity of flowers aqueous extract is cumulative and, as reported by several authors for many foods, acts synergistically with phenolic compounds, carotenoids, betalains, anthocyanins, carbohydrates, vitamins and enzymes among others [30–32 among others].

Studies of Guevara-Figueroa et al. [33], and Astello-García et al. [34] have revealed that the antioxidant activity of aqueous extracts of *Opuntia* spp. is attributed mainly to phenolics and flavonoids. In addition, Chahdoura et al. [35] have shown that the flower of *O. microdasys* during the post flowering stage exhibited also higher content of phenols

and flavonoids. Furthermore, several studies have demonstrated the direct correlation between the antioxidant activity and phenolic content [5] which is in accordance with the obtained results. Phenolics are shown as effective antioxidant molecules as they act as hydrogen or electron donors, they play an important role in adsorbing and neutralizing free radicals, quenching singlet and triplet oxygen, metal ion chelating or decomposing peroxides. Alimi et al. [14] reported also higher contents of phenols and flavonoids in *O. ficus-indica* flowers methanol extract. These compounds have proved high antioxidant capacity which might offer effective protection against cancer [36].

As well, the antioxidant activity of flavonoids is attributed to their capacity to scavenge free-radicals and to chelate metal ions involved in their production [5]. The presence of flavonoids and tannins in different parts of *Opuntia* spp. was reported by Brás [37], Bari et al. [38] and Mendez et al. [39]. In this study, appreciable amounts of flavonoids were recorded in the flowers of the different populations with higher amounts registered in populations of ‘Msila’ (0.96 mg/g QE), ‘Ain Defla’ (0.95 mg/g QE) and ‘Tizi Ouzou’ (0.8 mg/g QE). The obtained values for flavonoids are below those found by Guevara-Figueroa et al. [33] on *Opuntia* spp. prickly pear cultivars (2.00–9.80 mg/g QE) and within the same range of variation reported by Kunyanga et al. [40] in *O. dillenii* peel (0.32 mg/g QE), pulp (0.29 mg/g QE) and seeds (1.44 mg/g QE). In addition, De Léo et al. [13] revealed the presence of quercetin, kaempferol, and isorhamnetin glycoside derivatives in *O. ficus indica* flowers. Nevertheless, quercetin proved a potential radical-scavenging activity based on its ability to donate electrons from their hydroxide group [41].

Besides, higher condensed tannins content was recorded in populations of ‘Tizi Ouzou’ (77.6 mg/g), ‘Mascara’ (58.57 mg/g) and ‘Ain Defla’ (51.86 mg/g). Condensed tannins are water-soluble phenolic metabolites commonly found in almost all plants parts. They play a key role in the health promoting properties of the fruit. Kunyanga et al. [40] reported a quantity of 15 mg/g of condensed tannins in the fruit of *O. stricta* collected in Kenya. Tannin-rich plants have shown high radical scavenging activity conferring protection against lipid peroxidation and were found to counteract in vivo Fe(II)-induced lipid peroxidation [42].

Moreover, populations of ‘Msila’ and ‘Ain Defla’ showed, relatively, higher amounts of sugars. Zhong et al. [43] demonstrated that polysaccharide of *O. ficus indica* showed notable free radical-scavenging activity. *O. ficus indica* polysaccharides constitute a polymer of monosaccharides with repetitive hydrogen, hydroxide, and acids groups [44]. Their antioxidants mechanisms have been attributed to their (a) hydrogen donating ability, (b) hydroxide groups which can act as electron donors and (3) to the presence of antioxidant-linked compounds such as polyphenols [45].

Furthermore, calcium, sodium and potassium are classified as major minerals that our body need in high amounts. Populations of ‘Mascara’, ‘Relizane’ and ‘Tiaret’ showed higher sodium contents compared to the other populations. However, ‘Tizi Ouzou’ population showed higher calcium content while potassium content was almost the same in all populations. According to World Health Organization, calcium is the major component of bone and assists in teeth development; it mediates the constriction and relaxation of blood vessels, nerve impulse transmission, muscle contraction, and secretion of hormone. In addition, Potassium as the principal intracellular cation is mainly involved in membrane potential and electrical excitation of nerve and muscle cells. Moreover, sodium plays a role in the maintenance of plasma volume, acid–base balance, transmission of nerve impulses and normal cell function [29].

Qualitative and quantitative variation of phytochemical compounds in the *Opuntia* genus might be attributed to the genetic variability, edafoclimatic conditions and technological procedures used to extract and quantify these compounds [29, 38]. Astello-García et al. [34] have reported differences in total phenolic contents among fifteen cultivars of five *Opuntia* species grown in identical edafoclimatic conditions. In fact, phytochemicals and mainly plant secondary metabolites can be gradually synthesized and accumulated under specific environmental conditions, such as abiotic and biotic stress, and consequently can be seen as plant behavior toward environmental stimuli [46]. Moreover, studies have proved that plant nutrients availability constitutes an important factor determining secondary metabolism and antioxidant activity within plants. Besides, nutrient deficiencies of plants are translated usually by an accumulation of flavonoids [47].

A direct relation was established between the phenolic, flavonoid and sugar contents and the altitude of provenance origin. It appears clearly that populations from higher altitudes mainly ‘Ain Defla’, ‘Msila’ and ‘Tiaret’ are characterized by their lowest content of polyphenols along with higher accumulation of flavonoids and sugars. At the opposite, in the populations located at low altitude mainly ‘Tizi Ouzou’, *O. ficus indica* flowers accumulate higher concentrations of polyphenols and condensed tannins against low accumulation of sugars. The intensity of UV radiation would rise with altitude especially in the mountainous regions [48]. UV radiation is one of the major environmental factors affecting anthocyanin biosynthesis through extending the activity of phenylalanine ammonia lyase, which is the key enzyme in the flavonoid biosynthesis pathway [49]. In addition, the temperature difference between day and night at high altitude is known to have a direct effect on sugar accumulation, which could be coupled with the conversion of anthocyanidin into anthocyanins [50]. This work constitutes an effective contribution in the selection and valorization of

prickly pear cultivars more nutritious. Indeed, understanding variations in plants phytochemicals and biological activities among environmental conditions may allow researchers to manage and exploit rationally cultivars in a better manner to answer populations needs without threatening plant genetic resources. Besides, it should be cited as a reference material for addition of prickly pear flowers in the diet as functional foods. However, more researches need to be carried out to identify and quantify other bioactive molecules and correlate them with the antioxidant capacity.

## Conclusion

The obtained results constitute the first information on the phytochemical composition and antioxidant activities of *O. ficus-indica* flowers from Algerian germplasm. Our study revealed that the aqueous extract of *O. ficus-indica* flowers contained high amounts of secondary metabolites, minerals and sugars and was able of inhibiting radicals and acting as reducing agents. Besides, a significant relationship was established between the antioxidant activity and phenolic content indicating that phenolic compounds could be major contributors to antioxidant activity.

In addition, populations originating from high altitudes 'Ain Defla', 'Msila' and 'Tiaret' were characterized by their low phenolics content along with high flavonoids and sugars contents. However, populations belonging from low altitudes were characterized by their high contents of polyphenols and condensed tannins but less sugars. These findings demonstrate clearly the impact of environmental conditions on the biosynthesis and accumulation of phytochemicals and the related antioxidant activity in *O. ficus-indica* belonging to different origins. Therefore, the increasing demand of bioactive substances can be securely met when we will be able to map the variation in their content in plants facing to change in their environmental conditions.

Overall, our findings suggest that *O. ficus-indica* flowers at post floral stage constitute a good source of biologically active substances that could be used in foods and medicines. Furthermore, the variation in antioxidant properties and bioactive compounds contents among populations must be used for harnessing the maximum potential of the species and for breeding programmes at large-scale multiplication for commercial cultivation.

## References

1. S. Hosseinzadeh, A. Jafarikukhdan, A. Hosseini, R. Armand, *Int. J. Clin. Med.* **6**, 635–642 (2015)
2. M. Boussaid, K. Taibi, L.A. Abderrahim, A. Ennajah, *Arid Land Res. Manag.* (2018). <https://doi.org/10.1080/15324982.2018.1424742>
3. H. Yuan, M. Qianqian, Y. Li, P. Guangchun, *Molecules* **21**, 559 (2016). <https://doi.org/10.3390/molecules21050559>
4. D. Vauzour, A. Rodriguez-Mateos, G. Corona, M.J. Oruna-Concha, J.P.E. Spencer, *Nutrients* **2**, 1106–1131 (2010)
5. L.A. Abderrahim, K. Taibi, C.A. Abderrahim, *Iran. J. Sci. Technol. A* (2017). <https://doi.org/10.1007/s40995-017-0411-x>
6. J. Namukobe, J.M. Kasenene, B.T. Kiremire, R. Byamukama, M. Kamatenesi-Mugisha, S. Krief, V. Dumontet, J.D. Kabasa, *J. Ethnopharmacol.* **136**, 236–245 (2011)
7. A.S. Anoop, M.K. Rana, S.P. Preetham, *J. Food Sci. Technol.* **49**(5), 530–536 (2012). <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0462-5>
8. F.C. Stintzing, R. Carle, *Mol. Nutr. Food Res.* **49**, 175–194 (2005)
9. O. Osorio-Esquivel, A.O. Moreno, V.B. Alvarez, L. Dorantes Alvarez, M. Monica Giusti, *Food Res. Int.* **44**, 2160–2168 (2011)
10. M.P. Griffith, *Am. J. Bot.* **91**, 1915–1921 (2004)
11. M. Kaur, A. Kaur, R. Sharma, *J. Appl. Pharm. Sci.* **2**, 15–18 (2012)
12. Z. Benayad, C. Martinez-Villaluenga, J. Frias, C. Gomez-Cordoves, N.E. Es-Safi, *Ind. Crops Prod.* **62**, 412–420 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.08.046>
13. M. De Léo, M.B. De Abreu, A.M. Pawlowska, P.L. Cioni, A. Braca, *Phytochem. Lett.* **3**, 48–52 (2010)
14. H. Alimi, N. Hfaiedh, Z. Bouoni, M. Sakly, K. BenRhouma, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **32**, 406–416 (2011)
15. A. Jugran, S. Rawat, P. Dauthal, S. Mondal, I.D. Bhatt, R.S. Rawal, *Ind. Crops Prod.* **44**, 671–676 (2013)
16. A. Bahukhandi, S. Rawat, I.D. Bhatt, R.S. Rawal, *Natl Acad. Sci. Lett.* **36**, 93–99 (2014)
17. I. Ammar, M. Ennouri, B. Khemakhem, T. Yangui, H. Attia, *Ind. Crops Prod.* **37**, 34–40 (2012)
18. I. Ammar, M. Ennouri, H. Attia, *Ind. Crops Prod.* **64**, 97–104 (2015)
19. V.L. Singleton, R. Orthofer, R.M. Lamuela-Raventos, *Methods Enzymol.* **299**, 152–178 (1999)
20. N. Acharya, P. Barai, H. Katariya, S. Acharya, D. Santani, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **7**(8), 355–362 (2015)
21. I. Ouerghemmi, I. Bettaieb Rebey, F.Z. Rahali, S. Bourguou, L. Pistelli, R. Ksouri, B. Marzouk, M.S. Tounsi, *J. Food Drug Anal.* **25**, 350–359 (2017)
22. S. Sadasivam, A. Manickam, in *Biochemical Methods*, ed. by S. Sadasivam, A. Manickam. Phenol Sulphuric Acid Method for Total Carbohydrate (New Age International (P), Ltd, New Delhi, 2005), p. 10
23. D. Cwiertny, J. Baltrusaitis, G. Hunter, A. Laskin, M. Scherer, V. Grassian, *J. Geophys. Res.* **113**, D05202 (2008)
24. S. Kumar, D. Kumar, N. Singh, B.D. Vasisht, *J. Herb. Med. Toxicol.* **1**(2), 17–22 (2007)
25. D. Ahmed, M. Mehboob Khan, R. Saeed, *Antioxidants* **4**, 394–409 (2015). <https://doi.org/10.3390/antiox4020394>
26. K. Taibi, A.D. del Campo, J.M. Mulet, J. Flors, A. Aguado, *New For.* **45**, 603–624 (2014). <https://doi.org/10.1007/s11056-014-9423-y>
27. A. Mata, J.P. Ferreira, C. Semedo, T. Serra, C.M. Duarte, M.R. Bronze, *Food Chem.* **210**, 558–565 (2016)
28. L.M.M. Valente, D. Paixão, A.C. do Nascimento, P.F.P. dos Santos, L.A. Scheinvar, M.R.L. Moura, L.W. Tinoco, L.N.F. Gomes, J.F.M. da Silva, *Food Chem.* **123**, 1127–1131 (2010)
29. M.S. Rabeta, R.Nur Faraniza, *Int. Food Res. J.* **20**(4), 1691–1696 (2013)
30. D.S. Ferreira, V.V. Rosso, A.Z. Mercadante, *Rev. Bras. Frutic.* **32**(3), 664–674 (2010). <https://doi.org/10.1590/S0100-29452010005000110>
31. E.M. Yahia, C. Mondragon-Jacobo, *Food Res. Int.* **44**(7), 2311–2318 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.042>

32. S. Bakari, A. Daoud, S. Felhi, S. Smaoui, N. Gharsallah, A. Kadri, Food Sci. Technol. **37**(2), 286–293 (2017)
33. T. Guevara-Figueroa, H. Jiménez-Islas, M. Reyes-Escogido, A.G. Mortensen, B.B. Laursen, L.W. Lin, A. León-Rodríguez, I.S. Fomsgaard, A.P.B. de la Rosa. J. Food Compost. Anal. **23**(6), 525–532 (2010). <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.12.003>
34. M.G. Astello-García, I. Cervantes, V. Nair, M. Santos-Díaz, A. Reyes-Agüero, F. Guéraud, A. Negre-Salvayre, M. Rossignol, L. Cisneros-Zevallos, A.P.B. de la Rosa. J. Food Compost. Anal. **43**(1), 119–130 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.04.016>
35. H. Chahdoura, J. Barreira, L. Barros, C. Santos-Buelga, I. Ferreira, L. Achour, J. Funct. Foods **9**, 27–37 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.011>
36. S.D. Khomdram, P.K. Singh, Not. Sci. Biol. **3**, 108–113 (2011)
37. AAQ Brás, Monografia de graduação, Universidade Estadual da Paraíba (2011)
38. M.N. Bari, M. Zubair, K. Rizwan, N. Rasool, I.H. Bukhari, S. Akram, T.H. Bokhari, M. Shahid, M. Hameed, V.U. Ahmad, J. Chem. Soc. Pak. **34**(4), 990–995 (2012)
39. M. Mendez, R. Rodríguez, J. Ruiz, D. Morales-Adame, F. Castillo, F.D. Hernández-Castillo, C.N. Aguilar, Ind. Crops Prod. **37**(1), 445–450 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.07.017>
40. C.N. Kuyanga, V. Vellingiri, K.J. Imungi, Afr. J. Food Agric. Nutr. Dev. **14**(7), 9561–9577 (2014)
41. M.E. Inal, A. Kahraman, Toxicology, **154**, 21–29 (2000)
42. A. Smeriglio, D. Barreca, E. Bellocco, D. Trombetta, Br. J. Pharmacol. **174**(11), 1244–1262 (2017). <https://doi.org/10.1111/bph.13630>
43. X.K. Zhong, X. Jin, F.Y. Lai, Q.S. Lin, J.G. Jiang, Carbohydr. Polym. **82**, 722–727 (2010)
44. A.M. Panico, V. Cardile, F. Garufi, C. Puglia, F. Bonina, G. Ronisvalle, J. Ethnopharmacol. **111**, 315–321 (2007)
45. X.M. Li, X.L. Li, A.G. Zhou, Eur. Polym. J. **43**, 488–497 (2007)
46. L. Yang, K.S. Wen, X. Ruan, Y.X. Zhao, F. Wei, Q. Wang, Molecules **23**, 762 (2018). <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>
47. B.L. Sampaio, R.A. Edrada-Ebel, F.B.D. Costa, Sci. Rep. **6**, 29265 (2016). <https://doi.org/10.1038/srep29265>
48. S.B. Zhang, Z.K. Zhou, H. Hu, K. Xu, N. Yan, S.Y. Li, For. Ecol. Manag. **212**, 291–301 (2005)
49. F.J. Berli, R. Alonso, J. Beltrano, R. Bottini, Am. J. Enol. Vitic. **66**, 65–72 (2015)
50. N.N. Liang, B.Q. Zhu, S. Han, J.H. Wang, Q.H. Pan, M.J. Reeves, C.Q. Duan, Food Res. Int. **64**, 264–274 (2014)

**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.