



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
Université Ibn Khaldoun–Tiaret
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Thèse

Présentée

Par **LABDELLI Amina**

En vue de l'obtention du titre de

DOCTEUR EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : Sciences de la Nature et de la Vie

THEME

Effet de la variabilité génétique sur le mode de régénération et le comportement des jeunes plants chez le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica*).

Soutenue publiquement le / / 2020

Devant le jury composé de :

Pr. Dellal Abdelkader	Université de Tiaret	Président
Pr. ADDA Ahmed	Université de Tiaret	Directeur
Pr. Merah Othmane	Université Paul Sabatier de Toulouse	Co-Directeur
Pr. Belkhodja Moulay	Université Oran 1 Ahmed Ben Bella	Examineur
Pr. Benhassaini Hachemi	Université de Sidi Bel Abbes	Examineur
Dr. Boussaid Mohamed	Université de Tiaret	Examineur
Dr. Heddadj Djilali	Chambre d'agriculture de Bretagne -France	Invité

Année universitaire 2019-2020

الملخص

يعتبر الفستق الأطلسي (البطم) (*Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica*) من أهم الأنواع المتأقلمة والمقاومة للظروف البيئية القاسية في الجزائر. وتعد طريقة الإكثار بالبذور من أهم وأبرز طرق إكثاره لكن تعاني هاته الأخيرة من عدة عوائق تحول دون انتشار البذور الأمر الذي يجعل إعادة توطين الفستق الأطلسي صعبة ، مما أدى إلى تراجع المتزايد. و يحدد العمل الذي بين أيدينا أهم العوامل الداخلية و الخارجية التي تقلل من القدرة الإنتاشية لبذور الفستق الأطلسي هاته الأخيرة التي تم انتقاؤها من ستة مواقع موزعة على أقاليم مناخية مختلفة تمتد من الشمال وصولا إلى جنوب البلاد. تظهر نتائج الاختبار المتحصل عليها مخبريا أن القدرة الإنتاشية للبذور ضعيفة جدا بل تكاد تكون معدومة ولا تتحسن مع الاختلافات في درجة الحموضة في الوسط ودرجة الحرارة ولا حتى فيما يخص إحداث خدوش على قشرة البذرة، أما البذور المزروعة في الدبال وعلى الرغم من تأخر إنتاشها إلا أنها أعطت نسبة إنتاش تفوق 50 % بغض النظر عن مصدر هذه الأخيرة مما يجعلنا نضع فرضية مفادها ان النتائج المحصل عليها من خلال هذه الطريقة قد يكون سببها تغير البنية الداخلية المسببة للسبات.

بينما تبين التحاليل الكيميائية للبذور غنى كل من لب البذرة وقشرتها بمتعدد الفينول، هذه الخاصية تتعلق بالعوامل البيئية التي تتحكم في تكوين البذور وانماطها البيئية، ومن خلال النتائج المتحصل عليها تبين وان بذور الفستق الأطلسي غنية بالزيوت (32-67 %) والتي تحتوي بشكل أساسي على حمض الاوليك والفينولستروول، هاته الاحماض الدهنية الأحادية غير المشبعة تحتوي على مؤشر اكسدة مرتفع يتغير حسب مدة تخزين البذور، هنا تبرز عقبة أخرى أمام انتشار البذور تضاف الى الأولى ألا وهي فترة صلاحية البذور حيث تبين ان القدرة الانتاشية للبذور تقل بشكل متزايد كلما طالت مدة تخزين البذور.

و يعد التنوع الجيني بالنسبة لشجرة الفستق الأطلسي في الجزائر واسع جدا و يثبت استعمال الواسمات الجزيئية ISSR و ITS أن شجرة الفستق الأطلسي تحتوي على تعدد أشكال وراثي مرتفع وفقاً للمناطق المعنية بهذه الدراسة. والنتائج المتحصل عليها تؤكد وجود ترابط قوي بين المعايير التي تمت دراستها والتنوع الجيني داخل نفس العشائر، وندرة التشابه الجيني بين هاته العشائر المدروسة يقودنا الى وجوب إيجاد استراتيجية متينة من أجل النهوض بهذا النوع من خلال إعادة إكثاره والمحافظة عليه.

الكلمات الرئيسية: الفستق الأطلسي. البذور؛ إنتاش؛ سبات، متعدد الفينول؛ زيوت، وسم جزيئي.

Résumé

L'adoption de la reproduction sexuée chez le pistachier d'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica*), espèce rustique dotée d'une grande plasticité dans les différentes aires écologiques Algériennes, représente la principale voie de sa multiplication et qui permettrait conjointement l'exploration, l'évolution et la valorisation de la variabilité génétique qu'elle détient. Cependant, différents obstacles limitent la levée de dormance chez ses graines et compromettent son repeuplement en vue de minorer son déclin croissant. Les résultats du présent travail définissent les principaux paramètres intrinsèques et extrinsèques qui amoindrissent la faculté germinative des graines du pistachier de l'Atlas cueillies sur des écotypes issus de six localités s'étendant du Nord au Sud, situées dans différents étages bioclimatiques du pays.

Les résultats des tests de germination *in vitro* démontrent que la faculté germinative des graines est très faible ou nulle et ne s'améliorent pas aux variations du pH du milieu, de la température et des scarifications. Des observations différentes ont été révélées dans le dispositif de germination dans un substrat de tourbe. Ainsi, la germination, quoiqu'elle débute tardivement, les valeurs de son taux s'annonçaient supérieures à 50% indistinctement de l'origine des graines. Ces résultats suggèrent que ce deuxième mode de mise en germination serait à l'origine de modifications des structures internes imposant la dormance. En effet, l'analyse chimique de la graine révèle sa richesse en composés phénoliques totaux, conjointement au niveau d'épicarpe et l'amande. Cette particularité dépend des conditions environnementales régissant la formation des graines et des écotypes concernés. L'effet de ces constituants s'atténue à l'application du peroxyde d'hydrogène confirmant leur action inhibitrice sur la germination.

Les résultats obtenus montrent que les graines du pistachier sont riches en huiles (32-67 %) contenant essentiellement l'acide oléique et en phytostérols. Cet acide gras mono-insaturé présente un indice d'oxydation élevé, accentué par la durée et les conditions l'entreposage des graines. Ceci démontre qu'une autre entrave à la germination s'ajoute à la première, liée à la durée de conservation des graines. En effet, la faculté germinative des graines diminue significativement avec l'allongement de la durée de stockage des graines.

La variabilité génétique qu'englobe le pistachier d'Atlas en Algérie s'annonce large. L'utilisation des marqueurs moléculaires ISSR et ITS prouve que le pistachier d'Atlas recèle un polymorphisme génétique élevé en fonction des régions concernées par la présente étude. Les résultats obtenus établissent de fortes liaisons entre l'expression des paramètres étudiés et la diversité génétique inter-population. Les rares similitudes génétiques entre les populations étudiées renseignent sur un faible flux génétique parmi ces dernières, ce qui impose l'adoption de stratégies distinctives de repeuplement et conservation du pistachier d'Atlas.

Mots-clés: Pistachier de l'Atlas; graines; germination; dormance; polyphénols; huiles; marqueur moléculaire.

Abstract

The adoption of sexual reproduction in the Atlas pistachio tree (*Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica*), a hardy species endowed with great plasticity in the different Algerian ecological areas, represents the main way of its multiplication and which would allow jointly the exploration, the evolution and the valorization of the genetic variability that it holds. However, various obstacles limit the emergence of dormancy in its seeds and compromise its repopulation in order to minimize its increasing decline. The results of this work define the main intrinsic and extrinsic parameters that reduce the germination capacity of Atlas pistachio seeds collected from ecotypes from six localities extending from North to South, located in different bioclimatic levels of the country.

The results of in vitro germination tests show that the germination capacity of the seeds is very low or nil and does not improve with variations in the pH of the environment, temperature and scarification. Different observations were revealed in the germination device in a peat substrate. Thus, germination, although it started late, the values of its rate were announced higher than 50% indistinctly from the origin of the seeds. These results suggest that this second mode of germination would be at the origin of modifications of the internal structures imposing the dormancy. Indeed, the chemical analysis of the seed reveals its richness in total phenolic compounds, jointly at the level of the epicarp and the kernel. This particularity depends on the environmental conditions governing the formation of the seeds and the concerned ecotypes. The effect of these constituents diminishes with the application of hydrogen peroxide confirming their inhibitory action on germination.

The results obtained show that pistachio seeds are rich in oils (32-67 %) containing mainly oleic acid and phytosterols. This mono-unsaturated fatty acid has a high oxidation index, accentuated by the duration and conditions of seed storage. This shows that another obstacle to germination is added to the first one, linked to the shelf life of the seeds. Indeed, the germination capacity of the seeds decreases significantly with the lengthening of the storage life of the seeds.

The genetic variability of the Atlas pistachio tree in Algeria is expected to be wide. The use of the molecular markers ISSR and ITS proves that the Atlas pistachio tree has a high genetic polymorphism depending on the regions concerned by this study. The results obtained establish strong links between the expression of the parameters studied and inter-population genetic diversity. The rare genetic similarities between the populations studied indicate a low gene flow among them, which calls for the adoption of distinctive strategies for repopulation and conservation of the Atlas pistachio tree.

Keywords: Atlas pistachio; seeds; germination; dormancy; polyphenols; oils; molecular marker.

Remerciements

Au nom de Dieu le miséricordieux par essence et par excellence.

Cette thèse a été réalisée pendant une longue période au cours de laquelle j'ai travaillé avec beaucoup de gens qui m'ont aidé à rendre ce travail possible, auxquels je voudrais exprimer mes reconnaissances.

Toute ma reconnaissance est adressée à ma famille, surtout mes parents à qui je dois mon éducation, ma réussite dans la vie et dans mes études, à mes sœurs et mes frères, pour tous ce qu'ils ont fait pour moi, pour tous les sacrifices qu'ils ont consentis au cours de mes études.

Mes remerciements s'adressent tout particulièrement à mon directeur de thèse Monsieur ADDA Ahmed, Professeur à l'Université de Tiaret et à mon co-directeur de thèse Mr. MERAH Othmane, Professeur à l'université de Toulouse qui n'ont pas hésité à me prendre en charge et de me guider le long de cette thèse, pour la confiance qu'elle m'ont accordée, pour son soutien, ses critiques constructives, ses conseils qui m'ont permis d'évoluer dans ma vision de la recherche et pour les informations échangées.

Je tiens également à témoigner ma gratitude à Mr. Arafah Rami, Directeur de Centre de recherche de Biotechnologie Palestine-Corée, de Palestine, pour votre générosité, votre soutien, votre aide et la qualité humaine que vous avez démontrée. Vous m'avez fait bénéficier de vos connaissances, de votre immense expérience scientifique et de votre rigueur dans le travail.

J'exprime ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à Mr. DELLAL Abdelkader Professeur à l'université de Tiaret pour m'avoir honoré de présider le jury ainsi pour sa disponibilité, sa bienveillance, son soutien et ses précieux conseils.

Ainsi, je suis très honoré que mes professeurs Mr BELKHODJA Moulay de l'Université Oran 1 Ahmed Ben Bella, Mr BENHASSAINI Hachemi de l'Université Sidi Bel Abbes et Mr Boussaid Mohamed de l'université de Tiaret, aient accepté de faire partie de mon jury de thèse.

En tant que membre invité, Monsieur HEDDADJ Djilali de la chambre d'agriculture de Bretagne (France) et membre du conseil scientifique du CRSTRA, est très appréciée pour l'intérêt qu'il a porté à mon travail et pour avoir honoré ma soutenance de thèse.

J'exprime mes sincères remerciements à Mr LIVIO Trainotti, de m'avoir accueilli dans son laboratoire de biologie moléculaire à l'université de Padoue, pour la confiance que vous m'avez accordée durant toute la période de mon stage et également je remercie vivement l'ensemble du personnel du laboratoire.

À Mme. Ressantini Francesca, je vous remercie vivement pour votre disponibilité, votre sympathie, votre esprit scientifique et votre aide dans le travail du labo et l'analyse des résultats moléculaire.

J'adresse tous mes remerciements à tout le personnel du laboratoire de Laboratoire de Chimie Agro-industrielle (LCA) et surtout à Mme SIMON Valérie, Mr Rigal Matthieu, Mme CERNY Muriel, Mr ARMENGAU Romain et à Mme LABEJOF Christina.

Je présente ma profonde reconnaissance à Mr. Ainouche Abdelkader, professeur à l'université de Renne, France, pour la formation de Code-Barres, avec qui j'ai travaillé et j'ai appris beaucoup de choses en biologie moléculaire.

Je remercie également Mr. De la Herrán Roberto, professeur à Université de Grenade, Espagne, pour ses conseils, sa gentillesse et ses précieuses remarques.

J'exprime ma gratitude à Mr Rebiai Abdelkrim, enseignant de l'université d'El Oued qui m'a beaucoup aidé pour les analyses des polyphénols par HPLC ;

Mes sincères remerciements vont également aux mes amies et collègues du Centre de recherche scientifique et technique sur les régions arides (CRSTRA) pour les encouragements qu'ils m'ont fournis et leurs soutiens tout au long de cette étude.

J'adresse mes sincères remerciements à toutes les personnes qui m'ont aidé au niveau de la Direction des forêts de Tiaret, Batna (Mr ACHIKA Azzedine) et Béchar (Mr KHOMANI AEK) et aussi aux personnels des pépinières de Hamadia (Tiaret) et de Moudjbara (Djelfa).

Pour finir, Je tiens à exprimer ma gratitude de chacun de ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce modeste travail et très particulièrement à tous mes enseignants, mes amies et collègues. Qu'ils veuillent trouver ici l'expression de ma reconnaissance.

L'ensemble des études menées au cours de cette thèse a fait l'objet des publications scientifiques, publiées ou en cours de préparation.

Liste des abréviations

°C : Degré Celsius

µL: microlitre

µm : micromètre

ω : Oméga

ABA : Acide abscissique

ACCCase : l'acétyl-CoA carboxylase

ACP : Analyse des Composantes Principales

ADN : acide désoxyribonucléique

ADP : Adénosine Diphosphate

AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism

AFNOR : Association Française de Normalisation

AG : Acide Gras

AGMI : Acide Gras Monoinsaturé

AGPI : Acide Gras Polyinsaturé

AGS : Acide gras saturé

ALA : Acide α- linoléinique

AMP-PCR: Anchored Microsatellite Primed PCR

AMOVA : Analysis of Molecular Variance, analyse de la variance moléculaire

ARN: Acide Ribonucléique

ARNase: Acide Ribonucléase

ARNm : ARN messagers

ASSR: Anchored Simple Sequence Repeats

ATP : Adénosine Triphosphate

Blast : Basic Local Alignment Search Tool

B-mercaptoethanol: beta-mercaptoethanol (HSCH₂CH₂OH)

BSTFA : Triméthylsilyl-trifluoroacétamide

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

CTAB : bromure d'héxa-décyltriméthyl-ammonium

dNTP: Déoxynucléotides triphosphates

EAG : Equivalent Acid Gallic

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic Acid ($C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 + 2H_2O$)
ETS : External Transcribed Spacer
FAMD : Fingerprinting analysis with missing data
FAME: Fatty Acids Methyl Ester
FAS : Fatty Acid Synthase
FID: Flamme Ionisation Detector
g : grammes
Gst: Coefficient of genetic differentiation
H (%): Humidité
H : Nei's genetic diversity index
H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène
HDL-cholestérol (lipoprotéines haute densité
HPLC : Chromatographie liquide à haute performance
Ht : Total genetic diversity
IA : Indice d'acide
IC : indice de consistance
IGS : Espaceur intergénérique (Intergenic Spacer)
IP : Indice de peroxyde
IR : indice de rétention
ISO: International Standard Organization (Organisation Internationale de Normalisation)
ISSR : Inter Simple Sequence Repeat, amplification intermicrosatellites
ITS : Internal Transcribed Spacer (L'espaceur intergénérique transcrit)
Kb : kilobase
KOH : hydroxyde de potassium
LA : Acide Linoléique
LEA : Late embryogenesis Abundant protein
MAFFT : Multiple Alignment using Fast Fourier Transform
MF : Matière Fraiche
MgCl₂ : Chlorure de magnésium
ML : Maximum Likelihood
mM : Millimole

MP : Maximum de Parcimonie
MPa: Méga Pascal
MS : Matière Sèche (DW : Dry Weight)
Na : Number of alleles
NaCl : Chlorure de sodium
NADP⁻ : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit
NCBI : National Center for Biotechnology Information
ndhF: NADH dehydrogenase F ;
Ne : Effective number of alleles
ng : nanogramme
NIA-i3: third intron of the nitrate reductase gene
NJ : Neighbor-Joining
Nm : Gene flow
NPB : Number of polymorphic bands
O₂ : Dioxygène
Pb : Paire de base
PCA : Principal components analysis
PCD : Program Cell Death
PCoA : Principal coordinates analysis
PCR : Polymerase chain reaction
PEP : Phosphoénolpyruvate
Pfu : polymérase purifiée à partir de l'*Archae* hyperthermophile *Pyrococcus furiosus*.
pH : Potentiel hydrogène
PMG: Poids de Mille Graines
PVP : Polyvinylpyrrolidone ([C₆H₉NO]_n)
PVPP : Polyvinylpolypyrrolidone
RAMs: Randomly Amplified Microsatellites
RAMPs : Random Amplified Microsatellite Polymorphisms
RAPD : Random Amplification Polymorphic DNA
RE : Réticulum Endoplasmique

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism
ROS : Reactive Oxygen Species
SAMPL: Selective Amplification of Microsatellite Polymorphic Loci
SCAR: Sequence Characterized Amplified Region
SNP: Single Nucleotide Polymorphisms
SRAP: Sequence-Related Amplified Polymorphism
ssp.: species
SSR: Simple Sequence Repeat (SSRs)
SSR-anchored PCR: Inter-SSR amplification
SPAR : Single Primer Amplification Reaction
subsp: Subspecies
T : Température
TAE : Tris-acétate-EDTA
TAG : triacylglycérol
Taq: Thermophilus aquaticus
TBME: TerButylMéthylEther
TCA : Tricarboxylic Acid Cycle
TE : Tris EDTA
TMCS : Triméthylchlorosilane
TMSH: TriméthylSulfonium Hydroxyde
Tris : Trisma Base, Tris[hydroxymethyl]aminometane) ($C_4H_{11}NO_3$)
UPGMA : Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
UV : Ultra-violet
MP-PCR : Microsatellite Primed PCR

Liste des Figures

Figure 1 : Aire de distribution de *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* dans le monde (Alyafi, 1979).

Figure 2 : Aire de répartition de pistachier d'Atlas en Algérie (Monjauze, 1980).

Figure 3 : Différentes phases de prise d'eau et de respiration pendant la germination (Bewley, 1997).

Figure 4 : Influence des conditions environnementales sur le développement, la dormance et la germination de la graine (Aya et al., 2011).

Figure 5 : Illustration des fonctions de H₂O₂ pendant la germination des semences (Wojtyla et al., 2016).

Figure 6 : La transition métabolique de (a) hétérotrophe à (b) croissance photoautotrophique pendant la croissance post-germinative des graines oléagineuses (Eastmond et Graham, 2001).

Figure 7 : Structure d'une unité de répétition dans la région de l'ADNr nucléaire. Chaque répétition consiste en External Transcribed Spacer (ETS), suivi de la petite sous-unité ribosomale 18S, puis de la première sous-unité (ITS1), 5.8S, le deuxième espaceur interne transcrite (ITS2), puis l'élément grande sous-unité 26S. Chaque répétition de codage est séparée de l'autre par l'espaceur intergénérique IGS (White et al., 1990 ; Muir et Schlötterer 1999).

Figure 8 : Carte de la répartition des différentes populations en Algérie.

Figure 9 : Communes d'El Madher de la wilaya de Batna.

Figure 10 : Localisation de la commune de Messaad dans la wilaya de Djelfa.

Figure 11 : Localisation des communes de Rechaiga et Zmalet El Emir Abdelkader (Taguine) dans la wilaya de Tiaret.

Figure 12 : Localisation de la commune de Sidi Makhoul dans la wilaya de Laghouat.

Figure 13 : Localisation de la commune de Mougheul dans la wilaya de Béchar.

Figure 14: Les arbres (1) avec le fruit du pistachier d'Atlas (2) dans les stations de Batna (El Madher) (1A, 2A) et Béchar (Mougheul) (1B, 2B) (Photo : Labdelli, 2016).

Figure 15 : Les graines mures du Pistachiers de l'Atlas (Photo : Labdelli, 2016).

Figure 16 : 1. Évolution de taux de germination (%G) pendant 86 jours des différentes populations de *P. atlantica* Desf. subsp. *atlantica* (A : Bechar, B : Batna, D : Djelfa, L : Laghouat, TR : Tiaret Rechaiga, TZ : Tiaret Zmalet ElAmir Abdelkader). **2.** Évolution de taux de germination (%) après la récolte (D, B) et après une année de stockage (D2, B2).

Figure 17: Jeune plantule après 13 jours de la mise en germination (Photo : Labdelli, 2016).

Figure 18 : Jeune plantule après 62 jours de la mise en germination (Photo : Labdelli, 2016).

Figure 19 : La vitesse de croissance en fonction de la période post-germination chez les jeunes plants du pistachier d'Atlas.

Figure 20: Extraction d'huile par Soxhlet (Photo : Labdelli, 2016).

Figure 21: Le chromatographe en phase gazeuse VARIAN (3900).

Figure 22 : La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) chromatogramme des composés phénoliques. Les composés identifiés sont : GA-gallicacid, CGA-Chlorogenicacid, VA-Vanillicacid, CA-Caffeicacid, V-Vanillin, p-CA-p-coumaricacid, RU-Rutin, QC-quercetin.

Figure 23 : Spectrophotomètre à absorption atomique (PerkinElimer, PinAAcle 900T).

Figure 24 : Analyse en composantes principales de la composition en acides gras des différents constituants de la graine (Épicarpe (E) ; Amande (K) ; Graine entière (S)) des différentes populations étudiées (A : Béchar ; B : Batna ; D : Djelfa ; L : Laghouat ; TR : Tiaret Rechaiga ; TZ : Tiaret Zemalet El Emir AEK).

Figure 25 : Analyse en composantes principales des variables biochimiques montrant la répartition des différentes populations étudiées (A : Béchar ; B : Batna ; D : Djelfa ; L : Laghouat ; TR : Tiaret Rechaiga ; TZ : Tiaret Zemalet El Emir AEK).

Figure 26 : Analyse tridimensionnelle d'ACP des quatre populations de pistachier d'Atlas (A : Bechar, B : Batna, D : Djelfa, T : Tiaret).

Figure 27 : Corrélation entre les distances génétiques et géographiques tracées avec $Z = 2119.05$, $r = 0.867$ calculé par le test de Mantel.

Figure 28 : Arbre de la méthode Neighbor Joining (NJ) des échantillons de quatre populations de Pistachier d'Atlas. Les individus A1-A10 appartiennent à la population de Batna, A11-A21 à

la population de Djelfa, A22-A33 à la population de Tiaret, et A34-A39 à la population de Béchar.

Figure 29 : Alignement multiple des séquences nucléotidiques de la région ITS de l'ADNnr (5.8S) réalisé par logiciel BioEdit (Version 7.0) de 44 échantillons de genre *Pistacia*, parmi lesquels sont intégrés 2 espèces hors-groupe et les individus de *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* locaux des deux populations de Batna.

Figure 30: Phylogénie de séquences partielles de la région ITS de l'ADNn (ITS1 et 5.8S) de 42 échantillons de pistachiers (*Pistacia*) et 2 outgroups. L'arbre obtenu par la méthode du maximum de parcimonie (CI =0.73, RI= 0.91) est présenté à l'aide du logiciel MEGA-7.

Les valeurs de bootstrap (1000 répliqués) sont indiquées au-dessus des branches. En dessous des branches internes sont données les nombres de changements synapomorphiques, et des branches terminales les nombres d'autapomorphies. Les échantillons nouvellement séquencés sont colorés en bleu pour *P. vera* L., en vert pour *P. terebintus* L. et en rouge pour *P. atlantica* Desf. subsp. *Atlantica*.

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Contenance acides gras et stérols de l'huile des graines du pistachier d'Atlas de deux provenances (Algérie, Iran).

Tableau 2: Évaluation des teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante à l'échelle des différents constituants du fruit du pistachier d'Atlas.

Tableau 3: Les composants majeurs et le rendement des huiles essentielles des fruits du pistachier d'Atlas de différentes provenances.

Tableau 4: Altitude, latitude et longitude de six écotypes collectant du pistachier d'Atlas.

Tableau 5 : Principales caractéristiques climatiques des régions d'étude en Algérie (source : données du Réseau de stations d'observation de l'Office National de la Météorologie (ONM)).

Tableau 6: Le taux moyen de germination (%G) des graines des différents écotypes. Le degré de signification est exprimé par le test F.

Tableau 7: Effet écotype, conservation des graines (avec et sans conservation) et leurs interaction sur le taux de germination. Le degré de signification est exprimé par le test F.

Tableau 8: Le taux moyen de germination des graines avant et après la conservation. Le degré de signification est exprimé par le test F.

Tableau 9 : Effet de température sur le taux de germination (%G) des graines à l'étuve (Températures : T1 : 25°C, T2 : 27°C, T3 : 30°C).

Tableau 10: Effet de niveau de pH d'eau d'irrigation sur le taux de germination des graines (%G) (T0 : sans épicarpe (pH 7), T1 (pH 7), T2 (pH 5.5), T3 (pH 4)).

Tableau 11: Effet écotype, traitement H₂O₂ et leurs effets d'interaction sur le taux de germination des graines (avec et sans épicarpe). Le degré de signification est exprimé par le test F.

Tableau 12: Taux de germination des graines avec ou sans épicarpe, traitées ou non avec H₂O₂ de trois écotypes

Tableau 13: Effet de la variabilité de l'écotype sur la composition des graines en quantité des acides gras et teneur en huile. Le degré de signification est exprimé par le test F.

Tableau 14: Analyses chimiques des huiles en fonction de l'origine géographique des géotypes étudiés.

Tableau 15: Composition en acide gras (%) et teneur en huile (%) des graines entières des différents écotypes. Les valeurs moyennes indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (avec une probabilité de 0.05) selon le test de comparaison de Duncan.

Tableau 16: Composition en acide gras (%) des amandes des différents écotypes. Les valeurs moyennes indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (avec une probabilité de 0.05) selon le test de comparaison de Duncan.

Tableau 17: Composition en acide gras (%) des épicarpes des différents écotypes. Les valeurs moyennes indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (avec une probabilité de 0.05) selon le test de comparaison de Duncan.

Tableau 18: Effet d'écotype et d'année de récolte des graines sur la composition en acide gras des différentes parties de la graine des deux écotypes.

Tableau 19 : Composition en phytostérols en mg/100gMF et pourcentage (%) par rapport aux stérols totaux.

Tableau 20: Composition biochimique des gaines des différentes stations.

Tableau 21: Valeurs moyennes du contenu phénolique total (TPC) et de l'activité antioxydante totale (TAA) dans les graines entières et l'épicarpe chez les différents écotypes. Le degré de signification est exprimé par le test F. Les valeurs moyennes indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (avec une probabilité de 0.05) selon le test de comparaison de Duncan.

Tableau 22: Analyse quantitative des polyphénols des épicarpes et graines entières de différentes stations. ND: Non Déterminé.

Tableau 23: Composition minérale des graines (mg/gMS).

Tableau 24: Situation géographique et nombre des échantillons prélevés des populations de *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *Atlantica*.

Tableau 25: Liste des amorces ISSR utilisées.

Tableau 26: Nombre de bandes amplifiées et polymorphes observées parmi les individus des quatre populations étudiées.

Tableau 27: Liste des numéros d'accèsion de GenBank des séquences ITS utilisées dans cette étude.

Tableau 28: Caractérisation des sites des séquences obtenues.

Tableau 29: Relation entre le taux de germination et les paramètres biochimiques de la graine

Tableau 30: Relation entre la composition en acide gras des graines entières et le taux de germination des graines

Tableau 31: Relation entre la composition en acide gras d'épicarpe et le taux de germination des graines.

Tableau 32: Relation entre la composition en acide gras d'amande et le taux de germination des graines.

Valorisation des Travaux Scientifiques

Les résultats obtenus durant cette thèse ont fait objet de :

Publications Internationales

1. Study of seed dormancy origins in three Atlas pistachio ecotypes (*Pistacia atlantica* Desf.). 2019. Applied Ecology and Environmental Research, 17(6), 13555-13565. DOI: http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1706_1355513565.

Authors: Labdelli A., Adda A., Bouchenafa N., Rebiai A., Zebib B. and Merah O.

2. *Pistacia Atlantica* Desf., a Source of Healthy Vegetable Oil. 2019. Applied sciences, 9, 2552. Doi:10.3390/app9122552.

Authors: Labdelli A., Zemour K., Simon V., Cerny M., Adda A. and Merah O.

3. Nutritional Content and Antioxidant Capacity of the Seed and the Epicarp in Different Ecotypes of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica*. 2020. Plants, 9 (9), 1065. doi:10.3390/plants9091065.

Authors: Labdelli A., Rebiai A., Tahirine M., Adda A., Merah O.

4. Genetic Variation in Damaged Populations of *Pistacia atlantica* Desf. 2020. Plants 9, 1541. DOI:10.3390/plants9111541.

Authors: Labdelli A., De La Herrán R., Arafeh R., Resentini F., Trainotti L., Halis Y., Adda A. and Merah O.

5. Article de synthèse (review) soumis pour publication dans *Agrobiologia*.

6. Article scientifique soumis pour publication dans *OCL*.

Communication Internationale

1. Labdelli et al., 2019. Atlas Pistachio (*Pistacia atlantica* Desf.): a valuable source of bioactives. 15th International Conference on Renewable Resources & Biorefineries (RRB 15). 3-5 June 2019, Toulouse (France).

2. Labdelli et al., 2018. *Pistacia atlantica* Desf. A new source of healthy vegetable oil. 7^{ème} Congrès International des Plantes Aromatiques et Médicinales CIPAM2018, 25 - 28 June 2018, Toulouse, France.

3. Labdelli et al., 2018. Determination of phenolic composition and antioxidant activity in different parts of developing fruit of *Pistacia atlantica* Desf. growing wild in Algeria. The first International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (Eurasian BioChem 2018). 26-27 April 2018, Ankara (Turquie).

4. Labdelli et al., 2018. Biochemical and mineral Compositions of seeds of *Pistacia atlantica* Desf. from Algeria. The first International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (Eurasian BioChem 2018). 26-27 April 2018, Ankara (Turquie).

Table des matières

Liste des abréviations.....	vi
Liste des Figures	x
Liste des Tableaux	xiii
Introduction Générale	1
Chapitre I : État des connaissances.....	4
Partie I – Étude bibliographique du pistachier d’Atlas.....	4
I.1. Origine et généralités sur l'espèce	4
I.2 Répartition du pistachier d’Atlas en Algérie.....	5
I.3. Les modes de régénération et ses limites chez le pistachier de l'Atlas	6
I.4. La composition de la graine du pistachier d'Atlas	7
I.4.1. Composition de la fraction lipidique (huiles).....	8
I.4.2. Composition en polyphénols et activité antioxydante	9
I.4.3. Contenance en huiles essentielles	10
I.5. L'état des ressources génétiques.....	10
Partie II- Étude physiologique de la germination	11
II.1. La maturité physiologique et la vie latente des graines	11
II.2. La germination.....	12
II.2.1. Les aspects physiologiques de la germination.....	12
II.2.2. Les obstacles de la germination	13
II.2.3. Les méthodes de la levée de la dormance des semences	15
II.2.3.1. La scarification	15
II.2.3.2. Trempage dans l'eau.....	15
II.2.3.3. Traitement à l'acide.....	15
II.2.3.4. Traitement à l’eau oxygénée.....	15
II.2.3.5. Le traitement par la chaleur sèche et le feu	16
II.2.3.6. La stratification	16
II.3. Les réserves des graines oléagineuses et leur remobilisation au cours de la germination	17
II.3.1. Les réserves lipidiques.....	17
II.3.1.1. Synthèse des acides gras	18
II.3.1.2. Mobilisation des triacylglycérols au cours de la germination	19
II.3.1.3. Les phytostérols	20

II.3.2. Les composés phénoliques.....	21
II.3.2.1. Synthèse des composés phénoliques.....	21
II.3.2.2. Impact des composés phénoliques sur la germination.....	21
II.3.2.3. L'activité antioxydante.....	22
Partie III-La diversité génétique.....	23
III.1. Définition de la diversité génétique.....	23
III.2. Notion de phylogéographie et l'analyse de la structuration de la diversité génétique..	24
III.3. L'utilisation de l'outil moléculaire pour l'évaluation de la diversité génétique	25
III.3.1. Le marqueur inter-microsatellites (ISSR)	25
III.3.2. L'espaceur intergénique transcrit (ITS).....	26
III.3.3. Les arbres phylogénétiques	28
III.3.3.1. Le séquençage	29
III.3.3.2. Alignement des séquences.....	29
CHAPITRE II : Caractéristiques générales géographique et climatique des zones d'études	31
.....	
1. Introduction	31
2. Localisation géographique des zones de prospection des écotypes utilisés	31
3. Caractéristiques climatiques durant les trois années de collecte des graines des écotypes	38
CHAPITRE III : Étude Expérimentale.....	40
Partie I – Germination et comportement des jeunes plantules du pistachier d'Atlas.....	40
I.1. Étude de germination des graines	40
I.1.1. Introduction	40
I.1.2. Matériel et méthodes	40
I.1.2.1 Essai de germination des graines dans les conditions de la serre	40
I.1.2.1.1. Effet de l'écotype sur la germination et la levée des graines	40
I.1.2.1.2. Effet de la conservation sur la germination des graines.....	41
I.1.2.2. Étude de l'effet de la température sur la germination des graines	41
I.1.2.3. Effet du pH du milieu sur la germination des graines.....	42
I.1.2.4. Prétraitement par H ₂ O ₂	42
I.1.3. Résultats	44
I.1.3.1. Essai de germination des graines dans les conditions de la serre	44
I.1.3.2. Étude de l'effet de la température sur la germination des graines	46
I.1.3.3. Effet du pH du milieu sur la germination des graines.....	47

I.1.3.4. Prétraitement par H ₂ O ₂	48
I.1.4. Discussion	50
I.2. Croissance et développement des jeunes plantules du pistachier d'Atlas.....	55
I.2.1. Introduction	55
I.2.2. Période post-germination	55
I.2.3. Etat des plantules à 62 jours après la germination	56
Partie II – Composition biochimique et minérale des graines de pistachier de l'Atlas (<i>Pistacia atlantica</i> Desf. subsp. <i>atlantica</i>)	57
II.1. Introduction.....	57
II.2. Matériel et méthodes.....	57
II.2.1. Sites de collecte des graines et préparation des échantillons	57
II.2.2. Analyse biochimique	58
II.2.2.1. Le poids de 1000 graines (PMG).....	58
II.2.2.2. Détermination de la teneur en huile.....	58
II.2.2.3. Caractéristiques chimiques d'huile.....	59
a) Indice d'acide (ISO 660, 2014)	59
b) Indice de peroxyde (IP).....	59
II.2.2.4. La composition en acides gras des différentes parties de la graine	60
II.2.2.5. Extraction et dosage des phytostérols par CPG	61
II.2.2.6. Teneur en protéine et en sucres solubles	62
a) Teneur en protéine.....	62
b) Dosage des sucres solubles	63
II.2.2.7. Dosage des composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante	64
a) Préparation de l'extrait	64
b) Les composés phénoliques totaux (TPC).....	64
c) L'évaluation de l'activité antioxydante totale (TAA)	65
d) Identification et caractérisation des composés phénoliques par la chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	65
II.2.3. Composition minérale des graines	66
II.2.3.1. Taux d'humidité H (%).....	66
II.2.3.2. Cendre et éléments minéraux.....	66
II.2.4. Analyse statistique	67
II.3. Résultats.....	68

II.3.1. Composition biochimique des graines	68
II.3.1.1. Le poids de mille grains.....	68
II.3.1.2. La teneur en huile des graines.....	68
II.3.1.3. Caractéristiques chimiques de l'huile	69
a) Indice d'acide	69
b) Indice de peroxyde (IP).....	69
II.3.1.4. La composition en acides gras de la fraction lipidique des constituants de la graine	70
II.3.1.4.1. Composition en acides gras de la graine entière.....	70
II.3.1.4.2. Composition en acide gras de l'amande et de l'épicarpe.....	71
a) L'amande.....	71
b) L'épicarpe	71
II.3.1.4.3. Effet de l'année de récolte des graines sur la composition en acide gras	76
II.3.1.4.4. Analyse en composantes principales de la composition en acides gras des différents constituants de la graine	76
II.3.1.5. La composition en phytostérols	78
II.3.1.6. Teneur en protéines et en sucres solubles des graines	80
II.3.1.7. Étude quantitative et qualitative des polyphénols totaux des graines.....	80
II.3.1.8. L'activité antioxydante totale des graines	81
II.3.2. Résultats de la composition minérale des graines	83
II.4. Discussion générale de la composition biochimique et minérale des graines	84
Partie III– Étude de la diversité génétique	90
III.1. Introduction	90
III.2. Étude de la variabilité génétique inter et intra-population par le marqueur moléculaire ISSR.....	91
III.2.1. Matériel et méthodes	91
III.2.1.1. Le matériel végétal	91
III.2.1.2. Extraction d'ADN.....	91
III.2.1.3. Optimisation de la réaction PCR et amplification d'ISSR	92
III.2.1.4. Analyse des données.....	93
III.2.1.5. Résultats et discussion.....	93
III.3. Étude phylogénétique	98
III.3.1. Les espèces et le matériel végétal utilisés	98

III.3.2. Amplification et purification de l'ITS de l'ADNnr.....	98
III.3.3. Séquençage et alignement des séquences ITS.....	99
III.3.4. Analyse phylogénétique	101
III.3.5. Résultats et discussion.....	101
CHAPITRE IV : Discussion Générale	105
1. Relations entre la composition biochimique des graines et la germination chez les écotypes étudiés	105
2. Relations entre la variabilité génétique et la germination chez les écotypes étudiés.....	111
Conclusion Générale.....	113
References Bibliographiques.....	116
Annexes	145
Annexe 1	145
Annexe 2	146
Annexe 3	149
Annexe 4	149

INTRODUCTION GENERALE

Introduction Générale

Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica*) est l'une des 11 espèces que regroupe le genre *Pistacia* de la famille des Anacardiaceae (Zohary, 1952). Connu localement sous le nom de "el betoum", "betm" ou "betma", est un arbre spontané endémique d'Afrique du nord, dioïque et à feuilles caduques. Sa présence s'étend du sud-ouest de l'Asie au nord-ouest de l'Afrique (Zohar, 1952) et s'avère l'arbre caractéristique de la région du sud de la méditerranée, essentiellement au Maghreb (Chebouti-Meziou et al., 2014). Sans presque jamais le reboiser, le Pistachier de l'Atlas colonise de façon diffuse un territoire considérable centré sur les pays méditerranéens à saison sèche et chaude bien marquée.

En Algérie, cet arbre pousse dans les zones subhumides jusqu'aux régions sahariennes (Kadi-Bennane et al., 2005), mais il trouve son optimum dans les régions arides et semi-arides, notamment les Hauts plateaux où il prospère dans les lits d'oueds et les dayas (Monastra et al., 1997). Quoique le pistachier d'Atlas est caractérisé par une croissance très lente mais il se trouve le seul arbre à pouvoir organiser des écosystèmes pré-forestiers dans les étages bioclimatiques arides et particulièrement semi-arides. On signale même la présence des derniers sujets de cette espèce dans des fentes rocheuses du Hoggar où il témoigne son expansion dans toutes les régions méditerranéennes. Son développement dans des stations au plus faible indice d'évapotranspiration et donc plus sèches, lui confère une plasticité exceptionnelle à l'égard de la sécheresse atmosphérique qui serait l'un de ses principaux caractères distinctifs. En évoquant ses exigences édaphiques, sa plasticité écologique lui permet de se développer dans les situations les plus extrêmes (Limane et al., 2014 ; Faouzi et al., 2015). Grâce à son système racinaire pivotant et fortement ramifié, il joue un rôle important contre l'érosion des sols et il peut être avantageusement utilisé comme essence de reboisement. Dans ce contexte, le repeuplement des régions subsahariennes par cet arbre constitue selon des programmes de reforestation une solution adéquate pour lutter contre la désertification. Cet objectif direct se complémente par un autre indirect et qui s'impose par l'utilisation de cette espèce comme porte-greffe de *Pistacia vera* L., se distinguant par sa vigueur et qui contribuera certainement dans le développement de la filière de culture du pistachier (Belhadj et al., 2008). D'autres utilisations des produits de cet arbre justifient son importance dans certains milieux particulièrement, ruraux. Ainsi, ses différentes parties, y compris la résine, les feuilles, les fruits et le bois, ont été traditionnellement

utilisées à des fins très diverses. Les fruits sont largement consommés par la population locale en tant qu'apports nutritifs et ont de nombreuses applications dans l'industrie cosmétique, pharmaceutique et alimentaire. Ceci se justifie par le fait que ses graines oléagineuses sont riches en acides gras polyinsaturés et en composés phénoliques (Yousfi et al., 2002, Farhoosh et al., 2008, Yazdanpanah et Baghereyanmanesh, 2015 ; Belyagoubi et al., 2016; Toul et al., 2016 ; Labdelli et al., 2019a,b).

Au taux de 2 à 4% de régression annuelle des surfaces forestières de la région méditerranéenne (Quezel et al., 1999), le pistachier de l'Atlas compte parmi les espèces les plus concernées par cette évolution et par conséquent les plus menacées par la distinction (Ait-Said et al., 2011 ; Amara et al., 2017). En effet, cette essence est en dégradation continue sous l'effet des multiples effets anthropiques et climatiques. Une utilisation excessive non raisonnée des produits de cette espèce et en absence d'actions concrètes visant sa protection et son repeuplement, les formations forestières de cette espèce se trouvent en situation précaire et régressive.

La répartition spontanée de cette espèce dans différentes régions d'Algérie, très contrastes par leurs environnements, laissent supposer qu'elle englobe une variabilité génétique élevée. Cette variabilité sera d'un apport considérable et déterminant dans toute action de valorisation de cette espèce. La conservation de ce réservoir génétique et la protection du patrimoine du pistachier d'Atlas passe inévitablement par une maîtrise des techniques de régénération après avoir élucidé les mécanismes biologiques qui les gouvernent. Un inventaire et une évaluation de la variabilité génétique qu'elle détient constituent des outils efficaces dans l'orientation de ces actions.

Différentes entraves limitent la réussite de la régénération par les deux voies, sexuée et asexuée chez le pistachier d'Atlas. La reproduction par graines constitue l'unique voie d'accès aux études génétiques permettant la valorisation de cette espèce d'une part et d'autre part, elle détient une part importante dans la multiplication naturelle ou induite de cette espèce. Néanmoins, la germination des graines reste immatrisable et est expliqué souvent par certaines influences qui demeurent sans impacts fondés sur ce processus. Chez cette espèce, la germination reste faible et lente limitant significativement l'expansion de la régénération de l'espèce. Il faut noter dans ce contexte que les graines du pistachier d'Atlas sont très riches en huiles pour pouvoir se conserver longtemps dans la nature et ex-situ en absence de traitements spécifiques.

Les différentes études réalisées dans ce domaine convergent principalement à procurer des solutions pour améliorer la faculté germinative des graines du pistachier et ont proposé la

scarification, l'acidification et les prétraitements par le froid et les phytohormones (Isfendiyaroglu et Özeker, 2001 ; Abu-Qaoud, 2007 ; Chebouti-Meziou et al., 2014). Les applications des résultats de ces études restent improbables et parfois contradictoires. Une étude approfondie des facteurs imposant l'inhibition de la germination s'impose afin d'orienter efficacement les différents traitements tentant d'améliorer la germination des graines. Ils font défauts également les liens qui pourraient exister entre la variabilité génétique que détiennent cette espèce et la réussite de la régénération par le semis des graines.

Le travail réalisé dans le cadre de la thèse détient comme principal objectif d'élucider les mécanismes qui contrôlent le processus de la germination des graines chez le pistachier d'Atlas. Du fait que les graines de cette espèce se distinguent par une dormance manifestée après la disponibilité des facteurs de levée de la vie latente, il a été indispensable d'étudier l'origine de cette dormance ainsi que les facteurs qui l'imposent. Une étude illustrant la composition biochimique des différents constituants de la graine a été réalisée. L'évolution de ces constituants en fonction de la durée et des conditions d'entreposage des graines et sa relation avec leur comportement au cours de la germination a été concernée également par le présent travail.

Comme il s'est démontré par certaines études citées précédemment que le pistachier d'Atlas se caractérise par une plasticité écologique élevée et occupant diverses étages bioclimatiques d'Algérie, les effets de la variabilité génétique que détient cette espèce ont été évalués sur cette voie de sa régénération. Ainsi, des écotypes issus d'aires écologiques aux paramètres très contrastes ont été utilisés dans les différents essais de cette étude.

Une étude génétique évaluant la variabilité chez le pistachier d'Atlas au sein des populations étudiées a été réalisée. Elle s'est faite dans un but d'établir les liaisons entre les facultés régénératives par la germination des graines et l'environnement de production de ces graines d'une part et le patrimoine génétique des individus qui les a produits d'autre part.

Enfin, une étude phylogénétique des populations du pistachier d'Atlas ayant servies à notre étude a été réalisée dans un objectif d'établir les liens parentaux entre elles et avec les autres espèces du genre *Pistacia*.

CHAPITRE I

État des connaissances

Chapitre I : État des connaissances

Partie I – Etude bibliographique du pistachier d’Atlas

I.1. Origine et généralités sur l'espèce

L'espèce, *Pistacia atlantica* Desf., appelée communément, le pistachier de l’Atlas est une angiosperme de l'ordre des Sapindales appartenant à la famille des anacardiaceae et au genre *Pistacia* qui regroupe plusieurs espèces. Elle est originaire de la région de Persan (Iran) d'où elle s'est répandue au sud-ouest de l'Europe, en Afrique du Nord et dans les îles Canaries (Zohary, 1952; 1987; Quézel et Médail, 2003) (Figure 1). C'est dans ces sites que se rencontrent ses différentes sous-espèces (Monjauze, 1968 ; Behboodi, 2004). Quatre sous-espèces de *P. atlantica* ont été reconnues, subsp. *atlantica*, *kurdica*, *mutica* et *cabulica*. Elle a été répertoriée en Turquie 7000 ans avant JC et en Italie dès le premier siècle après JC, d'où elle s'est étendue à tout le pourtour Méditerranéen (Von Bunge, 1852).

En Algérie, on la trouve disséminée dans les forêts chaudes du Tell méridional mais surtout dans la région steppo-désertique des hauts plateaux et du Sahara septentrional où elle ne subsiste que dans les Dayas (Boudy, 1952). Localement, le mot de «bétoum» attribué à cette espèce, est un substantif arabe collectif dont le singulier est botma, betouma ou btouma ou encore boutmaia.

Le pistachier d’Atlas est une espèce diploïde ($2n = 2X = 30$) (Ila et al., 2003, Hormaza et Wünnisch, 2011). En 2000, Kafkas et ces collaborateurs ont identifié un individu monoïque de *Pistacia atlantica* Desf. appelé PA-18 en Turquie. L'arbre est entièrement monoïque, et a été utilisé pour la reproduction de pistaches cultivées (Kafkas et al., 2003). Également, İsfendiyaroğlu (2007), Yaaquobi et al. (2009) et Mehdeb et al. (2018) ont signalé l’existence de quelques pieds de *Pistacia atlantica* Desf. monoïques à Izmir (Turquie), Réchida (Maroc) et Tiaret (Algérie), respectivement.

Pistacia atlantica Desf. subsp. *atlantica*, espèce microphyllie décidue, est un arbre pouvant atteindre 15 à 25m de haut et est réputée par sa grande longévité (Monjauze, 1982; Zohary, 1987). Son système racinaire pivotant, puissant, très développé et fortement ramifié lui permet de pousser dans diverses gammes de sols et supporte bien ceux de nature calcaire (Karimi et al., 2009 ; Limane et al., 2014). Cette particularité botanique compte parmi d'autres mécanismes dans l'acquisition de l'espèce de fortes capacités de tolérance des stress abiotiques et particulièrement la sécheresse (Onay, 2000; Limane et al., 2014).

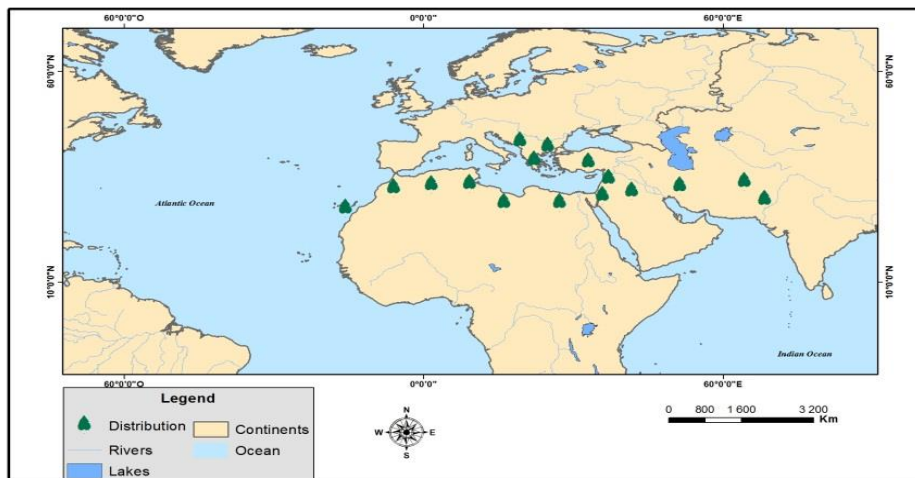


Figure 1: Le centre d'origine et de diversité du *Pistacia atlantica* Desf., selon Alyafi (1979).

I.2 Répartition du pistachier d'Atlas en Algérie

La distribution de cette espèce est signalée dans tous les étages bioclimatiques que compte le pays. Elle s'étend des zones subhumides de l'Atlas tellien jusqu'aux sahariennes (Hassi R'mel, Hoggar, Tassili) où elle est présentée sous formes de pieds isolés (Quézel, 1976 ; Monjauze, 1980 ; Ozenda, 1983; Kadi-Bennane et al., 2005) (Figure 2). Toutefois, ses peuplements trouvent un optimum dans les régions arides et semi-arides, notamment les hauts plateaux où il prospère dans les lits d'oueds et les dayas (Monastra et al., 1997).

Quoi que le pistachier d'Atlas est caractérisé par une croissance très lente mais il se trouve qu'il est le seul arbre à pouvoir organiser des écosystèmes pré-forestiers dans les étages bioclimatiques arides et particulièrement semi-arides.

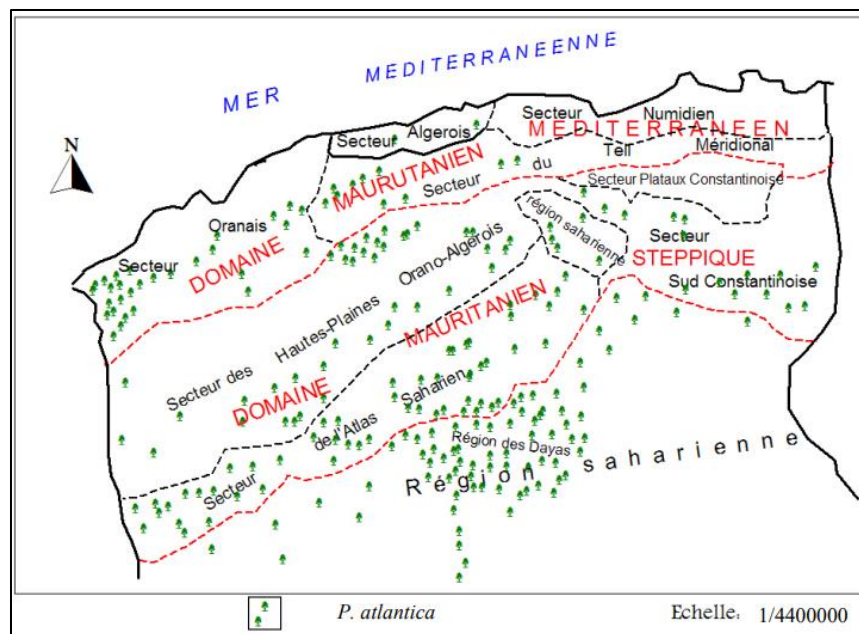


Figure 2: Aire de répartition de pistachier d'Atlas en Algérie (Monjauze, 1980)

I.3. Les modes de régénération et ses limites chez le pistachier de l'Atlas

Le fruit du pistachier d'Atlas qui arrivant à maturité est une drupe de la grosseur d'un pois, légèrement ovale quelquefois plutôt allongé, monosperme à endocarpe osseux et pourpre à maturité (Chaba et al., 1991 ; Monjauze, 1980). A maturité, ce fruit est protégé d'un épiderme se ridant en séchant accolé sur un endocarpe induré, mince et abritant une seule graine. Cette dernière exalbuminée est formée essentiellement de deux cotylédons riches en huiles (Monjauze, 1980).

Les graines du pistachier montrent les caractéristiques de stockage des semences orthodoxes (Ayfer et serr, 1961 ; Joley et Opitz, 1971). Le péricarpe couvrant les structures de la graine peut, cependant, représenter un obstacle considérable à la croissance de l'embryon. Ainsi, l'épicarpe peut inhiber la germination (Joley, 1960) et l'endocarpe peut réduire structures de couverture peut favoriser la germination (Nimadzhanova et al., 1977; Sheikh, 1979).

L'aspect excessivement oléagineux des graines du pistachier d'Atlas limite sa longévité et rend par conséquent difficile sa conservation dans la nature. Conservée même dans des conditions délicates elle ne peut garder son pouvoir germinatif plus d'un printemps. Les semis exécutés sans précaution ont longtemps fait croire que cette semence était infertile. En effet, les fruits cueillis à maturité et disséminés par l'homme et les animaux, au cours de la même période et sous un microclimat convenable, suffisent pour assurer une germination et une levée (Monjauze, 1980).

Il faut noter que de nombreuses espèces végétales, principalement les touffes de jujubier (*Ziziphus lotus* L.) assurent à la plantule une protection contre le pâturage et les gelées (Boudy, 1955 ; Monjauze, 1980). Lorsque le jeune pied régénéré atteint une certaine hauteur en s'adaptant au milieu, le jujubier se retrouve dans une strate inférieure et disparaît progressivement de son alentour immédiat (Yaaqobi et al., 2009).

Cependant, la régénération naturelle du Bétoum reste très aléatoire et difficile limitant ainsi l'expansion des populations dans ses différents habitats. Ceci est dû aux faibles taux de germination des graines et une croissance lente des plantules, particulièrement durant les phases juvéniles (Maaruf, 1997). Les particularités biologiques de la graine du pistachier d'Atlas exigent une maîtrise des traitements spécifiques pour favoriser sa germination (Monjauze, 1968). En conditions contrôlées dans les pépinières et en absence des traitements visant à accroître le taux de germination, ce dernier ne dépasse guère le seuil de 20% Riedacker (1993). Les causes de cette situation demeurent diverses en nature et en nombre, mais qui se regroupent en ceux dits intrinsèques et d'autres imposés par les paramètres environnementaux (Monjauze, 1968). Néanmoins, certains travaux basés sur l'application de traitements spécifiques ont pu faire progresser la germination (Abu-Qaoud, 2007; Chebouti-meziou et al., 2014). On cite dans ce contexte que sous une température de 4°C et une durée de stratification de 45 jours, ce taux a atteint 67.5% (Yaaqobi et al., 2009).

La culture in vitro du pistachier de l'Atlas à partir des explants différents reste difficile à réaliser afin d'obtenir des plants acclimatés par la production en masse. Ces obstacles sont dus principalement à la présence des métabolites secondaires en grande quantité (Ozden-Tokatli et al., 2010).

I.4. La composition de la graine du pistachier d'Atlas

Les graines du pistachier d'Atlas contiennent une forte proportion d'huiles (26 à 64%) (Tableau 1) et appartiennent donc aux oléagineuses. Les fibres sont également des composants majeurs de ces dernières (12-32%) et elles contiennent à des teneurs moyennes des protéines (8-14%) et des polysaccharides (5-9%) (Saffarzadeh et al., 1999; Benhassaini et al., 2007; Acheheb, 2013 ; Labdelli et al., 2020).

I.4.1. Composition de la fraction lipidique (huiles)

L'huile des fruits du pistachier d'Atlas, en plus de son odeur et de son goût désirables, a été recommandée comme nouvelle source pour la production d'huiles végétales et ce grâce à sa teneur élevée en acides gras insaturés et en phytostérols comme β -sitostérol, stigmastérol et campestérol. Les fruits mûrs du pistachier d'Atlas contiennent des taux d'huiles pouvant atteindre 62% de leur poids frais. L'acide oléique (C18:1) est le constituant majeur de cette huile, suivis des acides linoléique et palmitique (Tableau 1).

Tableau 1 : Contenance acides gras et stérols de l'huile des graines du pistachier d'Atlas de deux provenances (Algérie, Iran)

Origine	Teneur en huile (%)	Teneurs en acides gras majeurs (%)	Teneurs en stérols (%)	Référence
Iran	26.8 ± 3.05	Acide oléique (54.66 ± 0.89), Acide linoléique (18.51 ± 2.27), Acide palmitique (17.29±2.27)	-	Saffarzadeh et al., 1999
Algérie	45	Acide Oléique (46), Acide linoléique (27.5), Acide palmitique (24)	cholestérol(1.5), campestérol (4.3), β -sitostérol (87), δ 5-avenastérol (4), δ 7-avenastérol (3.2)	Yousfi et al., 2002
Algérie	56-62 (lipides)	Acide oléique (53.15), acide linoléique (28.84), acide palmitique (12.21)	campestérol (5), β -sitostérol(91), stigmastérol (4)	Ghalem et Benhassaini, 2007
Algérie	39.80±1.37	Acide Oléique (54.15±0.30), Acide linoléique (28.84±0.23), Acide palmitique (12.21±0.48)	campestérol (4±1.10), β -sitostérol (85±0.85), δ 5-avenastérol (3.80±0.10), Stigmastérol (11±0.35)	Benhassaini et al., 2007
Iran	-	Méthode HD (Hydrodistillation) Acide oléique (27.3), Acide palmitique (16.6), Acide 9,12-octadecadiénoïque (15.4) Méthode SE (Solvent extraction n- hexane) Acide 9-octadecanoïque (51.6), Acide palmitique (20.9), Acide 9, 12- octadecadiénoic (11.5)	-	Asadollahzadeh et Shamspur, 2013
Algérie	27.7- 46.1	Acide oléique (40.4-49.6), Acide linoléique (22-30.8), Acide palmitique (24.3-25.7)	-	Guenane et al., 2015
Algérie	47-64	Acide oléique (39.41), Acide linoléique (15.06), Acide palmitique (43.64)	-	Zouzou et al., 2015
Iran	53	Acide oléique (53/83) Acide linoléique (32/55), Acide palmitique (9/57)	-	Yazdanpanah et Baghereyanmanesh, 2015
Algérie	40.4 ±2.2	Acide oléique (40.9±0.2), Acide linoléique (26.8 ±0.7), Acide palmitique (26.7±0.7)	-	Labdelli et al., 2019a

I.4.2. Composition en polyphénols et activité antioxydante

Différents travaux se sont convenus à prouver la richesse des différents constituants du fruit du pistachier d'Atlas en composés phénoliques et en flavonoïdes (Tableau 2). Toutefois les teneurs en ces composés restent sensiblement variables en fonction de la nature des écotypes et l'environnement de leur habitat. On note également la détection à ce niveau une activité antioxydante similaire ou significativement supérieure à celle des composés antioxydants standard testés dans différents essais in vitro (Peksel, 2008 ; Farhoosh et al., 2011).

Tableau 2: Évaluation des teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante à l'échelle des différents constituants du fruit du pistachier d'Atlas

Polyphénols	Flavonoïdes (mg/100 g)	FRAP assay AEAC (mg/mL)	Nitric oxide scavenging (%)	DPPH Radical scavenging(%)	DPPH (EC ₅₀ mg/mL)	Référence
Mésocarpe: 3381 ± 62	Mésocarpe : 715±54	Mésocarpe : 5.11± 0.08	Mésocarpe : 94.5± 0.29	Mésocarpe : 92.5± 0.94	Mésocarpe: 0.076±0.002	Hatamnia et al., 2014 (Extraction par méthanol)
Endocarpe: 271 ± 17	Endocarpe : 65±5	Endocarpe : 0.46 ± 0.01	Endocarpe : 1.5± 0.40	Endocarpe : 68.9±1.33	Endocarpe : 1.62±0.048	
Amande: 257± 16 (mg/100 g)	Amande: 407±18.7	Amande: 0.46± 0.03	Amande: 69.4±0.22	Amande: 63.6±0.77	Amande: 1.84±0.067	
149.00 mg EAG/gMS (Méthanol et Ethanol)	-	8.50 (mmol/g) (Ethanol)	-	-	0.6 (µg/mL) (Méthanol-Ethanol)	Rezaie et al., 2015 (Extraction par plusieurs solvants)
285.95±10.25 (mg EAG/g MS)	-	IC 50: 0.13 ± 0.00 (6.91± 1.13 petroleum ether)	-	-	47.4 (597.42 Chloroform)	Toul et al., 2016 (Extraction par méthanol)
-	-	Activité antioxydante totale : 24.318±0.036 mg AAE/g DM (ou 15.283±0.022 mg GAE/g DM)	β-carotene assay: 0.415±0.020	Reducing power: 0.127±0.001	0.164±0.001	Belyagoubi et al., 2016 (Extraction par méthanol)

I.4.3. Contenance en huiles essentielles

La composition chimique qualitative et quantitative et le rendement en huiles essentielles du pistachier d'Atlas varie selon les origines géographiques des semences, les conditions climatiques, les stades de maturité, type d'organe (feuille, fruit, galle, etc.) et le sexe (mâle ou femelle) (Tableau 3). Les hydrocarbures et les monoterpènes oxygénés sont les principaux constituants chimiques de l'huile essentielle.

Tableau 3: Les composants majeurs et le rendement des huiles essentielles des fruits du pistachier d'Atlas de différentes provenances

Origine	Rendement (%)	Composants majeurs (%)	Références
Maroc	0.8	bornyl acetate (21.5%)	Barrero et al. (2005)
Grèce	0.20–0.2	Terpinen-4-ol (25.7, 8.9%), Myrcene (20.2, 34.5%) et Sabinene (14.9, 19.5%)	Tzakou et al. (2007)
Algérie	0.39	α -pinene (50.6%), β -pinene (13.5%)	Mecherara-Idjeriet al. (2008); Sifi et al. (2015)
Californie	-	Sabinene (46.1%), β -Myrcene (30.4%)	Roitman et al. (2011)

I.5. L'état des ressources génétiques

Le genre *Pistacia* comprendrait onze espèces réparties essentiellement dans la région méditerranéenne, en Asie occidentale et centrale et au Moyen-Orient (Zohary, 1952). Parmi cet ensemble, le pistachier d'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica*) reste l'une des espèces sauvages les plus répandues dans les aires de localisation du genre (Zohary, 1952). Il a été démontré que ces espèces telles, *Pistacia atlantica* Desf., *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia khinjuk*, *Pistacia palaestina* et *Pistacia lentiscus* L. peuvent s'hybrider naturellement à travers les croisements interspécifiques et même avec l'espèce cultivée, *Pistacia vera* L. (Al-saghir, 2010).

La conservation du patrimoine génétique du genre *Pistacia* et particulièrement le pistachier d'Atlas impose une prospection et une évaluation de la variabilité génétique qu'englobe l'espèce en Algérie. Les principaux travaux traitant ce domaine se sont axés particulièrement sur une évaluation morphologique et ou biochimique par les biomolécules fournies par cette espèce (huiles essentielles et lipides). Cependant, peu de travaux ont concerné une évaluation basée sur l'outil moléculaire invariable pour la plupart des marqueurs utilisés. Ces dernières manipulations

concernent de façons restreintes certaines régions (El Zerey-Belaskri et al., 2018) et s'avèrent insuffisantes pour un balayage de l'ensemble des habitats de cette espèce.

A travers le monde on relève une nette progression des travaux réservés à l'évaluation de la diversité génétique au sein du genre *Pistacia* dans les aires de sa répartition. Ils englobent ceux réalisés en Turquie (Turkeli et Kafkas, 2013; Kafkas and Perl-Treves, 2001; Kafkas et al., 2001; Kafkas and Perl-Treves, 2002), en Iran (Shanjani et al., 2009; Pazouki et al., 2010; Esfandiyari et al., 2011; Shahghobadiet al., 2018) et en Syrie (Ibrahim Basha, 2007; Karimi et al., 2009).

Partie II- Etude physiologique de la germination

II.1. La maturité physiologique et la vie latente des graines

La maturité physiologique des graines et l'entrée en vie latente est une étape déterminante dans le cycle de la morphogénèse des plantes. Le mode de son accomplissement s'avère déterminant dans la germination des graines et par conséquent la multiplication des végétaux. La maturité physiologique repose sur les aspects biologiques déterminant la formation des différents constituants de la graine, principalement l'embryon et les réserves indispensables à sa survie et son développement lors de la germination. Ces processus biologiques s'accompagnent d'une déshydratation induite par des processus physiologiques, indispensables à l'établissement de la vie latente au niveau de la graine, permettant sa conservation et déterminant sa longévité. Selon leurs teneurs en eau à maturité, les graines se distinguent en trois catégories, orthodoxes, intermédiaires et récalcitrantes (Roberts, 1973; Ellis et al., 1990; Hong et al., 1996). Les graines orthodoxes sont celles qui peuvent être séchées jusqu'à un faible taux d'humidité (5% de teneur relative en eau) sans perte de viabilité et leur durée de conservation augmente si l'humidité relative et la température du lieu de stockage sont abaissées. Les graines récalcitrantes sont riches en eau à maturité et qui contiennent de 20 à 50 % de teneur relative en eau selon les espèces. Elles ne peuvent pas être séchées en dessous d'un taux d'humidité relativement critique. Cela signifie que l'humidité des semences est un facteur critique déterminant de la viabilité et la longévité des semences récalcitrantes et orthodoxes. Les graines intermédiaires sont celles dont la longévité augmente lorsque leur teneur en eau diminue jusqu'à être en équilibre avec l'air à 20°C et 40 à 50 % d'humidité relative, mais elle diminue à des teneurs en eau plus basse (Ellis et al., 1990 ; Hong et al., 1996).

La longévité des graines est un caractère multigénique et une des caractéristiques fondamentales pour la propagation des espèces et la préservation de la biodiversité (Clerkx et al., 2004).

La quiescence ou l'écodormance est une phase de repos qui s'installe après la maturation des graines et se termine par la germination lorsque les conditions physiologiques et environnementales sont favorables. La durée maximale de cette phase correspond à la longévité des graines, qui perdent sa capacité germinative au-delà de cette durée. Elle dépend de l'espèce considérée mais aussi des conditions de stockage (température et humidité) (Gimeno-Gilles, 2009).

II.2. La germination

II.2.1. Les aspects physiologiques de la germination

Le développement des graines varie selon de nombreux paramètres environnementaux et génétiques. La germination des graines est influencée par les facteurs intrinsèques (la dormance, la perméabilité du testa à l'eau et à l'oxygène, la qualité des graines, etc.) et les facteurs environnementaux (eau, oxygène, température, lumière) (Bove et al., 2001). Elle nécessite la mobilisation des réserves énergétiques qui sont de nature soit glucidique, lipidique et/ou protéique selon les espèces, accumulées au cours de la maturation (Mihoub et al., 2005). Différents travaux de recherche ont pour objectif d'améliorer la qualité et la quantité de ces réserves.

La germination est une phase physiologique pendant laquelle la graine passe de l'état de vie ralentie à l'état de vie active (Caboche et al., 1998). Elle est définie comme la somme des événements qui commence par l'étape cruciale d'absorption d'eau (Othman, 2005), appelée phase d'imbibition cours de laquelle les tissus se réhydratent rapidement avec une augmentation de l'activité respiratoire qui se traduit par une forte reprise de l'activité métabolique. Une deuxième phase correspond à la germination *stricto sensu*, au cours duquel les cellules contenant les réserves entrent en expansion. Elle se caractérise par un ralentissement de la prise d'eau et de l'activité respiratoire. L'accumulation de réserves se traduit par une augmentation importante du poids sec et une diminution de la concentration en eau, bien que la graine ne perde pas d'eau à ce stade (Bewley, 1997) (Figure 3). La dernière phase correspond à l'allongement de la radicule dite phase de croissance et amorce de la mobilisation des réserves. Une nouvelle absorption d'eau et une intensification de l'activité respiratoire due à la biogénèse de mitochondries. Cette dernière

étape est située entre la maturité physiologique (fin de remplissage) et la maturité de récolte (abscission du fruit). Elle peut même se poursuivre au-delà de l'abscission et est fondamentale pour assurer à la graine sa qualité physiologique et notamment sa longévité. Elle se termine par l'allongement de l'axe embryonnaire et l'émergence de la radicule à travers les structures qui entourent l'embryon (Shereena et Nabeesa, 2006).

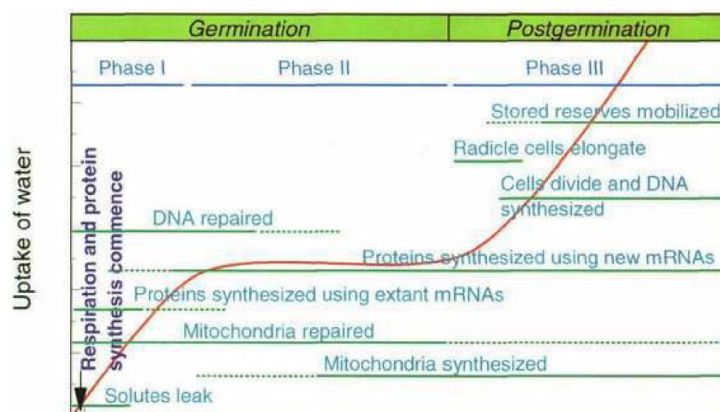


Figure 3 : Différentes phases de prise d'eau et de respiration pendant la germination (Bewley, 1997).

II.2.2. Les obstacles de la germination

Ce sont les phénomènes qui empêchent la levée de la vie latente et la germination d'une graine placée dans des conditions favorables pour ce processus (Mazliak, 1982). Cette inaptitude peut être d'origine tégumentaire et/ou embryonnaire, due à des substances chimiques associées aux graines ou à une dormance complexe (Figure 4) (Bensaid, 1985).

La dormance est un stade important dans le cycle de vie des plantes. C'est un état provisoire dans lequel des graines viables ne peuvent pas germer même dans des conditions favorables (Hilhorst et Koornneef, 2007). Elle est classée selon la morphologie de la graine d'une part et le moment où elle est acquise d'autre part. C'est un état de repos profond qui se produit sous l'influence des facteurs endogène ou exogène selon qu'elle trouve sa cause respectivement dans l'embryon lui-même ou dans les tissus qui l'entourent (en général albumen et tégument) (Baskin et Baskin, 2004).

La dormance exogène est la conséquence d'une résistance physique, chimique ou mécanique des enveloppes entourant l'embryon, tandis que, la dormance endogène est elle-même subdivisée en deux groupes, morphologique résulte du fait que l'embryon n'a pas les organes nécessaires à sa

germination et physiologique qui résulte d'un blocage réversible de la germination d'un embryon pourtant totalement développé (Kucera et al., 2005).

Les enveloppes séminales assurent la protection des graines mais dans de nombreux cas ils constituent des obstacles plus ou moins efficaces au passage de l'eau (barrière physique) ou de l'oxygène (barrière chimique) et leur action sur la germination peut être très importante par l'imperméabilité à l'eau et piégeage de l'oxygène par la présence des composés phénoliques. L'inhibition de la germination par ces composés constituerait également l'une des principales stratégies de survie des semences (Mazliak, 1982).

Lorsque l'embryon isolé (séparé des téguments) ne germe pas dans des conditions favorables de germination il s'agit alors de son incapacité et cette dormance est de type embryonnaire. L'embryon peut être dormant au moment de la récolte des semences, il s'agit de «dormance primaire». Dans d'autre cas, l'embryon est capable de germer mais il perd cette aptitude sous l'influence de divers facteurs défavorables à la germination ou par des facteurs actifs comme la néosynthèse d'ABA endogène ou de métabolites secondaires, on parle alors de «dormance secondaire» ou dormance induite (Chaussat et Ledeff, 1975; Baskin et Baskin, 2004 ; Faria et al., 2005 ; Finch-Savage et Leubner-Metzger, 2006).

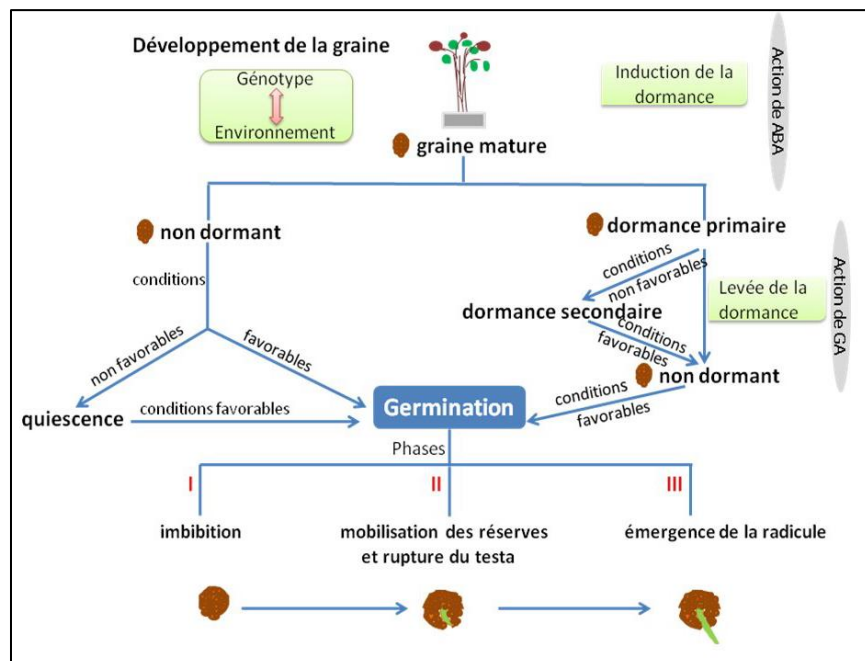


Figure 4 : Influence des conditions environnementales sur le développement, la dormance et la germination de la graine (Aya et al., 2011).

II.2.3. Les méthodes de levée de la dormance des semences

La levée de dormance est définie par divers mécanismes incluant des interactions complexes entre l'environnement et les facteurs internes (Finkelstein et al., 2008). Plusieurs techniques variant selon l'espèce et la nature de la dormance, sont exigées pour lever la dormance.

II.2.3.1. La scarification

C'est tout procédé qui consiste à une élimination mécanique des téguments afin de faciliter les échanges entre l'embryon et l'environnement (Hartmann et al., 1997). Trois types de traitements sont généralement employés pour scarifier les graines, la scarification mécanique, incluant souvent l'utilisation de papiers sablés ou manuellement, chimique à l'aide de l'acide sulfurique et thermique à l'eau bouillante (Hartmann et al., 1997 ; Bacchetta et al., 2006).

II.2.3.2. Trempage dans l'eau

Cette voie humide permet de combiner les effets du ramollissement des téguments durs et du lessivage des inhibiteurs chimiques dans l'eau.

Certaines semences nécessitent pour germer un trempage pendant 24 heures dans de l'eau à température ambiante (Kemp, 1975). Ce traitement est recommandé après la scarification manuelle, mécanique ou chimique de certaines semences.

Le traitement à l'eau chaude a donné de bons résultats avec certaines semences. Les graines sont habituellement plongées dans l'eau bouillante pendant environ 12 heures et retirées immédiatement après refroidissement (Kemp, 1975).

II.2.3.3. Traitement à l'acide

Le produit chimique le plus fréquemment employé pour lever la dormance tégumentaire est l'acide sulfurique concentré. La durée de trempage varie selon les types des graines ou leurs durées de stockage, les semences conservées longtemps requièrent habituellement une plus longue immersion dans l'acide que les graines fraîches (Kemp, 1975).

II.2.3.4. Traitement à l'eau oxygénée

Trois modes d'action de l'eau oxygénée sont suggérés, la stérilisation, la macération et la nutrition (Nicholls, 2007). L'action stérilisante de l'eau oxygénée consiste à l'élimination de

divers agents pathogènes de la flore microbienne du milieu qui entravent généralement les processus de germination des graines (Lee et al., 2007). La macération est une action de perméabilisation des téguments des graines (Heller et al., 2006). Elle facilite l'entrée des molécules d'eau ou d'oxygène jusqu'au niveau de l'embryon, et permet l'enclenchement des mécanismes de germination des graines traitées (Limami et al., 2008; Lepengue et al., 2012).

L'action nutritionnelle de l'eau oxygénée est liée à sa formulation moléculaire. En effet, par la nature de ses atomes structuraux, l'eau oxygénée constitue un substrat potentiel de plusieurs enzymes, notamment les catalases, les cytochromes P450, les flavines monooxygénases et les peroxydases (Nicholls, 2007). Son oxydation permet de libérer des molécules d'eau (H_2O) et d'oxygène (O_2), nécessairement vitales aux graines en voie de germination (Heller et al., 2006).

L'accumulation de H_2O_2 et d'autres ROS a été identifiée dans la physiologie des semences pendant l'imbibition. Les ROS sont souvent reconnues comme une source principale de détérioration des semences associée à une perte de vigueur des semences et comme une répercussion du vieillissement (Kumar et al., 2015). L'absorption d'eau par les semences est fondamentale pour la réactivation des processus métaboliques, elle s'accompagne de la génération de ROS (en particulier de H_2O_2) (Figure 5). A l'état hydraté, une augmentation intense de l'activité respiratoire stimule par les activités des voies β -oxydation et par des enzymes telles que les NADPH oxydases, les peroxydases extracellulaires et les oxydases oxalate. Les niveaux d' H_2O_2 sont également contrôlés avec précision par des mécanismes antioxydants. Les fonctions de signalisation du H_2O_2 et la corrélation avec d'autres molécules et phytohormones et l'oxydation sélective des protéines et de l'ARNm jouent un rôle clé dans la régulation de la germination. Ainsi, le peroxyde d'hydrogène interrompt directement la dormance et peut présenter des propriétés antimicrobiennes (Wojtyla et al., 2016).

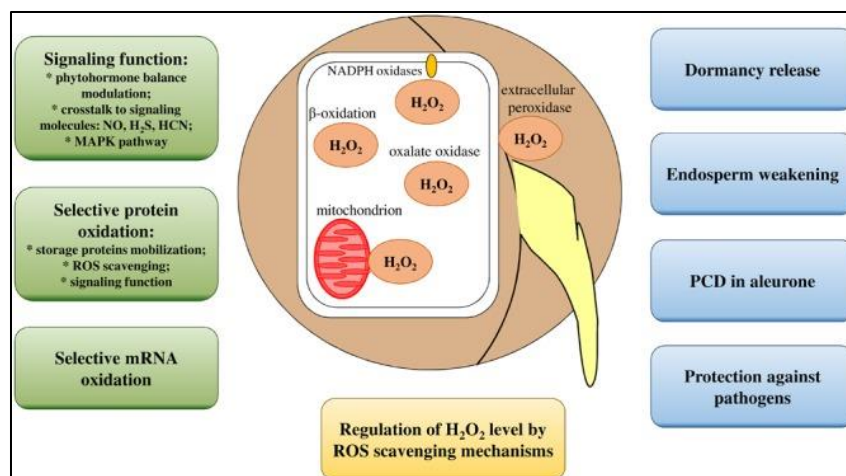


Figure 5 : Illustration des fonctions de H_2O_2 pendant la germination des semences (Wojtyla et al., 2016).

II.2.3.5. Le traitement par la chaleur sèche et le feu

La scarification peut se faire par des chocs thermiques, ou par passage du feu. C'est surtout le cas des semences dans les régions qui se caractérisent par une saison sèche et une saison de pluie où le feu s'avère un puissant moyen naturel d'interruption de la dormance tégumentaire. Un feu faible à modéré, tel celui qui est associé aux incendies précoces contrôlés, rétablit la perméabilité du tégument et favorise la germination. Certaines semences peuvent germer à haute température, ce qui explique leurs résistances élevées au passage du feu (Laurie, 1974).

II.2.3.6. La stratification

La stratification est une technique employée principalement pour lever la dormance primaire morphologique, physiologique et morpho-physiologique (Geneve, 2003). Le processus de la stratification consiste à incuber les graines en conditions humides et à température basse ($0-10^\circ C$). L'efficacité de la stratification est variable selon l'espèce (Andersson et Milberg, 1998 ; Vincent et Roberts, 1977). Elle joue un rôle dans la transformation de réserves nutritives à la forme soluble (Bell, 1999), la promotion de la synthèse de GA (Moore et al., 1994), l'augmentation de la perméabilité du tégument et la maturité de l'embryon (Hennion et Walton, 1997) et la promotion de l'émergence de la racine par l'affaiblissement des structures environnantes (Downie et al., 1997).

II.3. Les réserves des graines oléagineuses et leur remobilisation au cours de la germination

II.3.1. Les réserves lipidiques

Les lipides représentent une importante forme de réserve carbonée dans les graines oléagineuses et qui s'accumulent principalement sous forme de Triacylgcérols (TGs). Ces derniers représentent la source principale du carbone et d'énergie mobilisée durant la germination (Kaup et Froese, 2002 ; Kim et al., 2002). Le carbone réduit présent dans les lipides de réserve est soit oxydé pour fournir l'énergie nécessaire au développement de la plantule, soit transporté vers l'embryon (sous forme glucidique) pour fournir les chaînons carbonés nécessaires à la croissance (Huang et Grunwald, 1990 ; Wanasundara et al., 1999 ; Graham, 2008 ; Quettier et Eastmond, 2009).

II.3.1.1. Synthèse des acides gras

Les acides gras sont des acides carboxyliques à chaîne aliphatique de longueur variable. Il existe trois familles d'acides gras, saturés, mono-insaturés et polyinsaturés. Les doubles liaisons des acides gras insaturés sont réactives et facilement oxydables pour former des peroxydes et des acides carboxyliques (Bonjean, 1991).

La biosynthèse des acides gras est initiée dans les plastes des graines (Ohlrogge et al., 1979). Elle se déroule en plusieurs phases, l'activation, formation/élongation et la désaturation et le transport.

Les carbones du précurseur métabolique des acides gras (acétyl-CoA) proviennent du pyruvate et des hexoses. La synthèse des acides gras se fait à partir de l'acétyl-CoA et du malonyl-CoA dans les plastes (jusqu'à 18 carbones). Pour produire ces acides gras à 16 ou à 18 carbones, 30 réactions enzymatiques sont nécessaires à partir de ces deux précurseurs métaboliques. La synthèse des acides gras se fait par intervention de plusieurs complexes enzymatiques tels que, l'acétyl-CoA carboxylase (ACCase) et la fatty acid synthase (FAS) (Baud et Lepiniec, 2010; Bates et al., 2013; Sidorov et Tsydendambaev, 2014).

Les acides gras insaturés sont synthétisés par l'insertion séquentielle de doubles liaisons dans les dérivés d'acides palmitique et stéarique. Le premier de ces événements de désaturation est effectué dans les chloroplastes par la stéaroyl-ACP désaturase soluble. Par la suite, pour synthétiser les acides gras 16:2/18:2 et 16:3/18:3 qui sont essentiels pour les membranes de

plantes, une deuxième et une troisième double liaison sont introduites par $\Delta 12$ et ω -3 désaturases membranaires, respectivement (Venegas-Calero et al., 2006). Une fois synthétisées, ces molécules sont, en grande majorité, exportées vers le réticulum endoplasmique.

Le degré d'insaturation des acides gras joue un rôle important dans la composition de la susceptibilité des systèmes lipidiques à l'oxydation (Kamal-Eldin et Andersson, 1997).

L'auto-oxydation des acides gras qui se fait à l'air libre, lors d'augmentation de la température, par contact avec la lumière ou l'oxygène et les métaux comme le fer et le cuivre, des radicaux libres sont créés. Ces radicaux, qui ont une grande affinité pour se lier à l'oxygène, se transforment en radicaux peroxyde et éventuellement en hydroperoxydes. Ces derniers libèrent des peroxydes qui sont ensuite transformés en aldéhydes et acides, responsables des saveurs rances indésirables et des odeurs désagréables (Gray, 1978) et par la siccativité lorsque le dioxygène se fixe sur la chaîne, entraînant la polymérisation de l'acide gras en vernis et solides imperméables.

II.3.1.2. Mobilisation des triacylglycérols au cours de la germination

Lors de la germination, les triacylglycérols sont hydrolysés par les lipases en acides gras et glycérol (Figure 6). La lipolyse de ces triacylglycérols libère des acides gras qui sont activés en acyl-CoA dans le cytosol et sont importés dans le glyoxysome où ils sont dégradés par la β -oxydation. L'acétyl-CoA est condensé en des composés à 4 atomes de carbones via le cycle glyoxylique. Ces composés sont alors transportés vers la mitochondrie, où ils peuvent être convertis en malate. Ce malate est ensuite transporté vers le cytosol en échange de succinate et est transformé en oxaloacétate par la malate déshydrogénase cytosolique. La carboxykinase catalyse la conversion de l'oxaloacétate en Phosphoénolpyruvate (PEP), ce qui alimente la synthèse des glucides solubles par gluconéogenèse (Figure 6). Plusieurs études ont montré que, lorsque le cycle du glyoxylate est actif dans la germination des graines oléagineuses, l'activité des étapes décarboxylatives du cycle TCA sont supprimées, ce qui favorise la synthèse des glucides plutôt que la respiration. Le glycérol quant à lui est phosphorylé et entre en gluconéogenèse après sa conversion en dihydroxyacétone phosphate (Eastmond et Graham, 2001 ; Graham, 2008).

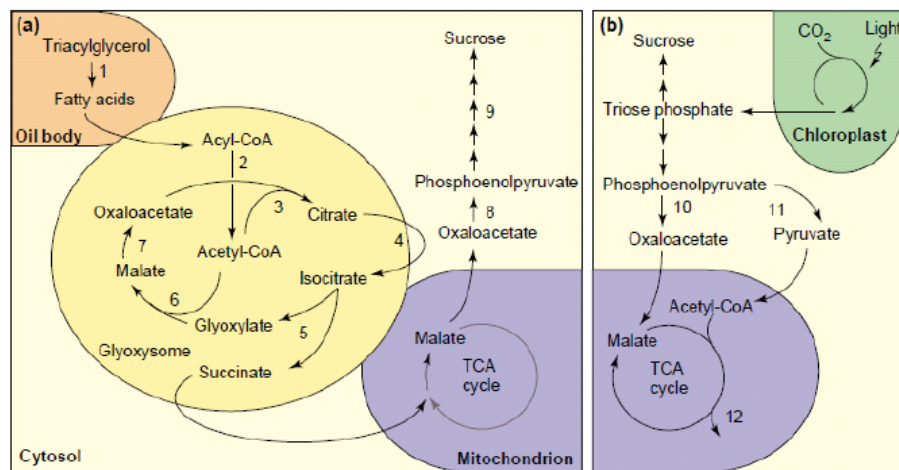


Figure 6 : La transition métabolique de (a) hétérotrophe à (b) croissance photoautotrophique pendant la croissance post-germinative des graines oléagineuses (Eastmond et Graham, 2001).

Les nombres représentent les enzymes et les réactions catalysées par celles-ci: 1. triacylglycerol lipase; 2. β -oxydation des acides gras ; 3. citrate synthétase; 4. aconitase; 5. Isocitrate lyase; 6. malate synthétase; 7. malate déshydrogénase; 8. phosphoénolpyruvate carboxykinase; 9. gluconéogénèse; 10. Phosphoénolpyruvate carboxylase, 11. Pyruvate kinase; 12. Voies de biosynthèse (p. ex. acides aminés, purines, pyrimidines et chlorophylle).

II.3.1.3. Les phytostérols

Les phytostérols ou stérols végétaux constituent le groupe le plus vaste des triterpènes structurellement semblables au cholestérol (Mäeorg et al., 2007). Ils sont synthétisés dans le cytosol, ensuite localisés dans les membranes lipidiques cellulaires sous la forme libre (β -OH en C3) (Schaller, 2003). Les phytostérols se trouvent principalement sous forme de stérols libres ou d'esters stériques d'acides gras dans les huiles végétales (Yuan et al., 2017).

Les phytostérols jouent un rôle important dans la structure et le fonctionnement des membranes cellulaires. Ils participent activement aux contrôles des processus métaboliques et servent à stabiliser les bicouches phospholipidiques (Moreau et al., 2002 ; Lindsey et al., 2003). D'autre part, ils permettent ainsi de rigidifier et de contrôler le niveau de fluidité des membranes cellulaires (Schaller, 2003) en ayant la capacité de restreindre la mobilité des chaînes acyles des graisses (Hartmann, 1998). Leur accumulation dans les graines constitue un réservoir permettant la division, la différenciation et la prolifération des nouvelles cellules ainsi que dans la fertilité en facilitant la germination du tube pollinique (Clouse, 2002). En plus de ces fonctions, les

phytostérols ont un effet antioxydant des sur l'huile (Yoshida et Niki, 2003). La synthèse et l'accumulation des phytostérols au niveau des graines dépendent des facteurs environnementaux. Ainsi, les hautes températures (Palta et al., 1993; Roche et al., 2006 ; 2010 ;Senthil-Kumar et al., 2013) et la sécheresse (Roche et al., 2006) favorisent ces deux processus.

II.3.2. Les composés phénoliques

II.3.2.1. Synthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques dont le teneur est très variable et dépend des paramètres génétiques, physiologiques et environnementaux (Faller et Fialho, 2010), sont des métabolites secondaires possédant un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (Ignat et al., 2011). Les différents composés phénoliques sont issus du métabolisme primaire et notamment de deux acides aminés aromatiques, la phénylalanine et la tyrosine. Chez la plante, ils sont impliqués dans le développement, la croissance cellulaire, la différenciation, l'organogenèse, la floraison, la lignification, la protection et la reproduction par l'attraction des prédateurs (Balasundram et al., 2006 ; Sarmi et Cheymer, 2006).

II.3.2.2. Impact des composés phénoliques sur la germination

De nombreux composés phénoliques sont inhibiteurs de la germination soit dans les conditions naturelles où ils participent alors aux relations allélopathiques entre les végétaux, soit lorsqu'ils sont apportés de manière exogène dans le milieu expérimental (Reigosa et al., 1999). Les téguments des graines matures sont généralement riches en composés phénoliques qui leur confèrent une couleur brune lorsqu'ils sont oxydés (Vasconcelos et al., 2010). L'un des rôles de cette accumulation serait d'inhiber la germination des graines dans le péricarpe du fruit (Varga et Koves, 1959). Dans certains cas, un mécanisme relativement simple peut être proposé pour comprendre l'action des polyphénols tégumentaires, ces composés priveraient l'embryon d'un apport optimal d'oxygène en le piégeant au passage en raison de leur propre oxydation (Macheix et al., 2005).

En effet, la capacité de ces molécules à s'oxyder facilement piège l'oxygène qui ne peut plus parvenir à l'embryon, c'est le cas de l'acide caféique qui est un puissant inhibiteur de la

germination. Parmi ces composés, les pro-anthocyanidines, à travers l'inhibition de la synthèse d'ATP, inhibent le développement des plantes et la germination des graines (Rawat et al., 1998).

Selon Briggs (1992), les tanins agissent comme antagonistes de la gibbérelline. L'existence de liaisons réversibles entre l'acide gibbérellique et divers composés phénoliques a été établie. Elle peut expliquer l'effet inhibiteur des tannins sur la germination et la disparition apparente des gibbérellines de la surface des graines.

II.3.2.3. L'activité antioxydante

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule, des concentrations non cytotoxiques de ROS.

L'effet antioxydant est principalement dû aux composants phénoliques, tels que les flavonoïdes (Pietta, 1998), les acides phénoliques et les diterpènes phénoliques (Shahidi et al., 1992). L'activité antioxydante des composés phénoliques est principalement due à leurs propriétés redox, qui peuvent jouer un rôle important dans l'absorption et la neutralisation des radicaux libres, l'extinction de l'oxygène singulet et triplet, ou les peroxydes en décomposition (Osawa, 1994).

Les propriétés antioxydants des composés phénoliques sont liées à leur haute réactivité en tant que donneurs d'hydrogènes et d'électrons et pour leur capacité à stabiliser et délocaliser les électrons non appariés (Blokhina et al., 2003). On attribue aussi aux antioxydants la capacité de piéger les ions métalliques comme le fer, le cuivre, le zinc et le magnésium (Wijeratne et al., 2005). À la suite des réactions d'oxydation des composés phénoliques se forment des radicaux libres, espèces instables et nocives pour la cellule.

Partie III-La diversité génétique

III.1. Définition de la diversité génétique

La diversité ou la variabilité génétique se définit comme les différences génétiques entre individus d'une espèce, qualifiées de polymorphisme génétique. Ces variations représentent un capital adaptatif, indispensable à la survie de l'espèce aux variations de l'environnement.

La description de la diversité génétique à différents niveaux hiérarchiques d'organisation peut grandement bénéficier à la biologie des populations et à la biologie de l'évolution. Les facteurs abiotiques, tels que le climat ou les sols, façonnent la constitution génétique des individus, des populations et espèces à différentes échelles spatiales (Turner et al., 2010 ; Fischer et al., 2013).

La variation peut être évaluée au niveau phénotypique et ou génotypique.

L'évaluation de la variation phénotypique se concentre sur les traits morphologiques définissant la forme et l'aspect d'un ensemble d'individus. Ces traits morphologiques devraient être des caractères mendéliens, c'est-à-dire qu'ils devraient être héréditaires et pas, ou très peu, affectés par l'environnement. En effet, l'expression phénotypique d'un génotype dépend des conditions environnementales dans lesquelles se sont développés les individus. Pour la plupart des caractères, le phénotype résulte des effets conjoints de trois influents, le génotype, l'environnement et leur interaction.

L'évaluation de la variation génotypique est effectuée au niveau de l'ADN par des marqueurs moléculaires (De Vicente et Fulton, 2003), qui sont utiles dans les recherches sur la diversité génétique des plantes et la structure génétique des espèces (Becerra et Paredes, 2000).

La diversité génétique décrit la variabilité des gènes entre ou à l'intérieur des espèces et de leurs populations. Quand on parle de biodiversité, on pense principalement à la diversité des espèces, mais il existe également une importante diversité génétique au niveau intraspécifique au sein de chacune des espèces, entre différentes populations (inter-population) (détection de l'isolement des populations et des flux de gènes entre populations), et entre les individus d'une même population (intra-population).

III.2. Notion de phylogéographie et l'analyse de la structuration de la diversité génétique

Les distributions actuelles des espèces résultent à la fois de conditions climatiques et biotiques (qui déterminent les possibilités de survie et de reproduction) et également de facteurs historiques (glaciations du quaternaire). La notion de phylogéographie, développée par Avise en 1987, consiste à étudier les relations entre la phylogénie de variant (déterminés à l'aide de marqueurs moléculaires) et leur distribution géographique afin de vérifier si les populations les plus proches géographiquement le sont aussi phylogénétiquement (on parle alors d'une structuration phylogéographique et non simplement géographique) (Grivet, 2002).

La structuration génétique au sein d'un ensemble de populations a été décrite au niveau allélique par les statistiques F de Wright (1965). Cet indice aussi appelée indice de fixation (Nei et Chesser, 1983), permet de calculer la différenciation génétique entre populations (F_{ST}) (Wright 1969; Weir et Cockerham, 1984). La distance génétique entre deux populations croît avec les différences de fréquences alléliques entre elles. Elle est nulle pour deux populations ayant des fréquences alléliques rigoureusement identiques à tous les locus observés et elle est maximale pour deux populations qui n'ont aucun allèle en commun. Cet indice est calculé selon la formule, $F_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$. Avec H_S qui représente une moyenne arithmétique de la diversité génétique sur l'ensemble des locus, calculée à partir de la diversité monolocus (h_s) par sous-population. H_T est l'hétérozygotie attendue pour une population globale, obtenue par une moyenne arithmétique de la diversité génétique monolocus sur la population totale (h_t).

Le coefficient de la différenciation génétique (G_{ST}), défini par Nei et équivalent au F_{ST} de Wright, indique la part de la variabilité totale au sein d'un ensemble de populations par des différences moyennes entre populations (Rognon et verrier, 2007).

Une méthode permettant de mettre en évidence une structure phylogéographique a été proposée par Pons et Petit (1996). Elle consiste à comparer le coefficient de différenciation entre populations (G_{ST}) et celui obtenu en prenant en compte la similarité entre allèles (N_{ST} , Lynch et Crease, 1990).

Les matrices de distances génétiques peuvent alors être comparées à des matrices de distances (géographiques ou écologiques) entre sites afin d'évaluer leur corrélation (Kim et al., 1997). Le test de Mantel (Mantel, 1967; Smouse et al., 1986) permet d'évaluer cette corrélation par régression entre matrices à expliquer (distance génétique) et matrices explicatives (distance

géographique ou écologique). Elle va permettre de renseigner si les individus les plus proches géographiquement sont aussi les plus proches génétiquement.

III.3. L'utilisation de l'outil moléculaire pour l'évaluation de la diversité génétique

Plusieurs marqueurs moléculaires ont été utilisés pour évaluer la diversité génétique et les relations entre les espèces et les cultivars de *Pistacia* (Pazouki et al., 2010 ; Arabnezhad et al., 2011 ; Ziya et al., 2016). Parmi ces techniques, figurent les répétitions simples de séquences (SSR), qui sont des marqueurs spécifiques et hautement polymorphes (Ahmad et al., 2003), mais qui nécessitent une connaissance préalable de la séquence génomique pour concevoir des amorces spécifiques. En outre, d'autres méthodes ont été utilisées, telles que le polymorphisme amplifié lié à la séquence (SRAP), les loci polymorphes microsatellites sélectivement amplifiés (SAMPL) et les inter répétitions de séquences simples (ISSR) (Kafkas et al., 2006 ; Ahmadi-Afzadi et al., 2007 ; Fares et al., 2009 ; Noroozi et al., 2009 ; Karimi et Kafkas, 2010; Tagizad et al., 2010 ; Turkeli et Kafkas, 2013).

III.3.1. Le marqueur inter-microsatellites (ISSR)

La technique d'amplification intermicrosatellites (ISSR) est aussi appelée dans la littérature (Pradeep Reddy et al., 2002) par différents noms à savoir, MP-PCR (Microsatellite primed PCR); SSR-anchored PCR (Inter-SSR amplification) ; SPAR (single primer amplification reaction) ; RAMPs (random amplified microsatellite polymorphisms); RAMs (randomly amplified microsatellites); AMP-PCR (anchored microsatellite primed PCR); ASSR (anchored simple sequence repeats). Ces marqueurs ISSR sont hautement polymorphes et sont utiles dans les études sur la diversité génétique des populations, la phylogénie, le marquage des gènes, la cartographie du génome et la biologie de l'évolution (Meyer et al., 1993 ; Zietkiewicz et al., 1994 ; Gupta et al., 1994 ; Wu et al., 1994 ; Hantula et al., 1996 ; Weising et al., 1998 ; Wang et al., 1998 ; Pradeep Reddy et al., 2002; Yin et al., 2002).

Cette technique, principalement développée par Zietkiewicz et al. (1994) et Wu et al. (1994), est basée sur l'amplification par PCR des régions entre les microsatellites et de plus, une connaissance préalable de la séquence d'ADN n'est pas nécessaire (Singh et Singh, 2015). Elle est souvent en complément d'une autre technique (RAPD ou RFLP) ou parfois à des fins de comparaison. Elles présentent l'avantage de donner un grand nombre de marqueurs polymorphes, leur mise en œuvre est également relativement facile, et ne nécessite pas de

connaissance particulière des séquences d'ADN, et que les cibles des amorces sont très abondantes dans le génome des végétaux (Zietkiewicz et al., 1994; Quian et al., 2001; Ye et al., 2008).

III.3.2. L'espaceur interne transcrit (Internal transcribed Spacer (ITS))

L'étude de populations nécessite l'utilisation d'outils permettant d'accéder à la variabilité intra-spécifique. L'intégration des séquences ADN a été mise en pratique dans les études d'écologie. C'est ainsi que, par exemple, Jackson et al. (1999) ont pu étudier l'écosystème racinaire, en identifiant les espèces à partir des séquences de la région nucléaire ITS (Internal Transcribed Spacer).

L'espaceur intergénique transcrit (ITS) est considéré comme conservé au niveau intra-spécifique et variable entre espèces. Plus récemment le séquençage de régions transcrites non-codantes (ITS), largement représentée dans les bases de données, a permis d'étudier des relations phylogénétiques des plantes (Suh et al., 1993; Baldwin et al., 1995). Elle a été proposée comme code-barres ADN chez les plantes (Kress et al., 2005, Chase et al., 2005). L'intégration des séquences ADN a été mise en pratique dans les études d'écologie. Vargas et al. (1999) ont étudié la phylogénie du lierre en séquençant l'ITS d'individus ayant différents niveaux de ploïdie (diploïde, tétraploïde, hexaploïde et octoploïde). Les séquences ITS peuvent être utilisées pour déduire l'apparition d'un ancien événement d'hybridation et des lignées maternelles et paternelles de l'ancêtre (Soltis et Soltis, 1991; Soltis et al., 1995; Baumel et al., 2001; Álvarez et Wendel, 2003).

L'une des séquences les plus populaires pour l'inférence phylogénétique au niveau générique et infragénérique chez les plantes est la région de l'espaceur transcrit interne (ITS) du cistron ribosomique nucléaire 18S-5.8S-26S (Alvarez et Wendel, 2003).

Deux catégories de marqueurs nucléaires peuvent être distinguées, les gènes nucléaires ribosomiques et les gènes nucléaires codant pour des protéines (Avisé et al., 1987). Depuis plus d'une décennie, le séquençage de l'ADN nucléaire ribosomique (ADNnr) est devenu l'un des marqueurs moléculaires les plus utilisés pour la reconstruction de la phylogénie des plantes aux niveaux intra et intergénérique et interspécifique (Soltis et al., 1998 ; Baldwin et al., 1995). Les gènes nucléaires ribosomiques forment un assemblage multigénique, constitué par des unités de gènes répétées en tandem plusieurs dizaines de fois. Les deux espaceurs internes, ITS1 et ITS2 sont situées entre gènes codant pour les gènes 18S (petite sous-unité), 26S (grande sous-unité) et

non codants séparés par l'ARN 5.8S. Ces deux espaceurs (ITS1, ITS2) et 5.8S sont appelées la région ITS (Figure 7).

En raison de leurs niveaux de variation, les ITS fournissent souvent suffisamment de marqueurs moléculaires adaptés aux études évolutives au niveau de l'espèce. Ceux-ci comprennent des sujets tels que l'origine des taxa polyploïdes, l'hybridation, l'introggression et, surtout, l'inférence phylogénétique.

C'est un bon marqueur pour déduire ce qui suit les relations phylogénétiques, y compris : (1) simple à amplifier : la région peut être facilement amplifiée à partir de faibles quantités d'ADN parce qu'il se trouve dans des réseaux de centaines à des milliers d'ADN (Soltis et al., 1998) ; (2) l'universalité : la région ITS est bordée par la région conservée de 18S et 26S, et il a donc été possible de concevoir des amorces universelles pour l'amplification ITS chez les plantes et les champignons (White et al., 1990). En outre, il est également possible de diviser la région des ITS en deux régions plus petites bénéficiant de la partie 5.8S conservée, et en amplifiant séparément l'ITS1 et l'ITS2 (Blattner, 1999). Cette alternative est couramment utilisée lors de la rencontre d'ADN de faible qualité, comme l'ADN de vieux spécimens d'herbier, (3) l'uniformité au niveau intragénomique : due à l'homogénéisation active des copies répétées dans et entre les loci qui ont lieu dans ces régions multi-copies ont tendance à avoir des séquences uniformes parce qu'ils sont soumis à l'ADNr un phénomène appelé " évolution concertée " (Zimmer et al., 1980). En principe, une évolution concertée permet d'éliminer des séquences paralogues, ce qui permet d'inférer une véritable homologie entre les taxons et une homologie exacte reconstruction phylogénétique (Alvarez et Wendel, 2003). Les ITS peuvent aider à identifier les progéniteurs ou les lignées impliquées (Sang et al., 1995); (4) mode d'héritage biparental : puisqu'elle fait partie du génome nucléaire, elle est biparentale. Cela fait de l'ITS un outil précieux pour déduire la réticulation, la spéciation hybride et la filiation des polyploïdes (Alvarez et Wendel, 2003).

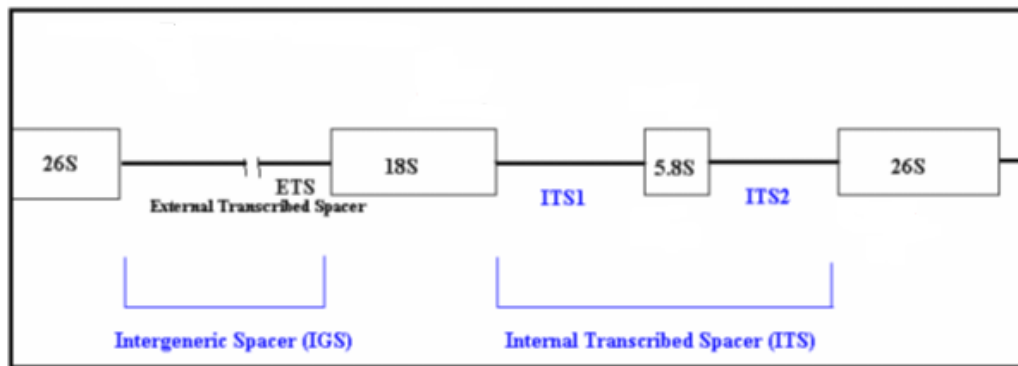


Figure 7 : Structure d'une unité de répétition dans la région de l'ADNr nucléaire. Chaque répétition consiste en External Transcribed Spacer (ETS), suivi de la petite sous-unité ribosomale 18S, puis de la première sous-unité (ITS1), 5.8S, le deuxième espaceur interne transcrite (ITS2), puis l'élément grande sous-unité 26S. Chaque répétition de codage est séparée de l'autre par l'espaceur intergénérique IGS (White et al., 1990 ; Muir et Schlötterer 1999).

III.3.3. Les arbres phylogénétiques

La phylogénétique, du grec *phylon* (tribu, race), et *genetikos* (relatif aux gènes, de *genesis* : naissance) est l'étude des relations évolutives entre les organismes.

Plusieurs méthodes de distances ont été développées et permettent de construire un arbre phylogénétique à partir d'une matrice de distance. Parmi ces méthodes, il existe les algorithmes UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) et Neighbor-Joining (Saitou et Nei, 1987). Les méthodes par parcimonie et celle de maximum de vraisemblance (ou Maximum Likelihood ML), sont basées sur les caractères et s'intéressent au nombre de mutations (substitutions / insertions / délétions) qui affectent chacun des sites de la séquence. Elles sont basées sur un modèle d'évolution des séquences qui est calculé pour chaque alignement. La méthode du maximum de parcimonie (MP) ou cladistique repose sur l'idée que l'histoire évolutive la plus possible est celle qui nécessite un minimum de mutations et n'utilise pas de modèle évolutif particulier. Cette méthode recherche donc parmi tous les arbres possibles, et toutes les séquences possibles aux nœuds internes, la combinaison qui minimise le nombre total de mutations requis pour expliquer les données observées (Ranwez, 2002 ; Dellicour et al., 2014).

La méthode de l'*outgroup* consiste à ajouter aux séquences traitées, avant la construction de l'arbre, un groupe externe (*outgroup*) correspondant à une séquence éloignée. La divergence entre le groupe externe et les autres séquences doit être antérieure à la divergence entre les séquences traitées. Le groupe externe ne doit pas être trop éloigné des séquences traitées sinon cela peut

impliquer des erreurs de topologie car il est difficile dans ce cas d'estimer les distances entre le groupe externe et les autres séquences (Philippe et Germot, 2000). La réalisation des arbres phylogéniques nécessite après amplification des séquences distinctives, le séquençage et l'alignement des séquences obtenues.

III.3.3.1. Le séquençage

À partir des années 70, les techniques de séquençage ont très rapidement évolué. Les études ont d'abord concerné des fragments d'ADN puis des gènes entiers et enfin l'intégralité d'un chromosome. Le séquençage consiste à déterminer la succession de nucléotides composant le brin d'ADN étudié. La méthode de séquençage proposée par Frederick Sanger (Sanger et al., 1977) est universellement employée pour séquencer l'ADN. Depuis 1977, la méthode a considérablement évolué grâce à la mise au point de séquenceurs automatiques et du marquage des nucléotides à l'aide de fluorochromes.

La technique d'identification basée sur le séquençage direct consiste à séquencer un segment d'ADN et à comparer cette séquence avec les séquences connues et stockées en banques de données qui mettent gratuitement à disposition les résultats de très nombreux séquençages déjà effectués. Cela permet d'identifier le taxon étudié et de le classer dans la collection de données. Il est ainsi possible, par exemple, de comparer la séquence inconnue avec celles des banques de gènes homologues afin de déterminer la famille de séquences homologues à laquelle appartient le taxon inconnu.

III.3.3.2. Alignement des séquences

L'alignement de séquences a pour objectif de mettre en correspondance les portions homologues des molécules, afin de retrouver de la façon la plus cohérente possible le signal phylogénétique (Dellicour et al., 2014). Il faut s'assurer que les séquences étudiées sont orthologues et que les nucléotides ayant la même position dans les différentes séquences sont issus d'un même nucléotide ancestral. Cette étape d'alignement des séquences permet par la suite de comparer des nucléotides qui sont effectivement comparables. Aligner les séquences est une étape difficile. En effet, au cours de l'évolution, des nucléotides ont pu être modifiés ou même supprimés tandis que d'autres ont pu être insérés au sein de la séquence (Ranwez, 2002).

La recherche de similarité entre séquences est un élément fondamental qui constitue souvent la première étape des analyses de séquences. Cela consiste à comparer deux séquences en repérant les régions proches entre elles. Pour cela, il faut rechercher les régions qui comptabilisent un maximum de caractères communs et un minimum de changements lorsqu'elles sont alignées. Le taux de similarité permet d'avoir une indication sur l'existence d'une homologie entre les séquences. Plus le taux de similarité entre deux séquences est haut, plus il est probable que ces séquences soient homologues, deux séquences sont homologues si elles ont un ancêtre commun. Lorsqu'une recherche de similarité d'une séquence est effectuée par rapport à l'ensemble des séquences d'une banque de données, il est fréquent de trouver plusieurs séquences présentant une forte similarité avec la séquence étudiée. Pour pouvoir comparer simultanément toutes ces séquences entre elles, il faut aligner ces séquences ensemble et construire ainsi un alignement multiple (Geourjon et Deleage, 1995).

Plusieurs programmes d'alignement multiple global utilisent cette approche tels que CLUSTAL W (Thompson et al., 1994), MULTALIN (Corpet, 1988), MUSCLE (Edgar, 2004), etc.

BLAST (Basic local alignment search tool) méthode de recherche utilisée en bio-informatique permettant de trouver les régions similaires entre deux ou plusieurs séquences de nucléotides ou d'acides aminés et de réaliser un alignement de ces régions homologues.

CHAPITRE II

**Caractéristiques générales géographique et climatique des
zones d'études**

CHAPITRE II : Caractéristiques générales géographique et climatique des zones d'études**1. Introduction**

Les graines du pistachier d'Atlas utilisées dans les différentes manipulations de cette étude proviennent d'écotypes issus de six stations. La localisation de ces dernières s'étend du nord au sud du pays couvrant différents étages bioclimatiques (Tableau 4, Figure 8). L'adoption de cette diversité territoriale se justifie principalement par une couverture aussi large de la variabilité génétique qu'offre cette espèce en Algérie et évidemment, on s'est basée sur l'hypothèse qu'aux variations comportementales correspondent des aptitudes génétiques distinctes. Les zones retenues concernent les régions de Batna, Djelfa, Tiaret, Laghouat et Béchar.

La cueillette des graines utilisées dans les différents essais de cette étude s'était réalisée au cours des années 2014, 2015 et 2016 et s'est étendue du mois de Aout jusqu'au Octobre et ce selon les particularités de chaque zone et l'époque de maturité physiologique de ces entités.

2. Localisation géographique des zones de prospection des écotypes utilisés

Les conditions environnementales soit climatiques tels que les températures, les précipitations ou édaphiques (type de sol) de la zone d'occupation des espèces peuvent essentiellement influencer sur le processus de germination des graines. Leurs influences peuvent être seules ou associés entre eux (Fenner et Thompson, 2005; Cota-Sanchez et Abreu, 2007).

La récolte des graines du pistachier d'Atlas a été effectuée dans six sites algériens choisis le long d'un gradient d'aridité croissante. Ces zones sont caractérisés par des topographies (oued et daya) et texture des sols différentes.

Tableau 4: Altitude, latitude et longitude de six écotypes collectant du pistachier d'Atlas

Codes	Location	Étage bioclimatique	Altitude (m)	Latitude (N)	Longitude (E)
B	Batna (El Madher)	Semi-aride	1027	35°37'10''	6°22'13''
TR	Tiaret (Rechaiga)	Semi-aride	808	35°22'33''	02°09'5''
TZ	Tiaret (Zmalet El Emir Abdel Kader)	Semi-aride	873	34°54'45''	02°13'42''
D	Djelfa (Messaad)	Aride Frais	630	34°02'11''	03°40'22''
L	Laghouat (Sidi Makhlouf)	Aride	909	34°09'11''	03°01'09''
A	Béchar (Mougheul)	Hyperaride	979	32°04'6''	02°18'5''W

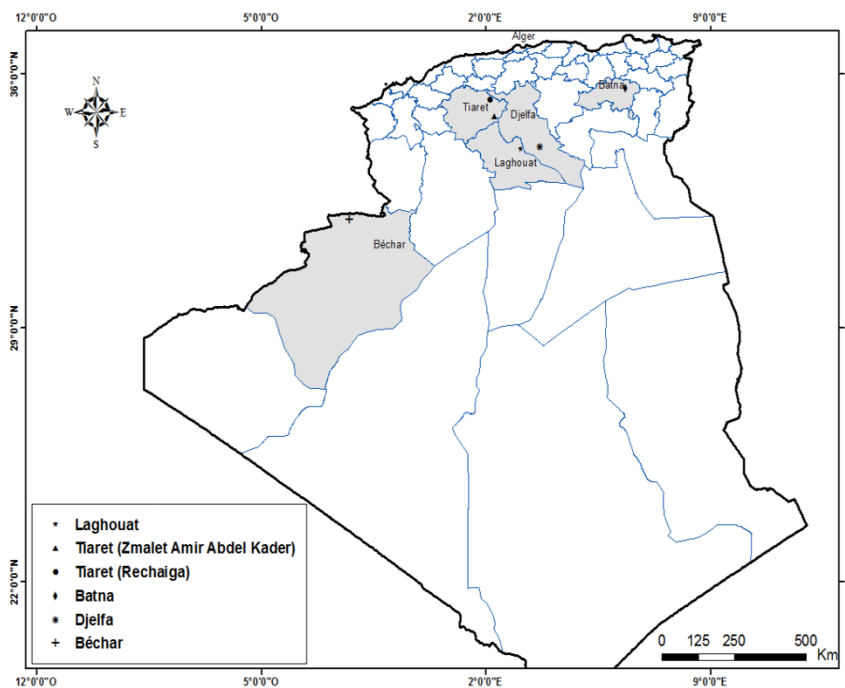


Figure 8 : Carte de la répartition des différentes populations en Algérie.

- La wilaya de Batna

La wilaya de Batna est située au nord-est de l'Algérie. Elle est délimitée au nord par les wilayas de Mila, Oum-El-Bouaghi et Sétif, à l'est par la wilaya de Khenchela, au sud par la wilaya de Biskra et à l'ouest par la wilaya de M'Sila. El Madher, zone de localisation des écotypes de prélèvement des graines (Figures 9, 14) se situe au nord de la wilaya qui appartient à l'étage bioclimatique semi-aride. Le site d'étude est se distingue par un sol à texture argileuse (Khomri et Chabaca, 2019) où s'associent deux principales essences forestières, le genévrier et le pin d'Alep parmi lesquelles s'intègre le pistachier d'Atlas à une densité de peuplement importante au niveau de la région.

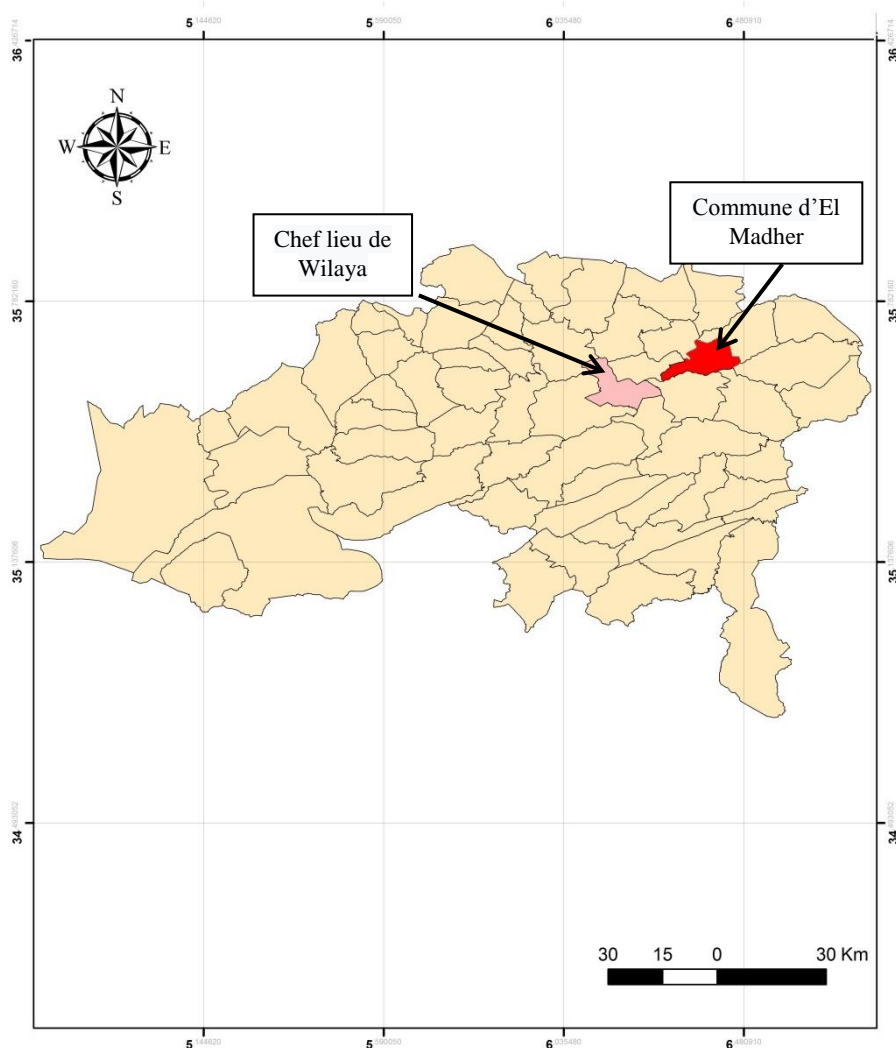


Figure 9 : Commune d'El Madher de la wilaya de Batna.

- **La wilaya de Djelfa**

La Wilaya de Djelfa est localisée dans le centre de l'Algérie. Elle est délimitée par les wilayas de Médéa et de Tissemsilt au Nord, M'Sila et Biskra par l'Est, Laghouat et Tiaret à l'Ouest et au Sud par Ouargla, El Oued et Ghardaïa. Elle appartient à l'étage bioclimatique aride frais. La station de Messaad (Figure 10), zone de collecte des graines se localise dans les dayas (Belhadj et al., 2011) avec une texture limono-argileuse (Ifticene-Habani et Messaoudène, 2016).

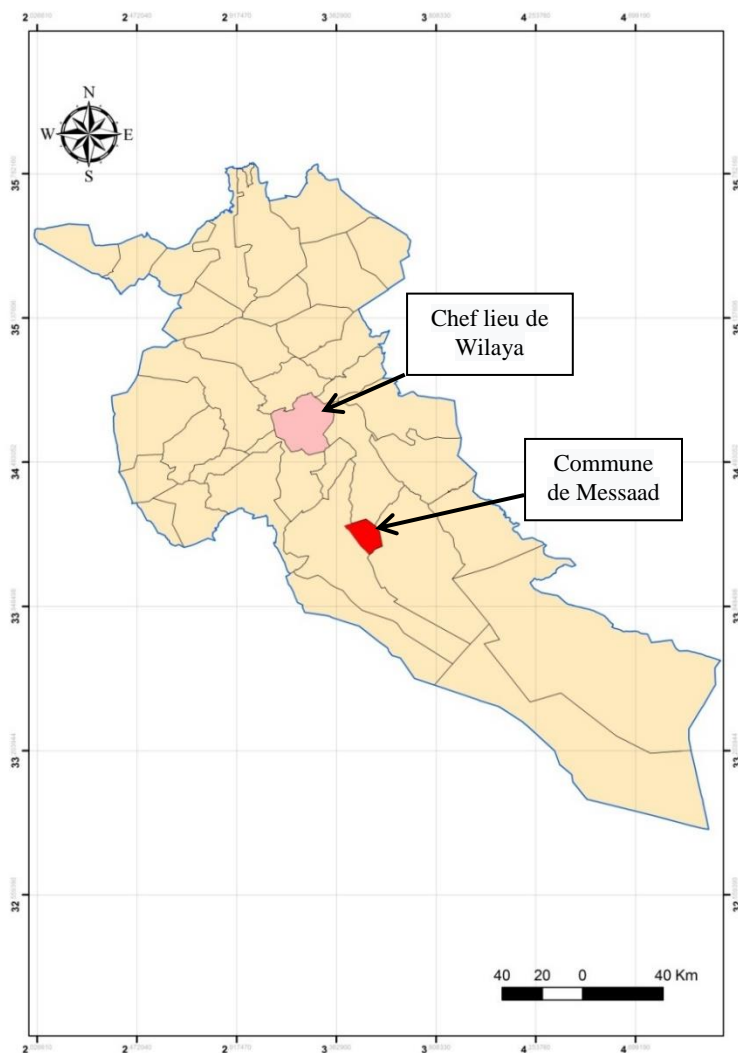


Figure 10 : Localisation de la commune de Messaad dans la wilaya de Djelfa.

- La wilaya de Tiaret

La wilaya de Tiaret est située au Nord-Ouest d'Algérie, dans les hauts plateaux. Elle est délimitée par les wilayas de Tissemsilt et Relizane au Nord, Laghouat et El-Bayadh au Sud, Mascara et Saida à l'Ouest et la wilaya de Djelfa à l'Est. Elle appartient à l'étage bioclimatique semi-aride. Les deux stations ayant servis à la collecte des graines se localisent à l'Est de la wilaya (Figure 11). La première population est située à Rechaiga où seul l'arbre du pistachier d'Atlas couvre la localité. Cette zone est caractérisée par un sol à texture limono-sableuse (Adamou-Djarbaouiz et al., 2010). Par contre, le pistachier d'Atlas se trouve associé principalement avec *Ziziphus lotus*, *Artemisia herba-alba*, *Peganum harmala* et *marrubium vulgare* dans le second site (Zmalet El Emir Abdelkader).

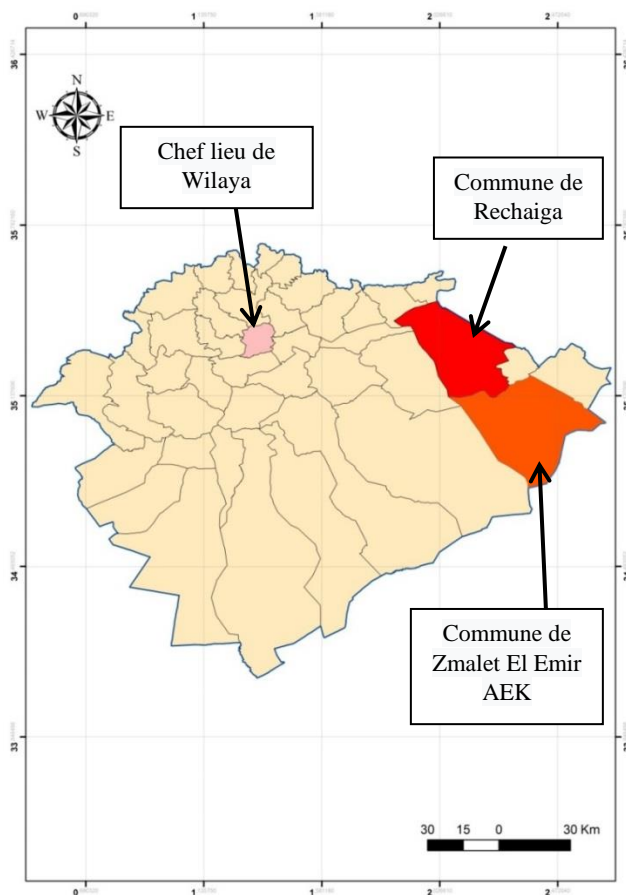


Figure 11: Localisation des communes de Rechaiga et Zmalet El Emir Abdelkader (Taguine) dans la wilaya de Tiaret.

- **La wilaya de Laghouat**

La wilaya de Laghouat au centre de l'Algérie à 400 km au sud d'Alger et elle fait partie des wilayas pastorales du pays. Elle est délimitée au nord par la wilaya de Tiaret, au Sud par Ghardaïa, à l'Est par la wilaya de Djelfa et à l'Ouest par El-Bayadh. Elle appartient à l'étage bioclimatique aride. Les écotypes de collecte des graines utilisées dans notre étude se positionnent dans une zone située à l'Est de la wilaya (Figure 12).

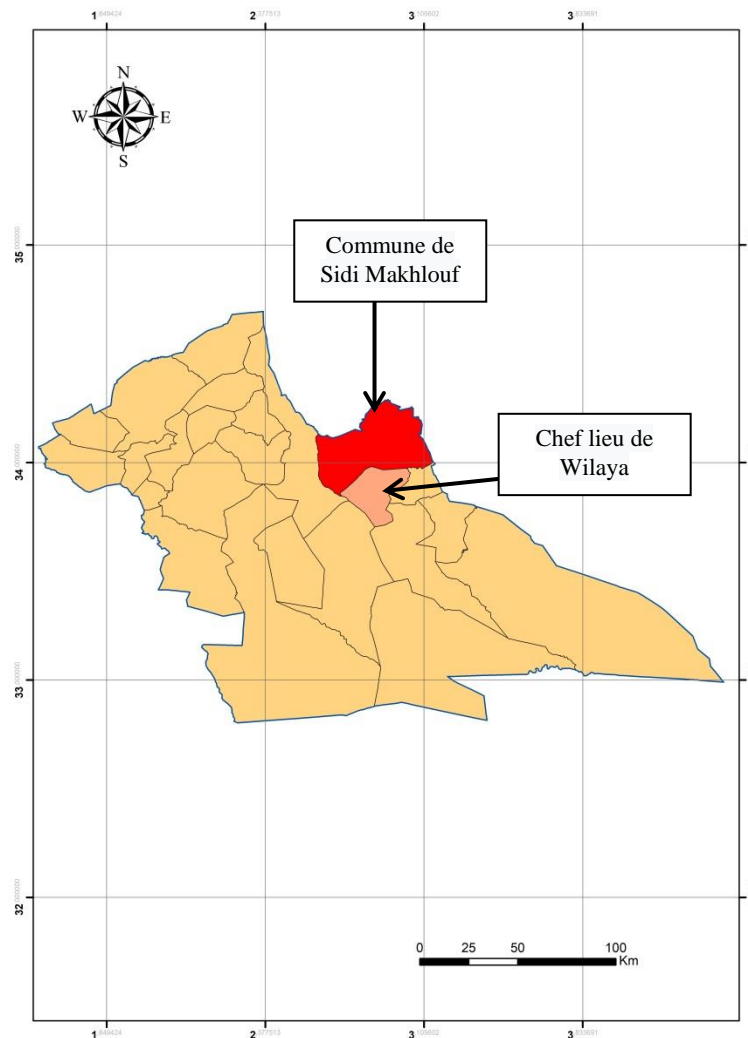


Figure 12: Localisation de la commune de Sidi Makhoulouf dans la wilaya de Laghouat.

- **La wilaya de Béchar**

La wilaya de Béchar est située au sud-ouest Algérien et appartient à l'étage bioclimatique hyperaride ou Saharien tempéré. Elle se trouve limitée à l'Est par la Wilaya d'Adrar, à l'Ouest par le Royaume du Maroc, au Nord par les Wilayas de Naâma et d'El Bayadh et au Sud par les Wilayas de Tindouf et d'Adrar. La zone de collecte des graines (Figures 13, 14) est située au nord de la région et se distingue par un sol à texture Argilo-limono-sableuse (Ifticene-Habani et Messaoudène, 2016).

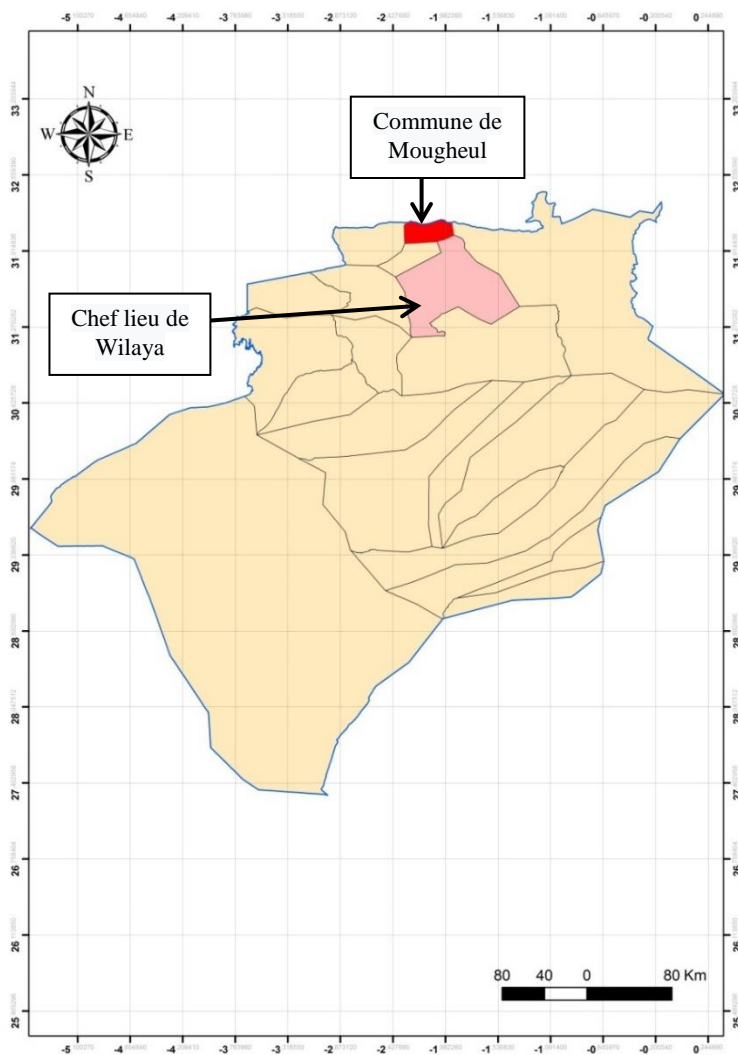


Figure 13 : Localisation de la commune de Mougheul dans la wilaya de Béchar

À noter que les éléments floristiques qui dominent les deux stations de Djelfa et Béchar sont *Ziziphus lotus*, *Artemisia herba-alba*, *Stipa tenacissima* (Djelfa) ou *Retama retam* (Béchar) (Ifticene-Habani et Messaoudène, 2016).

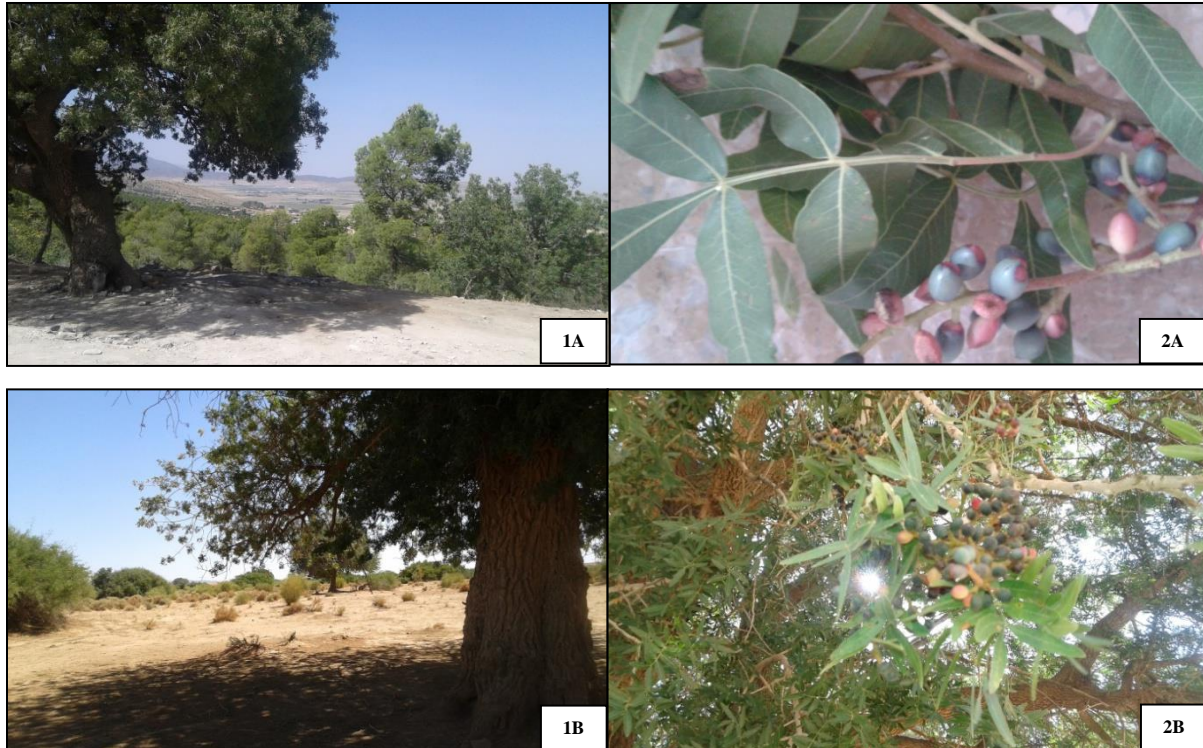


Figure 14: Les arbres (1) avec le fruit du pistachier d'Atlas (2) dans les stations de Batna (El Madher) (1A, 2A) et Béchar (Mougheul) (1B, 2B) (Photo : Labdelli, 2016).

3. Caractéristiques climatiques durant les trois années de collecte des graines des écotypes

Les différentes fonctions morphogénétiques établissant la croissance et le développement des plantes se trouvent régies par le génotype, l'environnement et leur interaction. Parmi les facteurs environnementaux, les paramètres climatiques en détiennent une part importante dans le remodelage d'évolution morphogénétique des plantes durant leur cycle de développement. À grande échelle, le climat contribue grandement à l'orientation d'évolution génétique des différentes espèces végétales, à travers les actions de la sélection naturelle (Jump et Penuelas 2005; De Jong, 2005).

Les cinq zones retenues pour la collecte des graines diffèrent beaucoup par leurs paramètres climatiques et représentés essentiellement par la pluviométrie et les températures.

Parmi ces zones, la région de Béchar se distingue par ses plus faibles précipitations comparativement aux autres, où elle n'a reçu en moyenne que 143mm annuelle. Toutefois, cette quantité est sujette à d'importantes variations interannuelles (Tableau 5). Ce faible bilan

pluviométrique s'accompagne des températures les plus élevées et des amplitudes de variation thermique les plus prononcées parmi l'ensemble des stations.

La région de Laghouat détient des caractéristiques climatiques plus proches de celles de Béchar. Elle se définit ainsi par une faible pluviométrie annuelle et des hautes températures.

A l'opposé, la région de Batna se distingue par une pluviométrie annuelle moyenne qui s'annonce la plus élevée parmi les autres et où elle s'évalue à 268mm.

Les deux zones, Tiaret et Djelfa présentent des particularités climatiques très proches, plus particulièrement les conditions pluviométriques. En effet, les pluviométries annuelles moyennes sont de l'ordre de 229mm (Tiaret) et 231mm (Djelfa). On remarque également que les variations interannuelles des quotients pluviométriques se rapprochent grandement à leur niveau (Tableau 5).

Tableau 5: Principales caractéristiques climatiques des régions d'étude en Algérie (source : données du réseau de stations d'observation de l'Office National de la Météorologie (ONM))

Paramètres/Annuel	Année	Djelfa	Béchar	Batna	Tiaret	Laghouat
Pr (mm)	2014	229	247	254	278	104
	2015	279	72	341	221	207
	2016	185	111	210	190	120
TM (°C)	2014	15.5	22.4	16.2	17.9	19.6
	2015	15.1	22.1	15.4	17.8	19.1
	2016	15.4	22.3	16	17.7	20
T min (°C)	2014	9.6	16	8.6	11.5	12.9
	2015	8.9	15.5	7.8	10.3	12.2
	2016	9.7	15.2	8.3	11.4	12.8
T max (°C)	2014	21.2	28.7	23.9	24.5	26.5
	2015	21.2	28.3	23.2	24.7	26.1
	2016	21.2	28.9	24.1	24.9	27
H R (%)	2014	62	39	58	54	47
	2015	56	39	58	56	48
	2016	56	38	59	55	44
Ens (h)	2014	2878	3404	2936	-	3162
	2015	2974	3561	2996	3111	3226
	2016	2980	3570	3009	2940	3358

Précipitation annuel P (mm), Températures T (°C), Moyenne T^M , Minimale T^{\min} et Maximale T^{\max} , HR : Humidité Relative (%), Ens : Ensoleillement (Heure).

CHAPITRE III

Étude Expérimentale

CHAPITRE III: Étude Expérimentale**Partie I – Germination et comportement des jeunes plantules du pistachier d’Atlas****I.1. Étude de germination des graines****I.1.1. Introduction**

La germination des graines est un processus biologique réactivant le métabolisme des cellules des méristèmes, caulinaire et radicaire aboutissant au développement de la plante. Comme toute activité biologique, la germination est gouvernée par les facteurs intrinsèques (entité biologique de la graine) et extrinsèques (environnementaux). Cette partie du travail traite les effets des facteurs physiques régissant la germination et tente d’élucider leurs relations avec les particularités biologiques des graines. Ainsi, différents essais ont été menés dans ce contexte.

Concernant les facteurs physiques, les impacts des variations des températures du milieu de germination ont été évalués. Pour les facteurs chimiques, les variations des niveaux de pH du milieu dans différents sites et sur différents types de substrats, de mise en germination des graines ont été testées. La valorisation d’influences de ces facteurs a été mise en évidence par la variabilité génétique caractérisant cette espèce et ce par étude de plusieurs écotypes. Afin de confirmer l’origine de la dormance caractérisant les graines de cette espèce et qui a été prouvée lors de ce travail, certains traitements de ces entités ont été effectués.

Comme toute espèce oléagineuse, les graines du pistachier de l’Atlas s’avère sensible quand la modification de leur composition biochimique en fonction du temps. À cet effet, partie de cette étude a été consacrée à l’évaluation de la durée de stockage des graines sur leur pouvoir germinatif.

I.1.2. Matériel et méthodes**I.1.2.1 Essai de germination des graines dans les conditions de la serre****I.1.2.1.1. Effet de l’écotype sur la germination et la levée des graines**

L’essai a concerné des graines provenant de six stations, Djelfa (D), Béchar (A), Batna (B), Laghouat (L) et deux localités de la région de Tiaret, Rechaiga (TR) et Zemalet El Emir Abdelkader (TZ). La localisation des zones de récolte des graines est portée sur la figure 8 et tableau 8. Cet essai a été conduit afin d’évaluer l’effet des écotypes sur la réponse à la germination des graines durant trois ans. On note que les graines ayant fait l’objet de cette étude n’ont reçu aucun traitement préalable (Figure 15). Les graines non scarifiées ont été stérilisées par immersion dans une solution fongicide Tachigazole diluée par l’eau distillée (1/10), pendant 10

min et rincées trois fois avec de l'eau distillée. Leur scarification a été réalisée par imbibition dans l'eau chaude durant 48h. Les graines dépourvues d'épicarpe sont mises en germination dans des pots de culture d'une contenance de 2.5L et remplis de terreau, à raison de 5 graines par site. Les pots sont déposés dans une serre en disposition randomisée avec 6 répétitions pour chacun des six écotypes étudiés. Le substrat de germination est maintenu humide durant la durée de l'essai par arrosage avec de l'eau distillée. Le taux de germination déterminée par le nombre de graines levées par rapport au nombre total des graines de chaque pot a été estimé 86 jours après le début de l'essai. Au cours de cette période on a également procédé par la détermination de la germination progressive en fonction du temps selon la levée des plantules.

Taux de germination (G%) = (nombre de graines levées / nombre total des graines) x 100.

I.1.2.1.2. Effet de la conservation sur la germination des graines

Le pistachier détient des graines dont la germination repose sur la remobilisation des réserves de nature lipidique et dit par conséquent, espèce oléagineuse. Contrairement aux graines amylacées dont la longévité et la préservation des réserves s'étalent dans le temps, les graines oléagineuses se trouvent limitées par la sensibilité des réserves lipidiques diminuant ainsi leur longévité. À travers cette expérimentation on se fixe comme principal objectif l'étude des effets du stockage des graines sur leur pouvoir germinatif. Deux écotypes (Batna, Djelfa) ont été choisis pour la réalisation de cette partie du travail. Le choix des graines repose principalement sur l'origine des écotypes. Ainsi, les deux régions choisies se définissent par des conditions pédoclimatiques très contrastes. La conduite de l'essai a été réalisée selon les mêmes conditions expérimentales que l'étude précédente. Afin d'évaluer cet effet, le pouvoir germinatif des graines a été testé durant deux périodes espacées de 12 mois. Au cours de la première période les graines ont été mises en germination immédiatement après leur récolte. Tandis qu'au cours de la deuxième période, la germination a été testée une année après cette récolte et sur la même source des graines.

I.1.2.2. Étude de l'effet de la température sur la germination des graines

Les graines scarifiées avec de l'eau chaude, stérilisée et rincées avec de l'eau distillée ont été mises en germination dans des boîtes de Pétri (15cm de diamètre). Elles ont été placées sur du papier Whatman imbibé d'eau distillée à raison de 10 graines par boîte et trois boîtes pour chaque écotype. Les écotypes concernés sont issus des régions de Batna, Djelfa, Laghouat et Béchar (Tableau 4). Les graines en germination ont été placées dans des étuves réglées à des

températures différentes, 25°C, 27°C et 30°C. Durant toute la période de mise en germination (42 jours) les boîtes ont été maintenues humides par arrosage avec de l'eau distillée.

I.1.2.3. Effet du pH du milieu sur la germination des graines

Cet essai a concerné les graines récoltées à partir de quatre écotypes, Batna, Djelfa, Laghouat et Béchar. Les graines mises en germination ont été scarifiées ou non et mises en germination sous des pH de valeurs différentes dans des pots en serre et dans des boîtes de Pétri dans l'étuve (25°C). Les températures diurnes et nocturnes de la serre ont été maintenues à 22°C et 15°C respectivement et l'humidité relative avoisinait 60%.

Les deux types de graines avec et sans épicarpe ont stérilisées et rincées abondamment avec de l'eau distillée. Les graines destinées à la germination dans du terreau au niveau de la serre ont été placées dans des pots à raison de 15 graines par pot de culture et répétées trois fois pour chaque traitement et disposés de façon aléatoire. Dans un dispositif les graines ont été scarifiées et irriguées avec l'eau distillée. Dans un second dispositif les graines non scarifiées ont été conduites selon trois traitements, un témoin irrigué avec de l'eau distillée et deux autres irriguées avec de l'eau acidifiée à deux niveaux de pH 5,5 et 4. Le même dispositif a été conduit dans des boîtes de Pétri sur papier absorbant (Whatman) et placées dans une étuve réglée à une température de 25°C. Le taux de germination des graines a été relevé après une mise en germination de 162 jours au niveau de la serre et 42 jours au niveau de l'étuve.

I.1.2.4. Prétraitement par H₂O₂

Les graines entières et sans épicarpe (obtenu par scarification mécanique) de trois écotypes, Batna, Djelfa et Béchar ont été utilisées pour cette manipulation. Les deux types de graines ont subi deux prétraitements, une imbibition avec l'eau distillée (témoin) et une autre avec H₂O₂ à 4%, pendant 48h. Après imbibition, les graines sont mises en germination dans des boîtes de Pétri couvertes de papier Whatman et placées dans une étuve à une température de 25°C. Pour chacun des écotypes, trois répétitions de chaque type de graines est représenté chacune par une boîte de Pétri contenant 18 graines donnant un total de 216 graines pour les deux prétraitements. Au cours de la germination les boîtes de Pétri ont été imbibées continuellement avec de l'eau distillée. Après 84 jours, le taux de germination des graines (%) a été déterminé par le nombre de graines germées par rapport au nombre total des graines.

**Djelfa (D)****Béchar (A)****Tiaret (Rechaiga) (TR)****Tiaret (Zmalet El Emir AEK) (TZ)****Batna (B)****Laghouat (L)****Figure 15 :** Les graines mures du Pistachiers de l'Atlas (Photo : Labdelli, 2016).

I.1.3. Résultats

I.1.3.1. Essai de germination des graines dans les conditions de la serre

Les résultats obtenus démontrent que le taux de germination des graines sous ces conditions varie significativement en fonction de la nature des écotypes concernés par cette étude (Tableau 6). Selon ces résultats on note que les graines de l'écotype de Batna se distinguent par le taux de germination le plus élevé avec une valeur moyenne de 83.3%. A l'opposé, les graines des écotypes de Béchar, Djelfa et Tiaret (TZ) ont inscrit le plus faible taux de germination avec une valeur moyenne de 41.66%. Les graines des écotypes de Tiaret (TR) et Laghouat ont inscrit des valeurs intermédiaires respectives de 66.66 et 50%. Selon la répartition géographique des écotypes, on constate que l'accentuation de l'aridité du climat influe sur la germination des graines.

Tableau 6: Le taux moyen de germination (%G) des graines des différents écotypes. Le degré de signification est exprimé par le test F

Écotype	Taux de germination (%)
Djelfa	41.66
Batna	83.3
Béchar	41.66
Tiaret (TR)	66.66
Laghouat	50
Tiaret (TZ)	41.66
Test F	129***

*** Significatif à $P \leq 0.001$

La vitesse de germination exprimée par la germination des graines en fonction de l'évolution du temps conditionne le taux de germination déterminé après 86 jours. Les graines des écotypes ayant exprimés les taux de germination les plus élevés se distinguent par les vitesses de germination les plus élevées également. On remarque que le temps de latence inscrit avant la proclamation des premières germinations des graines s'annonce le plus faible chez l'écotype de Batna comparativement aux autres écotypes. Ce temps est environ 26 jours après la mise en germination. Pour les graines des autres écotypes, ce temps de latence était plus élevé, où les premières germinations ont été relevées après 45 jours en moyenne (Figure 16.1).

En étudiant la longévité des graines de point de vue préservation du pouvoir germinatif, on constate que ce processus influe d'une façon hautement significative sur le maintien de ce

pouvoir (Tableau 7). Selon les résultats obtenus (Tableau 8), on relève que le stockage des graines réduit grandement le pouvoir germinatif des graines mise en essai. Toutefois cette influence reste conditionnée par l'origine des écotypes. Les résultats moyens indiquent que les graines de l'écotype de Djelfa s'annoncent plus sensible à la réduction du pouvoir germinatif en inscrivant un taux de 84.37%. Les graines de l'écotype de Batna inscrivent une valeur de réduction de 49.99%. On constate également que l'évolution du pouvoir germinatif se trouve conditionné par le taux de germination des graines avant leur conservation. Ainsi, ce taux de réduction s'affaiblit avec un pouvoir germinatif élevé des graines avant leur stockage. La réciproque se confirme selon les résultats obtenus (Tableau 8).

Tableau 7: Effet écotype, conservation des graines (avec et sans conservation) et leur interaction sur le taux de germination. Le degré de signification est exprimé par le test F

Écotype	Conservation	Écotype*Conservation
902.5***	1690***	2.5ns

*** Significatif à $P \leq 0.001$; ns non Significatif

Tableau 8: Le taux moyen de germination des graines avant et après la conservation. Le degré de signification est exprimé par le test F

Écotype	Taux de germination après la récolte (%)	Taux de germination après une année de stockage (%)	Taux d'évolution de la germination (%)
Djelfa	53.3	8.33	84.37
Batna	83.3	41.66	49.99
Test F	405***	500***	605.9***

*** Significatif à $P \leq 0.001$

Le stockage des graines modifie également la vitesse de germination des graines des écotypes concernés par cette étude (Figure 16.2). Ainsi, les graines ayant subis un stockage après leur collecte ont enregistré une période plus longue pour exprimer les premières relevées de germination que celles mise en germination durant la même période de leur récupération. Toutefois, les graines de l'écotype de Batna s'annoncent moins sensible à cet effet de stockage sur leur vitesse de germination.

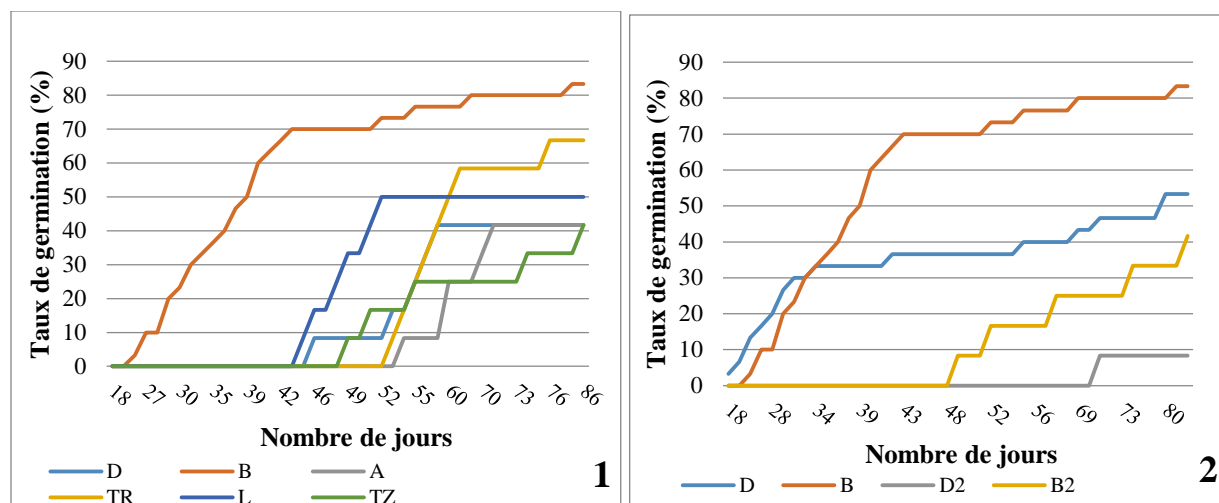


Figure 16 : 1. Évolution de taux de germination (%G) pendant 86 jours des différentes populations de *P. atlantica* subsp. *atlantica* Desf. (A : Bechar, B : Batna, D : Djelfa, L : Laghouat, TR : Tiaret Rechaiga, TZ : Tiaret Zmalet El Emir Abdelkader). **2.** Évolution de taux de germination (%) après la récolte (D, B) et après une année de stockage (D2, B2).

I.1.3.2. Étude de l'effet de la température sur la germination des graines

Les températures optimums exigées pour la germination des graines s'annoncent dépendantes de l'origine des écotypes. Les résultats obtenus (Tableau 9) exposent que les températures exigées pour la germination des graines sont très variables. Concernant les franges des températures retenues pour cette étude, seules les graines des écotypes de Batna et Laghouat ont exprimés des exigences variables inscrites dans cet intervalle. La température optimale d'initiation de germination chez l'écotype de Batna semble être faible où à 25°C on a relevé un taux de germination de 20%. Tandis que les graines de l'écotype de Laghouat exigent des températures plus élevées où sous une température de 30°C, son taux de germination a été de l'ordre de 10%. A l'opposé, les graines des écotypes de Béchar et Djelfa n'ont manifesté aucune convenance entre leur germination et les trois franges de températures retenues.

Tableau 9 : Effet de température sur le taux de germination (%G) des graines à l'étuve (Températures : T1 : 25°C, T2 : 27°C, T3 : 30°C)

Écotype	Température	Taux de germination (%)
Djelfa	T1	0
Bechar	T1	0
Batna	T1	20
Laghouat	T1	0
Djelfa	T2	0
Bechar	T2	0
Batna	T2	0
Laghouat	T2	0
Djelfa	T3	0
Bechar	T3	0
Batna	T3	0
Laghouat	T3	10

I.1.3.3. Effet du pH du milieu sur la germination des graines

Les résultats obtenus (Tableau 10) démontrent que le taux de germination des graines est influencé par le pH du milieu et que cette influence dépend de la présence ou l'absence de l'épicarpe des graines. Concernant les graines dépourvues d'épicarpe et au niveau témoin arrosé avec de l'eau distillée (pH 7) seules celles de l'écotype de Batna ont enregistré une germination au niveau dans les deux milieux, la serre et l'étuve avec des taux respectifs de 40% et 20%. Les mêmes graines de l'écotype de Laghouat ont enregistré un taux de germination de 20% mais seulement au niveau du dispositif installé dans la serre. Sous ces conditions les graines des deux autres écotypes n'ont enregistré aucune germination et ce dans les deux milieux (serre, étuve). Sous les mêmes conditions (témoin) les graines pourvues d'épicarpe du seul écotype de Batna ont manifesté une germination évaluée à un taux de 3.3% uniquement au niveau du dispositif conduit en serre.

Avec la variation des niveaux de pH des milieux de germination des graines pourvues d'épicarpe, le taux de germination étaient variables. Ainsi, au pH 4 seules les graines de l'écotype de Djelfa ont enregistré une germination avec un taux de 3.3% au niveau du dispositif conduit dans la serre.

Au pH 5.5, on enregistre une germination d'un taux de 6.6% pour les graines de l'écotype de Batna constatée uniquement au niveau de la serre. Aucune réaction pour la germination n'a été constatée pour les graines du reste des écotypes et au niveau des deux milieux (serre, étuve).

On note que les variations des niveaux de pH retenues dans cette étude n'ont eu d'influence en accroissant le taux de germination qu'au niveau des graines mises en germination dans du terreau et conduite en serre. Aucune influence n'a été constatée sur les graines mises en germination dans les boîtes de Pétri placées dans l'étuve. Ceci indique que les effets des variations des niveaux de pH sur la germination des graines sont en étroite relations avec la nature du milieu de germination. Dans ces conditions le terreau avec ses particularités chimiques et son activité a exercé un effet favorable sur l'action des variations du pH sur l'expression de la germination des graines et qui reste tributaire de la nature des écotypes testés.

Tableau 10: Effet de niveau de pH d'eau d'irrigation sur le taux de germination des graines (%G) (T0 : sans épicarpe (pH 7), T1 (pH 7), T2 (pH 5.5), T3 (pH 4))

Écotype	pH	Serre (%G)	Étuve (%G)
Djelfa	T0	0	0
Bechar	T0	0	0
Batna	T0	40	20
Laghouat	T0	20	0
Djelfa	T1	0	0
Bechar	T1	0	0
Batna	T1	3.3	0
Laghouat	T1	0	0
Djelfa	T2	0	0
Bechar	T2	0	0
Batna	T2	6.6	0
Laghouat	T2	0	0
Djelfa	T3	3.3	0
Bechar	T3	0	0
Batna	T3	0	0
Laghouat	T3	0	0

I.1.3.4. Prétraitement par H₂O₂

Le prétraitement a été réalisé par application du H₂O₂ sur des graines avec et sans épicarpe avant leur mise en germination. L'analyse des résultats obtenus (Tableau 11) indique que l'application du peroxyde d'hydrogène a augmenté significativement le taux de germination des graines avec ou sans épicarpe. Cette action s'exprime de manières indistinctes chez les graines entières des différents écotypes étudiés, alors qu'elle est significativement différente chez celles dépourvues d'épicarpe. Ceci se justifie par des effets d'interaction entre l'écotype et le prétraitement non significatif dans le premier cas et significatif dans le second (Tableau 11).

Les résultats obtenus (Tableau 12) montrent que le trempage des graines avec et sans épicarpe dans le peroxyde d'hydrogène a augmenté leur taux de germination. Ainsi, au niveau du lot témoin (sans prétraitement avec H₂O₂), aucune germination des deux types de graines n'a été relevée. Les deux types de graines ayant subi le prétraitement ont manifesté une germination dont les taux varient en fonction de l'écotype concerné. Chez les graines entières cette action a permis une germination dont les taux sont de 11.11% (écotype de Djelfa), 19.44% (écotype de Béchar) et 33.33% (écotype de Batna).

Chez les graines sans épicarpe, l'action du prétraitement avec du peroxyde d'hydrogène a eu un effet plus important sur le taux de germination des graines. Ainsi, il a provoqué un accroissement de la germination pour atteindre des valeurs de 14.7% (écotype de Djelfa), 25% (écotype de Béchar) et 50% relevée chez l'écotype de Batna.

Tableau 11 : Effet écotype, traitement H₂O₂ et leurs effets d'interaction sur le taux de germination des graines (avec et sans épicarpe). Le degré de signification est exprimé par le test F

	Écotype	Traitement H ₂ O ₂	Écotype*Traitement
Graines avec épicarpe	3.58 ^{ns}	45.74 ^{***}	3.5 ^{ns}
Graines sans épicarpe	22.39 ^{***}	143.97 ^{***}	22.3 ^{***}

*** Significatif à P<0.001; ns : non Significatif

Tableau 12 : Taux de germination des graines avec ou sans épicarpe, traitées ou non avec H₂O₂ de trois écotypes

Écotype	Traitement	Taux Germination (%)	
		Avec Épicarpe	Sans Épicarpe
Djelfa	Control	0.00	0.00
Djelfa	H ₂ O ₂	11.11±11	14.7±2.94
Bechar	Control	0.00	0.00
Bechar	H ₂ O ₂	19.44±8.3	25±13.8
Batna	Control	0.00	0.00
Batna	H ₂ O ₂	33.33±0	50±8.3

I.1.4. Discussion

La germination des graines est une phase primordiale dans la reproduction sexuée des espèces végétales. Elle constitue un processus de réactivation du fonctionnement cellulaire menant une vie latente, installée lors de la morphogénèse conditionnant les différentes phases de la maturation des graines. La levée de la vie latente nécessite la disponibilité des facteurs, essentiellement abiotiques, impliqués dans son instauration. Ils regroupent particulièrement, l'eau, la température optimale et l'oxygène (Buitink et al., 2000 ; Alvarado et Bradford, 2002 ; Finch-Savage et Leubner, 2006). La dormance des graines de certaines espèces se déclarent en absence de toute réaction de ce processus de réactivation vitale des graines et en présence de ces facteurs impliqués dans l'instauration de la vie latente (Baskin et Baskin, 2004; Finch-Savage et Leubner-Metzger, 2006; Bentsinka et Koornneef, 2008). Elle est instaurée par divers phénomènes, agissant mécaniquement ou intégrant des fonctions biochimiques fonctionnelles au niveau des différents constituants de la graine (Panyam et Kilara, 1996 ; Sineiro et al., 1998).

La variabilité intra-spécifique chez de nombreuses espèces végétales s'impose comme un facteur principal dans les différentes interactions établis entre l'entité génétique mise en germination et l'impact des différents paramètres conditionnant ce processus biologique (To et al., 2002 ; Borek et al., 2006 ; Ferreira et al., 2009 ; Gimeno-Gilles, 2009 ; Carrijo et al., 2010 ; Tonguç et al., 2012). La notion d'écotype, particulièrement chez les espèces spontanées s'annonce déterminant dans la réalisation de la germination des graines en fonction de la qualité des facteurs indispensables et disponibles au cours de ce développement. Le pistachier de l'Atlas est une espèce caractérisée par une variabilité génétique très large qui se confirme par sa large répartition dans différents étages bioclimatiques. En effet, en Algérie cette espèce se distingue par son peuplement de différentes zones en environnements biotiques très contrastes. Les écotypes exploités dans cette étude puisent leurs origines qui s'étendent des régions du nord au sud Algérien. En effet, le pouvoir germinatif des graines chez cette espèce se trouve significativement modifié par la nature des écotypes concernés. Les résultats démontrent des variations pouvant atteindre des taux de 50% parmi les graines mises en germination. On constate alors, que les conditions environnementales régnantes au cours de la morphogénèse des graines permettent une distinction comportementale de ces dernières au cours de la germination. Ainsi, les graines issues des zones les plus humides se qualifiaient d'un pouvoir germinatif plus élevé, c'est le cas de celles récoltés sur les écotypes de Batna et Tiaret-Nord. Les graines

issues des écotypes des régions situées vers le sud d'Algérie (Djelfa, Tiaret-Sud, Béchar) présentent des pouvoirs germinatifs réduits de 50% par rapport à ceux des premières catégories. Cette variation peut être expliquée selon plusieurs hypothèses. La morphogénèse de la graine qui englobe l'accumulation des réserves, la fraction protéique indispensable à sa remobilisation et sa sensibilité aux facteurs de la germination dépendent des environnements dans lesquels se réalisent ces phénomènes (Baskin et Baskin, 2004; Finch-Savage et Leubner-Metzger, 2006; Bentsinka et Koornneef, 2008 ; Gimeno-Gilles, 2009). Il est évident que la qualité des graines mures dépend de la qualité nutritionnelle de la plante impliquant tous les facteurs régissant ces actions. D'un autre côté, l'installation des paramètres de dormance dépendent inévitablement des conditions de développement de la graine et d'aire de sa répartition. Ceci explique cette divergence de réponse à la germination des graines des différents écotypes.

L'impact des variations des conditions gérant la formation des graines et la réponse de ces dernières à la germination a orienté notre travail pour l'évaluation des variations de ces facteurs et leurs influences sur ce processus.

Les graines oléagineuses du pistachier s'avèrent très sensibles à la durée et la qualité de leur stockage avant leur mise en germination (Monjauze, 1968). En effet, la nature des réserves de la graine conditionne leur réponse à la germination. Les réserves lipidiques s'annoncent plus sensibles à la durée et l'influence des facteurs abiotiques de leur conservation. La température, la luminosité et l'humidité exercent un effet très important sur leur stabilité (Tzen et al., 1993; Sisman, 2005; Nykter et al., 2006; Hanan et al., 2010) et les voies métaboliques indispensables à leur remobilisation au cours de la germination. Selon notre étude, les graines du pistachier présentent une longévité très réduite pour préserver leur faculté germinative. Ceci se confirme par les résultats obtenus qui mettent en évidence une relation négative entre la durée du stockage de ces graines et leur pouvoir germinatif (Tableau 8). Cette étude ayant concernée les graines des deux écotypes démontre qu'une période de conservation d'une année a provoqué une diminution des taux de germination des graines de 84% et 50%. Néanmoins, la notion d'écotype s'impose également dans cette évolution où on a relevé une variation très importante quant à la réponse des graines vis-à-vis de leur conservation. Généralement, les graines issues des écotypes peuplent les régions les plus sèches s'avèrent moins sensibles au stockage qui ayant un effet dommageable sur leur pouvoir germinatif.

La température est également un facteur déterminant pour la germination des graines et particulièrement à celles du pistachier de l'Atlas. La température moyenne minimale pour la germination des graines de cette espèce est d'environ 12°C (Monjauze, 1968). Hawker et Jenner (1993) démontraient que les hautes températures inhibent la germination des graines en limitant la disponibilité d'énergie et des hydrolysats, événement conséquent d'un retard et d'une inhibition de la synthèse et/ou l'activité des enzymes hydrolytiques. De même, les basses températures entraînent une perturbation et un retard de coordination lors de la mobilisation des réserves (Nykiforuk et Johnson-Flanagan, 1994). En effet, toute variation de la température d'incubation peut affecter en plus de l'activité des enzymes, certains processus indispensables pour le contrôle de la germination comme la perméabilité membranaire et l'extensibilité de la paroi (Bewley et Black, 1994; Gul et Waber, 1999). Toutefois et selon les résultats obtenus à travers cette étude tout en sachant que les graines du pistachier de l'Atlas se caractérisent par une dormance, l'influence de la température varie en fonction des écotypes concernés. Cette influence pourrait s'expliquer par son effet métabolique en définissant l'énergie d'activation enzymatique, son effet physique et par action sur la levée de la dormance des graines. Selon les travaux de Covell et al. (1986), Ellis et al. (1986) et Alvarado et Bradford (2002), la température exerce une action sur la levée de la dormance chez certaines espèces tels que, le pois chiche (*Cicer arietinum* L.), la lentille (*Lens culinaris* Medic.), le soja (*Glycine max* (L.) Merr.), le niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) et la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.).

Selon les travaux de Yaaqobi et al. (2009), Chebouti-meziou et al. (2014) et Abu-Qaoud (2007), la dormance des graines du pistachier de l'Atlas serait d'origine tégumentaire à travers une action mécanique. Une partie de travail de la thèse qui sera présentée ultérieurement est consacrée à une contribution d'étude des origines de cette dormance. En se référant uniquement aux travaux ultérieurs, toute modification structurale de la paroi au cours de la germination des graines modifierait leur taux de germination. Ceci justifie notre essai basé sur les variations du pH et leurs effets sur la germination des graines. L'action du pH sur la germination des graines a été évaluée dans deux environnements, au niveau de l'étuve et en serre. Il s'est démontré que l'action du pH ne peut être isolée d'autres facteurs qui restent à déterminer et qui peuvent s'associer à ce paramètre chimique pour s'avérer déterminant dans la réalisation de la germination chez les graines. Ces propos se confirment à travers les résultats obtenus qui illustrent que les graines mises en germination dans du terreau et placées dans la serre ont

manifesté une sensibilité très importante à la variation du pH et par conséquent leur germination que celles placées dans les boîtes de Pétri et placées dans l'étuve.

Suivant les facteurs qui les imposent, 54 types de dormance des graines ont été répertoriés chez les végétaux (Lang et al., 1987). Les mécanismes qui agissent sur plusieurs d'entre eux demeurent complexes et mal élucidés (Hilhorst et Karssen, 1992). Généralement, deux groupes sont classiquement admis, l'inhibition tégumentaire et la dormance embryonnaire. Dans le cas des graines du pistachier d'Atlas, les graines sont intégrées dans un fruit sec indéhiscent ou drupe. Ainsi, le péricarpe détiendrait une action dans l'instauration de la dormance de ces entités biologiques. L'élimination du fruit ou l'épicarpe n'a provoqué aucune amélioration de la faculté germinative chez l'ensemble des graines prélevées d'écotypes des différentes régions étudiées. Ces résultats démontrent que l'implication d'une quelconque inhibition mécanique et ou chimique de l'épicarpe serait très faible sur la levée de dormance des graines.

Ces résultats suggèrent que la dormance des graines est de nature chimique et concerne non seulement l'épicarpe, mais tous les constituants de cette entité. L'analyse biochimique des graines indiquent qu'elles sont riches en composés phénoliques dotés d'une forte activité antioxydante. Quoique, ces composés détiennent un rôle prépondérant dans la lutte de la plante vis-à-vis des stress environnementaux, mais se présentent souvent comme des inhibiteurs des enzymes à travers leur capacité de former des complexes avec les protéines. Des ponts d'hydrogène stable se constituent entre l'oxy-groupement phénolique lié à l'oxygène carbonyle et la liaison peptidique. La liaison des composés phénoliques avec les protéines s'accompagne de modifications dans la configuration des enzymes. Un tel processus biochimique serait à l'origine d'instauration de la dormance.

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour atténuer les effets de la dormance des graines et améliorer leur taux de germination. Parmi ces méthodes, l'utilisation de prétraitement au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) a été signalée comme étant plus efficace (Wada et al., 2011 ; Barba-Espin et al., 2012 ; Panuccio et al., 2014 ; Panngom et al., 2018). Dans notre étude, les résultats obtenus démontrent que l'application de H_2O_2 améliore grandement le taux de germination des graines sous les deux formes, avec et sans épicarpe. Des résultats similaires ont été rapportés après l'application de ce prétraitement pour la levée de dormance des graines et augmenter le taux de germination chez plusieurs espèces, notamment le pois, la coriandre, la carotte et le quinoa (Wada et al., 2011 ; Barba-Espin et al., 2012 ; Panuccio et al., 2014 ;

Szopińska, 2014 ; Panngom et al., 2018). Certaines études indiquent que l'accroissement de la germination des graines par traitement au peroxyde d'hydrogène résulterait de l'oxydation des inhibiteurs de germination présents dans la graine par ce composé (Duval et NeSmith, 2000 ; Ogawa et Iwabuchi, 2001 ; Conner, 2008 ; Klein et al., 2008 ; Huarte et Garcia, 2009 ; Panngom et al., 2018). L'effet positif de la peroxyde d'hydrogène sur la germination des graines a été expliqué par la production d'O₂ résultant du piégeage de l'H₂O₂ pour la respiration mitochondriale et les activités métaboliques (Katzman et al., 2001). Chen et al. (1993) ont rapporté que l'H₂O₂ est également utile pour fissurer les graines dures, leur permettant d'interagir avec l'eau.

Les résultats obtenus dans ce travail montrent que les sites d'imposition de la dormance des graines concernent à la fois, l'amande et l'épicarpe. En effet, la teneur totale en phénols et leurs activités antioxydantes étaient plus élevées dans les deux constituants de la graine (amande et épicarpe). Toutefois, l'effet du prétraitement avec le peroxyde d'hydrogène sur la levée de dormance et l'accroissement de la germination est significativement influencé l'origine des graines concernées (Labdelli et al., 2019b).

I.2. Croissance et développement des jeunes plantules du pistachier d'Atlas

I.2.1. Introduction

Le mode de régénération des végétaux, sexué ou asexué conditionne le comportement des plantules obtenues. La germination des graines à travers la reproduction sexuée constitue une première étape du processus de régénération et que son aboutissement dépend du comportement des plantules obtenues. Ce comportement engendre leur croissance et leur développement dans les conditions d'environnement de leur habitat naturel.

L'évaluation des comportements a concerné les plantes obtenues indistinctement de leurs origines et les procédés de leur mise en germination. Deux périodes ont été choisies pour l'estimation du développement des plantes, post-germination (13 jours) et à une étape ultérieure de 62 jours après la germination.

I.2.2. Période post-germination

À cette date, 13 jours après la germination des graines, la valeur moyenne des mesures de la longueur des tiges (Figure 17) de 6 plantules est de 3.95cm. Le ratio de la croissance journalière est de 0.25cm. En ce qui concerne la morphogénèse des plantules et à ce stade de croissance, aucune expansion foliaire n'a été constatée. Ainsi, seules les extrémités sommitales sont apparentes.



Figure 17: Jeune plantule après 13 jours de la mise en germination (Photo : Labdelli, 2016).

I.2.3. Etat des plantules à 62 jours après la germination

Les mesures de la croissance effectuées à stade de développement indiquent que la longueur de la tige est de 4.93cm. On compte au niveau des parties caulinaires des plantes, deux étages foliaires à folioles étalées (Figure 18) mesurant une longueur moyenne de 1.93cm. On relève également qu'au niveau des plantes qu'un troisième étage foliaire est en voie de différenciation. Les feuilles composées au niveau de chaque organisation foliaire se composent de trois folioles uniquement, à ce stade de développement.

Concernant la longueur de la tige, le ratio de la croissance journalière est estimé à 0.08cm. Selon la comparaison des ratios de croissance de la première et la seconde période, on constate que les jeunes plants du pistachier d'Atlas se distinguent par des vitesses de croissance différentes. Elle est plus élevée durant la première phase qui succède la germination (Figure 19).



Figure 18 : Jeune plantule après 62 jours de la mise en germination (Photo : Labdelli, 2016).

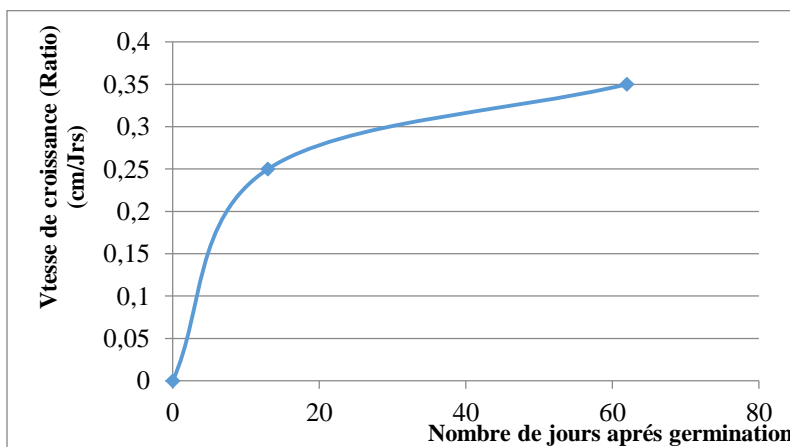


Figure 19 : La vitesse de croissance en fonction de la période post-germination chez les jeunes plants du pistachier d'Atlas.

Partie II – Composition biochimique et minérale des graines du pistachier de l’Atlas (*Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica*)

II.1. Introduction

L’étude de la composition biochimique de la graine permettra d’élucider l’influence des différents paramètres étudiés sur l’instauration de la dormance, sa levée et l’initiation de la germination des graines chez cette espèce.

La composition de la graine varie en fonction de son degré de maturation, de son patrimoine génétique et des conditions agro-environnementales. Cette composition en réserves est importante d’un point de vue nutritionnel, leur conservation et la disponibilité en quantité et qualité des nutriments indispensables au développement de la plantule après la germination. En effet, certains composés comme les acides gras peuvent être très sensibles à la dégradation (oxydation) lors du stockage des graines et entraîner une perte de vigueur, voire la mort des graines par l’induction de chaînes radicalaires générant des espèces toxiques dérivées de l’oxygène. Ces dérivées engendrent des dénaturations protéiques et lipidiques entraînant même dans certaines situations une désorganisation des structures des membranes biologiques. Leurs effets sont initialement marqués sur le dérèglement des réactions métaboliques indispensables au déroulement des cycles de synthèse d’énergie.

La nature et la concentration des réserves varient d’une année à une autre et d’un écotype à un autre et pourraient expliquer la variabilité de germination (Soriano et al., 2011).

Cette partie du travail s’axe principalement sur l’étude de la composition biochimique et minérale des différentes parties de la graine (graine entière, amande, épicarpe). Ce travail comporte également l’étude de l’impact de ses réserves sur la germination des graines de différents écotypes.

II.2. Matériel et méthodes

II.2.1. Sites de collecte des graines et préparation des échantillons

Les graines du pistachier ont été collectées à partir de six zones différentes durant deux années consécutives, 2015-2016 (Tableau 4, Figure 8). Les critères de divergence de ces zones se rapportent à leur localisation géographique et par conséquent leurs caractéristiques environnementales.

Les graines collectées des sujets sains ont été nettoyées et préparées pour subir les différentes analyses. Les échantillons ont été constitués à partir des graines entières, les épicarpes et les

amandes. L'analyse biochimique a été effectuée au niveau des trois parties de la graine, alors que la caractérisation minérale a été réalisée au niveau de la graine entière.

II.2.2. Analyse biochimique

II.2.2.1. Le poids de 1000 graines (PMG)

Le poids de mille graines (PMG), a été déterminé pour les six écotypes concernés par l'étude biochimique.

II.2.2.2. Détermination de la teneur en huile

La teneur en huile a été déterminée selon la méthode Soxhlet (NF EN ISO 659) (Figure 20). Les graines broyées (10g) ont été extraits pendant 6h avec 200mL de solvant organique (Cyclohexane). Le solvant a été évaporé dans un évaporateur rotatif sous basse pression dans un bain Marie maintenu à une température constante de 50°C, pendant une durée de 30 à 45min. L'huile est ensuite récupérée dans des flacons et évaporée sous flux d'azote durant 30min afin d'éliminer toutes traces de solvant. La quantité d'huile lourde extraite (m_{huile}) a été déterminée par rapport à la masse de la matière fraîche (m_{mf}), selon la formule suivante:

$$\text{Le rendement en huile (\%)} = \frac{m_{\text{huile}}}{m_{\text{mf}}} \times 100$$



Figure 20: Extraction d'huile par Soxhlet (Photo : Labdelli, 2016).

II.2.2.3. Caractéristiques chimiques d'huile

a) Indice d'acide (ISO 660, 2014)

L'indice d'acide est une mesure qui permet l'évaluation d'altération hydrolytique des corps gras. Les triglycérides sont alors partiellement hydrolysés en acides gras libres. C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser l'acidité libre d'un gramme de matière grasse.

Environ 0.1g d'huile est dissoute dans 50mL éthanol. Le titrage est réalisé avec une solution d'hydroxyde de potassium KOH (0.1N), en utilisant la phénolphthaléine comme indicateur coloré.

L'indice d'acide se détermine comme suit:

$$IA \left(mg \text{ de } \frac{KOH}{g} \text{ d'huile} \right) = V \times N \times 56.11 / g \text{ d'huile}$$

L'acidité libre permet à la fois la classification des huiles, et le renseignement sur leur état d'altération. C'est la quantité d'acides gras libres exprimé en pourcentage d'acide oléique.

$$Acidité (\% \text{ acide oléique}) = \frac{V \times N \times 282}{10 \times PE}$$

où V : Le volume de KOH (mL) nécessaire à la neutralisation des acides gras libres.

N : La normalité de la solution de KOH;

PE : La prise d'essai en g;

282 : Masse molaire de l'acide oléique (g/mol).

b) Indice de peroxyde (IP)

L'indice de peroxyde permet l'évaluation de la quantité d'oxygène actif du peroxyde contenu dans l'huile. C'est le nombre d'hydroperoxydes de l'huile formés au cours de la conservation par auto-oxydation (exprimé en milliéquivalents grammes d'oxygène par kg de corps gras).

Il est défini comme étant le nombre de milligrammes actifs du peroxyde contenu dans un gramme de produit et oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode.

Un gramme d'huile est dissous dans 12.2mL du mélange d'acide acétique et du chloroforme (3:2, v / v). 15mL d'une solution d'iodure de potassium saturée sont additionnés au mélange. Ce dernier est placé à l'obscurité pendant 15min. Ensuite 60mL d'eau distillée et 1ml d'une solution d'empois d'amidon sont ajoutées (une couleur violette apparaît). Le mélange obtenu a été titré par une solution de thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$) à 0.01N (Organisation Internationale de Normalisation ISO 3960, 2010).

L'indice de peroxyde (IP) est exprimé en méq O₂/Kg d'huile, selon la formule suivante:

$$IP = (V - V_0) \times N / g \text{ d'huile}$$

où V₀ : est le volume de thiosulfate de sodium (mL) nécessaire pour titrer le blanc.

V : est le volume de thiosulfate de sodium (mL) nécessaire pour titrer l'essai.

N : est la normalité de la solution de thiosulfate de sodium.

II.2.2.4. La composition en acides gras des différentes parties de la graine

L'extraction des acides gras au niveau des graines entières, des amandes et des épicarpes a été réalisée selon la méthode (FAME (Fatty Acid Methyl Ester), norme ISO: 12966-3). 400mg d'échantillon sont placées dans des flacons auquel sont rajoutés 5mL de solvant organique, le TBME (Ter butyl méthyl éther) (Scharlau, ME0552). Plusieurs agitations par vortex sont nécessaires pour bien solubiliser l'huile. Après un certain temps de repos, l'échantillon est filtré avec un filtre Acrodisc GHP[®] 13mm, munie d'une membrane GHP 0.45µm (Pall, France) à l'aide d'une seringue afin de séparer la phase organique du broyat. 100µL de ce filtrat sont transférés dans un insert de 200µL puis transestérifiés par l'ajoute de 50µL de Triméthyl sulfonium hydroxyde (TMSH) (Macherey-Nagel) et agiter doucement. Cette réaction a lieu au moment de l'injection sous l'effet de la température et forme des esters méthyliques d'acide gras. L'analyse des acides gras a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG).

- **Analyse des acides gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

Le chromatographe en phase gazeuse (CPG-FID avec passeur) utilisé dans cette étude est de type VARIAN 3900 (Figures 21). Généralement, les composés les plus volatils sont les plus rapidement entraînés du fait de leur tension de vapeur plus élevée. Le calibrage de la méthode d'analyse en CPG se fait via l'interface informatique qui permet de programmer tous les paramètres utiles, et en particulier la température qui permet d'optimiser la séparation des acides gras. Le gaz vecteur est l'hélium. Le débit de colonne: 1.2mL/min et le mode d'injection: split 1:100. Les conditions optimales utilisées des températures sont : 185°C pendant 40min, puis 15°C/min jusqu'à 250°C et 250°C pendant 10 min, 250°C d'injecteur et 250°C du détecteur.

10µL ont été injectés dans une colonne capillaire apolaire de type CP-select CB de longueur 50m, de diamètre interne (DI) 0.32mm et d'épaisseur de film (Ef) de 0.25µm.



Figure 21: Le chromatographe en phase gazeuse VARIAN (3900).

II.2.2.5. Extraction et dosage des phytostérols par CPG

La méthode d'extraction des phytostérols utilisée dans cette étude est basée sur la méthode normée NF 5508 (Roche, 2005). 50 μ L de solution d'étalon interne de cholestanol (Dihydrocholesterol, Aldrich Chem. Co.) (2g/L sont dissous dans du chloroforme et pesés avec précision dans un tube en verre avec bouchon). Après évaporation du chloroforme, 500mg de graines broyées sont ajoutés à la solution.

La saponification est réalisée par ajout de 4mL de KOH (1M) dans l'éthanol, pendant 60 minutes à 60°C suivie d'une agitation au vortex. Le tube a été refroidi à température ambiante et 1mL d'eau distillée a été ajouté. La fraction non saponifiable a été extraite des lipides saponifiés avec 6mL de cyclohexane (MERK). Les tubes ont été agités pendant une minute à l'aide d'un agitateur vortex. Les résultats de décantation, permettent d'obtenir une biphas sur lequel la phase supérieure hexanique contient la fraction insaponifiable dont les phytostérols, est prélevée, alors que la phase inférieure aqueuse renferme des sels solubles (savons) contenant les acides gras. 160 μ L sont prélevés dans un microtube en vue de leur analyse en CPG. Au moment de l'injection, les phytostérols sont silylés par ajout 40 μ L de réactif contenant de BSTFA (Triméthylsilyl-trifluoroacétamide) et 1% de TMCS (Triméthylchlorosilane). Le BSTFA est un réactif silylant, le TMCS est un catalyseur ajouté souvent à BSTFA pour augmenter la capacité du donneur de silyle.

1 μ L de dérivés stérol triméthylsilyl éther a été injecté dans un CPG-FID Perkin Elmer (Waltham, MA, USA) équipé d'une colonne capillaire CPSil 8CB (30m, ID : 0.25mm, Ef : 0.52 μ m). Le gaz

vecteur est l'hélium avec une pression en tête de colonne de 100KPa. Les températures d'injecteur sont 55°C pendant 0.5min, 200°C/min jusqu'à 340°C et 340°C pendant 30min. Programmation de la température du four : 160°C pendant 0.5min, 20°C/min jusqu'à 260°C pendant 5.5min, 2°C/min jusqu'à 300°C (10min) et 45°C/min jusqu'à 350°C (3min). Le détecteur FID porté à 365°C.

Les phytostérols totaux détectés comprenaient les déméthylphytostérols (β -sitostérol, campestérol, stigmastérol, δ 7-avenastérol, Cholestérol), les méthylphytostérols (24-éthylidène-lophénol aussi appelé citrostadiénol) et les diméthylphytostérols (cycloartérol et méthylène cycloartanol).

II.2.2.6. Teneur en protéine et en sucres solubles

a) Teneur en protéine

La teneur en protéine a été déterminée selon la norme française NF V 18-100 par la méthode du Kjeldhal. Le dosage d'azote a été effectué par la méthode de Kjeldahl (*Kjeltec*TM 8400 et *Passeur Kjeltec*TM 8420).

- **Principe de la méthode kjeldahl**

Cette analyse est effectuée sous la hotte d'extraction avec un système de neutralisation des vapeurs acides.

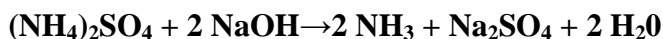
Cette méthode consiste à hydrolyser la matière sèche par ébullition en présence d'acide sulfurique concentré et par la présence de catalyseur, le carbone s'élimine sous forme de dioxyde de carbone (CO₂), l'hydrogène sous forme d'eau et l'azote reste en solution sous forme d'ion ammonium (NH₄⁺).

L'azote est transformé en ammoniaque fixée par l'acide sulfurique sous la forme de sulfate d'ammonium. En présence d'une solution alcaline, ce sel libère de l'ammoniac qui est ensuite piégé et quantifié par un dosage acido-basique.

Minéralisation avec l'acide sulfurique :



Réaction d'alcalinisation par la soude :



L'échantillon est minéralisé par de l'acide sulfurique concentré à chaud en présence d'un catalyseur (NH₄⁺, CuSO₄).

Cette analyse s'effectue en deux étapes : la minéralisation de l'échantillon grâce au bloc de minéralisation Tecator Kjelttec 2020; et la titration de l'ammoniac grâce au Tecator-Foss Kjelttec™ 8400 qui permet le dosage en direct et la gestion des réactifs.

La préparation des échantillons s'effectue une journée avant. On mélange 0.5g des graines broyées avec 12.5mL à 95% de l'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré dans le tube de minéralisation. Après, deux pastilles de catalyseur ($K_2SO_4 + CuSO_4$) sont introduites dans le tube avant de minéraliser le mélange à 400°C pendant environ 1h. Durant cette étape, la totalité de l'azote de l'échantillon est transformée en ions ammoniums.

Après refroidissement des tubes de minéralisation, la préparation à la titration de l'azote minéralisé est nécessaire. Après avoir installé les tubes dans le passeur Kjelttec™ 8420 couplé avec lui, l'analyseur Kjelttec™ 8400 délivre de l'eau distillée puis de la soude à 40% dans le tube pour transformer les ions ammoniums en ammoniac.

La distillation du contenu du tube permet d'entraîner à la vapeur l'ammoniac produit par l'ajout de soude, que l'on piège dans une solution d'acide borique à 1% colorée par un mélange indicateur (vert de bromocrésol et rouge de méthyle). La quantité d'acide borique qui a servi à neutraliser l'ammoniac dégagé est compensée lors du dosage par de l'acide chlorhydrique titré à 0.1N afin de revenir à la couleur de départ de l'acide borique (indicateur).

Cet analyseur est associé à un logiciel Compass™. L'analyseur est complété avec un passeur Kjelttec™ 8420 pour une opération entièrement automatisée.

La teneur en protéines a été établie selon l'estimation standard qui consiste à multiplier le pourcentage d'azote par un coefficient de 6,25.

b) Dosage des sucres solubles

Les sucres simples (glucose, fructose, saccharose) sont extraits par un solvant capable de les solubiliser et de bloquer les activités enzymatiques susceptibles de les dégrader. Ils sont dosés par la méthode de Schields et Burnett (1960).

Le principe de la réaction est basé sur la condensation des produits de dégradation des oses neutres par l'acide sulfurique. Ce dernier très concentré, transforme à chaud les oses en dérivés du furfural qui donnent une coloration bleu vert avec l'anthrone. Cette même méthode est décrite par Gomez et al., 2003.

0.1g de graines broyées ont été extraites dans de l'éthanol à 80% (5.25mL) pendant 24h. L'extrait obtenu est dilué 10 fois avec l'éthanol à 80%. Ensuite, 1 ml a été mélangé avec 2 ml de réactif composé de 0.1g d'anthrone ajouté à 50mL d'acide sulfurique (H₂SO₄). Le réactif est préparé 4 heures à l'avance. Le mélange extrait-réactif doit être maintenu dans de la glace fondante. Après agitation, les tubes sont placés au bain-marie à 92°C pendant 8mn, puis refroidis pendant 30mn à l'obscurité. L'absorbance est lue au spectromètre à une longueur d'onde de 585nm. La concentration des sucres solubles est exprimée en mg/gMF.

II.2.2.7. Dosage des composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante

a) Préparation de l'extrait

L'extraction des polyphénols à partir des graines entières et les épicarpes est réalisée par macération alcoolique.

Un gramme des graines entières et épicarpes ont été broyés en poudre en utilisant un mortier (Grinder RM 200-Retsch) avec 20mL de méthanol et laissé pendant 48 heures à l'obscurité à température ambiante. Le mélange a été filtré à travers un filtre de 0.45µm GHP. Le solvant est éliminé sous pression réduite dans un évaporateur rotatif à 60°C. L'extrait brut a été dissous dans 3mL de méthanol pour analyser.

b) Les composés phénoliques totaux (TPC)

En milieu alcalin, les polyphénols réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu en oxyde de tungstène et de molybdène de couleur bleue pH 9.0. L'intensité de cette couleur bleue renseigne sur le contenu en polyphénols totaux dans le mélange (Singleton et al., 1999).

Une prise de 200µL d'extrait a été mélangée à 1mL de réactif de Folin-Ciocalteu (10%). Après agitation vigoureuse et repos du mélange pendant 5mn, 0.8mL de la solution Na₂CO₃ (7.5%). Après une incubation de 30min à température ambiante dans l'obscurité, l'absorbance a été déterminée à 765nm à l'aide d'un spectrophotomètre (UV-1800, Shimadzu).

Une gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique à des concentrations de 50, 100, 200, 300 et 400µg/mL. Les résultats ont été exprimés en milligrammes de l'acide gallique équivalent par gramme de matière fraîche (mg EAG/gMF).

c) L'évaluation de l'activité antioxydante totale (TAA)

Le principe est basé sur la réduction du **molybdène VI** en **molybdène V** par l'extrait de plante. Cette réduction induit, à pH acide, la formation du complexe phosphate/Mo (V) de couleur verte (Prieto et al., 1999). 100µL d'extrait est combinée dans un tube avec 1ml de solution de réactif (0.6N d'acide sulfurique, 28mM de phosphate de sodium et 4mM de molybdate d'ammonium). Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90mn. Le mélange a été refroidi à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 695nm. L'activité antioxydante totale est exprimée en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière fraîche (mg EAG g⁻¹MF).

d) Identification et caractérisation des composés phénoliques par la chromatographie liquide à haute performance (HPLC)**• Conditions chromatographiques**

Le système chromatographique de séparation, l'analyse des acides phénoliques et des flavonoïdes a été réalisé avec la chromatographie liquide Shimadzu, le compartiment de la colonne thermostatique, le dégazeur en ligne et un détecteur UV-visible modèle SPD-20A (fonctionnant à 268nm). Une colonne analytique utilisée était une Shim-pack VP-ODS C18 (4.6mm×250mm, 5µm), (Shimadzu Co., Japon). Un système linéaire à gradient binaire constitué d'acétonitrile (A) et d'acide acétique à 0.2% dans l'eau (B) a été utilisé. La méthode du gradient a été générée en commençant par 90% B, puis en diminuant à 86% B en 6 min, à 83% B en 16min, à 81% B en 23min, à 77% B en 28 min, maintenue à 77% B en 28-35min, à 60% B en 38min, à 90% B en 50min; à un débit de 1ml/min. La quantification des pics séparés a été effectuée par étalonnage avec les standards, l'acide gallique (GA), l'acide chlorogénique (CGA), l'acide vanillanique (VA), l'acide caféique (CA), l'acide *p*-coumarique (*p*-CA), la vanilline (V), la rutine (RU), la naringine (NAR) et la quercétine (QE). Le volume injecté est de 20µL. Les compositions phénoliques ont été quantifiées en traçant une courbe standard avec les étalons respectifs (Figure 22).

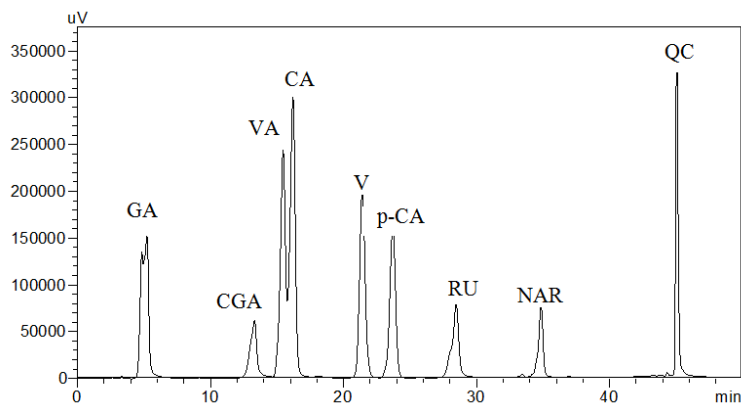


Figure 22 : La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) chromatogramme des composés phénoliques. Les composés identifiés sont : GA- Acide Gallique, CGA- Acide Chlorogénique, VA- Acide Vanillique, CA- Acide Caféique, V-Vanilline, *p*-CA- Acide *p*-coumarique, RU-Rutine, QC-quercétine.

II.2.3. Composition minérale des graines

L'objectif du présent travail est d'établir le profil chimique des graines.

II.2.3.1. Taux d'humidité H (%)

L'humidité est déterminée en plaçant l'échantillon (5 à 9g) dans une étuve ventilée à 50°C pendant 48 heures jusqu'à l'obtention d'un poids constant. À la sortie de l'étuve, avant la pesée de la matière sèche, les échantillons sont placés dans un dessiccateur et refroidis à température ambiante.

Le taux d'humidité, exprimé en pourcentage par rapport au poids frais des échantillons, est donné comme étant : **Taux d'humidité H (%) = $(m_i - m_f) / m_i * 100$**

Où : **m_i** : la masse de la prise avant séchage et **m_f** : la masse de la prise après séchage.

II.2.3.2. Cendre et éléments minéraux

Un gramme de graines broyées ont été incinérés dans un four à moufle à 500°C pendant une nuit. Les cendres sont obtenues après minéralisation et solubilisées au bain de sable dans l'acide chlorhydrique HCl (37%) pendant 15min puis filtrer par papier filtre et compléter le volume à 100mL avec de l'eau distillée (Guéguen, 1959). La teneur en cendres se calcule alors comme étant le rapport entre le poids de l'échantillon après calcination et celui de la matière fraîche.

Les teneurs en cuivre (Cu), manganèse (Mn), zinc (Zn), sélénium (Se), plomb (Pb) et fer (Fe) ont été déterminées par absorption atomique (PerkinElmer, PinAAcle 900T) (Figure 23), le sodium

(Na) et le potassium (K) par spectrophotométrie de flamme (Jenway), le calcium (Ca), et magnésium (Mg) par titration. La teneur en phosphore de la graine a été réalisée par détermination spectrophotométrique à 650nm contre une gamme étalon (Joret-Hebert, 1955). L'azote (N) a été analysé par la méthode Kjeldahl (*Kjeltec™ 8400 et Passeur Kjeltec™ 8420*).



Figure 23 : Spectrophotomètre à absorption atomique (PerkinElmer, PinAAcle 900T).

II.2.4. Analyse statistique

Toutes les données des différents essais ont été exprimées comme moyen \pm écart-type (trois répétitions). L'analyse de la variance avec un ou deux facteurs d'analyse de variance (ANOVA et corrélation), a été calculée à l'aide du logiciel statistique STATISTICA Version 8.0 (StatSof. Tulsa, USA) afin de déterminer les différences significatives entre les résultats. Les différences entre les moyennes à des niveaux de 5%, 1% et 0.1% ($p < 0.05$, 0.01 ou 0.001) ont été considérées comme statistiquement significatives.

II.3. Résultats

II.3.1. Composition biochimique des graines

II.3.1.1. Le poids de mille grains

Les résultats du poids de mille grains (PMG) (Tableau 20) varient significativement à travers les écotypes étudiés. Les valeurs se concentrent dans l'intervalle délimité par des extrêmes de 119.34g inscrite par l'écotype de Batna et 83.63g observée chez celui de Tiaret de la localité de Zmalet El Emir Abdelkader (TZ). On note que le poids de mille grains ne se trouve nullement influencé par le positionnement dans les différents étages bioclimatiques des écotypes concernés par notre étude. Ceci nous conduit à supposer que la formation des graines et l'acquisition de leurs tailles finales ne sont faiblement dépendantes des conditions environnementales et particulièrement climatiques. Ceci se confirme par les variations assez prononcées des bilans pluviométriques (Tableau 5) des régions de collecte des graines et qui ne semblent que faiblement impliquées dans l'élaboration du poids de mille grains.

II.3.1.2. La teneur en huile des graines

Les résultats obtenus (Tableau 13), indiquent que les variations du rendement en huile sont hautement significatives ($p \leq 0.001$). Toutefois, le rendement moyen inscrit par l'ensemble des écotypes reste plus élevé comparativement à plusieurs espèces oléagineuses. Il atteint des valeurs supérieures à 32% (Tableau 15).

Les valeurs moyennes de ce paramètre (Tableau 15), oscillent entre $67.3 \pm 3.9\%$ et 32% enregistrées respectivement par les écotypes de Laghouat et Batna. La lecture des variations de ces résultats indique que les écarts enregistrés s'annoncent très marqués. Néanmoins, ces résultats indiquent que les teneurs en huile relevées chez l'ensemble des écotypes demeurent concentrées, majoritairement, à des niveaux vacillant entre 40 et 60%.

Cette partie de l'étude tente également d'évaluer les effets de l'année de récolte des graines sur leur teneur en huile. Cette influence a été évaluée chez deux écotypes, de Djelfa et Bechar. Le choix de ces écotypes s'est fait en valorisant le contraste des facteurs climatiques qui se trouvent efficacement justifié. Les résultats indiquent que les variations environnementales et particulièrement climatiques affectent d'une façon distinctive entre les écotypes concernés, la teneur en huile. Pour l'écotype de Djelfa la variation annuelle s'avère sans effets marquants sur

ce paramètre et elle est estimée à une augmentation de faible grandeur de 0.75%. A l'opposé, l'écotype de Bechar est concerné par un abaissement de la teneur en huile à taux de 27.5%.

II.3.1.3. Caractéristiques chimiques de l'huile

Cette caractérisation a concerné les indices, d'acide et de peroxyde. L'étude s'est portée sur les graines de trois écotypes, issus de deux stations de la région de Tiaret et de la localité de Laghouat. Le choix de ces écotypes était imposé par la date similaire de collecte des graines et la période d'extraction de l'huile qui était identique. Ce procédé a été établi afin de limiter toute influence de la durée d'entreposage des graines soumises à cette analyse. En effet, les variations des durées de conservation des graines et de l'huile après son extraction constituent des variables de modification de leurs caractéristiques chimiques.

a) Indice d'acide

Les résultats (Tableau 14) indiquent que cet indice dépend de la nature des écotypes utilisés. Ainsi, l'ordre des variations s'avère très élevé où les valeurs issues de ces mesures s'échelonnent de 8.9, 23.19 et 25.8 (mg de KOH/g d'huile) inscrites respectivement chez les écotypes de Tiaret (TZ), Laghouat (L) et Tiaret (TR). Les valeurs de cet indice prouvent que l'acidité respective de l'ordre de 4.5%, 11.6% et 12.9%.

La lecture de ces résultats démontre qu'en plus d'une implication des effets environnementaux, la variabilité génétique au sein de cette espèce serait déterminante sur cette qualité. Cette hypothèse se justifie par une variation d'indice d'acide de l'huile extraite des graines des deux stations de la région de Tiaret et dont les conditions environnementales manifestent une certaine ressemblance.

Les résultats de ce paramètre indiquent les valeurs retrouvées s'annoncent plus que celles constatées généralement chez les autres espèces oléagineuses. Cette situation démontre que l'huile contenue dans les graines de cette espèce est vulnérable à de profondes modifications chimiques préjudiciables à un entreposage étalé dans la durée.

b) Indice de peroxyde (IP)

Les valeurs de cet indice (Tableau 14) s'avèrent faibles et peu variables parmi les trois écotypes étudiés. Les valeurs enregistrées s'étalent de 0.6, 1.27 à 1.4mécO₂/Kg huile pour respectivement les écotypes de Laghouat, Tiaret (TZ) et Tiaret (TR).

Tableau 13: Effet de la variabilité de l'écotype sur la composition des graines en quantité des acides gras et teneur en huile. Le degré de signification est exprimé par le test F

Variables	Huile	Acide Gras
Graine entière	119.4***	954***
Amande	-	1915***
Épicarpe	-	4341***

*** Significatif à $P \leq 0.001$; ** Significatif à $P \leq 0.01$; * Significatif à $P \leq 0.05$; ^{ns} non significatif

Tableau 14: Analyses chimiques des huiles en fonction de l'origine géographique des géotypes étudiés

Écotype	TR	L	TZ	Test F
IA (mg de KOH/g d'huile)	25.81±0	23.19±2.59	8.98±0	109.9***
Acidité (%)	12.97±0	11.66±1.3	4.51±0	109.9***
IP (méqO ₂ /Kg huile)	1.4±0.35	0.6±0	1.27±0.58	3.6ns

*** Significatif à $P \leq 0.001$; ^{ns} non significatif

II.3.1.4. La composition en acides gras de la fraction lipidique des constituants de la graine

Les résultats obtenus (Tableau 13), montrent que la composition en acides gras des lipides extraits de la graine entière, l'amande et l'épicarpe, dépendent de façon hautement significative des écotypes étudiés. Les analyses réalisées par chromatographie en phase gazeuse (CPG) permettent de définir les acides gras majoritaires des différents écotypes. La séparation de ces constituants aboutit à la distinction de neuf types différents. Toutefois, la répartition en quantité et nature de ces composés reste variable parmi les différents constituants de la graine.

II.3.1.4.1. Composition en acides gras de la graine entière

Les teneurs en différents acides gras identifiés varient grandement en fonction des écotypes étudiés (Tableau 15).

D'une façon générale, il y a une prédominance nette des acides gras mono-insaturés (AGMI). Parmi cette catégorie, l'acide oléique (C18:1n9) s'avère le plus représentatif et possède les teneurs les plus élevées où on note une valeur extrême chez l'écotype de Laghouat de 49.05%. Parmi les acides gras saturés, l'acide palmitique (C16:0) se réserve les teneurs les plus élevés où il enregistre une valeur de 26.65% (écotype de Djelfa). Enfin dans la catégorie des acides polyinsaturés, l'acide linoléique (C18:2n6) détient les valeurs les plus élevées avec une extrême évaluée à 31.06% notée chez l'écotype Tiaret (TR).

Cependant, parmi toutes les catégories chimiques des acides gras, les résultats indiquent que l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide palmitique enregistrent les valeurs les plus élevées dans la composition de la fraction lipidique des graines entières chez l'ensemble des écotypes étudiés.

D'autres acides gras tels, stéarique et α -linoléique existent à des teneurs faibles comparativement aux autres.

II.3.1.4.2. Composition en acide gras de l'amande et de l'épicarpe

L'étude quantitative des acides de la fraction lipidique des deux parties de la graine, l'amande et l'épicarpe démontre qu'elle dépend de la nature des écotypes étudiés (Tableaux 16, 17). Cette dépendance concerne également l'étude qualitative de cette fraction et ce au niveau des deux parties de la graine. Les différentes proportions des neuf acides gras retrouvés manifestent des niveaux de variations assez prononcés entre les deux parties de la graine et entre les différents écotypes.

a) L'amande

Au niveau de ce constituant, les résultats (Tableau 16) indiquent que la fraction la plus représentative des acides gras est détenue par les acides gras mono-insaturés où l'acide oléique se positionne en premier de cette catégorie. Ainsi, il détient la teneur la plus élevée chez l'ensemble des écotypes étudiés, avec des valeurs variables. Les données obtenues vacillent dans l'intervalle délimité par 46.88% (Djelfa) et 53.22% (Batna). Le second rang de cette composition est occupé par l'acide linoléique (acide polyinsaturé) où ses teneurs oscillent entre 26.83%, une valeur relevée chez l'écotype de Batna et une autre de 30.54% enregistrée chez l'écotype de Tiaret (TZ). Enfin, parmi les acides gras saturés, l'acide palmitique s'annonce majoritaire dans cette composition dont les valeurs qu'il détient sont comprises entre 13.31% (Laghouat) et 18.07% (Djelfa).

b) L'épicarpe

La composition en teneur et en type d'acide gras s'annonce très divergeant parmi les écotypes étudiés (Tableau 17). Les deux écotypes de la région de Tiaret manifestent une distinction se rapportant au fait que les teneurs en acides gras de leurs épicarpes se trouvent dominées par l'acide palmitique en inscrivant des valeurs atteignant 33.67% (TR) et 34.45% (TZ). Parmi les autres acides gras, l'acide oléique et l'acide linoléique, détiennent le second ordre pour leurs

teneurs respectives dans cette composition. Les plus hautes valeurs détenues sont relevées chez l'écotype TR avec 32.33% (acide linoléique) et 31.31% chez l'écotype TZ (acide oléique).

À l'exception de ces deux écotypes (TR et TZ), les autres ont inscrit une composition dominée par l'acide oléique, l'acide palmitique et l'acide linoléique, selon leurs teneurs respectives. La teneur en acide oléique varie entre 36.28% (Batna) et 51.76% (Laghouat). Concernant l'acide palmitique ses teneurs varient chez ce groupe d'écotypes entre 27.96% (Laghouat) et 34.81% (Djelfa). Enfin les teneurs en acide linoléique fluctuent entre les extrêmes de 15.29 et 29.96% inscrits respectivement chez les écotypes de Laghouat et Batna.

D'autres acides gras, essentiellement l'acide arachidique et l'acide eicosénoïque existent en de très faibles teneurs au niveau de ces deux constituants de la graine.

Tableau 15 : Composition en acide gras (%) et teneur en huile (%) des graines entières des différents écotypes. Les valeurs moyennes indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (avec une probabilité de 0.05) selon le test de comparaison de Duncan.

Acide gras (%)	2015				2016				
	D2	A2	B2	D	A	B	TR	TZ	L
Graine entière									
Huile (%)	40.1	47.8	32±0	40.4±2.16	37.47±2.02	-	50.53±2.71	59.37±0.21	67.3±3.91
Acide gras saturé									
C16:0	24.01±0.08 ^g	20.36±0.04 ^d	23.25±0.06 ^{a-b}	26.65±0.74 ^e	22.87±0.21 ^a	-	23.59±0.02 ^{b-c}	22.09±0.05 ^f	21.33±0.08 ^e
C18:0	1.8±0.01 ^d	2.26±0.01 ^g	1.68±0.01 ^b	2.07±0.02 ^a	1.71±0.01 ^c	-	1.83±0.00 ^e	2.08±0.01 ^a	2.12±0.03 ^f
C20:0	0.15±0.00 ^{a-b}	0.16±0.01 ^a	0.14±0.01 ^{a-b}	0.06±0.11 ^b	0.09±0.08 ^{a-b}	-	0.15±0.01 ^{a-b}	0.16±0.0 ^a	0.14±0.0 ^{a-b}
Totale AGS	25.96±0.09	22.78±0.06	25.08±0.08	28.79±0.86	24.67±0.29	-	25.57±0.03	24.33±0.06	23.59±0.11
Acide gras Mono-insaturé									
C16:1n7	1.99±0.02 ^g	0.78±0.01 ^b	0.85±0.00 ^c	0.98±0.00 ^d	1.17±0.02 ^a	-	1.04±0.01 ^e	1.37±0.03 ^f	1.18±0.03 ^a
C18:1n9	37.35±0.16 ^a	52.03±0.06 ^h	43.29±0.08 ^e	40.94±0.17 ^c	47.66±0.14 ^f	-	39.14±0.04 ^b	41.76±0.04 ^d	49.05±0.19 ^g
C18:1n7	1.77±0.01 ^h	1.15±0.01 ^b	1.04±0.01 ^a	1.21±0.03 ^d	1.48±0.01 ^g	-	1.24±0.01 ^e	1.18±0.01 ^c	1.44±0.01 ^f
C20:1n9	0.17±0.03 ^a	0.26±0.01 ^{c-d}	0.13±0.01 ^f	0.21±0.02 ^b	0.19±0.02 ^{a-b}	-	0.28±0 ^{d-e}	0.25±0.01 ^c	0.29±0.0 ^e
Totale AGMI	41.29±0.21	54.22±0.08	45.31±0.11	43.43±0.21	50.51±0.18	-	41.70±0.06	44.56±0.09	51.96±0.23
Acide gras Polyinsaturé									
C18:2n6	31.14±0.16 ^b	22.30±0.02 ^c	28.85±0.06 ^e	26.78±0.66 ^d	23.92±0.00 ^a	-	31.06±0.03 ^b	30.07±0.03 ^f	23.68±0.09 ^a
C18:3n3	1.24±0.02 ^f	0.71±0.01 ^b	0.75±0.01 ^a	1.09±0.01 ^e	0.89±0.01 ^c	-	1.67±0.02 ^g	1.05±0.0 ^d	0.77±0.0 ^a
Totale AGPI	32.38±0.18	23.01±0.03	29.61±0.06	27.87±0.67	24.81±0.01	-	32.73±0.05	31.12±0.04	24.45±0.09
Totale AGMI+IGPI	73.67±0.39	77.23±0.11	74.92±0.17	71.3±0.88	75.32±0.19	-	74.43±0.11	75.68±0.13	76.41±0.32
(AGPMI+AGPI)/AGS	2.84	3.39	2.99	2.48	3.05	-	2.91	3.11	3.24

Tableau 16: Composition en acide gras (%) des amandes des différents écotypes. Les valeurs moyennes indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (avec une probabilité de 0.05) selon le test de comparaison de Duncan.

Acide gras (%) Amande	2015					2016				
	D2	A2	B2	D	A	B	TR	TZ	L	
Acide gras saturé										
C16:0	15.59±0.15 ^b	14.44±0.08 ^a	15.60±0.09 ^b	18.07±0.19 ^f	17.18±0.07 ^e	-	14.07±0.09 ^d	14.42±0.06 ^a	13.31±0.03 ^c	
C18:0	2.35±0.02 ^d	2.90±0.02 ^g	2.02±0.01 ^a	2.51±0.03 ^e	1.83±0.01 ^b	-	2.0±0.01 ^a	2.26±0.01 ^c	2.86±0.01 ^f	
C20:0	00±0.0 ^a	00±0.0 ^a	00±0.0 ^a	0.20±0.0 ^f	0.13±0.0 ^b	-	0.16±0.1 ^c	0.17±0.01 ^d	0.19±0.0 ^e	
Totale AGS	17.94±0.17	17.34±0.10	17.62±0.10	20.78±0.22	19.13±0.07	-	16.23±0.11	16.85±0.08	16.36±0.04	
Acide gras mono – insaturé										
C16:1n7	0.91±0.01 ^g	0.54±0.01 ^c	0.6±0.00 ^a	0.59±0.02 ^a	0.86±0.00 ^f	-	0.68±0.01 ^d	0.78±0.0 ^e	0.51±0.01 ^b	
C18:1n9	48.86±0.09 ^d	52.88±0.06 ^{a-b}	53.22±0.05 ^b	46.88±0.18 ^c	50.41±0.04 ^f	-	51.08±0.64 ^g	49.98±0.13 ^e	52.69±0.05 ^a	
C18:1n7	1.15±0.01 ^d	0.98±0.01 ^a	0.95±0.01 ^{a-c}	0.99±0.01 ^a	1.34±0.01 ^e	-	1.0±0.01 ^a	0.87±0.1 ^b	0.91±0.0 ^{b-c}	
C20:1n9	0±0.0 ^a	0±0.0 ^a	0.24±0.01 ^b	0.26±0.03 ^c	0±0.0 ^a	-	0.37±0.01 ^e	0.33±0.01 ^d	0.4±0.01 ^f	
Totale AGMI	50.92±0.10	54.40±0.07	55.00±0.06	48.73±0.24	52.61±0.05	-	53.13±0.67	51.96±0.24	54.51±0.07	
Acide gras polyinsaturé										
C18:2n6	30.52±0.04 ^a	27.71±0.05 ^d	26.83±0.03 ^b	29.76±0.05 ^f	27.61±0.06 ^c	-	30.11±0.03 ^g	30.54±0.06 ^a	28.59±0.04 ^e	
C18:3n3	0.62±0.05 ^b	0.56±0.01 ^a	0.52±0.04 ^a	0.73±0.02 ^c	0.64±0.01 ^b	-	0.86±0.0 ^d	0.65±0.01 ^b	0.56±0.01 ^a	
Totale AGPI	31.14±0.09	28.27±0.05	27.35±0.07	30.49±0.07	28.25±0.06	-	30.97±0.03	31.19±0.07	29.15±0.09	
Totale AGMI+AGPI	82.06±0.19	82.67±0.12	82.35±0.13	79.22±0.31	80.86±0.11	-	84.1±0.7	83.15±0.31	83.66±0.16	
(AGMI+AGPI)/AGS	4,57	4,77	4,67	3,81	4,23	-	5,18	4,93	5,11	

Tableau 17: Composition en acide gras (%) des épicarpes des différents écotypes. Les valeurs moyennes indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (avec une probabilité de 0.05) selon le test de comparaison de Duncan.

Acide gras (%)	2015					2016				
	D2	A2	B2	D	A	B	TR	TZ	L	
Acide gras saturé										
C16:0	31.50±0.06 ^d	28.05±0.03 ^a	29.27±0.06 ^b	34.81±0.10 ^g	30.21±0.24 ^c	-	33.67±0.23 ^e	34.45±0.1 ^f	27.96±0.05 ^a	
C18:0	1.48±0.02 ^a	1.60±0.0 ^b	1.32±0.01 ^d	1.69±0.0 ^e	1.61±0.06 ^b	-	1.76±0.02 ^e	1.67±0.01 ^c	1.49±0.01 ^a	
C20:0	0±0 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a	-	0.14±0.01 ^d	0.11±0 ^c	0.08±0.01 ^b	
Totale AGS	32.99±0.07	29.65±0.03	30.59±0.06	36.50±0.0	31.82±0.30	-	35.57±0.26	36.23±0.11	29.53±0.07	
Acide gras mono - insaturé										
C16:1n7	2.45±0.02 ^f	1.09±0.01 ^a	1.08±0.00 ^a	1.17±0.02 ^b	1.45±0.03 ^d	-	1.39±0.02 ^c	2.32±0.02 ^e	1.06±0.02 ^a	
C18:1n9	31.72±0.12 ^c	51.45±0.01 ^g	36.28±0.03 ^d	37.01±0.08 ^e	47.67±0.04 ^f	-	26.51±0.21 ^a	31.31±0.18 ^b	51.76±0.09 ^h	
C18:1n7	2.02±0.01 ^f	1.43±0.0 ^d	1.19±0.01 ^a	1.19±0.0 ^a	1.8±0.04 ^e	-	1.49±0.0 ^b	1.50±0.01 ^b	1.39±0.01 ^c	
C20:1n9	0±0 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a	-	0.18±0.01 ^d	0.12±0 ^b	0.17±0.0 ^c	
Totale AGMI	36.20±0.16	53.97±0.02	38.55±0.03	39.37±0.1	50.92±0.11	-	29.57±0.24	35.25±0.21	54.38±0.12	
Acide gras polyinsaturé										
C18:2n6	29.36±0.07 ^f	15.57±0.0 ^b	29.96±0.06 ^g	23.0±0.04 ^d	17.27±0.27 ^c	-	32.33±0.05 ^h	26.90±0.09 ^e	15.29±0.06 ^a	
C18:3n3	1.46±0.03 ^e	0.83±0.03 ^a	0.89±0.01 ^c	1.12±0.01 ^d	0.00±0 ^b	-	2.52±0.03 ^g	1.62±0.01 ^f	0.81±0.0 ^a	
Totale AGPI	30.82±0.09	16.4±0.03	30.86±0.07	24.12±0.05	17.27±0.27	-	34.85±0.08	28.52±0.1	16.10±0.06	
Totale AGMI+AGPI	67.02±0.25	70.37±0.05	69.41±0.1	63.5±0.15	68.19±0.38	-	64.42±0.32	63.77±0.31	70.48±0.18	
(AGMI+AGPI)/AGS	2.03	2.37	2.27	1.74	2.14	-	1.81	1.76	2.39	

C16:0 (acide Palmitique), C18:0 (acide Stéarique), C20:0 (acide Arachidique), C16:1n7 (acide Palmitoléique), C18:1n9 (acide Oléique), C20:1n9 (acide Eicosénoïque), C18:2n6 (acide Linoléique), C18:3n3 (acide Linoléique) ; Acide gras saturé (AGS), Acide gras mono-insaturé (AGMI), Acide gras polyinsaturé (AGPI).

(A : Béchar ; B : Batna ; D : Djelfa ; L : Laghouat ; TR : Tiaret Rechaiga ; TZ : Tiaret Zemalet El Emir AEK).

II.3.1.4.3. Effet de l'année de récolte des graines sur la composition en acide gras

Les résultats indiquent que la composition en acides gras des graines, particulièrement au niveau de l'épicerpe est modifiée par les conditions environnementales de l'année de leur récolté (Tableau 18). Les résultats ont été prouvés par une étude de l'effet annuel chez deux écotypes, de Djelfa et Bechar.

Cette influence s'exprime par un accroissement de la teneur en acides gras saturés au niveau de tous les constituants de la graine (Tableaux 15, 16, 17). Les valeurs de l'augmentation relative de ces acides atteignent au niveau de l'épicerpe des seuils de 9.62% (Djelfa) et 6.82% (Béchar). Au niveau de l'amande ces augmentations s'avèrent plus faibles. La variation des autres gras s'annonce quelconque.

Tableau 18: Effet d'écotype et d'année de récolte des graines sur la composition en acide gras des différentes parties de la graine des deux écotypes.

Variabiles	Effet Écotype	Effet Année	Effet Écotype*Année
Graine	51714**	1176*	5358*
Amande	8ns	179ns	8ns
Épicerpe	312550***	56424***	34500***

*** Significatif à $P \leq 0.001$; ** Significatif à $P \leq 0.01$; * Significatif à $P \leq 0.05$; ns non significatif

II.3.1.4.4. Analyse en composantes principales de la composition en acides gras des différents constituants de la graine

L'analyse en composantes principales basée sur la composition en acide gras des constituants de la graine des différents écotypes, révèle que les 02 premières composantes expliquent 76.48% de la variabilité observée, soit 50.58% pour l'axe 1 et 25.90% pour l'axe 2 (Figure 24).

Les caractères fortement corrélés au premier axe sont principalement expliqué par les variables C16:0, C16:1n7 et C18:1n7 d'une part et par les variables C18:0, C20:1n9 et C18:1n9 d'autre part. Les variables C18:3n3, C18:2n6 et C18:1n9 permettent d'expliquer le second axe.

La répartition quantitative et la nature des composés des acides gras restent variables parmi les différents constituants de la graine à savoir, la graine entière, l'épicerpe et l'amande. On peut distinguer trois groupes (Figure 24) dont les principales caractéristiques sont :

- Le premier groupe représenté par l'épicerpe qui se caractérise par des forte teneurs des acides, Linoléinique (C18:3n3), palmitique (C16 :0), Palmitoléique (C16:1n7) et C18:1n7 ;

- Le second groupe intègre les amandes des graines des populations et qui se détermine par la présence des quantités supérieures en acides, Linoléique (C18:2n6), Stéarique (C18:0), Arachidique (C20:0), Eicosénoïque (C20:1n9) et Oléique (C18:1n9);
- Le dernier groupe rassemble la composition en acide gras des graines entières des six populations étudiées. Ce groupe présente des teneurs supérieures en principaux acides gras tel que les acides, Oléique (C18:1n9), C16:0 (Palmitique), C16:1n7 (Palmitoléique), C18:0 (Stéarique) et C18:3n3 (Linoléénique).

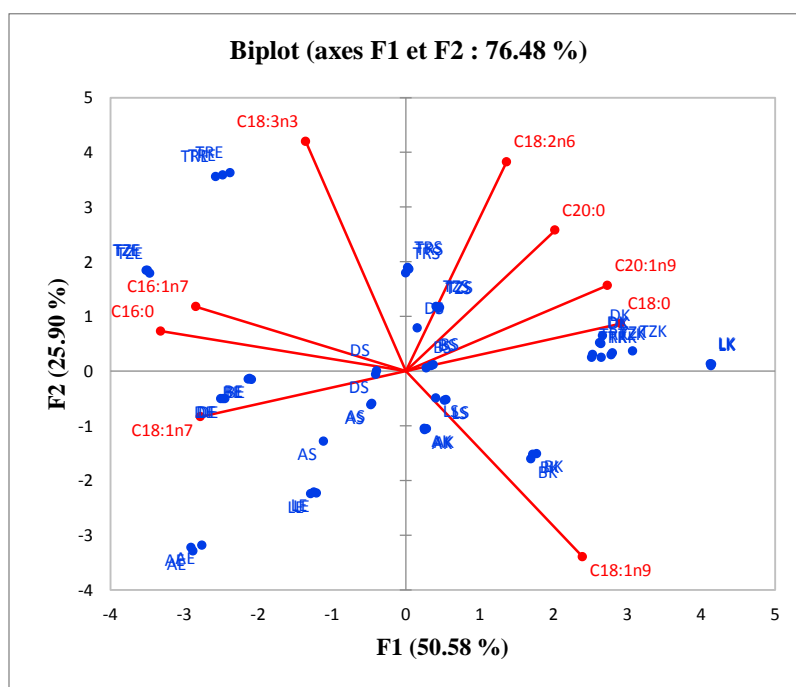


Figure 24 : Analyse en composantes principales de la composition en acides gras des différents constituants de la graine (Épicarpe (E) ; Amande (K) ; Graine entière (S)) des différentes populations étudiées (A : Béchar ; B : Batna ; D : Djelfa ; L : Laghouat ; TR : Tiaret Rechaiga ; TZ : Tiaret Zemalet El Emir AEK).

II.3.1.5. La composition en phytostérols

Trois principaux groupes de composés ont été détectés (Tableau 19) dans les graines des six écotypes concernés par cette analyse, les Déméthylphytostérols (DMS), les Méthylphytostérols (MS) et les Diméthylphytostérols (DiMS). Les résultats obtenus montrent que les DMS représentent la teneur la plus élevée comparativement aux deux autres groupes. Cette constatation a été relevée chez l'ensemble des écotypes étudiés. Leurs taux varient entre 89.35mg/100gMF (écotype A) et 114.10mg/100gMF (écotype L). Ce groupe de composés est représenté par cinq substances, le β -sitostérol, le campestérol, le stigmastérol, le δ^7 -avenastérol et le cholestérol. Les teneurs de ces composés distinguent le β -sitostérol comme le principal constituant de cette fraction des phytostérols dont les contenances sont comprises entre les valeurs de 72.81mg/100gMF (écotype TR) et 81.08mg/100gMF (écotype TZ). A l'opposé, le Cholestérol s'avère le constituant dont les teneurs s'annoncent les plus faibles dans la composition des déméthylphytostérols (DMS), où sa présence n'a été signalée que chez les seules les graines d'écotype A avec une teneur de 0.52mg/100gMF.

Le groupe des diméthylphytostérols (DiMS) représente le second constituant suivant les teneurs enregistrées par les graines des différents écotypes. Les quantités relevées sont comprises entre 6.77mg/100gMF (écotype TZ) et 12.42mg/100gMF (écotype B). Deux principaux composés forment ce groupe, le Cycloarténol et le Méthylèncycloartanol, où la première substance détient les teneurs les plus élevées atteignant 8.36mg/100gMF (écotype B).

Enfin, le groupe des méthylphytostérols (MS) représenté par le seul composé qu'est le Citrostadiénol, représente-le constituant ayant enregistré les faibles teneurs des phytostérols avec des valeurs comprises entre les extrêmes de 2.45 mg/100gMF (écotype L) et 1.83mg/100gMF (écotype B).

Tableau 19: Composition en phytostérols en mg/100gMF et pourcentage (%) par rapport aux stérols totaux

Écotype		D		A		B		TR		L		TZ	
		mg/100 g MF	%	mg/100 g MF	%	mg/100g MF	%	mg/100 g MF	%	mg/100 g MF	%	mg/100 g MF	%
Déméthylphytostérols (DMS)	β-Sitostérol	74.03	70.18	75.19	73.13	76.09	72.92	72.81	70.72	97	75.55	81.08	83.83
	Campestérol	3.52	3.34	4.18	4.07	4.11	3.94	3.07	2.98	4.62	3.6	3.69	3.82
	Stigmastérol	3.62	3.43	2.03	1.97	2.08	1.99	2,25	2.19	2.77	2.16	2.06	2.13
	δ7-Avenastérol	11.24	10.66	7.43	7.23	7.12	6.82	14,14	13.73	9.71	7.56	3.12	3.23
	Cholestérol	-	-	0.52	0.51	-	-	-	-	-	-	-	-
	Total DMS		92.41	87.6	89.35	86.9	89.4	85.67	92.27	89.63	114.1	88.86	89.95
Méthylphytostérols (MS)	Citrostadiénol	2.14	2.03	1.85	1.8	1.83	1.75	2.13	2.07	2.45	1.91	-	-
	Total MS	2.14	2.03	1.85	1.8	1.83	1.75	2.13	2.07	2.45	1.91	-	-
Diméthylphytostérols (DiMS)	Cycloarténol	8.36	7.92	7.61	7.4	8.35	8	6.08	5.91	8.45	6.58	4.89	5.06
	Méthylène cycloartanol	2.58	2.45	4.01	3.9	4.07	3.9	2.47	2.4	3.4	2.65	1.88	1.94
	Total DiMS	10.94	10.37	11.62	11.3	12.42	11.9	8.55	8.31	11.85	9.23	6.77	7
Total Phytostérols		105.49	100	102.82	100	104.35	100	102.95	100	128.4	100	96.72	100

II.3.1.6. Teneur en protéines et en sucres solubles des graines

L'étude de données obtenues (Tableau 20), affiche que les teneurs en sucres simples et en protéines des graines, varient significativement parmi les écotypes concernés par ce dosage. La variation s'avère plus prononcée pour les sucres solubles (Tableau 20). En effet, leurs teneurs oscillent entre 55.24mg/gMF chez l'écotype de Batna et 128.06mg/gMF chez l'écotype de Béchar. La lecture de ses résultats indique que la quantité des sucres simples que contiennent les graines dépend de la nature des écotypes qui imposent inévitablement les conditions écologiques de positionnement de ces derniers. On remarque ainsi que la teneur en sucres croit avec la tendance d'aridité des conditions climatiques, où les écotypes se distinguent en trois groupes en fonction d'expression de ce paramètre. Le premier englobe ceux de Béchar et Djelfa, le second intègre ceux de Laghouat et Tiaret (TZ) et enfin le dernier regroupe les écotypes de Batna et Tiaret (TR).

La teneur en protéines varie également à travers les différents écotypes mais d'une façon moins accrue. Les valeurs obtenues sont comprises entre 9.56% pour les graines d'écotype de Tiaret (TR) et 7.69%, enregistrée chez celui de Batna.

Tableau 20: Composition biochimique des gaines des différentes stations

Paramètres	D	A	B	TR	L	TZ	Test F
PMG (g)	97.21	106.37	119.34	98.03	87.24	83.63	-
Protéines (%)	8.45±0.2 ^a	7.73±0.13 ^b	7.69±0.55 ^b	9.56±0.32 ^c	8.82±0.35 ^a	8.46±0.42 ^a	11.57***
Sucres (mg/gMF)	125.29±9.55 ^b	128.06±8.39 ^b	55.24±5.02 ^c	77.17±7.85 ^d	94.96±4.59 ^a	93.16±5.57 ^a	46.54***

*** Significatif à $P \leq 0.001$

II.3.1.7. Étude quantitative et qualitative des polyphénols totaux des graines

Les teneurs en polyphénols totaux dosés au niveau de la graine entière et l'épicarpe varient d'une façon hautement significative à travers la nature des écotypes testés (Tableau 21).

Leur dosage au niveau de la graine enregistre des valeurs très distinctes parmi les écotypes. Ainsi, on note que les teneurs (Tableau 21) sont comprises dans l'intervalle délimité par 257.66mg EAG/gMF (Djelfa) et 109.05mg EAG/gMF (Tiaret TZ).

La teneur équivalente de l'épicarpe en polyphénols totaux est plus élevée comparativement à celle de la graine entière. Ceci indique que la richesse de la graine en polyphénols totaux se localise principalement au niveau de l'épicarpe et qui se confirme par la forte corrélation positive

entre ces deux teneurs ($r=0.93^{***}$). La présence relative de ces composés s'avère faible au niveau de l'amande. Les valeurs relevées au niveau de l'épicarpe varient entre des extrêmes représentés par 450.39mg EAG/gMF (Djelfa) et 150.20mg EAG/gMF (Tiaret TZ). La caractérisation qualitative des polyphénols indique qu'ils riches principalement, en quercétine, acide gallique et l'acide chlorogénique (Tableau 22). Outre ces composés majeurs, d'autres composés identifiés à partir de ce profil existent à des faibles proportions.

II.3.1.8. L'activité antioxydante totale des graines

L'étude biochimique des graines reporte une contenance assez élevée en flavonoïdes, ce qui leur attribue des capacités antioxydantes importantes. Ceci se confirme par l'évaluation de cette activité jugée élevée, notamment à l'échelle de l'épicarpe comparativement à celle relevée au niveau de la graine entière (Tableau 21).

En fonction des écotypes les différences notées au niveau de cette activité s'annoncent hautement significatives. Les valeurs enregistrées vacillent entre 144.29mg EAG/gMF notée chez l'écotype de Tiaret (TR) et 65.81mg EAG/gMF manifestée par l'écotype de Tiaret (TZ).

Au niveau de la graine entière cette activité s'avère moins élevée mais elle varie également de façon très significative parmi les écotypes étudiés. Ainsi, ses valeurs sont comprises entre 49.43mg EAG/gMF (Batna) et 82.63mg EAG/gMF (Laghouat).

Tableau 21 : Valeurs moyennes du contenu phénolique total (TPC) et de l'activité antioxydante totale (TAA) dans les graines entières et l'épicarpe chez les différents écotypes. Le degré de signification est exprimé par le test F. Les valeurs moyennes indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (avec une probabilité de 0.05) selon le test de comparaison de Duncan.

Écotype	D	A	B	TR	L	TZ	Test F
TPC Épicarpe	450.39±17.93 ^d	367.4±32.53 ^b	324.76±1.81 ^a	308.41±16.86 ^a	371.51±4.66 ^b	150.20±25.02 ^c	78.40 ^{***}
(mg EAG/g MF) Graine entière	257.66±2.66 ^d	237.77±12.43 ^c	192.73±3.58 ^a	192.73±3.14 ^a	196.16±4.94 ^a	109.05±10.50 ^b	147.84 ^{***}
TAA Épicarpe	115.54±3.82 ^{a,c}	87.16±20.16 ^{b,c}	126.65±30.30 ^a	144.29±25.04 ^a	140.68±25.73 ^a	65.82±8.04 ^b	3.35 ^{**}
(mg EAG/g MF) Graine entière	71.79±14.20 ^{a,b}	82±6.88 ^a	49.43±10.09 ^b	78.04±19.22 ^a	82.63±11.92 ^a	62.83±6.04 ^{a,b}	6.45 ^{**}

*** Significatif à $P \leq 0.001$; ** Significatif à $P \leq 0.01$

Tableau 22: Analyse quantitative et qualitative des polyphénols (mg/gMF) par HPLC des épicarpes et graines entières de différentes stations. ND: Non Déterminé.

Polyphénols (mg/gMF)	Écotypes	Acides Phénoliques					Totale des acides Phénolique
		Acide Gallique	Acide Chlorogénique	Acide Vanillique	Acide Caféique	Acide <i>p</i> - coumarique	
Épicarpe	D	48.8	43.86	0.82	0.39	0.28	94.15
	A	1.62	0.92	ND	ND	ND	2.54
	B	0.04	0.13	0.02	0.02	ND	0.21
	TR	3.26	2.79	ND	ND	0.02	6.07
	L	9.65	16.28	0.06	0.15	0.11	26.26
	TZ	5.91	10.79	0.05	ND	0.03	16.77
Graine entière	D	6.28	9.83	0.09	ND	0.16	16.36
	A	6.44	9.7	0.07	0.03	0.15	16.39
	B	1.46	3.48	ND	0.01	0.03	4.99
	TR	2.51	6.09	ND	0.02	0.07	8.69
	L	4.51	8.01	0.03	ND	0.15	12.7
	TZ	1.27	4.31	0.03	ND	0.04	5.64

Polyphénols (mg/gMF)	Écotypes	Flavonoïdes				Aldéhyde phénolique Vanilline
		Rutine	Naringine	Quercétine	Totale Flavonoïdes	
Épicarpe	D	5.46	1.51	452.89	459.86	0.07
	A	0.21	ND	23.39	23.6	ND
	B	0.25	0.09	104.13	104.48	0.09
	TR	0.19	0.22	46.76	47.17	0.02
	L	1.16	0.23	158.57	159.96	0.03
	TZ	1.48	0.07	25.74	27.29	0.04
Graine entière	D	1.02	0.07	43.99	45.08	0.11
	A	1.13	0.3	41.8	43.23	ND
	B	0.13	0.21	42.84	43.18	ND
	TR	0.4	0.13	39.46	39.98	ND
	L	0.72	0.16	32.26	33.15	0.02
	TZ	0.39	0.08	13.35	13.82	ND

II.3.2. Résultats de la composition minérale des graines

Au début il faut noter qu'à la maturité physiologique des graines du pistachier de l'Atlas, elles renferment une humidité pondérale faible. La variabilité génotypique utilisée indique que ce paramètre est faiblement variable en grandeur parmi les graines des différents écotypes. Ainsi ses valeurs sont comprises entre les extrêmes de 3.2 et 4.5% (Tableau 23).

L'analyse quantitative des différents minéraux indique que les teneurs les plus représentatives au niveau des cendres sont détenues par les trois éléments, le potassium, le calcium et le phosphore (Tableau 23). Toutefois les teneurs de ces trois éléments s'annoncent très différents en fonction des provenances des écotypes étudiés. Il faut noter également que parmi ces éléments, le potassium se distingue en détenant les plus hautes teneurs chez les graines de l'ensemble des écotypes. Ces valeurs oscillent dans l'intervalle délimité par 10.18 et 15.83 mg/gMS, données inscrites respectivement chez les écotypes de Laghouat et Djelfa.

La seconde position est occupée par le calcium dont les valeurs obtenues vacillent entre 1.41mg/gMS (Laghouat) et 3.77mg/gMS (Batna). Enfin le phosphore dont la contenance au niveau des graines avoisine celle du calcium, a inscrit des valeurs comprises dans l'intervalle de 1.59 (écotype Batna) et 2.44mg/gMS (écotype Tiaret DZ).

Un autre élément détenant un rôle primordial, le magnésium, s'est dosé à des teneurs variables parmi les différents types de graines et dont les valeurs oscillent entre 0.130.37mg/gMS (Laghouat) et 0.37mg/gMS (Béchar). Aucune tendance des valeurs des teneurs en ces éléments majeurs n'a été notée et ce en fonction des environnements d'existence des écotypes étudiés.

Les résultats obtenus de cette analyse indique que ces graines contiennent des teneurs assez élevée en sélénium et en fer où les valeurs maximales pour le premier élément ont atteint 0.82mg/gMS et 0.056mg/gMS pour le second.

Les dosages des autres éléments Mn, Zn, Cu et Pb montre qu'ils existent sous forme de traces (Tableau 23).

Tableau 23: Composition minérale des graines (mg/gMS)

Écotype	D	A	TR	L	TZ	B	Test F
H (%)	3.72	3.2	4.1	4.38	4.5	4.03	-
Cendre %	3.29±0.01	5.03±0.84	3.99±0.38	3.66±0.74	3.42±0.1	5.1±1.1	ns
N (%)	1.35±0.03	1.24±0.02	1.53±0.05	1.41±0.06	1.35±0.07	1.23±0.09	***
P	2.001±0.003	2.417±0.025	1.8±0.019	2.319±0.005	2.44±0.005	1.597±0.018	***
Ca	2.35±0.06	2.57±0.06	3.76±0.1	1.40±0	2.99±0.1	3.77±0.23	***
Na	0.34±0.05	0.29±0.05	0.11±0.03	0.19±0.05	0.19±0.05	0.23±0.05	**
K	15.83±0.25	12.68±0.25	12.29±0.25	10.18±0.25	14.06±0.14	12.11±0.24	***
Mg	0.18±0.01	0.37±0.01	0.18±0.06	0.13±0.001	0.19±0.01	0.24±0.01	***
Se	0.22	0.43	0.47	0.15	0.17	0.82	-
Fe	0.05	0.051	0.056	0.019	0.026	0.01	-
Mn	0.008	0.005	0.002	0.001	0.002	0.002	-
Zn	0.002	0.002	0.001	0.001	0.001	0.003	-
Cu	0.004	0.005	0.005	0.005	0.005	0.003	-
Pb	0.012	0.002	0.001	0.014	0.017	0.006	-

*** Significatif à $P \leq 0.001$; ** Significatif à $P \leq 0.01$; * Significatif à $P \leq 0.05$; ns non significatif

II.4. Discussion générale de la composition biochimique et minérale des graines

L'étude biochimique des graines révèle que les paramètres retenus manifestent des variations importantes parmi les écotypes concernés. L'origine géographique, la nature des géotypes, la durée et les conditions d'entreposage seraient déterminantes dans la spécification de ces variations. Les réserves huileuses de ces graines constituent les principales sources de nutriments énergétiques indispensables à la germination et le développement des jeunes plantules. Les résultats obtenus indiquent que les teneurs en huiles et leur qualité dépendent de la nature des écotypes testés. De telles variations ont été évoquées par Tzen et al. (1993), Hanan et al. (2010) qui ont démontré que la teneur en huile des graines et leur composition dépendent de la nature génétique des plantes et des conditions environnementales.

Les résultats obtenus d'indice d'acide sont élevées, indiquant la présence d'acides gras libres. Selon Frega et al. (1999) et Ollé (2002), l'humidité excessive des graines ou les conditions de stockage, peuvent entraîner des phénomènes d'hydrolyse des huiles, soit par une action chimique ou enzymatique. En effet, selon Sisman (2005) et Nykter et al. (2006), les conditions de stockage des graines (durée, humidité ambiante et température) contribuent à la libération et l'accroissement de la teneur en acides gras des graines des espèces oléagineuses. Également, ces résultats se confirment par les travaux de Yousfi et al. (2003) et Achehab (2013) qui ont démontré que l'allongement de la durée d'entreposage des graines du pistachier de l'Atlas

s'accompagne d'une nette augmentation de leur teneur acides libres contribuant ainsi à l'accentuation du degré de leur acidité.

Les résultats obtenus par cette étude démontrent que les huiles extraites des graines des écotypes testés se définissent par des indices de peroxyde assez faibles et qui concordent à ceux trouvés par Farhoosh et al. (2008). Il est important de noter que les faibles contenances de ces huiles en peroxyde leur permettent une inhibition de la détérioration de leur qualité et leur favorisent par conséquent un stockage à long terme (Li et al., 2012).

Cette étude biochimique révèle également que la fraction lipidique des graines des différentes populations du pistachier concernées par cette étude, se distinguent par leur teneur élevée acides gras insaturés, oléique et linoléique. Cette caractéristique indique une faible stabilité des acides gras des graines chez cette espèce. En effet, selon Pinelli et al. (2003), Polvillo et al. (2004) et Boyer (2010), la richesse des huiles en acides gras insaturés les rend plus vulnérables aux oxydations. Néanmoins, les différents constituants de la graine du pistachier de l'Atlas se distinguent par une activité antioxydante élevée assurant une protection des substances énergétiques des graines au cours de la germination. Il est important de noter et d'après les résultats dégagés, que les conditions environnementales, notamment climatiques exercent une grande influence sur la composition biochimique des graines. Dans une vision opposée, Nabloussi et al. (2005) démontra que ces processus relève des particularités génétiques caractérisant cette espèce. La protection des constituants de la graine et particulièrement la fraction lipidique conditionne le déroulement du processus de la germination. En effet, la disponibilité des substances énergétiques indispensables au déroulement des différentes phases de germination des graines, repose sur l'activité hydrolytique des lipases (Copeland et McDonald, 1985). Le rendement de cette activité dépend étroitement de la qualité des réserves lipidiques de la graine. Dans ce contexte, la recherche réalisée par Kaymak (2012) a démontré que la teneur en huile et le profil des acides gras qui le constituent influent d'une façon significative sur le taux et la vitesse de germination des graines des cucurbitacées.

Les résultats dégagés de cette étude de la composition en phytostérols des graines s'accordent avec ceux obtenus par plusieurs auteurs dont on cite entre autres, Yousfi et al. (2002), Ghalem et Benhassaini (2007) et Benhassaini et al. (2007). Ces auteurs ont montré que β -sitostérol, campestérol et stigmastérol sont les constituants majeurs de la fraction stérolique de la graine du pistachier de l'Atlas.

Les phytostérols sont une classe spéciale de lipides structuraux qui assurent la stabilité et la fluidité des membranes cellulaires (Dufourc, 2008). De plus, la biosynthèse des phytostérols est importante en physiologie végétale limitant ainsi l'impact des variations thermiques brusques (Wang et al., 2012 ; Zhou et al., 2019). Comme la fonction principale du tégument est de protéger l'embryon, une teneur élevée en stigmastérol peut être importante pour le stockage et la germination des graines (Zhou et al., 2019).

En plus de la fonction primaire citée précédemment, les stérols sont impliqués dans de nombreux processus biologiques tels que la différenciation embryonnaire, à travers la division, la croissance et la polarité cellulaires (Boutté et Grebe, 2009). Selon les mêmes auteurs, ces composés conditionnent également l'accumulation de cellulose et les signalisations cellulaires.

Il faut noter que la teneur et la composition des phytostérols varient en fonction de l'espèce végétale, des géotypes et même des conditions environnementales (Määttä et al., 1999; Vlahakis et Hazebroek, 2000).

La présence des sucres réducteurs au niveau des graines quoi qu'à des faibles teneurs assureraient une fonction de signalisation dans plusieurs processus associés à la croissance et au développement, comme la germination, l'allongement de l'hypocotyle, l'expansion du cotylédon et le développement des feuilles (Rolland et al., 2006)

Le dosage des protéines révèle des taux similaires à ceux rapportés par différentes études dont celles de Saffarzadeh et al. (1999) et Benhassaini et al. (2007), qui les évaluent à des niveaux compris entre 8 à 10%. Elles se distinguent en fraction de réserves des sources de carbone, d'azote, d'acides aminés libres et d'énergie indispensables à la germination et du développement de la plantule (Shewry et al., 1995; Tan-Wilson et Wilson, 2012). Cette fraction englobe également la fraction des protéines fonctionnelles qui est constituée d'enzymes responsables de la réactivation métabolique déclarée après l'imbibition des graines au cours de la germination et en partie elles assurent une protection des structures cellulaires, telles LEA et HSPs (Berjak et Pammenter, 2008; Hundertmark et Hinch, 2008).

Un fait important caractérise les graines du pistachier de l'Atlas, qui se rapporte à leur teneur élevée en composés phénoliques totaux. En effet, l'analyse biochimique des graines des différents écotypes, indique qu'elles sont riches en composés phénoliques à l'échelle des différents constituants, amande et épicarpe. Toutefois les teneurs de ces composés demeurent très variables suivant les différentes origines des écotypes étudiés. D'après, Walter et Marchesan

(2011) et Nderitu et al. (2013), les phénols totaux sont naturellement produits pendant la croissance et le développement des plantes pour se protéger contre les stress biotiques tels que les maladies, les insectes et les contraintes environnementales. Ils se composent d'acides phénoliques, de tanins et de flavonoïdes, qui sont généralement produits par les plantes, et leur présence dépend des espèces et du stade de croissance (López-Amorós et al., 2006; Xu et al., 2009; Ti et al., 2014). Leur abondance et leur nature conditionnent la germination chez de nombreuses espèces végétales. Leur libération à partir des téguments de la graine particulièrement, inhibe la germination (Bhattacharyya et al., 1999 ; Isfendiyaroglu et Özeker, 2002). Cependant, les composés phénoliques altèrent la vitesse de germination en la diminuant, mais leur présence en quantité suffisante contribue efficacement à une protection des structures de la graine à l'encontre des oxydations (Cert et al., 1996 ; Baccouri et al., 2008). En effet, pendant la germination, diverses espèces réactives d'oxygène (ROS) sont produites sous forme de sous-produits du métabolisme. Ce groupe comprend les radicaux superoxydes ($O_2^{\cdot-}$), les radicaux de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et les radicaux hydroxyles ($OH\cdot$). La formation de ces radicaux d'oxygène entraîne l'accumulation d'hydroperoxydes lipidiques par l'oxydation de la chaîne radicale via les radicaux peroxydes phospholipides dans les membranes (Frias et al., 2004). Ces effets se prouvent à travers l'existence d'une corrélation significative et positive entre le teneur en polyphénols totaux des graines et l'activité antioxydante à ce niveau ($r=0.73^{**}$).

La composition minérale détermine les différentes fonctions biologiques et physiologiques des graines. Les éléments constitutifs sont impliqués dans la régulation du potentiel hydrique de ces entités assurant ainsi la fonction d'osmoticums leur conférant une action différentielle dans le processus d'imbibition. La seconde fonction est l'activation de nombreuses enzymes fonctionnelles lors de la réactivation métabolique, indispensables au déroulement des étapes de la germination, ultérieures à la phase d'imbibition. Le phosphore (P) est un élément essentiel dans de nombreux processus biologiques comme la croissance et rentre dans les constituants des interfaces membranaires (Tzen et al., 1993 ; Marschner, 1995 ; Camciuc et al., 1997). Il est essentiel dans le stockage de l'énergie et rentre dans la constitution des lipides triglycérides (phospholipides) qui sont des composés naturellement présents dans les huiles végétales. Le Calcium rentre aussi dans la régulation de certain protéines tels que les calmodulines, des calcium-dependent protein kinases (CDPKs) et des phosphatases. Le potassium est impliqué dans des fonctions cellulaires essentielles et il joue un rôle, direct ou indirect, important dans la

régulation d'activités enzymatiques, la synthèse des protéines, la photosynthèse et l'homéostasie du pH cytoplasmique (Parent et Rivest, 2003). Le fer et le cuivre sont des catalyseurs actifs de l'oxydation des acides gras insaturés (Lacoste, 1993).

D'une façon générale, les résultats de la fraction en composants inorganiques de la graine s'accordent avec ceux obtenus par plusieurs auteurs, Saffarzadeh et al. (1999); Benhassaini et al. (2007) et Achehab (2013).

L'existence de différences de concentrations des éléments minéraux dans les graines des différents sites géographiques peuvent être expliquées par des variabilités du sol, aux facteurs génétiques et aux variations des conditions climatiques (Özcan, 2004 ; Bouabdelli et al., 2018).

Analyse en composantes principales des paramètres biochimiques des graines en fonction de leurs origines

L'interprétation des résultats de l'analyse en composantes principales (ACP) réalisée sur les traits biochimiques des graines des différentes provenances a permis de les rassembler en différents groupes justifiant leur conséquence élevée sur cette distinction. Les valeurs propres de l'ACP indiquent que la première composante principale (axe 1) explique 34.82% de l'inertie totale et la seconde (axe 2) détient 27.91% de l'inertie totale, soit un total de 62.73%.

Les teneurs en polyphénols des graines et de l'épicarpe sont fortement corrélés positivement sur l'axe 1, tandis que le taux d'huile est négativement corrélé à cet axe. Le taux des protéines et l'activité antioxydante des graines sont corrélés positivement à l'axe 2, par contre, le taux des cendres a une corrélation négative (Figure 25).

Cette analyse indique que les différents écotypes et à travers ces paramètres biochimiques de leurs graines, se distinguent en cinq groupes différents (Figure 25). Le premier groupe formé par les individus de Djelfa (D) qui est caractérisé par des valeurs très élevées en polyphénols des graines et d'épicarpe par rapport aux autres stations. Le second groupe qui s'oppose au groupe 1 sur le premier axe, il englobe les écotypes de la station de Béchar (A) qui se caractérise par des quantités de cendre supérieures. Le troisième groupe englobe les écotypes issus des deux stations de Tiaret (TR) et Laghouat (L) et qui se définissent par des taux élevés en protéines et en huile. Alors que les individus provenant de la station de Batna forment un quatrième groupe qui se caractérise par des faibles teneurs en protéines et en huile. Le dernier groupe est celui de la

station de Tiaret (TZ) qui diffère de ceux des autres stations par des teneurs assez élevées en huiles et des faibles contenances en polyphénols.

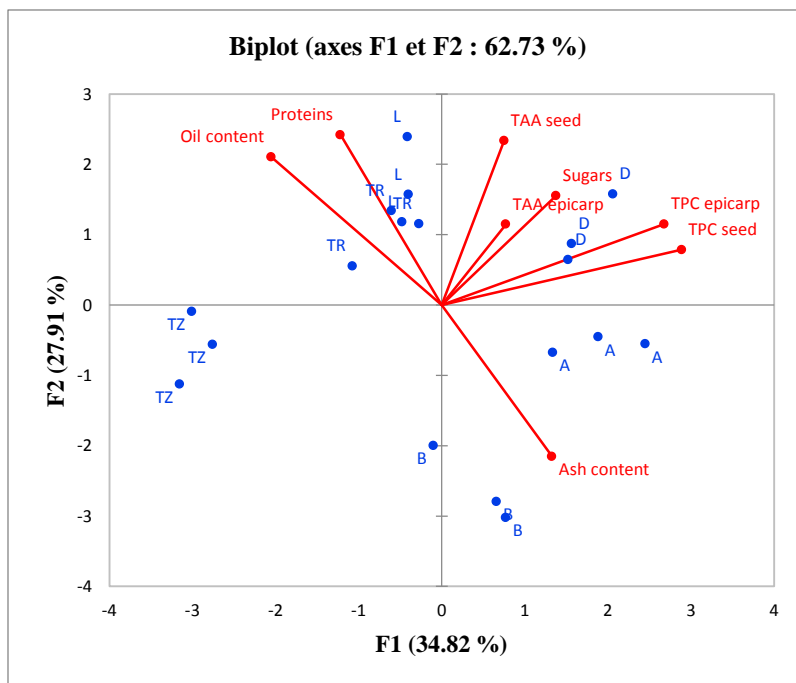


Figure 25 : Analyse en composantes principales des variables biochimiques montrant la répartition des différentes populations étudiées (A : Béchar ; B : Batna ; D : Djelfa ; L : Laghouat ; TR : Tiaret Rechaiga ; TZ : Tiaret Zemalet El Emir AEK).

Partie III– Étude de la diversité génétique

III.1. Introduction

L'utilisation des marqueurs morphologiques et biochimiques dans l'évaluation de la variabilité au sein des espèces végétales, s'heurte souvent à des imperfections expliquées par leurs faibles héritabilités, essentiellement au sens étroit (Frankham, 2003; Biala et al., 2005). En effet, les effets de l'environnement sur le remodelage des processus métaboliques des différentes fonctions physiologiques s'avèrent importants sur certains d'entre eux (Aya et al., 2011). La synthèse et l'accumulation des métabolites secondaires, considérés comme des réponses adaptatives et de défense seraient des fonctions induites et modifiées par les variations des conditions environnementales, biotiques et abiotiques. Selon les travaux de Hatamnia et al. (2014), Rezaie et al. (2015), Belyagoubi et al. (2016) et Toul et al. (2016), certains processus métaboliques liés à la synthèse des composés phénoliques ne sont que faiblement modifiables par l'environnement et s'inscrivent dans le processus d'évolution des espèces qui établissent par conséquent leur comportement dans leur habitat naturel. Ils constituent des critères décelables d'évaluation de la variabilité génétique conditionnant le fonctionnement physiologique dans les différentes fonctions biologiques des espèces végétales, notamment spontanées. L'utilisation des marqueurs moléculaires s'annonce d'une grande importance dans la confirmation d'implication de ces critères dans l'évaluation de la variabilité génétique des espèces végétales. Ces outils moléculaires, insensibles aux effets de l'environnement extrinsèques et intrinsèques permettent d'identifier et d'établir les autres marqueurs d'une manière fiable. Différents marqueurs moléculaires peuvent être utilisés dans l'évaluation de la variabilité génétique selon les critères de comportement et de fonctionnement des espèces végétales. Le marqueur ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) a été confirmé selon de nombreux travaux (Kafkas et al., 2006; Ahmadi-Afzadi et al., 2007; Fares et al., 2009; Noroozi et al., 2009; Karimi et Kafkas, 2010; Tagizad et al., 2010; Turkeli et Kafkas, 2013 ; Abuduli et al., 2016) comme l'un des plus efficace pour l'appréciation de la variabilité génétique chez les espèces végétales spontanées. Ceci se confirme par leur polymorphisme élevé au sein des populations (Kafkas et al., 2006; Noroozi et al., 2009), du fait que les manipulations génétiques chez ces espèces sont réduites et l'utilisation des amorces pour la réalisation d'autres marqueurs s'avère difficile.

La réalisation de cette partie du travail se fixe deux principaux objectifs. L'utilisation du marqueur moléculaire ISSR permettrait une estimation de la variabilité génétique entre les individus issus des différentes populations utilisées dans l'étude des différents aspects gérant la régénération par la germination chez le pistachier. L'emploi du marqueur moléculaire ITS (Internal Transcribed Spacer) qui se justifie par sa grande conservation au cours de l'évolution des espèces végétales entre autres, permettra d'établir le lien génétique entre les différentes populations étudiées provenant des différents espaces géographiques d'une part, et d'autre part il établira la phylogénie de l'espèce Algérienne avec d'autres espèces du genre *Pistacia*.

III.2. Étude de la variabilité génétique inter et intra-population par le marqueur moléculaire ISSR

III.2.1. Matériel et méthodes

III.2.1.1. Le matériel végétal

Des échantillons de feuilles saines de 39 accessions de *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* ont été prélevés sur des sujets femelles dans quatre localités différentes en Algérie (Tableau 24). Ces échantillons ont été séchés au gel de silice après leur prélèvement puis stockés à -80°C jusqu'à analyse.

Tableau 24: Situation géographique et nombre des échantillons prélevés des populations du pistachier d'Atlas

Code	Localisation	Nombre échantillon	Altitude (m)	Latitude (N)	Longitude (E)
B	Batna Semi-aride	10	1027	35°37'10''	6°22'13''
T	Tiaret Semi-aride	12	808	35°22'33''	02°09'5''
D	Djelfa Aride	11	630	34°02'11''	03°40'22''
A	Béchar Hyperaride	6	979	32°04'6''	02°18'5''W

III.2.1.2. Extraction d'ADN

Deux méthodes ont été utilisées pour l'extraction d'ADN, Doyle et Doyle (1987) modifiée et Fulton et al. (1995). Par comparaison de rendement et qualité d'ADN extrait, on a opté pour celle de Doyle et Doyle (1987).

Les feuilles sèches stockées (100mg) ont été broyées dans l'azote liquide pour l'obtention d'une poudre fine qui est récupérée dans des tubes d'ependorf de 2mL, auquel on ajoute 900µL de tampon d'extraction CTAB (1M TRIS-HCl (pH8), 5M NaCl, 0.5M EDTA, 2% CTAB, 2% CTAB, 2% polyvinylpyrrolidone PVP, 0.2% de β-mercaptoéthanol et 0.1% de NaHSO₃) préalablement chauffé dans un bain-marie à 60°C. L'ensemble est mis en incubation à 65°C pendant une heure avec agitation modérée, puis additionné d'un mélange de chloroforme et d'alcool isoamylique (24 : 1 v/v). La solution d'extraction est ensuite centrifugée à 13000 tr/min pendant 5min. Le surnageant a été récupéré et transféré dans un tube eppendorf de 2mL et mélangé à un volume égal d'isopropanol (Kafkas, 2006; Al-Sousli et al., 2014). Le culot des acides nucléiques a été récupéré par centrifugation (13000 tr/min pendant 5min), lavé avec une solution d'acétate d'ammonium (10mM). Le culot a été séché à la température ambiante et mis en suspension dans 100µL de tampon TE modifié (pH8; 10mM TRIS-HCl ; 0.1M EDTA ; 5µg/ml d'ARNase). La qualité d'ADN a été évaluée par migration sur gel d'agarose (0.8%) et sa concentration par spectrophotométrie (Nanodrop) a été déterminée. La concentration d'ADN est ramenée à 20ng/µL et conservée à -20°C.

III.2.1.3. Optimisation de la réaction PCR et amplification d'ISSR

L'amplification a été réalisée sur un mélange réactionnel de 20µL contenant 1.7µL d'ADN génomique, 0.8µL d'amorce (Tableau 25), 4.0µL de tampon de réaction (5X Green GoTaq® Reaction Buffer), 0.8µL de MgCl₂ (50mM), 0.8µl dNTPs, 0.2µl de Taq DNA Polymerase (5U/µL) et 11.7µL d'eau de qualité HPLC (ultrapure).

Le programme du thermocycler pour l'amplification comprenait un cycle de dénaturation initiale de l'ADN à 94°C pendant 10 minutes, suivi de 35 cycles de 45 secondes à 94°C, 45 secondes d'hybridation à 54°C et 2 minutes d'extension à 72°C, suivi d'une extension finale de 10 minutes à 72°C (Al-Sousli et al., 2014).

La séparation des amplifiats de PCR a été effectuée sur un gel d'agarose (1%) dans un milieu tampon TAE (1X) et visualisé par une source UV.

Tableau 25 : Liste des amorces ISSR utilisées

Amorce	5` - 3` Séquence	Temperature d'hybridation (°C)
Primer 1	5` - (CG) ₉ W-3`	50-52-54-56-58-60
Primer 2	5` - (GC) ₉ W-3`	50-52-54-56-58-60
Primer 3	5` - (AG) ₉ B-3`	54
Primer 4	5` - (GA) ₉ Y-3`	54

(W= A or T, Y= C or T, B= T or C or G)

III.2.1.4. Analyse des données

Les amplifiats des ISSR ont été notés comme présents (1) ou absents (0) en fonction de leur taille, puis la construction d'une matrice de données binaire a été effectuée. Seules les bandes claires et reproductibles ont été notées et utilisées dans l'analyse des données. La matrice de similarité a également été utilisée pour effectuer une analyse hiérarchique de la variance moléculaire (AMOVA) selon Excoffier et al. (1992), en utilisant la version 1.31 du logiciel FAMD (Fingerprinting analysis with missing data) (Schlüter et Harris, 2006).

La matrice de distance génétique a été estimée sur la base du coefficient de similarité de Jaccard (Schlüter et Harris, 2006). Une analyse de cluster a été réalisée en utilisant la méthode Neighbor Joining (NJ) avec des moyennes arithmétiques et visualisée avec le logiciel TreeView (Win32, version 1.6.6.6). La diversité génétique de chaque population a été calculée selon l'indice de Shannon à l'aide du logiciel FAMD.

III.2.1.5. Résultats et discussion

Parmi les quatre amorces utilisées, seules deux d'entre elles (Primer 3, Primer 4) (Tableau 25) ont permis des amplifications d'ADN pour ce marqueur moléculaire (ISSR). Les deux autres amorces (Primer 1, Primer 2) et sous un gradient de températures (Tableau 25), n'ont induit aucune amplification visible. Les résultats obtenus pour les deux amorces (Tableau 26) ayant permis une amplification, révèlent un polymorphisme élevé au sein et entre les différentes populations étudiées. Un total de 112 amplifiats (bandes) ont été révélés, qui parmi lesquels 72 étaient polymorphes parmi les individus étudiés (intra et inter population) ce qui représente un taux de 64.3 %.

En se basant sur la révélation des amplifiats, la variabilité intrapopulation s'avère variable parmi les quatre populations étudiées. Ainsi, au sein de la population de Tiaret et en utilisant l'amorce 3 (Primer 3), 19 bandes au total ont été révélées et 14 d'entre elles sont polymorphes parmi les individus de cette localité représentant un taux de polymorphisme de 73.68%. Pour l'autre amorce Primer 4, le nombre de bandes polymorphes était de 10 à travers les individus, inscrivant ainsi un taux de polymorphisme de 76.92%. Pour la population de Batna les taux de polymorphisme se situe entre 57.14% et 68.42% révélé respectivement par les deux amorces Primer4 et Primer3. Les individus de la population de Béchar ont révélé un taux de polymorphisme de grandeurs de 69.23% et 66.67% révélé dans l'ordre par les amorces 3 et 4. Enfin la population de Djelfa se distingue par la plus faible variabilité matérialisée par ce marqueur, et qui avoisine un niveau de 50% détectée indistinctement par les deux amorces (3, 4).

Tableau 26: Nombre de bandes amplifiées et polymorphes observées parmi les individus des quatre populations étudiées

Amorce		BATNA	DJELFA	TIARET	BECHAR
Primer3	Nombre de bande total	19	14	19	13
	Nombre de bande polymorphe	13	7	14	9
	% polymorphisme	68.42	50	73.68	69.23
Primer4	Nombre de bande total	14	14	13	6
	Nombre de bande polymorphe	8	7	10	4
	% polymorphisme	57.14	50	76.92	66.67

L'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) basée sur les données d'amplification d'ISSR en utilisant les deux d'amorces (Primer3, Primer4) a montré des taux élevés de la diversité génétique intra et inter populations balayant les quatre zones d'étude. Les valeurs de cette variation s'élèvent à 55.7% entre les populations et 44.3% au sein des populations. La valeur Φ_{ST} par paire (coefficient : transformation standard de la distance de Jaccard : $d=1-s$) était de 0.56, ce qui prouve l'existence d'une forte variation génétique entre les populations. En effet, selon Weir et Cockerham (1984), plus la valeur de ce coefficient tend vers 1 et plus la variabilité est élevée.

L'analyse des composantes principales (ACP) a distingué les populations étudiées en quatre groupes selon leur origine géographique, Batna (B), Djelfa (D), Béchar (A) et Tiaret (T) (Figure 26). Les positions des échantillons individuels ont montré une certaine homogénéité globale à

l'intérieur du site échantillonné. Par contre, l'isolement par la distance ou le test de Mantel a donné une corrélation positive ($r = 0.86$) (Figure 27). Cette dépendance indique clairement l'isolement génétique à l'intérieur d'une échelle très étroite de l'ensemble de l'aire de répartition ainsi qu'un indicateur d'isolement génétique entre les quatre populations étudiées avec un flux génétique entre elles qui s'annonce plus ou moins faible. Cette synthèse se prouve par le travail El Zerey-Belaskri et al. (2018) qui ont démontré, en étudiant des populations de cette espèce au Nord-Ouest Algérien qu'une certaine similitude génétique s'établissait entre elles à travers une évaluation par le marqueur SSR. Ce lien génétique se produirait selon ces auteurs par une dissémination des grains de pollen et ou de graines entre les populations géographiquement proches.

En raison du manque d'information génomique de cette espèce, ces marqueurs sont très utiles puisqu'ils ne nécessitent aucune connaissance préalable des séquences et, par conséquent, les amorces n'ont pas besoin d'être spécifiques au site parce qu'elles sont dirigées vers une région génomique contenant un motif microsatellite complémentaire (Arcade et al., 2000 ; Goulao et al., 2001). Au moyen de l'analyse de l'ISSR, qui s'est avérée simple et efficace avec une grande reproductibilité, nous avons trouvé une variation génétique prononcée des populations de pistachier d'Atlas parmi les échantillons étudiés, c'est-à-dire suffisante pour caractériser les différentes populations algériennes analysées. Les analyses ACP et NJ ont révélé des tendances appropriées dans la détermination des différences génétiques entre les populations occupant les différentes régions d'Algérie. Les données d'ISSR, qui ont servi à déterminer la parenté génétique entre les génotypes, ont regroupé les échantillons en quatre groupes. Nos résultats indiquent également que le regroupement de *P. atlantica* Desf. subsp. *atlantica* était lié à la situation géographique et aux conditions climatiques de sa localisation (Figure 27).

La parenté génétique entre les génotypes a été étudiée au moyen d'une analyse par la méthode Neighbor Joining (NJ). Les génotypes ont été regroupés en quatre grands groupes avec une aridité croissante : faible et moyenne (T : Tiaret, B : Batna, D : Djelfa) et forte (A : Bechar), (Figure 28).

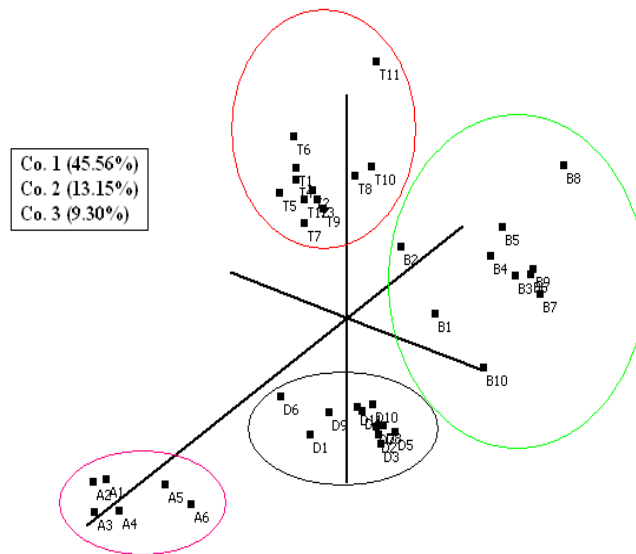


Figure 26: Analyse tridimensionnelle d’ACP des quatre populations du pistachier d’Atlas (A : Bechar, B : Batna, D : Djelfa, T : Tiaret).

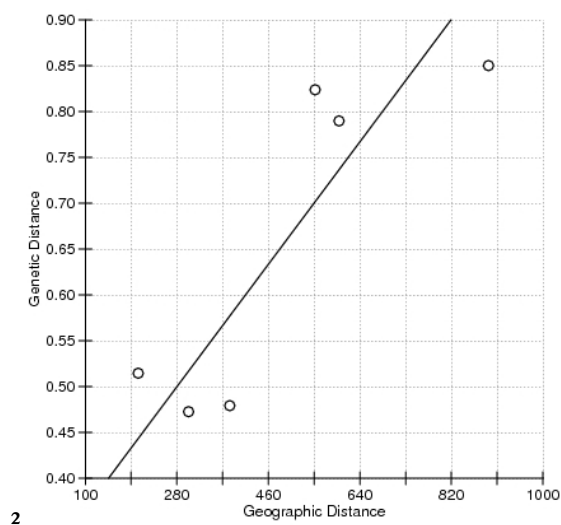


Figure 27 : Corrélation entre les distances génétiques et géographiques tracées avec $Z = 2119.05$, $r = 0.867$ calculé par le test de Mantel.

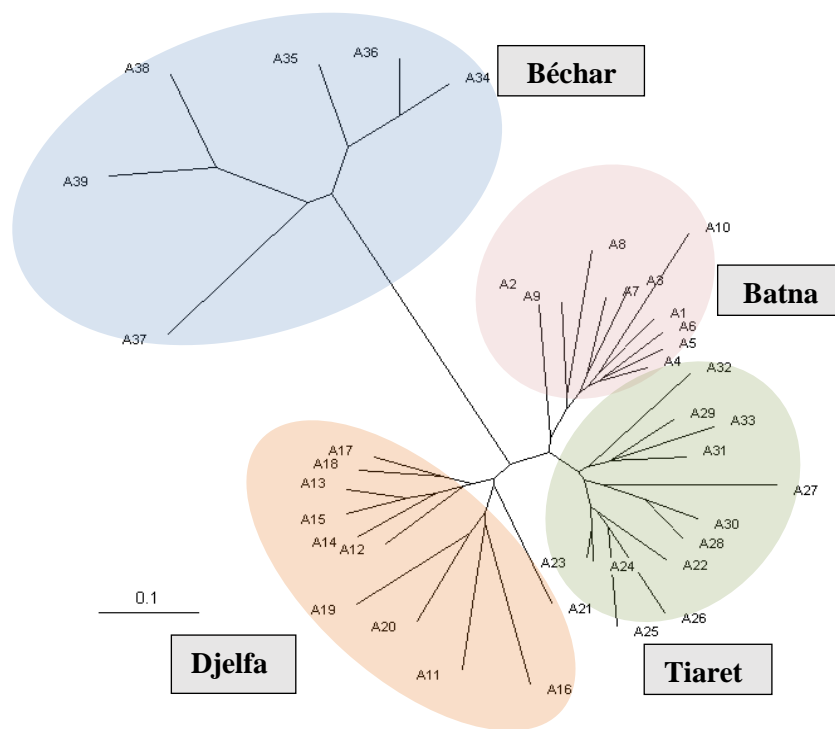


Figure 28 : Arbre de la méthode Neighbor Joining (NJ) des échantillons de quatre populations de Pistachier d’Atlas. Les individus A1-A10 appartiennent à la population de Batna, A11-A21 à la population de Djelfa, A22-A33 à la population de Tiaret, et A34-A39 à la population de Béchar.

III.3. Étude phylogénétique

III.3.1. Les espèces et le matériel végétal utilisés

L'extraction et les évaluations moléculaires ont été effectuées à partir d'échantillons de jeunes feuilles provenant de deux individus de pistachiers de l'Atlas originaire de la forêt de Batna (El-Madher) dans le Nord-Est Algérien (Tableau 24), et de quatre arbres du Jardin botanique de Padoue (Italie) se rapportant aux espèces *Pistacia vera* L. et *Pistacia terebinthus* L.

L'objectif de cette partie est de reconstruire la relation entre les espèces de *Pistacia* en utilisant le marqueur ITS (espaceurs internes transcrits) de l'ADN nucléaire ribosomique (Baldwin, 1992). Dans cette étude, la région ITS1 des échantillons des trois espèces de *Pistacia* (*P. atlantica* Desf. subsp. *atlantica*, *P. terebinthus* L. et *P. vera* L.) a été amplifiée et séquencée. Les séquences obtenues ont fait l'objet d'une analyse phylogénétique.

L'objectif de cette étude phylogénétique est de confirmer l'identification des échantillons Algériens de pistachiers de l'Atlas par une approche de « barcoding » moléculaire basée sur la comparaison de nos séquences ITS à celles disponibles dans les banques de gènes (GenBank) pour le genre *Pistacia* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy/?term=Pistacia>).

III.3.2. Amplification et purification de l'ITS de l'ADNr

Nous avons ciblé l'amplification par PCR de la région ITS1 située entre les régions codant les grandes sous-unités (18S et 26S) de l'ARN ribosomique. Cette région est parmi celles les plus conservées chez les végétaux (Baldwin, 1992 ; Baldwin et al., 1995) et a déjà été utilisée dans le genre *Pistacia* (Yi et al., 2008). Le volume réactionnel d'amplification par PCR est de 20µL, constitué de 1.7µL d'ADN, 0.4µL de chaque amorce (Sens ou Forward: GCGAACCTGTCTCATCACATCATCATCG et Anti-sens ou Réverse: CACCAAGTATCGCATTTCGCGCGCGC), 4 µL de tampon de réaction (5X Green GoTaq® Reaction Buffer), 0.8 µL de MgCl₂ (50mM), 0.8 µL de dNTPs, 0.2µL de pfu (Promega, PFU DNA Polymerase, 5U/µL) et 11.7µL d'eau ultra pure. Les réactions ont été réalisées selon la procédure suivante : Une première phase de dénaturation initiale de l'ADN (94°C pendant 10 minutes) est suivie de 35 cycles d'amplification de la région ciblée (chaque cycle comportant : 45 secondes de dénaturation à 94°C, 45 secondes d'hybridation à 54°C et 2 minutes d'extension à 72°C). Cette série de cycles est achevée par une étape finale d'extension des amplicons à 72°C pendant 10 minutes (Al-Sousli et al., 2014). Les amorces utilisées pour l'amplification de la région ITS1 d'intérêt ont été synthétisées par BMR Genomics (<http://www.bmr-genomics.it/>).

Les produits PCR ont été purifiés avant le séquençage à l'aide du kit de purification PureLink® PCR (Invitrogen by life technologies, Allemagne). Les produits amplifiés ont été détectés par électrophorèse sur un gel d'agarose à 1% contenant une solution de coloration d'acide nucléique Eurosafe (Nucleic acid staining solution 20 000x).

III.3.3. Séquençage et alignement des séquences ITS

Le séquençage a été effectué avec l'ADN (400ng) amplifié par PCR et purifiée en utilisant les mêmes amorces que pour l'amplification.

Les séquences d'ADN obtenues ont été comparées aux séquences homologues disponibles dans la base de données GenBank NCBI (National Center for Biotechnology Information) en utilisant le programme BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, Camacho et al., 2009). Nos séquences ont été alors introduites dans une matrice puis alignées avec les séquences homologues de pistachiers récupérées de GenBank à l'aide du programme MAFFT (Multiple Alignment using Fast Fourier Transform) (*version 7*: Katoh et Standley, 2013). Le fichier de séquences alignées obtenues au format FASTA (Pearson et Lipman, 1988) peut être alors visualisé et vérifié à l'aide d'un éditeur de séquences. Nous avons utilisé ici le logiciel BioEdit (Version 7.0 ; Hall, 1999).

Ainsi, une première matrice de 107 séquences ITS alignées a été construite comprenant, nos 6 séquences (*P. atlantica* Desf. subsp. *atlantica*, *P. vera* L., *P. terebinthus* L.) et un ensemble de séquences ITS (obtenues par Blast) du genre *Pistacia*. À la suite d'une analyse phylogénétique préliminaire de cette matrice totale, seules 44 séquences ont été retenues en conservant nos 6 séquences d'intérêt, 36 représentatives de la diversité phylogénétique des *Pistacia* et 2 outgroups (*Cotinus coggygria*, AY510157; *Rhus chinensis*, KP093194), afin de simplifier l'analyse et la visualisation des résultats (Tableau 27).

Tableau 27: Liste des numéros d'accèsion de GenBank des séquences ITS utilisées dans l'étude

N°	Abréviation	N°d'accès BLAST GenBank	Nom d'espèce
1	KJ018023Pat1	KJ018023	<i>Pistacia atlantica</i> Desf.
2	EF193076Pat2	EF193076	<i>Pistacia atlantica</i> Desf.
3	HE652105PatlxPver	HE652105	<i>P. atlantica</i> x <i>P.vera</i> cultivar BIO200, clone BIO200_5
4	HE652103PatlxPver	HE652103	<i>P. atlantica</i> x <i>P. vera</i> cultivar BIO200, clone BIO200_3
5	HE652102PatlxPver	HE652102	<i>P. atlantica</i> x <i>P. vera</i> cultivar BIO200, clone BIO200_2
6	HE652101PatlxPver	HE652101	<i>P. atlantica</i> x <i>P. vera</i> cultivar BIO200, clone BIO200_1
7	KF664185Paet	KF664185	<i>Pistacia aethiopica</i> voucher Yi12041(KUN)
8	DQ390466Pchi1	DQ390466	<i>Pistacia chinensis</i>

9	EF193079Pchi3	EF193079	<i>Pistacia chinensis</i> voucher Golan 1.412
10	EF193080Pchi2	EF193080	<i>Pistacia chinensis</i> voucher Ji 0174
11	KF664187Pcuc1	KF664187	<i>Pistacia cucphuongensis</i> voucher Wen1146(US)
12	KF664186Pcuc2	KF664186	<i>Pistacia cucphuongensis</i> voucher SK Dell 1100(US)
13	EF193081Pint1	EF193081	<i>Pistacia integerrima</i> voucher Parfitt 54
14	KJ018024Pkhi3	KJ018024	<i>Pistacia khinjuk</i>
15	EF193105Pkhi1	EF193105	<i>Pistacia khinjuk</i>
16	KT956135Plen1	KT956135	<i>Pistacia lentiscus</i> L.
17	KT956132Plen4	KT956132	<i>Pistacia lentiscus</i> L.
18	KT956133Plen3	KT956133	<i>Pistacia lentiscus</i> L.
19	KY549573Plen8	KY549573	<i>Pistacia lentiscus</i> L.
20	KF664188Pmex1	KF664188	<i>Pistacia mexicana</i> voucher Wen8675(US)
21	FJ945959Pmex2	FJ945959	<i>Pistacia mexicana</i> voucher Wen 8675 (US)
22	KY549576Pter4	KY549576	<i>Pistacia terebinthus</i> L.
23	KY549579Pter1	KY549579	<i>Pistacia terebinthus</i> L.
24	EF193084Ptersubpal4	EF193084	<i>Pistacia terebinthus</i> L.
25	EF193096Ptersubpal5	EF193096	<i>P. terebinthus</i> subsp. <i>palaestina</i> voucher Golan 1.222 clone 1
26	EF193097Ptersubpal1	EF193097	<i>P. terebinthus</i> subsp. <i>palaestina</i> voucher Golan 1.215 clone 2
27	EF193086Pter5	EF193086	<i>Pistacia terebinthus</i> voucher Golan 1.350
28	KJ018021Pver2	KJ018021	<i>Pistacia vera</i> L.
29	MH447397Pver1	MH447397	<i>Pistacia vera</i> L.
30	MH447395Pver10	MH447395	<i>Pistacia vera</i> L.
31	MH447393Pver11	MH447393	<i>Pistacia vera</i> L.
32	MH444793PverculMaw	MH444793	<i>Pistacia vera</i> L.
33	MH444689PverculKe	MH444689	<i>Pistacia vera</i> L.
34	MH444649PverculBron	MH444649	<i>Pistacia vera</i> cultivar Bronte
35	EF193089Pver8	EF193089	<i>P. vera</i> voucher Wen 7099 clone 1
36	EF193092Pwei3	EF193092	<i>Pistacia weinmaniifolia</i> voucher Li 1630 clone 1
37	EF193093Pwei2	EF193093	<i>Pistacia weinmaniifolia</i> voucher Li 1630 clone 2
38	EF193094Pwei4	EF193094	<i>Pistacia weinmaniifolia</i> voucher Li 1630 clone 3
39	EF193100Pxsap	EF193100	<i>Pistacia x saportae</i> voucher T10 clone 1
40	EF193103Pxsap1	EF193103	<i>Pistacia x saportae</i> voucher T10 clone 4
41	KY549571Pxsap5	KY549571	<i>Pistacia x saportae</i>
42	AY510157Cotcog	AY510157	<i>Cotinus coggygia</i>
43	KP093194Rhchin	KP093194	<i>Rhus chinensis</i>
44	KJ021877Pkhi4	KJ021877	<i>Pistacia khinjuk</i>
45	PatlB7	Cette étude	<i>Pistacia atlantica</i> Desf.B7
46	PatlB4	Cette étude	<i>Pistacia atlantica</i> Desf.B4
47	Pter44	Cette étude	<i>Pistacia terebinthus</i> L.44
48	Pter45	Cette étude	<i>Pistacia terebinthus</i> L.45
49	Pvera	Cette étude	<i>Pistacia vera</i> L.5
50	PVera7	Cette étude	<i>Pistacia vera</i> L.7

III.3.4. Analyse phylogénétique

Les analyses phylogénétiques des matrices de séquences ITS alignées ont été réalisées à l'aide du logiciel MEGA-7 (Kumar et al., 2016), en utilisant la méthode du maximum de parcimonie (MP). La robustesse des clades en pourcentage de confiance a été évaluée par un test de bootstrap avec 1000 répliqués (répétitions) (Felsenstein, 1985).

III.3.5. Résultats et discussion

L'analyse d'alignement multiple des séquences (Tableau 28; Figure 29) illustre une longueur de 248 sites nucléotidiques, dont 61 sites sont variables (V) (24.6%), 185 conservés (C) (74.60%), 40 sites informatifs (Pi) (Parsimony-informative : 16.13%) et 21 sites autamorphiques ou Singletons (S) (8.41%). Les sites Pi sont utiles pour déterminer les relations phylogénétiques et plus leur taux est élevé et plus ils conditionnent l'arbre phylogénétique le plus parcimonieux et donc l'hypothèse de relations de parenté la plus fiable.

Les résultats de l'alignement multiple des séquences d'ITS (Figure 29) mettent en évidence une variabilité relativement importante des séquences ITS au sein de ce genre. Le taux de 16% de Pi indique que la région ITS semble contenir une bonne proportion de sites phylogénétiquement informatifs

L'arbre phylogénétique résultant de l'analyse des séquences ITS est présenté dans la figure 30. On peut voir sur cet arbre que tous les échantillons se rapportant à des espèces de pistachiers descendent tous d'un ancêtre commun, formant ainsi un groupe monophylétique distinct de l'outgroup, ou *P. mexicana* Kunth présente comme une lignée ancienne en position sœur de l'ensemble des autres pistachiers. Ces derniers forment un grand groupe monophylétique bien soutenu par les ITS avec 93% de bootstrap. À l'origine, ce grand groupe s'est diversifié à partir d'un ancêtre commun en trois lignées évolutives divergentes représentées par les clades A, B et C sur la figure 30. Tous nos échantillons nouvellement séquencés (colorés en bleu pour *P. vera* L., en vert pour *P. terebinthus* L., et en rouge pour *P. atlantica* Desf. subsp. *atlantica*) se rattachent clairement à la lignée C qui est principalement composée d'échantillons de *P. vera* L., y compris des cultivars et des hybrides *P.vera* x *P. atlanticus*. Cette lignée C s'est elle-même diversifiée en trois sous-clade c1, c2 et c3 qui sont très peu divergent l'un de l'autre (par 1 à 3 synapomorphies,) et qui regroupent tous les échantillons se rapportant aux espèces *P. vera* L., *P. atlantica* Desf., leurs hybrides, ainsi que ceux de *P. terebinthus* L. Les deux individus de la population locale de Batna (PatlB4, PatlB7) se positionnent sans ambiguïté avec les trois

échantillons de références Pat1, 2 et 3 avec lesquels ils forment un sous-groupe monophylétique (c2) de *Pistacia atlantica* Desf. d'origines diverses distribué de l'Asie à la région méditerranéenne (Yi et al., 2008). Ce qui confirme bien l'identification taxonomique de nos échantillons Pat1B4, Pat1B7. De plus, il est intéressant de noter que ce sous-groupe c2 se distinguent clairement, non seulement des échantillons de *P. vera* L. et *P. terebinthus* L. que nous avons obtenus du Jardin botanique de Padoue (Italie), mais également des quelques individus de GenBank identifiés à des hybrides de *P. atlantica* Desf. et *P. vera* L. qui se positionnent plutôt avec des échantillons de *P. vera* L. dans les sous-groupes c1 et c3. Pour ce qui est des deux échantillons de *P. vera* L. du Jardin botanique de Padoue, on constate qu'ils se distinguent nettement l'un de l'autre par (7 changements nucléotidiques); l'un se rattache au sous-groupe c1 (Pvera7) et l'autre à c3 (Pvera). Enfin, nous pouvons voir sur l'arbre Figure 32 que les deux échantillons Pter44 et 45 appartiennent bien à une même lignée (*P. terebinthus* L.) au sein du sous-clade c1 où elle se positionne de façon surprenante en espèce sœur de Pvera7. Ce qui suggérerait un problème d'identification de ces échantillons, ou que nous avons peut-être à faire à des hybrides *P. vera* x *P. terebinthus*. Ceci nécessiterait d'être examiné plus en détail à l'avenir par d'autres marqueurs moléculaires afin de clarifier la nature des relations entre ces échantillons rapportés à des espèces différentes si peu divergentes.

En la comparant avec celles d'autres espèces, la diversité génétique de *P. atlantica* Desf. était relativement faible. Esmailpour (2001) explique que cela peut être dû à un déclin important de l'habitat de cette espèce, en plus d'un prélèvement et d'une exploitation excessive qui entraînent une érosion génétique. D'après les travaux de Pazouki et al. (2010) qui suggèrent que la faible diversité génétique de *P. atlantica* subsp. *kurdica* pourrait être sensible aux changements environnementaux et aux attaques des maladies et que la protection contre la perte de la diversité génétique est une nécessité urgente.

Tableau 28: Caractérisation des sites des séquences obtenues

Type de site	Nombre de séquences
Nombre de sites total	248
Nombre de site conservés (C)	185 (74.60%)
Nombre de site variables (V)	61 (24.60%)
Nombre de site informatifs (Pi) (Parsim-info)	40 (16.13%)
Nombre de site Singleton (S)	21 (8.47%)



Figure 29 : Alignement multiple des séquences nucléotidiques de la région ITS de l’ADNnr (5.8S) réalisé par logiciel BioEdit (Version 7.0) de 44 échantillons de genre *Pistacia*, parmi lesquels sont intégrés 2 espèces hors-groupe et les individus de *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* locaux des deux populations de Batna.

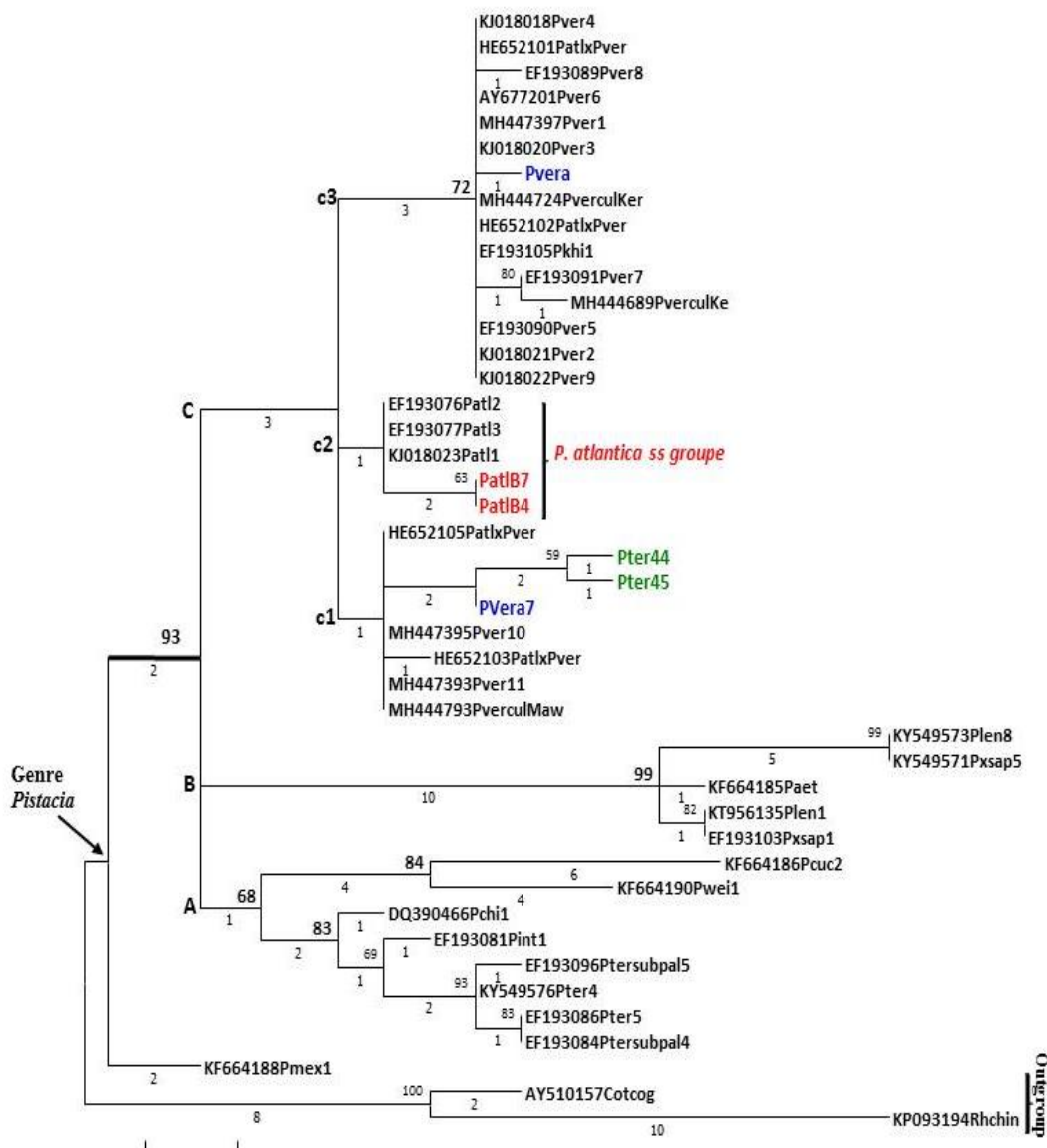


Figure 30 : Phylogénie de séquences partielles de la région ITS de l'ADNn (ITS1 et 5.8S) de 42 échantillons de pistachiers (*Pistacia*) et 2 outgroups. L'arbre obtenu par la méthode du maximum de parcimonie (CI =0.73, RI= 0.91) est présenté à l'aide du logiciel MEGA-7. Les valeurs de bootstrap (1000 répliqués) sont indiquées au-dessus des branches. En dessous des branches internes sont données les nombres de changements synapomorphiques, et des branches terminales les nombres d'autapomorphies. Les échantillons nouvellement séquencés sont colorés en bleu pour *P. vera* L., en vert pour *P. terebintus* L., et en rouge pour *P. atlantica* Desf. subsp. *atlantica*.

CHAPITRE IV

Discussion Générale

CHAPITRE IV : Discussion Générale**1. Relations entre la composition biochimique des graines et la germination chez les écotypes étudiés**

Les résultats dégagés de cette étude et illustrés précédemment montrent que les graines du pistachier de l'Atlas sont riches en composés phénoliques totaux. La localisation de ces métabolites secondaires a été prouvée à différents niveaux de la graine entière, épicarpe et amande. Ces composés jouent un rôle important dans la dormance des semences et protègent les graines à l'égard des conditions environnementales défavorables (Satish et al., 2007 ; Khoyerd et al., 2016 ; Labdelli et al., 2019b). Ce rôle se justifie grandement chez le pistachier d'Atlas caractérisé par une grande plasticité et occupant des aires situées dans différents étages bioclimatiques. En effet, en Algérie, le pistachier de l'Atlas peuple des régions arides et semi-arides, où les conditions climatiques génèrent différents stress abiotiques, notamment la sécheresse et les variations thermiques. La richesse des graines en composés phénoliques totaux joue par conséquent un rôle prépondérant dans la régulation des processus de germination en fonction des disponibilités des facteurs qui les contrôlent. Néanmoins, dans les pratiques de régénération de l'espèce par les graines ces composés chimiques constituent des obstacles limitant significativement leur germination et l'obtention des plantules. Cette tendance se justifie clairement par les résultats obtenus lors de cette étude. Ils démontrent par conséquent que la richesse de la graine en composés phénoliques totaux représente un obstacle à l'égard de sa germination. Une corrélation négative hautement significative (Tableau 29) a été prouvée entre le taux des composés phénoliques au niveau de la graine entière et l'épicarpe d'un côté et la germination des graines de l'autre ($r = -0.71^{**}$, -0.74^{**}). Les mêmes tendances ont été démontrées par les travaux de Bhattacharyya et al. (1999) et Isfendiyaroglu et Özeke (2002). Ces travaux ont prouvé que l'accroissement de la teneur en composés phénoliques au niveau de la graine, décroissent de façon très sensible l'accomplissement du processus de germination chez cette espèce. L'inhibition de la germination des graines dans cet état biochimique s'explique principalement par l'altération des voies métaboliques indispensables à la remobilisation des réserves de cet organe, par les composés phénoliques. Les biomolécules remobilisées durant les premières phases de la germination sont indispensables à la synthèse d'énergie nécessaire au fonctionnement physiologique pour le développement des plantules (Khemiri et al., 2004 ; Gallardo et al., 2002 ; Penfield et al., 2005 ; Catusse et al., 2008). D'autant plus que les réserves

des graines du pistachier de l'Atlas comme toute espèce oléagineuse, sont de nature lipidique et le cycle de leur transformation s'avère plus sensible à l'action des composés phénoliques. Cette action est prouvée par les résultats dégagés de cette étude où une corrélation négative et significative s'établit entre le taux de germination et l'activité antioxydante déterminée au niveau des graines ($r=-0.61^*$). Cette influence démontre d'une façon indirecte les effets inhibiteurs de polyphénols sur la germination, du moment que l'augmentation d'activité antioxydante est liée à leur présence.

La teneur en sucres simples au niveau des graines avant leur mise en germination, exerce une action négative sur le taux de germination ($r=-0.94^{***}$). Les sucres simples, substances nécessaires à la synthèse d'énergie et assurant le rôle d'osmoprotecteurs (Hare et al., 1998; Hoekstra et al., 2001) sont indispensables au déroulement de la germination. Néanmoins, leur libération au niveau des graines des oléagineuses et particulièrement chez le pistachier de l'Atlas informe sur une dégradation des réserves lipidiques de ces organes. Ces résultats prouvent que la protection de l'entité métabolique des graines du pistachier de l'Atlas est fortement influencée par la durée et les conditions de leur conservation. Il se démontre que, plus la durée d'entreposage des graines est longue et plus la conservation des réserves lipidiques est abrégée. Des résultats similaires ont été dégagés par les travaux de (Ollé, 2002 ; Yousfi et al., 2003 ; Sisman, 2005 ; Nykter et al., 2006). Il est donc admis qu'au niveau des graines du pistachier d'Atlas l'initiation du cycle de glyoxylate est favorisée par la durée et les conditions de leur entreposage.

Tableau 29: Relation entre le taux de germination et les paramètres biochimiques de la graine

Variable	Écotypes	Taux Germination	Huile	Protéine	Sucre	TPC Épicarpe	TPC Graine	TAA Épicarpe	TAA Graine
Taux Germination	0.81***	1.00							
Huile	0.15	-0.25	1.00						
protéine	0.45	-0.01	0.64*	1.00					
Sucre	-0.84***	-0.94***	0.00	-0.14	1.00				
TPC Épicarpe	-0.86***	-0.71**	-0.03	-0.15	0.74**	1.00			
TPC Graine	-0.87***	-0.74**	-0.35	-0.29	0.82***	0.79***	1.00		
TAA Épicarpe	0.52*	0.40	0.42	0.58*	-0.45	-0.20	-0.53*	1.00	
TAA Graine	-0.20	-0.61*	0.49	0.25	0.52*	0.14	0.20	-0.10	1.00
Cendre	0.19	0.39	-0.50	-0.57*	-0.29	-0.43	-0.19	-0.17	-0.18

Il est actuellement admis que la quantité et la qualité des substances des réserves des graines conditionnent les différents processus de leur germination (Zhao et al., 2018). Les graines du pistachier de l'Atlas comme toutes les graines des espèces oléagineuses, puisent leurs métabolites énergétiques à partir de la dégradation des réserves lipidiques qu'elles contiennent dans les différents compartiments de sa structure (Wanasundara et al., 1999 ; Theodoulou et Eastmond, 2012).

Les acides gras libres sont dégradés par l'un des deux processus, α -oxydation qui joue un rôle mineur dans la germination des graines, ou par β -oxydation qui a un rôle majeur pendant la période de germination à l'aide de β -oxydase, donnant de l'acétylcoenzyme A (acétyl-CoA) et de l'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP) (Copeland et McDonald, 1985 ; Turner et al., 2005 ; Hooks et al., 2007). Néanmoins, cette transformation dépend de l'état chimique de ces substances lipidiques et leur sensibilité à l'égard des enzymes impliquées (Frega et al., 1999 ; Ollé, 2002). Ainsi, elles sont sujettes à de nombreuses influences telles les oxydations (Polvillo et al., 2004 ; Boyer, 2010; Li et al., 2012), qui limitent significativement leur prédisposition à l'action des différentes enzymes pour leur transformation. Alors, la disponibilité en quantité de ces corps gras n'indique pas toujours leur utilisation inconditionnée dans la synthèse d'énergie indispensable au déroulement de la germination. Ces propos se justifient à travers les relations établies entre la germination des graines et leur teneur en certains types d'acides gras. Selon ces données (Tableau 30), des relations négatives paraissent lier le taux de germination des graines et

la teneur en acide palmitoléique ($r=-0.70^{**}$), C18:1n7 ($r=-0.58^*$) et l'acide stéarique ($r=-0.59^*$). D'un autre côté l'augmentation de la teneur en acide linoléique s'annonce très favorable au taux de germination des graines ($r=0.7^{**}$). Cette situation s'expliquerait par une conservation appréciable des particularités chimiques de ce composé durant l'entreposage des graines. Une seconde hypothèse justifierait cette tendance et qui explique que cet acide gras serait la principale source des réserves lipidiques remobilisables durant la germination et que sa transformation serait inhibitrice de l'activité enzymatique impliquée dans la transformation des autres acides gras.

Il a été suggéré que l'une des voies par lesquelles l'environnement affecte indirectement la germination des graines est par les types et les quantités de composés transférés de la plante mère aux graines (Donohue, 2009; Baskin et Baskin, 2014; Li et al., 2017). Les composants gras dans les graines d'espèces sauvages peuvent avoir d'autres rôles, tels que le contrôle de la levée de dormance (Footitt et al., 2002), l'aide à la défense et à la dispersion des semences (Finkelstein et Grubb, 2002) et le développement des plantules après la germination (Pinfield-Wells et al., 2005).

Les espèces oléagineuses riches en lipides totaux, et en particulier en acides gras polyinsaturés sont plus exposées à un risque d'auto-oxydation (Wagner et al., 2014 ; Berka et al., 2018). Durant la maturation des graines, le saccharose produit par la plante lors de la photosynthèse est dirigé vers les siliques (fruit sec indéhiscent) pour permettre la formation des TAG. Les acides gras constituent une source d'énergie lorsqu'ils sont oxydés lors de la germination (Baud et Lepiniec, 2010).

La quantité et la qualité des TAG peuvent être impactées par le taux d'oxygène et la température. L'oxygène en faible concentration inhibe la formation de TAG chez le soja et *Arabidopsis*, tandis que l'augmentation de ce gaz dans le milieu extérieur stimule la production des lipides de réserves (Kuang et al., 1998). Il a été décrit que des températures basses induisent la production d'acides gras polyinsaturés, distribués parmi les lipides membranaires de la plante pour augmenter la fluidité des membranes (Los et al., 2013).

Les acides gras assurent ainsi la séparation de compartiments cellulaires ainsi que la capacité à s'adapter à certaines variations environnementales, telles que les changements de température

qui entraînent des modifications de la composition en acides gras poly-insaturés de ces lipides membranaires (Roche, 2005).

Tous les acides gras n'ont pas la même sensibilité vis-à-vis de la peroxydation (Wilson et McDonald, 1986). Le degré de dégradation est nettement influencé par le degré d'insaturation des acides gras (Berka et al., 2018) ; comme chez certaines variétés de tournesol, l'acide linoléique subit une forte dégradation durant le stockage des graines âgées (Balesevic-Tubic et al., 2007). C'est le cas des graines du pistachier d'Atlas, où sa richesse en cette catégorie d'acides gras, leur qualité et la durée d'entreposage de ces dernières aura un effet sur le déroulement de la germination. Il est admis que chez ces graines, les huiles constituent la source dominante indispensable à la synthèse d'énergie au cours de la germination et qu'elles se localisent principalement au niveau des tissus de réserve de l'amande. La teneur en huiles des téguments aurait une influence indirecte sur la germination des graines. En effet, leur dégradation serait à l'origine de libération des composés issus entre autres de la fraction lipidique constituant ainsi une action chimique sur la germination (Tableau 31). Ceci explique la distinction des relations entre la qualité des acides gras de la graine, d'épicarpe et de l'amande sur la germination. Ces relations s'annoncent contraires pour certains composés, c'est le cas d'acide oléique qui constitue la fraction dominante susceptible de fournir l'énergie indispensable à la germination. Dans cette situation des relations contraires ont été obtenues entre la germination et le taux de cet acide au niveau de l'amande et l'épicarpe. Elle est positive et significative entre sa teneur au niveau de l'amande, alors qu'elle prend une tendance négative avec celle d'épicarpe (Tableaux 31, 32). L'oxydation de cet acide au niveau de l'épicarpe constituerait une substance de diffusion vers l'amande au cours de l'entreposage des graines qui serait inhibitrice pour les réactions du catabolisme des acides gras insaturés, particulièrement l'acide oléique. Cette hypothèse se confirme par les travaux de Berka et al. (2018) réalisés sur la germination d'arganier et qui démontrent que la diffusion des acides gras contenus au niveau de la graine serait toxique à l'embryon limitant ainsi leur faculté germinative.

Tableau 30: Relation entre la composition en acide gras des graines entières et le taux de germination des graines

Variables	Écotype	C16:0 (acide Palmitique)	C16:1n7 (acide Palmitoléique)	C18:0 (acide Stéarique)	C18:1n9 (acide Oléique)	C18:1n7	C18:2n6 (acide Linoléique)	C20:0 (acide Arachidique)	C18:3n3 (acide Linoléique)	C20:1n9 (acide Eicosenoïque)
C16:0	-0.57*	1.00								
C16:1n7	-0.42	-0.48	1.00							
C18:0	-0.37	0.13	0.34	1.00						
C18:1n9	0.16	-0.70**	0.64*	0.12	1.00					
C18:1n7	-0.46	-0.44	0.98***	0.28	0.68**	1.00				
C18:2n6	0.24	0.32	-0.68**	-0.35	-	0.89***	-0.74**	1.00		
C20:0	0.47	-0.31	-0.09	-0.14	0.00	-0.15	0.18	1.00		
C18:3n3	-0.37	0.32	-0.03	-0.02	-0.76**	-0.10	0.69**	0.07	1.00	
C20:1n9	-0.30	-0.26	0.62*	0.64**	0.04	0.53*	-0.08	0.18	0.48	1.00
Taux Germina- -tion	0.85***	-0.21	-0.70**	-0.53*	-0.36	-0.75**	0.70**	0.41	0.07	-0.34

Tableau 31 : Relation entre la composition en acide gras d'épicarpe et le taux de germination des graines

Variabes	Écotype	C16:0	C16:1n7	C18:0	C18:1n9	C18:1n7	C18:2n6	C20:0	C18:3n3	C20:1n9
C16:0	-0.21	1.00								
C16:1n7	-0.05	0.38	1.00							
C18:0	0.00	0.78***	0.66**	1.00						
C18:1n9	-0.31	-0.70**	-0.25	-0.38	1.00					
C18:1n7	0.00	-0.16	0.80***	0.34	0.31	1.00				
C18:2n6	0.39	0.46	0.10	0.09	-0.95***	-0.37	1.00			
C20:0	0.89***	0.13	0.21	0.44	-0.37	0.14	0.31	1.00		
C18:3n3	0.68**	0.56*	0.10	0.47	-0.83***	-0.29	0.74**	0.79***	1.00	
C20:1n9	0.88***	-0.09	0.00	0.28	-0.10	0.10	0.06	0.95***	0.62*	1.00
Taux Germination	0.54*	-0.21	-0.27	-0.52*	-0.53*	-0.40	0.76***	0.19	0.40	0.10

Tableau 32: Relation entre la composition en acide gras d'amande et le taux de germination des graines

Variables	Écotype	C16:0	C16:1n7	C18:0	C18:1n9	C18:1n7	C18:2n6	C20:0	C18:3n3	C20:1n9
C16:0	-0.94***	1.00								
C16:1n7	-0.32	0.44	1.00							
C18:0	0.08	-0.30	-0.82***	1.00						
C18:1n9	0.65**	-0.75**	-0.18	-0.08	1.00					
C18:1n7	-0.49	0.52*	0.95***	-0.63*	-0.24	1.00				
C18:2n6	0.23	-0.09	-0.18	0.31	-0.57*	-0.25	1.00			
C20:0	-0.04	-0.01	-0.12	0.57*	-0.58*	0.00	0.78***	1.00		
C18:3n3	0.22	0.05	0.26	-0.23	-0.52*	0.09	0.84***	0.49	1.00	
C20:1n9	0.70**	-0.69**	-0.82***	0.63*	0.21	-0.90***	0.53*	0.28	0.21	1.00
Taux Germination	0.54*	-0.41	-0.24	-0.33	0.66**	-0.46	-0.34	-0.79***	-0.16	0.31

2. Relations entre la variabilité génétique et la germination chez les écotypes étudiés

La germination des graines chez le pistachier de l'Atlas est conditionnée par la nature de l'écotype à partir duquel sont prélevées ces entités biologiques. Ceci est confirmé par les travaux de Yaaqobi et al. (2009) qui ont démontré que ce processus physiologique est étroitement lié à l'origine des génotypes testés. Il faut noter que la germination des graines chez cette espèce dépend de leur nature à travers leur composition acquise lors de sa morphogénèse, où les conditions environnementales en détiendraient une influence dans leur remodelage. Comme tout trait phénotypique cette influence se mesure selon l'héritabilité de ce caractère. Certes, la composition de la graine est influencée par l'environnement sévissant dans le milieu de sa formation (Gimelo-Gilles, 2009; Carrijo et al., 2010; Tonguç et al., 2012), mais la nature génétique des individus fournissant cette dernière serait d'un grand apport sur sa variation. Cette hypothèse a été confirmée ultérieurement dans ce travail où on a démontré que la composition biochimique impliquée directement dans le processus de germination des graines varie sensiblement à travers la variabilité génétique prouvée parmi les différentes populations étudiées. Ainsi, les résultats dégagés démontrent que la levée de dormance et la germination des graines s'avèrent influencées par la nature des écotypes ayant servis pour leur prélèvement. La distinction génétique des populations étudiées estimée par le marqueur moléculaire ISSR s'accompagne d'une nette divergence de comportement des graines lors de la germination issue de ces populations. En plus des paramètres écologiques conditionnant la formation de la graine et

l'élaboration de sa qualité, les distinctions génétiques entre les différentes populations selon leurs origines seraient impliquées dans ce développement. Ainsi, les différentes origines des écotypes fournissant les graines mises en étude de germination ont provoqué des taux significativement différents. Suivant les résultats obtenus, le taux de germination des graines se distinguent selon les origines des écotypes et par conséquent leurs structures génétiques en quatre groupes. Un premier englobe celui de Batna, un second intègre celui de Laghouat et dans un troisième figure celui de Tiaret (TR). Enfin les graines des populations de Tiaret (TZ), Djelfa et Béchar se distinguent en un groupe différent.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Le pistachier de l'Atlas est l'une des rares espèces végétales spontanées à pouvoir envahir des aires appartenant à presque tous les étages bioclimatiques que compte notre pays. Sa grande plasticité lui offre un important avantage de peupler et d'enrichir le patrimoine végétal des régions aux environnements les plus stressants qu'ils soient. Les résultats obtenus du présent travail démontrent que la répartition des écotypes de cette espèce à travers les différentes régions s'étendant du Nord au Sud du pays, se console par une base génétique assez large. En effet, l'évaluation de la variabilité génétique que compte cette espèce, en employant un marqueur moléculaire (ISSR) et ayant prouvé son efficacité pour l'estimation de la richesse génétique chez les espèces spontanées, confirme cette répartition du pistachier d'Atlas à travers l'Algérie. Les résultats ont montré que le test de Mantel a donné une corrélation positive entre les distances géographiques et génétiques, qui font preuve d'une variation importante entre les populations peuplant des régions géographiquement distinctes.

Quoique le pistachier de l'Atlas soit dioïque, les résultats d'évaluation de la variabilité génétique prouvent que les flux géniques sont très restreints. Ils établissent ainsi un isolement génétique des différentes populations qui serait imposé par l'isolement géographique. Un autre marqueur a été testé dans cette étude, c'est la région nucléaire ITS (Internal Transcribed Spacer). Ainsi, les analyses par ce marqueur pourraient fournir une approche simple pour la validation des espèces dans des échantillons prélevés dans une population naturelle où l'identification des espèces peut être difficile surtout si des hybrides sont présents ou si la saison n'est pas optimale pour identifier les différences de caractères morphologiques.

Les résultats de plusieurs études convergent à une déduction relative à une nette régression des espaces occupés par le pistachier de l'Atlas. Cette évolution s'accompagne inévitablement d'une érosion génétique réduisant ainsi la variabilité au sein de l'espèce. La protection et la valorisation de la variabilité génétique du pistachier d'Atlas imposent inéluctablement la maîtrise des méthodes de reproduction, particulièrement sexuée, chez l'espèce. La dormance des graines limite grandement la pratique de la reproduction sexuée par le semis des graines. Une parfaite connaissance des mécanismes d'instauration de cette dormance s'avère incontournable pour l'expansion et le développement de ce mode de reproduction. Le travail présenté englobe différentes recherches convoitant à élucider les différents paramètres conditionnant la

germination des graines de cette espèce. Ces mécanismes se distinguent en deux principales catégories.

Les facteurs intrinsèques qui contrôlent l'imposition de la dormance et les variations des processus de la germination concernent essentiellement la composition chimique des différents constituants de la graine. Les résultats de ces analyses révèlent sa richesse en composés phénoliques et particulièrement les flavonoïdes. Cependant, des variations des teneurs en différentes catégories des polyphénols ont été détectées au niveau des différentes parties de la graine. Ainsi, le péricarpe des akènes renferme les plus hautes teneurs en flavonoïdes et les acides phénoliques totaux. Toutefois, les valeurs enregistrées dépendent grandement des origines des écotypes ayant fournis les graines. Selon de nombreuses études, la dormance des graines de nature chimique imposée souvent par la présence des composés phénoliques constituerait un mécanisme de résistance à la sécheresse développé suivant l'évolution d'adaptation des espèces végétales spontanées. Les composés phénoliques imposent la dormance des graines chez le pistachier d'Atlas et ce en inhibant certaines activités métaboliques initiées au cours de la levée de la vie latente des graines. Ceci s'est confirmée par l'accroissement des taux de germination des graines après l'application de certains traitements spécifiques (peroxyde d'hydrogène) altérant l'action inhibitrice des polyphénols. L'action des composés phénoliques sur l'imposition de la dormance des graines émane conjointement de leurs localisations occurrence au niveau du fruit et l'amande. La persistance de cette action s'annonce conditionnée par la nature des écotypes expérimentés, valorisant par conséquent la variabilité génétique et les conditions environnementales sévissant pendant la formation des graines.

Les graines du pistachier d'Atlas appartiennent à la catégorie des oléagineuses où les réserves utilisables au cours de la germination sont de nature lipidiques. Les résultats d'analyse des graines démontrent qu'elles sont riches en acides gras essentiellement insaturés et particulièrement ceux de la catégorie des mono-insaturés. Les teneurs en différentes catégories des lipides que contiennent les graines varient faiblement parmi les écotypes étudiés. Cette particularité biochimique s'annonce commune au sein de la variabilité génétique concernée par cette étude.

Selon les résultats obtenus, la qualité des réserves lipidiques après la récolte et les conditions d'entreposage des graines du pistachier d'Atlas détiendraient d'importants effets sur la levée de la

dormance et la réponse à la germination. Comme toutes les oléagineuses, la transformation des réserves lipidiques en glucides par le cycle glyoxylique représente une étape cruciale pendant la germination. Ainsi, les facteurs externes et internes influençant l'activité d'hydrolyse des lipides s'avèrent déterminant dans la réactivation métabolique au cours de la levée de la vie latente et le déroulement de la germination. L'activité des différentes enzymes intervenant dans le déroulement du cycle glyoxylique dépend de la qualité des graines mises en germination, particulièrement leurs fractions lipidiques, substrats de leurs actions. Les résultats obtenus de cette étude illustrent nettement que plus la durée d'entreposage des graines est longue et plus leur pouvoir germinatif est faible. Ceci indique que les lipides de réserve de la graine sont très sensibles aux conditions de stockage. Cette hypothèse a été prouvée par le fait que les graines de la récolte de l'année et mises en germination au cours de la même période, ne rencontrent aucune entrave qui limite leur germination.

Les facteurs physiques, englobant le pH et la température semblent être sans effets marquants sur le déroulement de la germination.

Il est important dans l'avenir, pour la reproduction du pistachier d'Atlas de procéder par la valorisation de la variabilité génétique. Ceci indique que même si cette espèce est définie par une plasticité très élevée, les opérations de repeuplement des différentes régions doivent employer des graines cueillies des écotypes locaux. Également, les résultats des différents tests réalisés dans cette étude démontrent que le pouvoir germinatif des graines mises en germination sous serre est nettement plus élevé que celles menées en conditions *in vitro* (milieu artificiel). Dans ces conditions, la détermination des facteurs qui créent cette différence serait d'un grand apport dans la maîtrise de la germination chez le pistachier d'Atlas.

Il est également recommandé dans l'avenir de développer la technique par voie asexuée de cette espèce afin d'obtenir des plants acclimatés par la production en masse.

REFERENCES

BIBIOGRAPHIQUES



Références bibliographiques

- Abuduli A., Aydin Y., Sakiroglu M., Onay A., Ercisli S., Uncuoglu A. A. 2016.** Molecular Evaluation of Genetic Diversity in Wild-Type Mastic Tree (*Pistacia lentiscus* L.). *Biochem Genet.*, 54(5), 619-35. doi: 10.1007/s10528-016-9742-0.
- Abu-Qaoud H. 2007.** Effect of Scarification, Gibberellic acid and Stratification on Seed Germination of Three *Pistacia* Species. *An - Najah Univ. J. Res. (N. Sc.)*, 21.
- Acheheb H. 2013.** Valorisation de l'huile des grains de pistachier d'atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) : Optimisation de l'extraction par presse et caractéristiques phytochimiques. Thèse doctorat en science agronomique à l'école nationale supérieure agronomique-El Harrache (ENSA), 127P.
- Adamou-Djerbaouiz M., Djelaila Y., Adamou M.S., Baziz B., Nicolas V., Denys C. 2010.** Préférence édaphique et pullulation chez *Meriones shawii* (Mammalia, Rodentia) dans la région de Tiaret (Algérie). *Rev. Écol. (Terre Vie)*, 65, 63-72.
- Aguilera M.C., Ramirez-Tortosa M.C., Mesa M.D., Gil A. 2000.** Do MUFA and PUFA have beneficial effects on development of cardiovascular disease. In: Pandai SG (eds) Recent research developments in lipids (advances in lipid research). 369–390 924, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, (2008), 85,921–924.
- Ahmadi Afzadi M., Seyed Tabatabaei B.E., Mohammadi S.A., Tajabadipur A. 2007.** Comparison of genetic diversity in species and cultivars of pistachio (*Pistacia vera* L.) based on amplified fragment length polymorphism marker. *Iranian Journal of Biotechnology*, 5, 147–152.
- Ait Saïd S., Fernandez C., Greff S., Derridj A., Gauquelin T. et Mevy J.P., 2011.** Inter-population variability of leaf morpho-anatomical and terpenoid patterns of *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* growing along an aridity gradient in Algeria. *Flora*, 206, 397-405.
- Aletà N., Avanzato D., Mendes Gaspar A., Ninot A., Rouskas D., Zakinthinos G. 1997.** La multiplication du pistachier. Amélioration d'espèces à fruits à coque : noyer, amandier, pistachier Zaragoza : CIHEAM Options Méditerranéennes : Série B. in Germain E. (ed.). *Études et Recherches*, 16, 121-132.
- AL-Saghir M.G. 2010.** Phylogenetic Analysis of the Genus *Pistacia* L. (Anacardiaceae) Based on Morphological Data. *Asian Journal of Plant Sciences*, 9 (1), 28-35.
- Al-Sousli M., Faory H., Nakar M., Zaid, S., Al-Safadi B., Al-Saghir M. 2014.** Genetic Relationships among Some *Pistacia* Species (Anacardiaceae) in Syria. *Middle East J. Sci. Res.*, 21, 1487-1496.
- Alvarado V. and Bradford K.J. 2002.** Hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination. *Plant Cell and Environment*, 25, 1061–1069. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00894.x>
- Álvarez I. and Wendel J.F. 2003.** Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 29, 417-434.

- Alyafi J. 1979.** Approche systématique et écologie du genre *Pistacia* L. dans la région Méditerranéenne. Thèse de Docteur de 3ème Cycle. Faculté des Sciences et Techniques. St Jérôme, Marseille P.
- Amara M., Bouazza M., Al-Saghir M.G. 2017.** Anatomical and Adaptation Features of *Pistacia atlantica* Desf. to Adverse Climate Conditions in Algeria. American Journal of Plant Sciences, 8, 137-153. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2017.82011>.
- Andersson L. and Milberg P. 1998.** Variation in seed dormancy among mother plants, populations and years of seed collection. Seed Science Research, 8, 29-38.
- Arcade M.C., Pâques L., Prat D. 2000.** Application of AFLP, RAPD and ISSR markers to genetic mapping of European and Japanese larch. Theoretical and Applied Genetics, 100, 299–307. <https://doi.org/10.1007/s001220050039>.
- Asadollahzadeh H. and Shamspur T. 2013.** Chemical Composition of the Extracts of Fruits of *Pistacia atlantica* Desf. from Kerman Province in Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 16 (2), 243-246. DOI: 10.1080/0972060X.2013.764179.
- Avise J.C., Arnold J., Ball R.M., Bermingham E., Lamb T., Neigel J.E., Reeb C.Z., Saunders N.C. 1987.** Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 18: 489-522.
- Aya A., N'dri N., Vroh-Bi I., Kouamé P.L., Zoro I. 2011.** Bases génétiques et biochimiques de la capacité germinative des graines: implications pour les systèmes semenciers et la production alimentaire, Sciences & Nature, 8 (1), 119 – 137.
- Ayfer M. and Serr E.F. 1961.** Effects of gibberellin and other factors on seed germination and early growth in *Pistacia* species. Proceedings of the American Society for Horticultural Science, 77, 308-315.
- Bacchetta G., Belletti P., Brullo S., Cagelli L., Carasso V., Casas J.L., Cervelli C., Escrib M. C., Fenu G., Gorian F., Güemes J., E. Mattana E., Nepi M., Pacini E., Pavone P., Piotto B., Cristiano Pontecorvo, Prada A., Venora G., Vietto L., Virevaire M. 2006.** Manuel pour la récolte, l'étude, la conservation et la gestion ex situ du matériel végétal. Rome, Italie : Bacchetta G., Sánchez B.A., Jiménez-Alfaro B.F.G., Mattana E., Piotto B., Virevaire M. 217 pp.
- Baccouri B., Zarrouk W., Baccouri O., Guerfel M., Nouairi I., Krichene D., Daoud D., Zarrouk M. 2008.** Composition, quality and oxidative stability of virgin olive oils from some selected wild olives (*Olea europaea* L. subsp. Oleaster). GRASAS Y ACEITES, 59 (4), 346-351.
- Balasundram N., Sundram K., Samman S. 2006.** Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence and potential uses. Food Chemistry, 99, 191-203.
- Baldwin B.G. 1992.** Phylogenetic utility of the internal transcribed spacer of nuclear ribosomal DNA in plants: an example from the Compositae. Molecular Phylogenetics and Evolution, 1, 3-16.

- Baldwin B.G., Sanderson M.J., Porter J.M. Wojciechowski M.F., Campbell C.S., Donoghue M.J. 1995.** The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Ann. Mo. Bot. Gard.*, 82(2), 247-277.
- Balesevic-Tubic S., Tatic M., Miladinovic J., Pucarevic M. 2007.** Changes of content and vigor of sunflower seed during natural aging. *Helia*, 30, 61-68.
- Barrero A.F., Herrador M. M., Arteaga J.F., Akssira M., Mellouki F., Belgarrabe A., Blzquez M. A. 2005.** Chemical composition of the essential oils of *Pistacia atlantica* Desf. *Journal of Essential Oil Research*, 17 (1), 52–54. DOI: 10.1080/10412905.2005.9698828.
- Baskin C.C. and Baskin, J.M. 2014.** *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*, 2nd Edn. San Diego, CA: Elsevier.
- Baskin J. M. and Baskin C.C. 2004.** A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 14, 1–16. DOI: 10.1079/SSR2003150.
- Bates P., Stymne S., Ohlrogge J. 2013.** Biochemical pathways in seed oil synthesis. *Curr Opin. Plant Biol.*, 16, 358–364.
- Baud S. and Lepiniec L. 2010.** Physiological and developmental regulation of seed oil production. *Progress in Lipid Research*, 49(3), 235-49. Doi: 10.1016/j.plipres.2010.01.001.
- Baumel A., Ainouche M.L., Levasseur J.E. 2001.** Molecular investigations in populations of *Spartina anglica* C.E. Hubbard (Poaceae) invading coastal Brittany (France). *Molecular Ecology*, 10, 1689- 1701.
- Becerra V. and Paredes C., 2000.** Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. *Agricultura Técnica (Chile)*, 60, 3, 270-281
- Behboodi B.S. 2004.** *Pistacia atlantica* Desf. 1800 in Iran. *FAO-CIHEAM - Nucis-Newsletter*, 12, 27-29.
- Belhadj S. 2001.** Les pistacheraies algériennes: État actuel et dégradation. Option méditerranéennes. XIème colloque du GREMPA sur le pistachier et l’amandier, Zaragoza: CIHEAM-IAMZ., 56, 107-109.
- Belhadj S., Derridj A., Auda Y., Gers C., Gauquelin T. 2008.** Analyse de la variabilité morphologique chez huit populations spontanées de *Pistacia atlantica* en Algérie. *Can J Botany*, 86, 520-532.
- Belhadj S., Derridj A., Moriana A., Gijon M. D. C, Mevy J.P., Gauquelin T. 2011.** Comparative analysis of stomatal characters in eight wild atlas pistachio populations (*Pistacia atlantica* Desf.; Anacardiaceae). *International Research Journal of Plant Science*, 2(3), 060-069.
- Bell D.T. 1999.** Turner review No.1. The process of germination in Australian species. *Australian Journal of Botany*, 47: 475-517.
- Belyagoubi L., Belyagoubi-Benhammou N., Atik-Bekkara F., Coustard J.M. 2016.** Effects of extraction solvents on phenolic content and antioxidant properties of *Pistacia atlantica* Desf. fruits from Algeria. *International Food Research Journal*, 23(3), 948-953.

- Benhassaini H., Bendahmane M., Benchalgo N. 2007.** The chemical composition of fruits of *Pistacia atlantica* Desf. Subsp. *atlantica* from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*, 43, 121–124.
- Bensaid S. 1985.** Contribution à la connaissance des espèces arborescentes, germe et croissance d'*Acacia raddiana*. Thèse de magister. Institut national agronomique (I.N.A) El Harrache, Algérie, 70p.
- Bentsinka L. and Koornneef M. 2008.** Seed Dormancy and Germination. *The Arabidopsis Book*, American Society of Plant Biologists, doi: 10.1199/tab.0119.
- Berjak P. and Pammenter N.W. 2008.** From *Avicennia* to *Zizania*: seed recalcitrance in perspective. *Annals of botany*, 101, 213–228. Doi:10.1093/aob/mcm168.
- Berka S., Himrane H., Taguemount D., Tabet M., Aid F. 2018.** Contribution à l'étude de la germination et de la conservation des graines d'*argania spinosa* (L.) skeels de la région de Tindouf (ALGÉRIE). *Revue d'Écologie (Terre et Vie)*, 73 (3), 309-317.
- Bewley J.D. 1997.** Seed Germination and dormancy. *The Plant Cell.*, 9, 1055-1066.
- Bewley J.D. and Black M. 1994.** *Seeds-physiology of development and germination*, 2nd ed: plenum press, New York.
- Bhattacharyya S., Das B., Ghose T.K., Bhattacharya S. 1999.** Investigation on seed germination of *Nyctanthes arbor-tristis* (Oleaceae) in relation to the total phenol content. *Seed Sci. Technol.*, 27, 321–327.
- Biala K., Peeters A., Muys B., Hermy M., Brouckaert V., García V., Van der Veken B., Valckx J. 2005.** Biodiversity indicators as a tool to assess sustainability levels of agroecosystems, with a special consideration of grassland areas. *Options Méditerranéennes, Series A*, 67, 439-443.
- Blattner F. R. 1999.** Direct amplification of the entire ITS region from poorly preserved plant material using recombinant PCR. *BioTechniques*, 27,1180-1186.
- Blée E. 2002.** Impact of phyto-oxylipins in plant defense. *Trends in Plant Sci.*, 7(7), 315-22. DOI: 10.1016/s1360-1385(02)02290-2.
- Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. 2003.** Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. *Ann. Bot.*, 91, 179-194.
- Bonjean, A. 1991.** *Le ricin, une culture pour la chimie fine*, Galileo édition, Paris.
- Borek S., Ratajczak W., Ratajczak L. 2006.** Ultrastructural and enzymatic research on the role of sucrose in mobilization of storage lipids in germinating yellow lupine seeds. *Plant Sci.*, 170, 441–452.
- Bouabdelli Z., Belhadj S., Smail-Saadoun N., Mévy J. P., Notonnier R., Tonetto A., Ortas I., Gauquelin T. 2018.** Influence de l'aridité sur la variation de la colonisation mycorhizienne arbusculaire chez cinq populations naturelles algériennes du pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica* DESF.). *Revue d'Écologie (Terre et Vie)*, 73 (3), 330-344.
- Boudy P. 1952.** *Guide du forestier en Afrique du Nord*. Ed. La Maison rustique, Paris. 505 p.

- Bougnoux P., de Poncheville L., Germain E., Cognault S., Montharu J. Aubourg L., Bonnet P., Chajès V. 2000.** Augmentation sélective de la sensibilité des tumeurs à la chimiothérapie par les acides gras polyinsaturés n-3. *J. Food Sci.*, 54, 569-572.
- Bourre J.M. 2005.** Acides gras oméga-3 et troubles psychiatriques. *Med. Sci.*, 21, 216-221.
- Boutté Y. and Grebe M. 2009.** Cellular processes relying on sterol function in plants. *Cur. Opin. Plant Biol.*, 12, 705–713.
- Bove J., Jullien M., Grappin P., 2001.** Functional genomics in the study of seed germination. *Gen. Biol.*, 3 (1), 10021–10025.
- Boyer A. 2010.** Design de nouveaux synthons dérivés de l'acide oléique: application à la synthèse de polyuréthanes. Thèse Doctorat à l'université de Bordeaux 1, école doctorale des sciences chimiques. 201P.
- Bozorgi M., Memariani Z., Mobli M., Salehi Surmaghi MH., Shams-Ardekani MR., Rahimi R. 2013.** Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): a review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *The Scientific World Journal*, 33P. doi.org/10.1155/2013/219815.
- Briggs D.E. 1992.** Barley Germination: Biochemical changes and hormonal control. *Biochemistry*, 369-401.
- Buchanan B.B. Gruissem W., Jones R.L. 2000.** Membrane structure and membranous organelles. *Biochemistry & molecular biology of plants*. American Society of Plant Physiologists. Maryland, US: 850-907.
- Buitink J., Leprince O., Hoekstra F.A. 2000.** Dehydration-induced redistribution of amphiphilic molecules between cytoplasm and lipids is associated with desiccation tolerance in seeds. *Plant Physiol.*, 124, 1413-1426.
- Caboche M., Dubreusqu B., Grappin P., Lepinice L., Nesi N. 1998.** La germination vient en dormant. *Biofutur*, 175, 32- 35.
- Camacho C., Coulouris G., Avagyan V., Ma N., Papadopoulos J., Bealer K., Madden T.L. 2009.** BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics*, 10, 421–429.
- Camciuc M., Vilarem G., Gaset A. 1997.** Le gombo *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, une source possible de phospholipides. *Oléagineux Corps Gras Lipides*, (4) 389-392.
- Carrijo L.C., Borges E.E.L., Pontes C.A., Lopes M.R., Brune A. 2010.** α -Galactosidase activity and carbohydrate mobilization in seeds of *Dalbergia nigra* (Vell.) Alemao ex Benth. Fabaceae (Brazilian Rosewood) during germination. *Cerne*, 16:283–289.
- Casini E. and Conticini L. 1979.** The germinability of seeds of *Pistacia vera* and *Pistacia terebinthus*. *Rivista di Agricoltura Subtropicale e Tropicale*, 73, 233-240.
- Catusse J., Job C., Job D. 2008.** Transcriptome and proteome wide analyses of seed germination. *C. R. Biol.*, 331, 815–822.

- Cert A., Alba J., Leon-Camacho M., Moreda W., Carmen Perez-Camino M. 1996.** Effects of Talc Addition and Operating Mode on the Quality and Oxidative Stability of Virgin Olive Oils Obtained by Centrifugation. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 3930-3934.
- Chaba B., Chraa O., Khichane M. 1991.** Germination, morphogénèse racinaire et rythmes de croissance du Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.). *Physiologie des Arbres et Arbustes en zones arides et semi-arides*, Groupe d'Étude de l'Arbre-Paris, France. pp. 465-472.
- Chase M.W., Salamin N., Wilcinson M., Dunwell J.M. Kesanakurthi R.P., Haidar N., Savolainen V. 2005.** Land plants and DNA barcodes: short-term and long-term goals. *Philosophical Transaction of the Royal Society B*, 360, 1889-1895.
- Chaussat R. and Ledeuuff Y. 1975.** La germination des semences. Ed. Bordars, paris, 232p.
- Chavali S.R., Zhong W.W., Forse R.A. 1998.** Dietary alpha-linolenic acid increases TNF- α , and decreases IL-6, IL-10 in response to LPS: Effects of sesamin on the delta-5 desaturation of omega6 and omega3 fatty acids in mice. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 58, 185–191.
- Chebouti-meziou N., Merabet A., Chebouti Y., Bissaad F.Z., Behidj-benyounes N., Doumandji S. 2014.** Effect of cold and scarification on seeds germination of *Pistacia atlantica* Desf. for rapid multiplication. *Pak. J. Bot.*, 46 (2), 441-446.
- Chen Z., Silva H., Klessing D. F. 1993.** Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science*, 262, 1883-1886.
- Clerkx E.J.M., Blankestijn-De Vries H., Ruys G.J., Groot S.P.C., Koornneef M. 2004.** Genetic differences in seed longevity of various *Arabidopsis* mutants. *Physiologia Plantarum*, 121: 448-461.
- Clouse S. 2000.** Plant development: A role for sterols in embryogenesis. *Current Biology*, 10 (16): R601-R604.
- Conner P. J. 2008.** Effects of stratification, germination temperature and pre-treatment with gibberellic acid and hydrogen peroxide on germination of 'Fry' muscadine (*Vitis rotundifolia*) seed. *Hort. Sci.*, 43, 853-856.
- Copeland L.O. and McDonald M.B. 1985.** Principles of seed science and technology. Burgess Publ. Co., Minneapolis, MN.
- Corpet F. 1988.** Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. *Nucleic Acids Res.*, 16, 10881–10890.
- Cota-Sanchez J.H. and Abreu D.D. 2007.** Vivipary and offspring survival in the epiphytic cactus *Epiphyllum phyllanthus* (Cactaceae). *J. Exp. Bot.* 58, 3865-3873.
- Covell S., Ellis R. H., Roberts E. H., Summerfield R. J. 1986.** The Influence of Temperature on Seed Germination Rate in Grain Legumes: I. A comparison of Chickpea, Lentil, Soybean and Cowpea at constant temperatures. *Journal of Experimental Botany*, 37 (5), 705–715, <https://doi.org/10.1093/jxb/37.5.705>

- Crane J.C. and Forde H.I. 1974.** Improved *Pistacia* seed germination. California Agriculture, 28, 8-9.
- De Jong G. 2005.** Evolution of phenotypic plasticity: patterns of plasticity and the emergence of ecotypes. New Phytology, 166, 101-117.
- De Vicente M.C. and Fulton T. 2003.** Using molecular marker technology in studies on plant genetic diversity. Illus. Nelly Giraldo. IPGRI, Rome, Italy and Institute for Genetic Diversity, Ithaca, New York, USA.
- Dellicour S., Lecocq T., Kuhlmann M., Mardulyn P., Michez D. 2014.** Molecular phylogeny, biogeography, and host plant shifts in the bee genus *Melitta* (Hymenoptera: Anthophila). Molecular Phylogenetics and Evolution, 70, 412–9. doi:10.1016/j.ympev.2013.08.013.
- Dixon R.A. and Paiva N.L. 1995.** Stress-induced phenylpropanoid metabolism. Plant Cell., 7, 1085-1097.
- Donohue K. 2009.** Completing the cycle: material effects as the missing link in plant life histories. Philos. Trans. R. Soc., B 364, 1059–1074. doi: 10.1098/rstb. 2008.0291.
- Downie B., Hilhorst H.W.M. and Bewley D.J. 1997.** Endo-P-mannanase activity during dormancy alleviation and germination of white spruce (*Picea glauca*) seeds. Physiologia Plantarum, 101, 405-415.
- Doyle J. J. and Doyle J.L., 1987.** A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue, Phytochem. Bul., 19, 11-15.
- Dufourc E.J. 2008.** Sterols and membrane dynamics. J. Chem. Biol., 1, 63–77.
- Duval J. R. and Ne Smith D.S. 2000.** Treatment with hydrogen peroxide and seed coat removal or clipping improve germination of ‘Genesis’ triploid watermelon. HortiScience, 35, 85-86.
- Eastmond P.J. and Graham I.A. 2001.** Re-examining the role of the glyoxylate cycle in oilseeds. Trends Plant Sci., 6, 72–78.
- Edgar R.C. 2004.** MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. BMC Bioinformatics, 5, 113.
- El Zerey-Belaskria A., Ribeiro T., Alcarazc M. L., EL Zereyd W., Castroe S., Loureiro J., Benhassainia H., Hormaza J. I. 2018.** Molecular characterization of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* (Anacardiaceae) in Algeria: Genome size determination, chromosome count and genetic diversity analysis using SSR markers. Scientia Horticulturae, 227, 278–287. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2017.09.016>.
- Ellis R.H., Hong T.D., Roberts E.H. 1990.** An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. Journal of Experimental Botany, 41, 1167–1174.
- Ellis R. H., Covell S., Roberts E. H., Summerfield R. J. 1986.** The Influence of Temperature on Seed Germination Rate in Grain Legumes: II. Intraspecific variation in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) at constant temperatures. Journal of Experimental Botany, 37 (10), 1503–1515, <https://doi.org/10.1093/jxb/37.10.1503>.

- Esfandiyari B., Davarynejad G. H., Shahriari F., Kiani M., Mathe A. 2012.** Data to the sex determination in *Pistacia* species using molecular markers. *Euphytica*, 185, 227–231. DOI 10.1007/s10681-011-0527-6.
- Esmailpour A. 2001. Distribution, use and conservation of pistachio in Iran. In: Padulosi S, Hadj-Hassan A (eds.)** Towards a comprehensive documentation and use of *pistacia* genetic diversity in central and West Asia, North Africa and Europe. Report of the IPGRI workshop, 14–17 December 1998, Ibrid, Jordan. IPGRI, Rome.
- Excoffier L., Smouse P.E., Quattro J.M. 1992.** Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131, 479–491.
- Faller A.L.K. and Fialho E. 2010.** Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 561–568.
- Faouzi K., Rharrabti Y., Dardour M., Boukroute A., Mahyou H., Labghial M., Berrichi A. 2015.** Délimitation des peuplements du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) dans la région orientale du Maroc par le G.P.S. combiné au S.I.G. *Algerian Journal for Arid and Environment*, 5, 32-39.
- Fares K., Guasmi F., Touil L., Trik T., Ferchich A. 2009.** Genetic diversity of pistachio tree using inter-simple sequence repeat markers ISSR supported by morphological and chemical markers. *Biotechnology*, 8, 24–34. <https://doi.org/10.3923/biotech.2009.24.34>.
- Farhoosh R., Tavakoli J., Khodaparast M.H.H. 2008.** Chemical composition and oxidative stability of kernel oils from two current subspecies of *Pistacia atlantica* in Iran. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 85 (8), 723–729.
- Farhoosh R., Tavassoli-Kafrani M. H., Sharif A. 2011.** Antioxidant activity of the fractions separated from the unsaponifiable matter of bene hull oil. *Food Chemistry*, 126 (2), 583–589.
- Faria J.M, Buitink J., van Lammeren A.A., Hilhorst H.W. 2005.** Changes in DNA and microtubules during loss and re-establishment of desiccation tolerance in germinating *Medicago truncatula* seeds. *J. Exp. Bot.*, 56, 2119-2130.
- Felsenstein J. 1985.** Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39, 783-791.
- Fenner M. and Thompson K. 2005.** *The Ecology of Seeds*. 1st Edn., Cambridge University Press, Cambridge, UK., ISBN. 0521653681, 264 p.
- Ferreira C.S., Piedade M.T.F., Tine M.A.S., Rossatto D.R., Parolin P., Buckeridge M.S. 2009.** The role of carbohydrates in seed germination and seedling establishment of *Himatanthus sucuuba*, an Amazonian tree with populations adapted to flooded and non-flooded conditions. *Ann Bot.*, 104:1111–1119.
- Finch-Savage E.W. and Leubner-Metzger G. 2006.** Seed dormancy and the control of germination *New Phytologist*, 171: 501–523.

- Finkelstein R., Reeves W., Ariizumi T., Steber C. 2008.** Molecular aspects of seed dormancy. *Ann. Rev. Plant Biol.*, 59: 387–415.
- Finkelstein S. and Grubb P.J. 2002.** Lipid concentration in the embryo-endosperm fraction of seeds of Australian tropical lowland rainforest trees: relevance to defence and dispersal. *Seed Sci. Res.*, 12, 173-180. DOI: 10.1079/ ssR2002109.
- Fischer M. C., Rellstab C., Tedder A., Zoller S., Gugerli F., Shimizu K.K., Holderegger R., Widmer A. 2013.** Population genomic footprints of selection and associations with climate in natural populations of *Arabidopsis halleri* from the Alps. *Mol. Ecol.*, 22, 5594–5607. <https://doi.org/10.1111/mec.12521>.
- Footitt S., Slocombe S.P., Lerner V., Kurup S., Wu Y., Larson T., Graham I., Baker A., Holdsworth M. 2002.** Control of germination and lipid mobilization by COMATOSE, the *Arabidopsis* homologue of human ALDP. *EMBO J.*, 21, 2912-2922. DOI: 10.1093/emboj/cdf300.
- Ford-Lloyd B. V. 2001.** Genotyping in Plant Genetic Resources. In: Henry R. J. (ed), Centre for Plant Conservation Genetics, Southern Cross University, Lismore, Australia, 59-81.
- Frankham R. 2003.** Genetics and conservation biology. *C. R. Biol.*, 326, S22–S29. Doi:10.1016/S1631-0691(03)00023-4.
- Frega N., Mozzon M., Lercker G. 1999.** Effects of free fatty acids on oxidative stability of vegetable oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76, 325-329.
- Frias J., Miranda M.L., Doblado R., Vidal-Valverde C. 2004.** Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* var. *Multolupa*. *Food Chemistry*, 92(2), 211-220.
- Gallardo K, Job C., Groot S.P.C., Puype M., Demol H., Vandekerckhove J., Job D. 2002.** Importance of methionine biosynthesis for *Arabidopsis* seed germination and seedling growth. *Biol. Plant*, 116:238–247.
- Geneve R.L. 2003.** Impact of temperature on seed dormancy. *Hort Science*, 38, 336 341.
- Geourjon C. and Deleage G. 1995.** SOPMA : significant improvements in protein secondary structure prediction by consensus prediction from multiple alignments. *Comput Appl Biosci.*, 11(6), 681–4.
- Ghalem B.R. and Benhassaini H. 2007.** Étude des phytostérols et des acides gras de *Pistacia atlantica*. *Afrique Sciences*, 3 (03), 405-412.
- Gimeno-Gilles C. 2009.** Étude cellulaire et moléculaire de la germination chez *Medicago truncatula*. Thèse de doctorat, université d'Angers, 175P.
- Golan-Goldhirsh A., Barazani O., Wang Z.S., Khadka D.K., Saunders J.A., Koatiukovsky V., Rowland L.J. 2004.** Genetic relationships among Mediterranean *Pistacia* evaluated by RAPD and AFLP markers. *Plant Syst. Evol.*, 246, 9-18.

- Gomez L., Jordan M.O., Adamowicz S., Leiser H., Pages L. 2003.** Du prélèvement au dosage: réflexions sur les problèmes posés par la mesure des glucides non structuraux chez les végétaux ligneux. *Agricultures*, 12, (6), 369-386.
- Goulao L., Valdivieso T., Santana C., Oliveira C.M. 2001.** Comparison between phenetic characterization using RAPD and ISSR markers and phenotypic data of cultivated chestnut (*Castanea sativa* Mill.). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 48, 329–338.
- Gourine N., Bombarda I., Yousfi M., Emile M., Gaydou E-M. 2010a.** Chemotypes of *Pistacia atlantica* leaf essential oils from Algeria. *Natural Product Communications*, 5, 115-120.
- Gourine N., Yousfi M., Bombarda I., Nadjemi B., Stocker P., Gaydou E-M. 2010b.** Antioxidant activities and chemical composition of essential oil of *Pistacia atlantica* from Algeria. *Industrial Crops and Products*, 31, 203–208.
- Graham I.A. 2008.** Seed storage oil mobilization. *Annu Rev Plant Biol.*, 59, 115-142.
- Gray J.I. 1978.** Measurement of lipid oxidation: A review. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 55, 539-546.
- Grivet D. 2002.** Phylogéographie et évolution moléculaire comparée d'arbres forestiers à l'aide des marqueurs chloroplastiques. Thèse Doctorat à l'Université Henri Poincaré, Nancy-I, 244P.
- Guéguen L. 1959.** Étude de la composition minérale de quelques espèces fourragères. Influence du stade de développement et du cycle de végétation. *Annales de zootechnie, INRA/EDP Sciences*, 8 (3), pp.245-268.
- Guenane H., I. Bombarda M., Didi OuldElhadj M., Yousfi M. 2015.** Effect of Maturation Degree on Composition of Fatty Acids and Tocopherols of Fruit Oil from *Pistacia atlantica* Growing Wild in Algeria. *Natural Product Communications*. 10 (10), 1723-1728.
- Gul B. and Weber D.J. 1999.** Effects of salinity, light and temperature on germination in *Allenrolfea occidentalis*. *Can. J. Bot.*, 77, 240–246.
- Gupta M., Chyi Y-S., Romero-Severson J., Owen J.L. 1994.** Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theor. Appl. Genet.*, 89, 998–1006.
- Gupta S.K., Souframanien J., Gopalakrishna T. 2008.** Construction of a genetic linkage map of black gram, *Vigna mungo* (L.) Hepper, based on molecular markers and comparative studies. *Genome*, 51, 628-637.
- Hall T.A. 1999.** BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.*, 41, 95-98.
- Hanan A.A., Ayman A., Farghaly M.M., Abdel Aziz M.A. 2010.** Phytochemical investigation and medicinal evaluation of fixed oil of *Balanites aegyptiaca* fruits (Balantiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 127 (2), 495 –501.
- Hantula J., Dusabenyagasani M., Hamelin R.C. 1996.** Random amplified microsatellites (RAMS)- a novel method for characterizing genetic variation within fungi. *Eur J for Path.*, 26, 159–166.

- Hare P.D., Cress W.A., Van Staden J. 1998.** Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell and Environment*, 21, 535-553.
- Hartmann M. A. 1998.** Plant sterols and the membrane environment. *Trends in plant science*, 3 (5), 170-175.
- Hartmann T.H., Kester D.E., Davies F.T.J. Geneve R.L. 1997.** *Plant Propagation: Principles and Practices*, 6th ed. Prentice-Hall Inc., Upper Saddle River, New Jersey, U.S.A., 770 p.
- Hashempour A., Fotouhi Ghazvini R., Bakhshi D., Asadi Sanam S. 2010.** Fatty acids composition and pigments changing of virgin olive oil (*Olea europaea* L.) in five cultivars grown in Iran. *Aust. J. Crop Sci.*, 4(4): 258-263.
- Hatamnia A.A., Abbaspour N., Darvishzadeh R. 2014.** Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits. *Food Chemistry*, 145, 306-311.
- Hawker J.S. and Jenner C.F. 1993.** High temperature affects the activity of enzymes in the committed pathway of starch synthesis in developing wheat endosperm. *Aust. J. Plant Physiol.*, 20, 197-209.
- Heller R., Esnault R., Lance C. 2006.** *Physiologie Végétale. Développement. 6^e éd. de l'Abrégé.* Edition Dunod: Paris, 144-145.
- Hennion F.O. and Walton D.W.H. 1997.** Seed germination of endemic species from Kerguelen phytogeographic zone. *Polar Biology*, 17: 180-187.
- Hilhorst H.W.M. and Karssen C.M. 1992.** Seed dormancy and germination: the role of abscisic acid and gibberellins and the importance of hormone mutants. *Plant growth regulation*, 11, 225-238.
- Hilhorst H.W.M. and Koornneef M. 2007.** Dormancy in Plants. *Encyclopedia of Life Sciences* John Wiley & Sons, Ltd. www.els.net. 24/ 10/ 2009. 4 p.
- Hoekstra, F.A., Golovina, E.A., Buitink, J. 2001.** Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends Plant Sci.*, 6(9), 431–438. doi:10.1016/S1360-1385(01)02052-0. PMID:11544133.
- Hong T.D., Linington S., Ellis R.H. 1996.** *Seed Storage Behaviour: a Compendium.* International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, 1-115.
- Hooks M.A., Turner J.E., Murphy E.C., Johnston K.A., Burr S., Jaroslawski S. 2007.** The Arabidopsis ALDP protein homologue COMATOSE is instrumental in peroxisomal acetate metabolism. *Biochem. J.*, 406, 399-406.
- Hormaza J.I. and Wünsch A. 2011.** *Pistacia*. C. Kole (ed.), *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, Temperate Fruits*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. DOI 10.1007/978-3-642-16057-8_6.
- Hosseini F., Adlgostar A., Sharifnia F. 2013.** Antibacterial Activity of *Pistacia atlantica* extracts on *Streptococcus mutans* biofilm. *International Research Journal of Biological Sciences*, 2(2), 1-7.

- Huang L.S. and Grunwald C. 1990.** Lipid and fatty acid changes during germination of alfalfa seeds. *Phytochemistry*, 29, 1441–1445.
- Huarte R. and Garcia M.D. 2009.** *Tripsacum dactyloides* (L.) L. (*Poaceae*) caryopsis dormancy and germination responses to scarification, hydrogen peroxide and phytohormones. *Seed Sci. Technol.*, 37, 544-553.
- Hundertmark M. and Hinch D.K. 2008.** LEA (late embryogenesis abundant) proteins and their encoding genes in *Arabidopsis thaliana*. *BMC genomics*, 9, 118. doi:10.1186/1471-2164-9-118.
- Ibrahim Basha A. 2007.** Assess of genetic diversity of *Pistacia* spp. In wild populations and field gene banks from central and west Asia. Thèse doctorat en génétique agricole à l'université Tuscia Italie. 212P.
- Ifticene-Habani N. and Messaoudène M. 2016.** Croissance radiale et sensibilité au climat du pistachier de l'Atlas, *Pistacia atlantica* Desf., en Algérie. *Bois et Forêts des Tropiques*, 329 (3), 3-15.
- Ignat I., Volf I., Popa V.I. 2011.** A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem.*, 126, 1821–1835
- Ila H.B., Kafkas S., Topakta, M. 2003.** Chromosome numbers of four *Pistacia* (anacardiaceae) species. *J. Hort. Sci. Biotechnol.*, 78 (1), 35–38.
- İsfendiyaroglu M. and Özeker E. 2002.** The relation between phenolic compounds and seed dormancy in *Pistacia* spp. In Ak B.E. (ed.). 11 Grema Serr pistachios and almonds. *Chieres Options Mediterraneeennes*, (56). 227-232.
- İsfendiyaroğlu M. 2007.** Hermaphroditism in *Pistacia atlantica* Desf. : A New Report from Izmir/Turkey. *Ege Üniv. ZiraatFak. Derg.*, 44(3), 1-12.
- ISO 3960: 2007 (2010).** Fats of plant and animal - Determination of peroxide value- Determination with iodometric stopping point.
- ISO 660: 2009 (2014).** Fats of plant and animal - Determination of acid value and acidity.
- Jackson R.B., Moore L.A., Hoffmann W.A., Pockman W.T., Linder C.R. 1999.** Ecosystem rooting depth determined with caves and DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96, 11387-11392.
- Joley L.E. 1960.** Experiences with propagation of the genus *Pistacia*. *Proceedings of the Plant Propagators' Society*, 10, 287-292.
- Joley L.E. and Opitz K.W. 1971.** Further experiences with propagation of *Pistacia*. *Combined Proceedings of the International Plant Propagators' Society*, 21, 67-76.
- Joret G. and Hébert J. 1955.** Contribution à la détermination du besoin des sols en acide phosphorique . *Ann. Agron.*, 233-299.
- Jump A.S. and Penuelas J. 2005.** Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecology Letters*, 8, 1010-1020.

- Kaabeche M., Moali A., Sellami D. 2005.** Plan de Gestion Oglet Ed Daïra. Projet DGF/GEF/PNUD-ALG/00/G35/2005.
- Kadi-Bennane S., Ait Said S. et Smail Saadoun N. 2005.** Étude adaptative de trois populations de *Pistacia atlantica* Desf. subsp *atlantica* (Ain Oussera- Messaad-Taïssa), par le biais du complexe stomatique. Options Méditerranéennes, 63, 365-368.
- Kafkas S. 2006.** Phylogenetic analysis of the genus *Pistacia* by AFLP markers. Plant Syst. Evol., 262, 113–124.
- Kafkas S., Perl-Treves R., Kaska N. 2000.** Unusual *Pistacia atlantica* Desf. (Anacardiaceae) monoecious sex types in the Yunt Mountains of the Manisa province of Turkey. Israel J. Pl. Sci., 48, 277–280.
- Kafkas S. and Perl-Treves R. 2001.** Morphological and molecular phylogeny of *Pistacia* species in Turkey. Theor. Appl. Genet., 102, 908-915.
- Kafkas S., Cetiner M.S., Perl-Treves R. 2001.** Molecular variation between and within wild *Pistacias* species in Turkey. In Ak B.E. (ed.). XI GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds Zaragoza: CIHEAM Cahiers Options Méditerranéennes, 56, 243- 250.
- Kafkas S. and Perl-Treves R. 2002.** Interspecific relationships in the genus *Pistacia* L. (Anacardiaceae) based on RAPD fingerprinting. Hort. Science, 37, 168–171.
- Kafkas S., Kafkas E., Perl-Treves R. 2002.** Morphological diversity and a germplasm survey of three wild *Pistacia* species in Turkey. Genet. Resour. Crop Evol., 49, 261–270.
- Kafkas S., Acar I., Gozel H. 2003.** A project on developing monoecious pistachio (*Pistacia vera* L.) populations and determination of sex mechanism in *Pistacia*. XIII GIEMPA meeting on almonds and pistachios. Options Mediterran, 63, 57–60.
- Kafkas S., Ozkan H.B.E., Acar I., Atli H.S., Koyoncu S. 2006.** Detecting DNA polymorphism and genetic diversity in a wide germplasm: comparison of AFLP, ISSR, RAPD markers. Journal of the American Society for Horticultural Science, 131, 522–529. <https://doi.org/10.21273/JASHS.131.4.522>.
- Kamal-Eldin A. and Andersson R. 1997.** A Multivariate Study of the Correlation Between Tocopherol Content and Fatty Acid Composition in Different Vegetable Oils. J. Am. Oil Chem. Soc., 74, 375-380.
- Karimi H.R. and Kafkas S. 2010.** Genetic relationships among *Pistacia* species studied by SAMPL markers. Plant Syst. Evol., 297, 207-212.
- Karimi HR., Zamani Z., Ebadi A., Fatahi M.R. 2009.** Morphological diversity of *Pistacia* species in Iran. Genet. Resour. Crop Evol., 56, 561–571.
- Katoh K. and Standley D.M. 2013.** MAFFT multiple sequence alignment software version 7, improvements in performance and usability. Mol. Biol. Evol., 30, 772–780.
- Katzman L. S., Taylor A. G., Langhans R.W. 2001.** Seed enhancements to improve spinach germination. HortiScience, 36, 979-981.

- Kaup M.T. and Froese C.D. 2002.** Thompson J.E. A role for diacylglycerol acyltransferase during leaf senescence. *Plant Physiol.*, 129, 1616–26.
- Kaymak H.Ç. 2012.** The relationships between seed fatty acids profile and seed germination in cucurbit species. *Zemdirbyste-Agriculture*, 99 (3): 299–304.
- Kelley S. 1996.** Dietary fat and human immune response. *Inform*, 7, 852-857.
- Kemp R.H., 1975.** Seed pretreatment and principles of nursery handling. In Report on FAO/Danida Training Course on Forest Seed Collection and Handling, Vol. II.FAO, Rome.
- Khemiri H., Belguith H., Jridi T., Ben El Arbi M., Ben Hamida J. 2004.** Caractérisation biochimique d'une amylase active au cours du processus germinatif des graines de colza (*Brassica napus* L.). *Enzymologie et métabolisme*, pp. 146-149. Congrès International de Biochimie, Marrakech.
- Khomri Z. and Chabaca M. N. 2019.** Contribution to the determination of potential areas for recharge of the El Madher plain water table by a cartographic approach (Batna, Algeria). *International Journal of Sciences and Research*, 75, 12 (1). DOI: 10.21506/j.ponte.2019.12.7.
- Khoyerdı F.F., Shamsıhırı M.H., Estajı A. 2016.** Changes in some physiological and osmotic parameters of several pistachio genotypes under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 198, 44-51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2015.11.028>.
- Kim H.U., Hsieh K., Ratnayake C., Huang A.H.C. 2002.** A novel group of oleosins is present inside the pollen of *Arabidopsis*. *J. Biol. Chem.*, 277, 22677–84.
- Kim Z.S., Lee S.W., Hwang J.W. 1997.** Genetic diversity and structure of natural populations of *Pinus thunbergii* in Korea. *Silvae Genetica*, 46, 2/3,120-124.
- Klein J. D., Wood L. A., Geneve R. L. 2008.** Hydrogen peroxide and color sorting improves germination and vigor of eastern gamagrass (*Tripsacum dactyloides*) seeds. *Acta Horticulturae*, 782, 93-97.
- Kremer J. M. 2000.** N-3 fatty acid supplements in rheumatoid arthritis. *Am. J. Clin. Nutr.*, 71 (S), 349-351.
- Kress J.W., Wurdack K.J., Zimmer E.A., Weigt L.A., Janzen D.H. 2005.** Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, 8369-8374.
- Kuang A., Crispi M., Musgrave M.E. 1998.** Control of seed development in *Arabidopsis thaliana* by atmospheric oxygen. *Plant Cell Environ.*, 21(1),71-8. DOI: 10.1046/j.1365-3040.1998.00244.x.
- Kucera B., Cohn M.A., Leubner-Metzger G. 2005.** Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research*, 15: 281-307.
- Kumar S., Stecher G., Tamura K. 2016.** MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33, 1870-1874.

- Kumar S.P.J., Prasad S.R., Banerjee R., Thammineni C. 2015.** Seed birth to death: dual functions of reactive oxygen species in seed physiology. *Ann. Bot.*, 116, 663–668. DOI:10.1093/aob/mcv098.
- Labdelli A., Zemour K., Simon V., Cerny M., Adda A., Merah O. 2019a.** *Pistacia Atlantica* Desf., a Source of Healthy Vegetable Oil. *Applied Sciences*, 9, 2552. DOI:10.3390/app9122552.
- Labdelli A., Adda A., Bouchenafa N., Rebiai A., Zebib B., Merah O. 2019b.** Study of seed dormancy origins in three Atlas pistachio ecotypes (*Pistacia atlantica* Desf.). *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(6), 13555-13565. DOI: http://dx.doi.org/10.15666/aecer/1706_1355513565.
- Labdelli A., Rebiai A., Tahirine M., Adda A., Merah O. 2020.** Nutritional Content and Antioxidant Capacity of the Seed and the Epicarp in Different Ecotypes of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica*. *Plants*, 9(9), 1065. DOI:10.3390/plants9091065.
- Lacoste 1993.** Dosages des métaux toxiques dans les corps gras. *Rev.Fr des corps gras*, n°1/2.
- Lang G.A., Early J.D., Martin G.C., Darnell R.L. 1987.** Endo, para-, and ecodormancy: Physiological terminology and classification for dormancy research. *HortScience* 22:371–377.
- Laurie M.V. 1974.** Méthodes de plantation forestière dans les savanes africaines. Collection FAO, Mise en valeur des forêts, Cahier N°19, Rome.
- Lee BR, Kim KY, Jung WJ, Avice JC, Ourry A, Kim TH. 2007.** Peroxidase and lignification in relation to intensity of water deficit stress in white clover (*Trifolium repens* L.). *Journal of Experimental Botany*, 58, 1271-1279.
- Lepengue A.N., Bomisso L., Boye Mambe A., Ake S., M'Batchi B. 2012.** Effet de l'eau oxygénée (H₂O₂) sur la germination et la croissance de la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) au Gabon. *Int. / J. Biol. Chem. Sci.* 6(3), 1253-1262.
- Li R., Chen L.J., Wu Y.P., Zhang R., Baskin C.C., Baskin J.M., Hu X. 2017.** Effects of cultivar and maternal environment on seed quality in *Vicia sativa*. *Front. Plant Sci.*, 8:1411. DOI: 10.3389/fpls.2017.01411.
- Li T., Qu X.Y., Zhang Q. A., Wang Z. Z. 2012.** Ultrasound-assisted extraction and profile characteristics of seed oil from *Isatis indigotica* Fort. *Industrial Crops and Products*, 35, 98-104.
- Limami A.M., Glevarec G., Ricoult C., Cliquet J-B., Planchet E. 2008.** Concerted modulation of alanine and glutamate metabolism in young *Medicago truncatula* seedlings under hypoxic stress. *J. Exp. Bot.*, 59, 2325-2335.
- Limane A., Smail-Saadoun N., Belkebir-Boukais A., Kissoum-Hamdini K. 2014.** Root architecture adaptation of *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* according to an increasing climatic and edaphic gradient: case of a north–south transect in Algeria. *Turk. J. Bot.*, 38, 536-549. doi: 10.3906/bot-1308-9.
- Lindsey K., Pullen M. L., Topping J.F. 2003.** Importance of plant sterols in pattern formation and hormone signalling. *Trends in Plant Science*, 8, 11, 521-525.

- López-Amorós M.L., Hernández T., Estrella I. 2006.** Effect of germination on legume phenolic compounds and their antioxidant activity. *J. Food Com. Anal.*, 19, 277–283.
- Los D.A., Mironov K.S., Allakhverdiev S.I. 2013.** Regulatory role of membrane fluidity in gene expression and physiological functions. *Photosynth Res.*, 116(2-3), 489-509. doi: 10.1007/s11120-013-9823-4.
- Los D.A., Murata N., 1998.** Structure and expression of fatty acid desaturases. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1394, 3–15.
- Lynch M. and Crease T. J. 1990.** The analysis of population survey data on DNA sequence variation. *Mol. Biol. Evol.*, 7, 377-394.
- Lynn D.G. and Chang M. 1990.** Phenolic Signals in Cohabitation: Implications for Plant Development. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 41, 497-526.
- Maaruf A. 1997.** Principe de l'écologie des arbres fruitiers, revue: Ingénieur Agronome Arabe, 18-44.
- Määttä K., Lampi AM., Petterson J., Fogelfors BM., Piironev V., Kamaleldin A. 1999.** Phytosterol content in seven oat cultivars grown at three locations in Sweden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 1021-7.
- Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes (Eds), Lausanne.
- Mäeorg E., Lääniste P., Jõudu J., Mäeorg U. 2007.** Some important aspects of sterol analysis of vegetable oils. *Proc. Est. Acad. Sci. Chem.*, 56 (2), 59–66.
- Mahjoub F., Akhavan Rezayat K., Yousefi M., Mohebbi M., Salari R. 2018.** *Pistacia atlantica* Desf. A review of its traditional uses, phytochemicals and pharmacology. *Journal of Medicine and Life*, 11, 180–186.
- Mantel N. 1967.** The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27, 209 - 220.
- Marschner H. 1995.** Beneficial Mineral Elements. In: *Mineral Nutrition of Higher Plants* (2nd Ed.). Academic Press, London, 405–434.
- Mavi A., Terzi Z., Ozgen U., Yildirim A. Coskun M. 2004.** Antioxidant Properties of Some Medicinal Plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides* (Crassulaceae), *Malva neglecta* (Malvaceae), *Cruciata taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum* subsp. *verum* (Rubiaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae). *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 27 (5), 702–705.
- Mazliak P. 1982.** Physiologie végétale, croissance et développement. Tome 3. Ed. Hermann éditeurs des sciences et des arts, collecte méthodes, Paris, 420p.
- Mecherara-Idjeri S., Hassani A., Castola V., Casanova J. 2008.** Composition of leaf, fruit and gall essential oils of Algerian *Pistacia atlantica* Desf. *Journal of Essential Oil Research*, 20, (3), 215–219.

- Mederos Molina S. and López Carreño I. 1991.** Control of organogenesis “in vitro” of *Pistacia atlantica* Desf. Rootstock. Acta Hort., 2 (89), 135–6.
- Mehdeb D., Benhassaini H., Adda A., Soudani L., Mykola K. 2018.** First report of an exceptional monoecious type of *Pistacia atlantica* ssp. *atlantica* in Algeria (North Africa). Ukrainian Journal of Ecology, 8(2), 276-279. doi: 10.15421/2018_338.
- Merah O., Langlade N., Alignan M., Roche J., Pouilly N., Lippi Y., Vear F., Cerny M., Bouniols A., Mouloungui Z., Vincourt P. 2012.** Genetic analysis of phytosterol content in sunflower seeds. Theor. Appl. Genet., 125, 1589–1601.
- Meyer W., Mitchell T.G., Freedman E.Z., Vilgays R. 1993.** Hybridization probes for conventional DNA fingerprinting used as single primers in the polymerase chain reaction to distinguish strains of *Cryptococcus neoformans*. J Clin Microbiol., 31, 2274–2280.
- Mihoub A., Chaoui A., El Ferjani E. 2005.** Changements biochimiques induits par le cadmium et le cuivre au cours de la germination des graines de petit pois (*Pisum sativum* L.). C. R. Biologies, 328, 33–41.
- Mohammed F., Bchitou R., Roger JM., Bouhaouss A., Palagos B. 2011.** Modeling and optimization of relocation of some heavy metals and micro-nutrients in the argan trees small. Journal of Chemistry and Chemical Engineering, 5, 663-669.
- Monastra F., Rovira M., Vargas F.J., Romero M.A., Batlle I., Rouskas D., Mendes-Gaspar A. 1997.** Isozyme characterization of different *Pistacia* species and their hybrids. Study of their performance as rootstocks for *Pistacia vera* L. Options Méditerranéennes, série B (CIHEAM), 16, 133-142.
- Monjauze A. 1968.** Répartition et écologie de *Pistacia atlantica* Desf. en Algérie. Bull. Soc. Hist. Nat. de l’Afrique du Nord, 60, 5-131.
- Monjauze A. 1980.** Connaissance du bétoum *Pistacia atlantica* Desf. Biologie et forêt. Revue Forestière Française, 4, 357-363.
- Monjauze A. 1982.** Les pays des dayas et *Pistacia atlantica* Desf. Dans le Sahara Algérien, Revue Forestière Française, (4), 277-289.
- Moore S., Bannister P., Jameson P.E. 1994.** The effects of low temperatures on seed germination of some New Zealand species of *Pittosporum*. New Zealand Journal of botany, 32: 483-485.
- Moreau R.A., Whitaker B.D., Hicks K.B. 2002.** Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. Progress in Lipid Research, 41 (6), 457-500.
- Muir G. and Schlötterer C. 1999.** Limitations to the phylogenetic use of ITS sequences in closely related species and populations - a case study in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. In: Which DNA marker for which purpose? Final compendium of the Research Project Development, optimization and validation of molecular tools for assessment of biodiversity in forest trees in the European Union DGXII Biotechnology FW IV Research Programme

- Molecular tools for Biodiversity (ed. EM Gillet). Chapter 11. <http://webdoc.sub.gwdg.de/ebook/y/1999/whichmarker.htm>
- Muto S. and Beevers H. 1974.** Lipase activities in castor bean endosperm during germination. *Plant Physiol.*, 54, 23-28.
- Nabloussi A., Fernandez-Martinez J.M., Velasco L. 2005.** Spatial and temporal expression of mutations for high oleic acid and low linolenic acid concentration in Ethiopian Mustard. *Crop Science*, 45, 205–208.
- Nagaoka T. and Ogihara Y. 1997.** Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 94, 597-602.
- Nderitu A.M., Dykes L., Awika J.M., Minnaar A., Duodu K.G. 2013.** Phenolic composition and inhibitory effect against oxidative DNA damage of cooked cowpeas as affected by simulated in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chem.*, 141, 1763–1771.
- Nei M. and Chesser R. 1983.** Estimation of fixation indices and gene diversities. *Annals of human genetics*, 47, 253 - 259.
- Nei M. and Kumar S. 2000.** *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- Nicholls P. 2007.** The Oxygenase–peroxidase theory of bach and chodat and its modern equivalents: change and permanence in scientific thinking as shown by our understanding of the roles of water, peroxide, and oxygen in the functioning of redox enzymes. *Biochemistry*, 72(10), 1039-1050.
- Nimadzhanova K.N., Abdurakhmanov N.A., Rafieva M.G. 1977.** The effect of seed covers on the germination of some nut crops. *Subtropicheskie Kul'tury*, 1/2, 129-132. (From *Horticultural Abstracts*, 1978, 48, 7017.)
- Noroozi S., Baghizade A., Jalali-Javaran M. 2009.** The genetic diversity of Iranian pistachio (*Pistacia vera* L.) cultivars revealed by ISSR markers. *Biological Diversity and Conservation*, 2, 50–56.
- Nykiforuk C.L. and Johnson Flanagan A.M. 1994.** Germination and early seedling development under low temperature in canola. *Crop Science*, 34, 1047-1054.
- Nykter M., Kymäläinen H.R., Gates F., Sjöberg A.M. 2006.** Quality characteristics of edible linseed oil. *Agricultural and Food Science*, 15, pp 402-413.
- Ogawa K. and Iwabuchi M. 2001.** A mechanism for promoting the germination of *Zinnia elegans* seeds by hydrogen peroxide. *Plant Cell Physiology*, 42, 286-291.
- Ohlrogge J.B., Kuhn D.N., Stumpf P.K. 1979.** Subcellular localization of acyl carrier protein in leaf protoplasts of *Spinacia oleracea*. *Proceeding of National Academy Science of USA*, 76, 1194-1198.
- Ollé M. 2002.** Analyse des corps gras. *Techniques de l'ingénieur*, dossier, P3325, pp 15.

- Onay A. 2000.** Somatic embryogenesis from mature seed cultures of *Pistacia atlantica*. Turk. J. Agric. For., 24, 465-473.
- Osawa T. 1994.** Novel natural antioxidants for utilization in food and biological systems. In: Uritani I, Garcia VV, Mendeoza EM (Eds.), Postharvest biochemistry of plant food-materials in the tropics. Tokyo, Japan: Japan Scientific Societies Press, p. 241-251.
- Othman Y. 2005.** Evaluation of barley cultivars grown in Jordan for salt tolerance. Thesis, Jordan University of Science and Technology, Jordan.
- Özcan M. 2004.** Characteristics of fruit and oil of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) growing wild in Turkey. J. Sci. Food Agric., 84:517–520. DOI: 10.1002/jsfa.1632.
- Ozden-Tokatli Y., Akdemir H., Tilkat E., Onay A. 2010.** Current status and conservation of *Pistacia* germplasm. Biotechnology Advances, 28, 130–141.
- Ozenda F. 1983.** Flore de Sahara septentrional. Ed. CNRS. Paris, 486p.
- Palta J. P., Whitaker B. D., Weiss L. S. 1993.** Plasma membrane lipids associated with genetic variability in freezing tolerance and cold acclimation of *Solanum* species. Plant Physiology, 103, 793-803.
- Panngom K., Chuesaard T., Tamchan N., Jiwchan T., Srikongsritong K., Park G. 2018.** Comparative assessment for the effects of reactive species on seed germination, growth and metabolisms of vegetables. Scientia Horticulturae, 227, 85-91.
- Panuccio M. R., Jacobsen S. E., Akhtar S. S., Muscolo A. 2014.** Effect of saline water on seed germination and early seedling growth of the halophyte quinoa. AoB Plants 6 (plu047), 1-18.
- Panyam D. and Kilara A. 1996.** Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. Trends Food Sci. Technol., 7, 120-125.
- Parent L.O. and Rivest R. 2003.** Les éléments nutritifs Dans le Guide de fertilisation. 1ère édition. CRAAQ, Québec. 294pp.
- Pazouki L., Mardi M., Salehi Shanjani P., Hagidimitriou M., Pirseyedi S.M., Naghavi M.R., Avanzato D., Vendramin E., Kafkas S., Ghareyazi B., Ghaffari M.R., Khayam Nekoui S.M. 2010.** Genetic diversity and relationships among *Pistacia* species and cultivars. Conserv. Genet., 11, 311-318. DOI 10.1007/s10592-009-9812-5.
- Pearson W.R. and Lipman D.J. 1988.** Improved tools for biological sequence comparison. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 85, 2444-2448.
- Peksel A. 2008.** Antioxidative properties of decoction of *Pistacia atlantica* Desf. leaves. Asian Journal of Chemistry, 20 (1), 681–693.
- Penfield S., Graham S., Graham I. 2005.** Storage reserve mobilization in germinating oil seeds: Arabidopsis as a model system. Biochem. Soc. Trans., 33, 380-383.
- Philippe H. and Germot A. 2000.** Phylogeny of eukaryotes based on ribosomal RNA: long branch attraction and models of sequence evolution. Mol Biol Evol., 17(5), 830–4.

- Picchioni G.A. and Davies Jr. F.T. 1990.** Micropropagation of *Pistacia atlantica* shoots from axillary buds. *Plant Propagator Newsl.*, 2, 14-15.
- Pietta P. G. 1998.** Flavonoids in medicinal plants. In C. A. Rice-Evans, and L. Packer (Eds.), *Flavonoids in Health and Disease*. New York: Dekker, 61-110.
- Pinelli P., Galardi C., Mulinacci N., Vincieri F. F., Cimato A., Romani A. 2003.** Minor polar compound and fatty acid analyses in monocultivar virgin olive oils from Tuscany. *Food Chem.*, (80), 331–336.
- Pinfield-Wells H., Rylott E.L., Gilday A.D., Graham S., Job K., Larson T.R., Graham I.A. 2005.** Sucrose rescues seedling establishment but not germination of Arabidopsis mutants disrupted in peroxisomal fatty acid catabolism. *Plant J.*, 43, 861-872. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2005.02498.x.
- Polvillo M. M., Ruiz M. G., Dobarganes M. C. 2004.** Oxidative stability of sunflower oils differing in unsaturation degree during long-term storage at room temperature. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 81 6, 577-583.
- Pons O. and Petit R.J. 1996.** Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles. *Genetics*, 144: 1237-1245.
- Pradeep Reddy M., Sarla N., Siddiq E.A. 2002.** Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128, 9-17.
- Prieto P., Pineda M., Aguilar M. 1999.** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem.*, 269, 337-341.
- Quettier A.L. and Eastmond P.J. 2009.** Storage oil hydrolysis during early seedling growth. *Plant Physiol. Biochem.*, 47, 485–90.
- Quézel P. 1976.** Les forêts du pourtour méditerranéen. In *forêts et maquis méditerranéens : écologie, conservation et aménagement*. Note technique MAB, UNESCO, Paris, 2, 9-33.
- Quézel P. and Barbero M. 1990.** Les forêts méditerranéennes. Problèmes posés par leur signification historique, écologique et leur conservation. *Acta Bot. Malacitana*, 15, 145-178.
- Quézel P. and Médail F. 2003.** *Écologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen*, Elsevier Edition, 571 pp.
- Quian W., Ge S., Hong D.Y. 2001.** Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 102: 440-449.
- Rallidis L. S., Paschos G., Liakos G. K., Velissaridou A. H., Anastasiadis G., Zampelas A. 2003.** Dietary α -linolenic acid decreases C-reactive protein, serum amyloid A and interleukin-6 in dyslipidaemic patients. *Atherosclerosis*, 167, 237-242.
- Ranwez V. 2002.** Méthodes efficaces pour reconstruire de grandes phylogénies suivant le principe du maximum de vraisemblance. Thèse Doctorat en Bio-informatique [q-bio.QM]. Université Montpellier II - Sciences et Techniques du Languedoc. 122P.

- Rawat M.S.M., Pant G., Prasad D., Joshi R.K., Pande C.B. 1998.** Plant growth inhibitors (Proanthocyanidins) from *Prunus armeniaca*. *Biochemical systematics and ecology*, 26, 13-23.
- Reigosa M.J., Souto X.C., Gonzalez L. 1999.** Effect of phenolic compounds on the germination of six weeds species. *Plant Growth Regul.*, 28, 83-88.
- Rezaei P.F., Fouladdel S.h., Hassani S.h., Yousefbeyk F., Ghaffari S.M., Amin G.h., Azizi A. 2012.** Induction of apoptosis and cell cycle arrest by pericarp polyphenol-rich extract of Baneh in human colon carcinoma HT29 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 1054-1059.
- Rezaie M., Farhoosh R., Iranshahi M., Sharif A., Golmohamadzadeh S. 2015.** Ultrasonic-assisted extraction of antioxidative compounds from Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *mutica*) hull using various solvents of different physicochemical properties. *Food Chemistry*, 173, 577–583.
- Riedacker A. 1993.** *Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides*, 489p.
- Roberts E.H. 1973.** Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and technology*, 1, 499-514.
- Roche J. 2005.** Composition de la graine de tournesol (*Helianthus annuus* L.) sous l'effet conjugué des contraintes agri-environnementales et des potentiels variétaux. Thèse doctorat Sciences des Agroressources, Institut National Polytechnique de Toulouse, 305P.
- Roche J., Alignan M., Bouniols A., Cerny M., Mouloungui Z., Vear F., Mehrah O. 2010.** Sterol content in sunflower seeds (*Helianthus annuus* L.) as affected by genotypes and environmental conditions. *Food Chem.*, 121, 990–995.
- Roche J., Bouniols A., Mouloungui Z., Barranco T., Cerny M. 2006.** Management of environmental crop conditions to produce udeful sunflower oil components. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 108, 287– 297.
- Rognon X. and verrier E. 2007.** Caractérisation et gestion des ressources génétiques. Les outils et méthodes de la génétique pour la caractérisation, le suivi et la gestion de la variabilité génétique des populations animales. Agence universitaire de la francophonie et Institut Agronomique et Vétérinaire Haasan II, Rabat, 158P.
- Roitman J. N., Merrill G. B., Beck J.J. 2011.** Survey of ex situ fruit and leaf volatiles from several *Pistacia* cultivars grown in California. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91 (5), 934–942.
- Rolland F., Baena-Gonzalez E., Sheen J. 2006.** Sugar sensing and signalling in plants: Conserved and Novel Mechanisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 675-709.
- Saadatian M., Goudable J., Riboli E. 1999.** Lipides et cancer. *OCL.*, (6), 242-252.
- Safari Z., Mehrabi A.A., Arminian A. 2013.** In Vitro Proliferation and Ex Vitro Rooting of Wild Pistachio (*Pistacia atlantica spp mutica*, accession: Kabirkuh). *International Journal of Agr. & Env.*, 23-31.
- Saffarzadeh A., Vincze L., CsapÓ J. 1999.** Determination of chemical composition of acorn (*Quercus branti*), *Pistacia atlantica* and *Pistacia khinjuk* seeds as non-conventional feedstuffs. *Acta Agraria Kaposváriensis*, 3, 59-69.

- Saitou N. and Nei M. 1987.** The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4, 406–425.
- Samavati V. and Adeli M. 2014.** Isolation and characterization of hydrophobic compounds from carbohydrate matrix of *Pistacia atlantica*. *Carbohydrate Polymers*, 101, 890– 896.
- Sang T., Crawford D.J., Stuessy T.F. 1995.** Documentation of reticulate evolution in peonies (*Paeonia*) using internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA: Implications for biogeography and concerted evolution. *Proceedings National Academy of Sciences. USA*, 92, 6813–6817.
- Sanger F., Nicklen S., Coulson A. 1977.** DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci., U S A.*, 74, 5463–7.
- Sarmi M.P. and Cheymer V. 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier, P 2-10.
- Satish S., Mohana D.C., Ranhavendra M.P., Raveesha K.A. 2007.** Antifungal activity of some plant extracts against important seed borne pathogens of *Aspergillus* sp. *J. Agric. Technol.*, 3, 109-119.
- Schaller H. 2003.** The role of sterols in plant growth and development. *Progress in Lipid Research*, 42 (3), 163-175.
- Schildes R. and Burnett W. 1960.** Determination of protein- bound carbohydrate in serum by a modified anthrone method. *Anal. Chem.*, 32, 885- 886.
- Schlüter P.M. and Harris S.A. 2006.** Analysis of multilocus fingerprinting data sets containing missing data. *Molecular Ecology Notes*, 6, 569–572. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01225.x>.
- Senthil-Kumar M., Wang K., Mysore K.S. 2013.** AtCYP710A1 gene-mediated stigmaterol production plays a role in imparting temperature stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal. Behav.*, 8, e23142.
- Shahghobadi H., Shabanian N., Rahmani M.S., Khadivi A. 2018.** Genetic characterization of *Pistacia atlantica* subsp. *kurdica* from northern Zagros forests in Iran. *Trees*, <https://doi.org/10.1007/s00468-018-1794-9>.
- Shahidi F., Janitha P. K., Wanasundara P.D. 1992.** Phenolic antioxidants. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 32(1), 67-103.
- Shanjani P.S., Mardi M., Pazouki L., Hagidimitriou M., Avanzato D., Pirseyedi S. M., Ghaffari M. R., Khayam Nekoui S.M. 2009.** Analysis of the molecular variation between and within cultivated and wild *Pistacia* species using AFLPs. *Tree Genetics & Genomes*, 5, 447–458. DOI 10.1007/s11295-008-0198-1.
- Shanmugasundaram S., Yan M.R., Yang R.Y. 2001.** Association Between Protein, Oil and sugar in Vegetable Soybean. Paper presented at the 2nd international vegetable soybean conference, Washington State University, Tacoma, 10-12.
- Sheikh M.I. 1979.** Tree seeds respond to acid scarification. *Pakistan Journal of Forestry*, 29, 253-254.

- Shereena J. and Nabeesa S. 2006.** Effect of temperature on protein profile of *Pisum sativum* L. seeds during germination. *Journal of Biological Sciences*, 6, 1153-1155.
- Shewry P.R., Napier J.A., Tatham A.S. 1995.** Seed storage proteins: structures and biosynthesis. *The Plant cell.*, 7, 945–956. doi:10.1105/tpc.7.7.945
- Sidorov R.A. and Tsydendambaev V.D. 2014.** Biosynthesis of fatty oils in higher plants. *Fiziologiya Rastanii.*, 61, 3-22.
- Sifi I., Dzoyem J.P., Ouinten M., Yousfi M., McGaw L.J., Eloff J.N. 2015.** Antimycobacterial, antioxidant and cytotoxic activities of essential oil of gall of *Pistacia atlantica* Desf. From Algeria. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 12(3), 150–155.
- Sineiro J., Domínguez H., Núñez M. J., Lema J. M. 1998.** Optimization of the enzymatic treatment during aqueous oil extraction from sunflower seeds. *Food Chem.*, 61 (4), 467-474.
- Singh B.D. and Singh A.K. 2015.** Marker-assisted plant breeding: principles and practices. Springer.
- Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.*, 299, 152-178.
- Sisman C. 2005.** Quality losses in temporary sunflower stores and influences of storage conditions on quality losses during storage. *Journal of Central European Agriculture*, 6, pp 143-150.
- Smouse P. and Peakall R. 1999.** Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity*, 82, 561-573.
- Smouse P., Long J., Sokal R. 1986.** Multiple regression and correlation extensions of the Mantel test of matrix correspondence. *Systematic Zoology*, 35, 627-632.
- Soltis D. E., Soltis P. S., Doyle J. J. 1998.** *Molecular Systematics of Plants II. DNA sequencing*, 15-42.
- Soltis P.S. and Soltis D.E. 1991.** Multiple origins of the allotetraploid *Tragopogon mirus* (Compositae): DNAr evidence. *Systematic Botany*, 16: 407-413.
- Soltis P.S., Plunkett G.M., Novak S.J., Soltis D.E. 1995.** Genetic variation in *Tragopogon* species: Additional origins of the allotetraploids *T. mirus* and *T. miscellus* (Compositae). *American Journal of Botany*, 82: 1329 – 1341.
- Soriano D., Orozco-Segovia A., Márquez-Guzmán J., Kitajima K., Gamboa-de Buen A., Huante P. 2011.** Seed reserve composition in 19 tree species of a tropical deciduous forest in Mexico and its relationship to seed germination and seedling growth. *Annals of Botany*, 107, 939-951.
- Stockwell C.A., Hendry A.P., Kinnison M.T. 2003.** Contemporary evolution meets conservation biology. *Trends in Ecology & Evolution*, 18, 94-101.

- Suh Y., Thien L.B., Reeve H.E., Zimmer E.A. 1993.** Molecular evolution and phylogenetic implications of ribosomal DNA in Winteraceae, *Am. J. Bot.*, 80, 1042-1055.
- Szopińska D. 2014.** Effects of hydrogen peroxide treatment on the germination, vigour and health of *Zinnia elegans* seeds. *Folia Hort.*, 26(1), 19-29.
- Tagizad A., Ahmadi J., Haddad R., Zarrabi M. 2010.** A comparative analysis of ISSR and RAPD markers for studying genetic diversity in Iranian pistachio cultivars. *Iran. J. Genet. Plant Breed.*, 1, 6-16.
- Talebi M., Kazemi M., Sayed-Tabatabaei B.E. 2012.** Molecular diversity and phylogenetic relationships of *Pistacia vera*, *Pistacia atlantica* subsp. *mutica* and *Pistacia khinjuk* using SRAP markers. *Biochem. Syst. Ecol.*, 44, 179–185.
- Tan-Wilson A.L. and Wilson K.A. 2012.** Mobilization of seed protein reserves. *Physiol Plant*, 145,140-153.
- Theodoulou F.L. and Eastmond P.J. 2012.** Seed storage oil catabolism: a story of give and take. *Current Opinion in Plant Biology*, 15 (3), 322–328. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2012.03.017>.
- Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. 1994.** CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.*, 22(22), 4673–80.
- Ti H., Zhang R., Zhang M., Li Q., Wei Z., Zhang Y., Tang X., Deng Y., Liu L., Ma Y. 2014.** Dynamic changes in the free and bound phenolic compounds and antioxidant activity of brown rice at different germination stages. *Food Chem.*, 161, 337–344.
- To J.P.C., Reiter W.D., Gibson S.I. 2002.** Mobilization of seed storage lipid by Arabidopsis seedlings is retarded in the presence of exogenous sugars. *BMC Plant Biol.*, 2: 4.
- Tonguç M., ElKoyunu R., Erbas S., Karakurt Y. 2012.** Changes in seed reserve composition during germination and initial seedling development of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Turk. J. Biol.*, (36) 107-112. doi:10.3906/biy-1012-164.
- Toul F., Belyagoubi-Benhammou N., Zitouni A., Ghembaza N., Atik-Bekkara F. 2016.** In-vitro antioxidant effects of tannin extracts of *pistacia atlantica*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research (IJPSR)*, 7(1), 1000-06.
- Tous J. and Ferguson L. 1996.** Mediterranean fruits. In: Janick J (ed) *Progress in new crops*. ASHS, Arlington, VA.
- Tunnacliffe A. and Wise M.J. 2007.** The continuing conundrum of the LEA proteins. *Die Naturwissenschaften*, 94, 791–812. doi:10.1007/s00114-007-0254-y.
- Turkeli Y. and Kafkas S. 2013.** First genetic linkage map in pistachio constructed using an interspecific cross between *Pistacia vera* L. and monoecious *Pistacia atlantica* Desf. *Sci. Hortic.*, 151, 30–37.

- Turner J.E., Greville K., Murphy E.C., Hooks M.A. 2005.** Characterization of *Arabidopsis* fluoroacetate-resistant mutants reveals the principal mechanism of acetate activation for entry into the glyoxylate cycle. *J. Biol. Chem.*, 280, 2780-2787.
- Turner T.L., Bourne E.C., Von Wettberg E.J., Hu T.T. Nuzhdin S.V. 2010.** Population resequencing reveals local adaptation of *Arabidopsis lyrata* to serpentine soils. *Nat. Genet.*, 42, 260–263. DOI: 10.1038/ng.515.
- Tzakou O., Bazos I., Yannitsaros A. 2007.** Volatile metabolites of *Pistacia atlantica* Desf. from Greece. *Flavour and Fragrance Journal*, 22 (5), 358–362.
- Tzen J.T.C., Cao Y., Laurent P., Ratnayake C.C., Huang A. H. C. 1993.** Lipids, Proteins and Structure of Seed Oil Bodies from Diverse Species. *Plant physiology*, 101, 267–276.
- Varga M. and Koves E. 1959.** Phenolic acids as growth and germination inhibitors in dry fruits. *Nature*, 183 (4658), 401.
- Vargas P., McAllister H.A., Morton C., Jury S.L., Wilkinson M.J. 1999.** Polyploid speciation in *Hedera* (Araliaceae): phylogenetic and biogeographic insights based on chromosome counts and ITS sequences. *Plant Systematics & Evolution*, 219, 3/4, 165-179.3/4.
- Vasconcelos M. do C.B.M. de, Bennett R.N., Quideau S., Jacquet R., Rosa E.A.S., Ferreira-Cardoso J.V. 2010.** Evaluating the potential of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) fruit pericarp and integument as a source of tocopherols, pigments and polyphenols. *Ind. Crops Prod.*, 31, 301-311.
- Vedtofte M.S., Jakobsen M.U., Lauritzen L. 2011.** Dietary alpha linoleic acid, linoleic acid and n-3 long chain PUFA and risk of ischemic heart disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 94, 1097-1103. <http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.111.018762>
- Velioglu Y.A., Mazza G., Geo L., Oomah B.D. 1998.** Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46: 4113-4117.
- Venegas-Calación M., Muro-Pastor A.M., Garcés R., Martínez-Force E. 2006.** Functional characterization of a plastidial omega-3 desaturase from sunflower (*Helianthus annuus*) in cyanobacteria. *Plant Physiology & Biochemistry*, 44, 517–525.
- Vincent E.M. and Roberts E.H. 1977.** The interaction of light, nitrate and alternating temperature in promoting the germination of dormant seeds of common weed species. *Seed Science & Technology*, 5, 659-670.
- Vlahakis C. and Hazebroek J. 2000.** Phytosterol accumulation in canola, sunflower, and soybean oils: Effects of genetics, planting location, and temperature. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 77, 49-53.
- Von Bunge A. 1852.** *Beitrag zur Kenntniss der Flora Russlands und der Steppen Central-Asiens*, Mémoires des savants étrangers. St. Petersburg, Kaiserliche Akademie der Wissenschaften, vol. VII.,536-179 p.

- Wada S., Kennedy J.A., Reed B.M. 2011.** Seed-coat anatomy and proanthocyanidins contribute to the dormancy of *Rubus* seed. *Scientia Horticulturae*, 130, 762-768.
- Wagner M.H., Bailly C., Corbneau F., Ducournau S., Léchappé J. 2014.** Utilisation des enzymes de détoxification cellulaire comme marqueurs de la qualité physiologique des semences oléagineuses. *Innov. Agronom.*, 35, 133-141.
- Walter M. and Marchesan E. 2011.** Phenolic compounds and antioxidant activity of rice. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 54, 371–377.
- Wanasundara P.K.J.P.D., Wanasundara U.N., Shahidi F., 1999.** Changes in flax (*Linum usitatissimum* L.) seed lipids during germination. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 76, (1), 41–48. <http://dx.doi.org/10.1007/s11746-999-0045-z>.
- Wang G., Mahalingan R., Knap H.T. 1998.** (C-A) and (GA) anchored simple sequence repeats (ASSRs) generated polymorphism in soybean, *Glycine max* (L.) Merr. *Theor Appl Genet.*, 96, 1086–1096.
- Wang K., Senthil-Kumar M., Ryu C.M., Kang L., Mysore K.S. 2012.** Phytosterols Play a Key Role in Plant Innate Immunity against Bacterial Pathogens by Regulating Nutrient Efflux into the Apoplast. *Plant Physiol.* 158(4), 1789-802. doi: 10.1104/pp.111.189217.
- Webb P.B. and Berthelot S. 1836.** *Pistacia atlantica* Desf. *Histoire naturelle des Iles Canaries*, 2(2), p. 124, t. 66A.
- Weir B. and Cockerham C. 1984.** Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38, 1358 - 1370.
- Weising K., Winter P., Huttel B., Kahl G., 1998.** Microsatellite markers for molecular breeding. *J Crop Prod.*, 1(1), 113–143.
- White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J. 1990.** Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In: M., Gelfand, D., Sinsky, J. and White, T. (eds.), PCR protocols: a guide to methods and applications*, 315-322. San Diego.
- Wijeratne S.S.K., Cuppett S.L., Schlegel V. 2005.** Hydrogen peroxide induced oxidative stress damage and antioxidant enzyme response in Caco-2 Human colon cells. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 8768-8774.
- Wilson D.O. and McDonald M.B. 1986.** The lipid peroxidation model of seed ageing. *Seed Sci. Technol.*, 10, 269- 300.
- Wojtyła Ł., Lechowska K., Kubala S., Garnczarska M. 2016.** Different Modes of Hydrogen Peroxide Action during Seed Germination. *Frontiers in Plant Science*, 4, 7, 66. doi: 10.3389/fpls.2016.00066.
- Wright S. 1965.** The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19, 395-420.
- Wright S. 1969.** *Evolution and the genetics of populations: a treatise in four volumes* Chicago Press, USA.

- Wu K.S., Jones R., Danneberger L., Scolnik P.A. 1994.** Detection of microsatellite polymorphisms without cloning. *Nucleic Acids Research*, 22 (15), 3257-3258.
- Xu J.G., Tian C.R., Hu Q.P., Luo J.Y., Wang X.D., Tian X.D. 2009.** Dynamic changes in phenolic compounds and antioxidant activity in oats (*Avena nuda* L.) during steeping and germination. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 10392–10398.
- Yaaqobi A., EL Hafid L., Haloui B. 2009.** Étude biologique de *pistacia atlantica* Desf. de la région orientale du maroc. *Biomatec Echo.*, 3 (6), 39-49.
- Yazdanpanah E. and Baghereyanmanesh R. 2015.** Quantitative analysis of the seed oil from *Pistacia atlantica* var Mutica in boyer ahmad. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, 5 (4), 84-87.
- Ye Y.M., Zhang J.W., Ning G.G., Bao M.Z. 2008.** A comparative analysis of the genetic diversity between inbred lines of *Zinnia elegans* using morphological traits and RAPD and ISSR markers. *Scientia Horticulturae*, 118, 1-7.
- Yi T., Wen J., Golan-Glodhirsh A., Parfitt D.E. 2008.** Phylogenetics and reticulate evolution in *Pistacia* (Anacardiaceae), *Am. J. Bot.*, 95, 241–251.
- Yin T., Zhang X., Huang M., Wang M., Zhuge Q., Tu S., Zhu L.H., Wu R. 2002.** Molecular linkage maps of the *Populus* genome. *Genome*, 45, 541-555.
- Yoshida Y. and Niki E. 2003.** Antioxidant effects of phytosterol and its components. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 49 (4), 277-280.
- Yousfi M., Nadjemi B., Belal R., Ben-Bertal D. 2003.** Étude des acides gras de l’huile de fruit de pistachier de l’Atlas algérien. *OCL. Oleag. Corp. Gras, Lip*, 10, 425–427.
- Yousfi M., Nadjemi B., Belal R., Bombarda I., Gaydou E.M. 2005.** Triacylglycerol composition of oil from *Pistacia atlantica* fruit growing in Algeria. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 82, 93–96.
- Yousfi M., Nedjemi B., Belal R., Ben-Bertal D., Palla G. 2002.** Fatty acids and sterols of *Pistacia atlantica* fruit oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 79, 1049–1050.
- Yuan C.X., Xie Y.Y., Jin R.S., Ren L.L., Zhou L., Zhu M., Ju Y.J. 2017.** Simultaneous Analysis of Tocopherols, Phytosterols, and Squalene in Vegetable Oils by High-Performance Liquid Chromatography. *Food Anal. Methods*, 10, 3716–3722. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-0927-x>.
- Zhao M., Zhang H., Yan H., Qiu L., Baskin C.C. 2018.** Mobilization and role of starch, protein, and fat reserves during seed germination of six wild grassland species. *Front. Plant Sci.*, 9, 1-11. DOI: 10.3389/fpls.2018.00234.
- Zhou W., Branch W.D., Gilliam L., Marshall J. A. 2019.** Phytosterol Composition of *Arachis hypogaea* Seeds from Different Maturity Classes. *Molecules*, 24, 106. doi:10.3390/molecules24010106.
- Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. 1994.** Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20,176-183.

Zimmer E.A., Martin S.L., Beverley S.M., Kan Y.W., Wilson A.C. 1980. Rapid duplication and loss of genes coding for the alpha chains of hemoglobin. Proceedings National Academy of Sciences. USA, 77, 2158–2162.

Zohary M. 1952. A monographical study of the genus *Pistacia*. Palestine Journal Bot. J., 5, 187-228.

Zohary M. 1987. Flora Palaestina. Platanaceae to Umbelliferae, 2, 296-300.

Zouzou F., Saib A., Seddik-Ameur A., Djebar H., Legseir B. 2015. Chemical Composition, Toxicity and Antioxydant Activity of *Pistacia atlantica* Desf. subsp Oil. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences (RJPBCS), 6(5), 253- 259.

ANNEXE

Annexe 1

Tableau 1. Classification des composés phénoliques (Balasundram et al., 2006)

CLASSES DE COMPOSES		STRUCTURE GENERALE	EXEMPLES DE COMPOSES	SUBSTITUANTS
Acides phénoliques	Acide cinnamique		Acide caféique	3, 4-OH
			Acide sinapique	4-OH, 3, 5-OCH ₃
	Acide benzoïque		Acide gallique	3, 4, 5-OH
			Acide salicylique	2-OH
Flavonoïdes	Flavanols		Catéchine	5, 7, 3', 4'-OH
			Epigallocatechine	5, 7, 3', 4', 5'-OH
	Flavones		Apigénine	5, 7, 4'-OH
			Lutéoline	5, 7, 3', 4'-OH
	Flavonols		Kaempférol	5, 7, 4'-OH
			Quercétine	5, 7, 3', 4'-OH
	Flavanones		Hespéritine	5, 7, 3'-OH, 4'-OCH ₃
			Naringine	5, 4'-OH, 7-RHG
	Isoflavones		Biochanin A	5, 7-OH, 4'-OCH ₃
			Génistéine	5, 7, 4'-OH
Anthocyanidine		Apigénidine	5, 7, 4'-OH	
		Malvidine	3, 5, 7, 4'-OH, 3', 5'-OCH ₃	
Tannins	Hydrolysables		Gallotannin	L'unité structurale de base est l'acide gallique
			Ellagitannin	
	Condensés		Proanthocyanidine	L'unité structurale de base est la catéchine

Annexe 2

Tableau 2: Variation des précipitations mensuelles (mm) durant 3ans des cinq stations

Année 2014	Janv	Fév	Mar	Avr	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Dec	Annuel
Batna	32	15	68	4	40	48	<1	5	14	15	6	30	278
Béchar	10	<1	2	<1	18	<1	14	0	15	2	184	<1	247
Djelfa	22	19	47	<1	44	45	0	11	11	3	31	20	254
Tiaret	16	17	29	1	27	28	1	2	54	5	31	18	229
Laghouat	4	2	0	0	24	14	4	3	21	3	24	5	104
Année 2015	Janv	Fév	Mar	Avr	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Dec	Annuel
Batna	59	43	44	7	23	29	5	59	14	42	16	0	341
Béchar	2	23	3	3	8	0	2	9	17	4	1	0	72
Djelfa	8	49	12	<1	5	20	0	45	86	47	6	0	279
Tiaret	17	41	8	5	15	33	0	8	40	46	8	0	221
Laghouat	4	28	9	2	0	11	<1	14	65	69	4	0	207
Année 2016	Janv	Fév	Mar	Avr	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Dec	Annuel
Batna	16	18	20	67	27	1	0	0	11	6	34	10	210
Béchar	0	0	0	0	1	3	0	3	11	0	39	54	111
Djelfa	6	24	30	30	7	1	6	4	18	13	24	23	185
Tiaret	4	24	18	33	28	2	15	0	22	4	15	25	190
Laghouat	0	1	3	8	7	1	9	14	44	4	14	15	120

Source: Office National de la Météorologie (ONM)

Tableau 3: Les températures moyennes (TM), minimale (TN) et maximale (TX) de l'air (°C) durant 3ans des cinq stations

Année 2014	Janv	Fév	Mar	Avr	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Dec	Annuel
Batna													
TM (moy)	7.2	8.6	8.4	13.8	17.8	22.7	26.8	27.4	24.3	18.2	13	6.4	16.2
TN (min)	1.7	1.8	3.1	4.4	8.8	13.9	16.9	17.6	16.1	10.6	6.4	1.7	8.6
TX (max)	13.7	15.8	14.4	22.5	26.4	30.9	35.6	36.7	32.5	26.5	20	11.7	23.9
Béchar													
TM (moy)	10.9	13.8	16.2	21	27.9	29.5	35.3	34.7	29.5	24.2	15.8	9.8	22.4
TN (min)	4.6	7.2	9.3	15	21.4	22.4	27.4	27.6	23.5	17.7	10.6	4.7	16
TX (max)	17.7	20.1	22.4	30	33.9	35.4	41.7	40.7	35.2	30.1	21	15.7	28.7
Djelfa													
TM (moy)	5.9	7.5	7.2	14.2	18.7	21.9	26.7	27.3	23.2	17.3	11.3	4.8	15.5
TN (min)	2.1	2.6	2.5	7.1	11	14.9	19	19.6	17.4	11	7.1	1.2	9.6
TX (max)	10.3	12.6	12.1	21.1	25.2	28	33.9	34	29	24.3	15.7	8.7	21.2
Tiaret													
TM (moy)	8.7	10.2	10.2	17.1	20.2	24.2	28.5	29.4	25.2	19.9	13.5	7.8	17.9
TN (min)	4.8	5.4	4.8	9.4	11.9	16.6	19.7	21	18.3	13	9.1	3.9	11.5
TX (max)	13.8	15.3	15.5	24.6	28.6	31.4	36.7	37.6	32.1	27.1	18.9	12.6	14.5
Laghouat													
TM (moy)	9.1	10.9	12.3	19.7	23.4	26.7	32	32	25.7	21.3	14	8.2	19.6
TN (min)	3.6	4.7	6	11.7	15.7	19.2	24.1	24.2	20.8	13.5	8.4	2.9	12.9
TX (max)	15.3	17.7	18.4	26.8	30.6	33.7	39.5	39.3	34.3	28.3	20	14	26.5
Année 2015													
Batna													
TM (moy)	5.0	5.6	9.5	14.6	19.4	22.6	27.3	26.1	21.8	16.8	10.3	6.2	15.4
TN (min)	-0.3	1.3	3	6	9.9	13.2	16.3	16.7	14.7	10.7	4	-1.4	7.8
TX (max)	11.6	10.4	16.4	23	28.2	30.9	36.3	34.9	29.5	23.7	17.5	15.8	23.2
Béchar													
TM (moy)	9.5	10.9	15.9	24	27.9	30.2	34.5	33.5	28.4	23.2	15.6	11	22.1
TN (min)	3.7	5.3	8.9	17.6	20.4	23.2	26.9	27.4	22	17.1	9	4.5	15.5
TX (max)	16	16.5	22.5	30.1	34.3	36.2	40.4	39.4	34.1	29	22.4	18.3	28.3
Djelfa													
TM (moy)	4.3	3.3	9	15.8	20	22.1	27.6	26.2	21	15.8	9.6	6.5	15.1
TN (min)	0	0.2	3.3	8.7	12	14.1	18.5	19.1	15.3	10.7	4.2	0.6	8.9
TX (max)	9.5	6.9	14.8	22.3	27.1	28.9	34.5	33.2	27.2	21.1	15.3	13.7	21.2
Tiaret													
TM (moy)	6.8	6.4	11.5	18.6	22.7	24.3	30.9	29.3	23.4	18.5	12.8	8.8	17.8
TN (min)	1.8	3.3	5.1	11.1	14.4	16.4	21.9	22	17	0.5	6.9	2.7	10.3
TX (max)	12.8	10.3	18.6	25.7	30.9	31.3	38.7	36.8	30.4	26.4	18	16.1	24.7
Laghouat													
TM (moy)	7.5	8.3	13.3	20	25.1	27	31.5	30.1	25.8	19.4	12.8	8.4	19.1
TN (min)	1.5	3.7	6.4	12.4	16.7	19.4	23.2	23	19.2	13.3	6.7	1	12.2
TX (max)	14.3	13.3	20.3	27.3	32.1	34.2	38.7	37.4	32.7	26.3	19.4	16.8	26.1
Année 2016													
Batna													
TM (moy)	7.7	8.4	9.3	15.1	18.3	23.4	26.3	25.1	21	18.9	10.9	8.1	16
TN (min)	1.2	1.7	2	7.3	10	13.6	16.4	15.4	13.2	11.2	4.3	2.8	8.3
TX (max)	15.7	15.8	16.9	22.8	26.9	32.6	35.8	34	29.1	26.9	18.1	14	24.1
Béchar													
TM (moy)	11.5	13.3	15.5	22.9	26.1	31.7	35.6	33.8	29.2	23.7	14.7	10	22.3
TN (min)	4	5.4	7.1	15.1	18.6	23.6	28.2	26.9	22.9	16.8	8.8	4.8	15.2
TX (max)	19.4	20.6	22.7	29.6	32.3	38.2	41.8	40.1	35.5	30.2	20.5	15.4	28.9
Djelfa													
TM (moy)	7.8	7.5	8.4	13.8	18.6	22.8	27.1	25.6	20.5	17.8	9.4	6	15.4
TN (min)	3	2.8	3.5	8.4	11.7	15.9	19.2	18.5	14.2	11.5	5.1	2.1	9.7
TX (max)	13.6	13	13.8	13.8	25.4	30.7	34.1	32.6	26.8	24.7	14.6	10.9	21.2
Tiaret													
TM (moy)	9.8	10.1	10.8	16.5	20.2	23.5	29.4	27.9	22.8	20.3	12.4	8.2	17.7
TN (min)	4.3	5.6	5.9	9.8	13.2	16.6	20.5	19.9	15.5	13.4	7.5	4.1	11.4
TX (max)	16.5	16.1	16.7	23.6	28	33.6	37.5	36.4	30.4	27.8	18.2	13.8	24.9
Laghouat													
TM (moy)	10.4	11.4	13.1	19.8	24.1	29.3	32	30.2	25.6	21.3	13.2	9.4	20
TN (min)	2.9	4.9	5.4	12.6	16.1	21	23.2	22.9	18.5	14.5	6.8	4.5	12.8
TX (max)	18.3	18.3	20.4	27	31	36.3	39	37.1	32.6	28.4	20.1	15	27

Source: Office National de la Météorologie (ONM)

Tableau 4: Variation de l'humidité relative mensuelle (%) durant 3ans des cinq stations

Année 2014	Janv	Fév	Mar	Avr	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Dec	Annuel
Batna	73	66	78	57	54	49	44	40	45	53	58	80	58
Béchar	56	61	44	31	21	24	13	21	38	34	52	73	39
Djelfa	73	72	75	53	59	48	32	50	54	71	72	85	62
Tiaret	76	65	69	47	43	42	32	34	48	47	69	74	54
Laghouat	69	59	52	35	36	35	27	29	41	45	63	70	47
Année 2015	Janv	Fév	Mar	Avr	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Dec	Annuel
Batna	75	71	65	53	48	45	35	45	53	63	72	74	58
Béchar	52	49	40	27	31	37	23	31	31	44	45	63	39
Djelfa	75	80	65	35	23	48	37	40	56	71	76	68	56
Tiaret	71	78	62	42	40	44	28	40	56	69	75	67	56
Laghouat	61	58	47	35	32	33	29	38	49	64	70	59	48
Année 2016	Janv	Fév	Mar	Avr	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Dec	Annuel
Batna	68	65	62	61	53	47	41	45	59	55	70	78	59
Béchar	46	43	45	28	28	22	20	27	34	37	55	74	38
Djelfa	67	71	68	53	44	36	35	39	51	55	71	87	56
Tiaret	66	66	68	65	48	30	38	38	48	52	63	82	55
Laghouat	57	51	47	32	31	27	27	34	47	52	56	73	44

Source: Office National de la Météorologie (ONM)

Tableau 5: Variation de l'ensoleillement mensuelle (heure) durant 3ans des cinq stations

Année 2014	Janv	Fév	Mar	Avr	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Dec	Annuel
Batna	169	193	183	296	323	307	338	333	235	260	174	125	2936
Béchar	241	259	308	311	341	352	332	309	219	268	208	256	3404
Djelfa	171	199	217	289	328	348	281	296	178	261	135	175	2878
Tiaret	164	189	-	225	-	-	341	318	213	264	-	-	-
Laghouat	215	220	262	307	314	317	292	315	210	286	192	232	3162
Année 2015	Janv	Fév	Mar	Avr	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Dec	Annuel
Batna	157	139	229	289	312	343	377	289	239	227	178	217	2996
Béchar	246	243	317	293	376	362	348	287	258	273	297	261	3561
Djelfa	168	107	274	280	331	266	361	257	242	243	221	224	2974
Tiaret	185	119	273	306	338	322	382	237	252	235	232	230	3111
Laghouat	198	198	289	277	316	307	380	256	253	263	250	239	3226
Année 2016	Janv	Fév	Mar	Avr	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Dec	Annuel
Batna	202	197	223	244	284	340	367	355	258	215	195	129	3009
Béchar	275	230	330	318	324	357	349	336	272	282	259	238	3570
Djelfa	219	199	241	241	294	279	329	322	249	268	199	140	2980
Tiaret	221	184	164	193	306	344	316	335	282	258	185	152	2940
Laghouat	246	231	293	281	320	340	347	320	255	281	256	188	3358

Source: Office National de la Météorologie (ONM)

Annexe 3

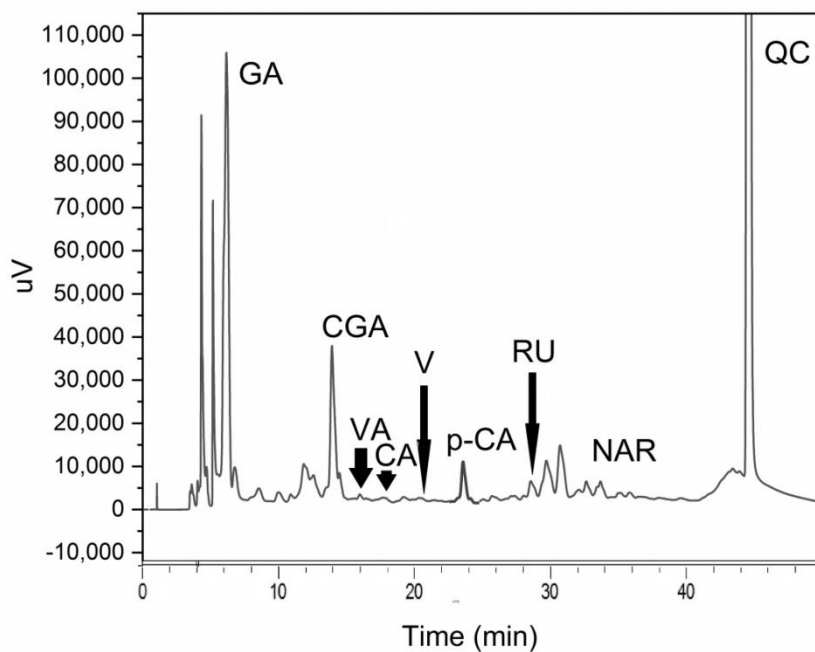


Figure 1. Teneur en composés phénoliques identifiés par chromatographie liquide haute performance (HPLC) dans l'épicarpe de Djelfa-D. Les composés identifiés sont : Acide gallique GA, CGA - Acide chlorogénique, VA - Acide vanillique, CA - Acide caféique, V-Vanilline, *p*-CA-p-Acide coumarique, RU-Rutine, NAR-naringine et QC-quercétine.

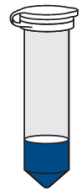
Annexe 4**Étapes de purification de produits PCR**

Combiner: ajouter 4 volumes tampon de fixation avec de l'isopropanol et bien mélanger.

Charge: Pipeter l'échantillon dans une colonne de spin PureLink ® dans un tube de collecte. Centrifuger la colonne à 10000g pendant 1 min. jeter le suivi.

Lavage: Ré-insérez la colonne dans le tube de collecte et ajoutez 650µl de tampon de lavage avec de l'éthanol. Centrifuger la colonne à 10000x g pendant 1 min. jeter le suivi et placer la colonne dans le même tube de collecte. Centrifuger la colonne à la vitesse maximale pendant 2-3min.

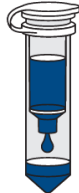
Éluer: placer la colonne dans un tube d'élution propre de 1.7ml (fourni avec le kit). Ajoutez le tampon d'élution 50µl au centre de la colonne. Incuber la colonne à température ambiante pendant 1min. Centrifuger la colonne à la vitesse maximale pendant 2min. Le tube d'élution contient le produit de PCR purifié. Entreposer l'ADN purifié à 4°C pour une utilisation immédiate ou -20°C pour un stockage à long terme.



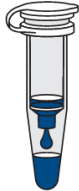
Add appropriate Binding Buffer with isopropanol to the PCR products



Apply sample to PureLink[®] PCR Spin Column in a Collection Tube



Wash column with Wash Buffer



Elute DNA into PureLink[®] Elution Tube

