

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE 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



THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

Spécialité : Sciences de la Nature et de la Vie

Thèse Présentée par :

Mme MOKHFI FATIMA ZOHRA

THEME :

Intérêt et valorisation du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) dans la Zone Rechaiga « Wilaya de Tiaret »

Soutenu le 14 /03/2018 devant le jury composé de :

M .ADDA Ahmed Professeur. Univ.Tiaret.....Président

M. DELLAL Abdelkader Professeur. Univ.Tiaret.....Directeur de thèse

M.MAATOUG Mhamed Professeur. Univ.Tiaret.....Examineur

M.LAATIGUI Ahmed Professeur.Univ.Tissemsilt.....Examineur

M. HADJADJ-AOUL Seghir Professeur. Univ.Oran1.....Examineur

M. BEKKI Abdelkader Professeur. Univ.Oran1.....Examineur

Année Universitaire : 2017/2018

Dédicace

Je tiens à dédier ce modeste travail à :

Ma source de lumière, à celle qui m'a toujours encouragé, à toi ma Mère

Mon père, « symbole de sacrifice », qui a toujours été à mes côtés

Mon mari BOUMEDIENE RACHID « merci pour ton appui et ta présence »

Mes enfants KHADIDJA IBTIHAL IMENE et MOHAMED AMINE

Mes frères : Kadda, Mokhtar, Mohamed Yacine et Walid

Mes sœurs : Mokhtaria, Sarah et ma belle sœur Nawel

Ma belle famille

Mes neveux et nièces

Mes amies

Remerciement

*Au terme de ce travail, je tiens à exprimer toute ma gratitude à mon encadreur Mr. **DELLAL ABDELKADER** (Professeur à l'université de Tiaret et Responsable du Laboratoire de recherche) qui n'a pas hésité à me prendre en charge et de me guider le long de cette thèse. Le partage de ses connaissances et sa grande expérience ont été déterminants pour la réalisation de ce travail.*

*J'exprime ma profonde gratitude à Mr **ADDA AHMED**, qui a, avec beaucoup d'amabilité, accepté de présider le jury et qui, malgré ses lourdes tâches, n'a cessé de m'encourager et de me guider par ses conseils et son aide. Sans lui, je ne saurais parvenir à améliorer ce travail. Je lui exprime ma profonde reconnaissance et mes sincères remerciements.*

*Que Pr. **MAATOUG M.**, Pr. **LAATIGUIA.**, Pr. **HADJADJ AOUEL S.** et Pr. **BEKKI AËK.**, soient chaleureusement remerciés d'avoir voulu examiner de près mon travail.*

*J'adresse mes sincères remerciements et ma profonde gratitude aux enseignants de la faculté surtout : Mr. **ZEDEK M.** Mr. **AIT HAMMOU M.**, Mr. **BENAISSA T.**, Mr. **BENSAÏD W.**, Mr. **BOUNNACEUR S.**, et Mr. **TAÏBI K.***

*Mes sincères remerciements à Mr. **BLILA LAKHDAR** et **SNOUCI YOUSSEF.***

*J'adresse mes sincères remerciements à Mr. **KADDARI** , Mr. **SAÏD KADI** et Mr. **AIT AMERANE** pour leurs soutiens et leurs aides.*

Mes remerciements vont aussi à mes amis(es), Meriem, Nadia, Khadidja, Atika, Sarah, Chafia, Kheira , Assia.

الفسق الأطلسي هو واحد من الأنواع المهددة بالانقراض والتي هي ذات أهمية بيئية واجتماعية واقتصادية وتشكل ثروة نباتية هامة تتطلب تقديمًا، والعمل الحالي يتمحور حول تقييم و ابراز فائدة الفسق الأطلسي في منطقة الرشايقه (ولاية تيارت)

دراسة التباين المورفولوجي لأوراق ازهار هذا النوع، اثبتت وجود تباين هام بين افراد الجنس الواحد و بين الجنسين. النتائج التي تم الحصول عليها من خلال الدراسة التشريحية للأوراق، تظهر اختلاف كبير في البنية التشريحية للأوراق تبين الإناث والذكور، فضلا عن التباين بين الجنسين

من اجل ان يلعب هذا النوع الأدوار الاجتماعية والاقتصادية المنوطة به فمن الضروري تقييم خصائصه الطبيعية من خلال دراسة نشاط زيوته الأساسية المضاد للبكتيريا ودراسة التركيب الكيميائي للصبغ الناتج . وقد أظهرت دراسة تأثير مضاد للجراثيم من الزيوت الأساسية المستخرجة من أوراق هذا النوع فعالية هذه الزيوت الأساسية ضد السلالات البكتيرية المختبرة.بالإضافة إلى ذلك، توصيف الصبغ، كشف عن وجود العديد من المجموعات الكيميائية المميزة لهذا النبات.

الكلمات المفتاحية:

الفسق الأطلسي، التباين، المورفولوجيا، البنية التشريحية، الأوراق، الزيوت الأساسية، الصبغ، مضاد البكتيريا.

Résumé :

Le pistachier de l'Atlas est l'une des espèces menacées qui présente un intérêt écologique et socioéconomique et constitue un patrimoine très intéressant qui nécessite une valorisation. Le présent travail relève de la valorisation et l'intérêt du pistachier de l'Atlas dans la forêt de Rechaiga (wilaya de Tiaret).

L'étude de la variabilité morphologique des feuilles et fleurs de cette espèce, a permis de constater une variabilité intra spécifique très élevée (au sein des individus du même sexe et entre les deux sexes étudiés). Les résultats obtenus à partir de l'étude de la variabilité anatomique démontrent un polymorphisme structural très accentué parmi les individus du sexe femelle et le sexe mâle, ainsi qu'une variabilité entre les deux sexes.

Pour que cette espèce puisse jouer ses rôles sociaux économiques, il est nécessaire d'évaluer ses vertus médicinales par l'étude d'activité antibactérienne de ses huiles essentielles et la caractérisation de sa résine et sa valorisation. L'étude de l'effet antibactérien des huiles essentielles extraites à partir des feuilles de cette espèce a démontré l'efficacité de ces huiles essentielles contre les souches bactériennes testées « Gram+ et Gram- » ; par ailleurs, la caractérisation de la résine de cette espèce a révélé la présence de plusieurs groupes chimiques caractéristiques des résines des anacardiées.

Mots clés :

Pistachier de l'Atlas, polymorphisme, morphologie, anatomie, feuilles, huiles essentielles, activité antibactérienne, résine.

Abstract

The Atlas pistachio is one of the endangered species that has an ecological interest and socioeconomic and constitutes a very interested patrimony that requires an evaluation. This work falls recovery and interest from Atlas pistachio tree in the forest of Rechaiga (wilaya of Tiaret). The study of morphological variability of the leaves and flowers of this species, had found a very high intra specific variability (within individuals of the same sex and gender studied). The Results from the study of the anatomical variability demonstrate a very pronounced structural polymorphism among individuals of the female sex and the male sex, as well as variability between the sexes. For that species play its economic and social roles, it is necessary to assess its medicinal virtues by the study of antibacterial activity of its essential oils and resin characterization and its valuation. The study of the antibacterial effect of essential oils extracted from the leaves of this species demonstrated the effectiveness of these essential oils against bacterial strains tested "Gram- and Gram+"; Moreover, the characterization of the resin of this species revealed the presence of several alchemical groups characteristics of the resins Anacardiaceae.

Keywords : Pistachio Atlas, polymorphism, morphology, anatomy, leaves, essential oils, antibacterial, resin.

Table des matières

Remerciements	I
Résumé	II
Abstract	III
ملخص:	IV
Table des matières	V
Liste des figures	IX
Liste des tableaux	XI
Index des abréviations	XIII

INTRODUCTION

Chapitre 01 : Monographie du Pistachier de l'Atlas

1. Pistachier de l'Atlas (<i>Pistacia atlantica</i> Desf.)	3
1.1. Généralités sur le pistachier de l'Atlas	3
1.2. Caractères biologiques et botaniques	5
1.2.1. Feuille	6
1.2.2. Ecorce	6
1.2.3. Fruit	7
1.2.4. Fleurs	7
1.3. Régénération	9
1.4. Caractéristiques anatomiques des feuilles du pistachier d'Atlas	9
1.5. Caractéristiques écologiques du pistachier de l'Atlas	9
1.5.1. Les conditions climatiques	10
1.5.1.1. Pluviométrie	10
1.5.1.2. Température	10
1.5.2. L'altitude	10
1.5.3. Caractéristique édaphique	10
1.6. Répartition dans le monde	11
1.7. Répartition du pistachier de l'Atlas en Algérie	12
1.8. Importance écologique et économique du pistachier de l'Atlas	12
1.9. Association du pistachier de l'Atlas	12
1.10. Ennemis du pistachier de l'Atlas	13

Chapitre 02 : Variabilité Génétique

2.1. Diversité des espèces	14
2.1.1. Notion de l'espèce	14
2.1.2. Les subdivisions de l'espèce	14
2.1.3. Notion de caractère	15
2.1.4. Les principaux types de variation	15
2.3. La diversité génétique	15
2.3.1. L'interaction génotype et milieu	16
2.4. Méthodes d'analyse de la variabilité génétique	16
2.5. Polymorphisme de plante	17
2.5.1. Polymorphisme morphologique	17

2.5.2. Polymorphisme biochimique	17
2.5.3. Polymorphisme chromosomique	18
2.5.4. Polymorphisme moléculaires	18
2.6. Marqueurs moléculaires	18

Chapitre 03 : Huiles essentielles et résine

Introduction	19
3.1. Définition d'une huile essentielle	19
3.1.1. Répartition systématique	19
3.1.2. Synthèse et localisation	19
3.1.3. Le rôle des huiles essentielles au niveau des plantes	20
3.1.4. Caractères physico-chimiques	20
3.1.5. Propriétés générales des huiles essentielles	21
3.1.6. Domaine d'application des huiles essentielles	22
3.2. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles	22
3.2.1. La distillation (hydro distillation)	22
3.2.2. L'expression	23
3.2.3. L'enfleurage	23
3.2.4. L'extraction par solvant	23
3.2.5. L'extraction par CO ₂ supercritique	24
3.2.6. L'extraction par entraînement à la vapeur sèche	24
3.3. Les résines	24
3.3.1. Origine et composition chimique des matériaux	25
3.3.2. Les résines diterpéniques	25
3.3.3. Les résines triterpéniques	26
3.3.4. Les gommes-laques	27

Chapitre 4 : Zone d'étude

4. Zone d'étude	28
4.1. Relief	29
4.2. Sol	29
4.3. Géologie	29
4.4. Richesse faunistique et floristique	29
4.5. Climat	29
4.5.1. Précipitations	30
4.5.2. Températures	31
4.6. Actions anthropiques	33

Chapitre 05 : Matériels et méthodes

5.1. Objectif	34
5.2. Etude de la variabilité morphologique des feuilles	34
5.2.1. Choix du type d'échantillonnage	34
5.2.2. Caractères étudiés	34
5.3. Etude de la variabilité morphologique des fleurs	35
5.4. Etude des paramètres anatomiques	36
5.4. Etude de l'effet antibactérien des huiles essentielles du Pistachier de l'Atlas	37
5.4.1. Extraction des huiles essentielles	37
5.4.2. Détermination du rendement d'extraction	37

5.4.3. Test microbiologique	37
5.4.3.1. Préparation des suspensions bactériennes	37
5.4.3.1.1. Purification et revivification des souches	37
5.4.3.1.2. Repiquage sur milieu sélectif	38
5.4.3.1.3. Préparation des aliquotes	38
5.4.3.1.4. Standardisation des suspensions bactériennes	38
5.4.3.1.5 Méthode de diffusion sur disques (aromatogramme)	38
5.5. Caractérisation de la résine du pistachier de l'Atlas	40
5.5.1. Principe de la spectroscopie RAMAN	41

Chapitre 06 : Résultats et discussion

6.1. Paramètres morphologiques de la feuille	43
6.1.1. Paramètres quantitatifs de la feuille	43
6.1.1.1. Nombres des folioles	43
6.1.1.2. Longueur de l'axe foliaire	43
6.1.1.3. Longueur du pétiole	44
6.1.1.4. Longueur d'entre-nœuds sur l'axe foliaire	45
6.1.1.5. Longueur des folioles	45
6.1.1.6. Largeur des folioles	46
6.1.1.7. Longueur de la foliole terminale	46
6.1.1.8. Largeur de la foliole terminale	47
6.1.2.1. La couleur de la feuille	48
6.1.2.1. Forme des folioles	48
6.1.2.3. Forme de la foliole terminale	49
6.1.2.4. Forme du pétiole	50
6.1.2.5. Mode de disposition des folioles	50
6.1.2.6. Position des folioles sur l'axe foliaire	51
6.1.3.1. Classification des individus de la population femelle en fonction des paramètres morphologiques de la feuille	52
6.1.3.2. Classification des individus de la population mâle en fonction des paramètres morphologiques de la feuille	53
6.2. Paramètres morphologiques de la fleur	54
6.2.1. Paramètres quantitatifs	54
6.2.1.1. Nombre des étamines par fleur	54
6.2.1.2. Nombre de loges polliniques	54
6.2.2. Caractères qualitatifs de la fleur	55
6.2.2.1. Population mâle	55
6.2.2.1.1. Couleur du chaton	55
6.2.2.1.2. Taille du filet	56
6.2.2.2. Population femelle	56
6.2.2.2.1. Forme de l'ovaire	56
6.2.2.2.2. Disposition de l'ovaire	57
6.2.2.2.3. Couleurs des stigmates	57
6.2.2.2.4. Taille du style	58
6.3. Paramètres anatomiques	58
6.3.1. Caractérisation du mésophylle de la feuille	58
6.3.2. La structure des vaisseaux ligneux du xylème	59
6.3.3. La structure des canaux excréteurs	60

6.3.4. Classification des individus de la population mâle en fonction des paramètres anatomiques de la feuille	62
6.3.5. Classification des individus de la population femelle en fonction des paramètres anatomiques de la feuille	63
6.4. Effet antibactérien des huiles essentielles du Pistachier de l'Atlas	64
6.4.1. Rendement en huile essentielle	64
6.4.2- L'activité antibactérienne des huiles essentielles des espèces	65
6.5. Caractérisation de la résine par spectroscopie RAMAN	67
6.5. Discussion des résultats	69
CONCLUSION	77
Références bibliographiques	79
Article	89
Annexes	98

Liste d'abréviation

% : pour cent

μm : micromètre

CM : carré moyen

cm^{-1} : shift Raman

F : observe de Fisher

ha: hectare

mm: millimètre

Ms : Matière sèche

H.E : Huile essentielle

p: Précipitation.

P : probabilité

T : Température.

Liste des figures

Fig.1 : Répartition des espèces du genre <i>Pistacia</i> dans le monde (Tingshuang et al.,2008).....	05
Fig.2 : Feuille du pistachier de l'Atlas (photo prise le 16/06/2011.....	06
Fig.3 : Fruits du pistachier de l'Atlas	07
Fig.4 : Fleurs mâles du pistachier de l'Atlas	08
Fig.5 : Fleurs femelles du pistachier de l'Atlas	08
Fig.6 : Répartition du pistachier de l'Atlas dans le monde (AL-Saghir, 2006).	11
Fig.7 : Composés majoritaires des résines diterpéniques	25
Fig.8 : Composés majoritaires des résines triterpéniques	26
Fig.9 : composés majoritaires du mastic et du dammar	27
Fig.10 : Carte de situation de la zone d'étude «canton El Houassi» (Source: Conservation des forêts de la wilaya de Tiaret, 2011)	28
Fig.11: Carte climatique de la zone d'étude « Rechaiga » (Source: Conservation des forêts de la wilaya de Tiaret, 2011)	30
Fig.12 : Diagramme ombrothermique de la zone d'étude	31
Fig.13 : Localisation de la zone d'étude dans le climagramme d'EMBERGER	32
Fig.14: Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boitez de Pétri (Zaiki, 1988)	39
Fig.15 : Les échantillons de résines	40
Fig.16 : spectrophotomètre RAMAN utilisé	40
Fig.17 : Interaction d'un rayonnement monochromatique avec un échantillon	41
Fig.18 : Diagramme de relaxation de l'énergie photonique : diffusions Rayleigh et Raman.	42
Fig.19 : Les trois variantes de couleur des feuilles	48
Fig.20 : formes des folioles	49
Fig.21 : disposition des folioles. (A : alternée ; B :opposée)	50
Fig.22 : Position des folioles sur l'axe foliaire. (A : érigé, B : Pendant)	51

Fig.23 : Classification des individus de la population femelle en fonction des paramètres morphologiques de la feuille	52
Fig.24 : Classification des individus de la population mâle en fonction des paramètres morphologiques de la feuille	53
Fig.25 : Nombre des étamines	54
Fig.26 : nombre des loges polliniques	55
Fig.27 : Couleur des chatons	56
Fig.28 : Forme de l'ovaire	57
Fig.29 : coupe anatomique montrant la structure de la feuille du pistachier de l'Atlas (Gx40)	59
Fig.30 : coupes anatomiques montrant la variabilité du nombre des vaisseaux ligneux (Gx10).....	60
Fig.31 : coupe anatomique montrant le canal excréteur (Gx10)	61
Fig.32 : Dendrogramme de classification des individus mâles selon les paramètres anatomiques.	62
Fig.33 : Dendrogramme de classification des individus femelles selon les paramètres anatomiques	63
Fig.34 : rendement en huile essentielle des feuilles du pistachier d'Atlas (pieds femelles et mâles)	64
Fig.35 : halos d'inhibition des souches bactériennes testées sous l'effet des huiles essentielles du pistachier d'Atlas.	65
Fig.36 : Diamètres (en mm) des zones d'inhibition dessouches à Gram (+) et Gram (-) par l'effet des huiles essentielles du Pistachier de l'Atlas.....	66
Fig.37 : spectre RAMAN de la résine du pistachier de l'Atlas	67

Liste des tableaux

Tableau 1: Précipitations mensuelles moyennes enregistrées dans la station de Ksar Chellala durant la période 1990-200930

Tableau 2: Températures mensuelles moyennes enregistrées dans la station de Ksar chellala durant la période 1990- 200931

Tableau 3: Délits signalés enregistrés au niveau de la forêt domaniale de Rechaiga durant la période 2007-2011.....33

Tableau 4: Mesures quantitatives et qualitatives des feuilles35

Tableau 5: Caractères quantitatifs et qualitatifs étudiés sur les fleurs36

Tableau 6: Analyse de la variance du nombre de folioles par feuilles43

Tableau 7: Analyse de la variance des résultats de la longueur de l'axe foliaire44

Tableau 8: Analyse de la variance des résultats de la longueur du pétiole44

Tableau 9: Analyse de la variance des résultats de la longueur des entre-nœuds sur l'axe foliaire45

Tableau 10: Analyse de la variance des résultats de la longueur de des folioles45

Tableau 11: Analyse de la variance des résultats de la longueur des folioles46

Tableau 12: Analyse de la variance des résultats de la longueur de la foliole terminale46

Tableau 13 : Analyse de la variance des résultats de la largeur de la foliole terminale47

Tableau 14: le carré moyen, le test F et le degré de signification de l'influence de la nature des individus étudiés sur les variations des paramètres anatomiques61

Tableau 15: Résultats des mesures des halos d'inhibitions des deux souches bactériennes..65

Tableau 16: Assignements des groupes chimiques de la résine du pistachier de l'Atlas68

Tableau 17: relations entre les différents paramètres morphologiques au sein des individus du sexe femelle70

Tableau 18: relations entre les différents paramètres morphologiques au sein des individus du sexe mâle.70

Tableau 19: relations entre les différents paramètres anatomiques au sein des individus du
sexe femelle73

Tableau 20: relations entre les différents paramètres anatomiques au sein des individus du
sexe mâle74

INTRODUCTION

Introduction

L'aire écologique en Algérie se caractérise par de nombreuses entraves, essentiellement climatiques qui limitent grandement la préservation et l'expansion de la diversité génétique végétale « ressources phyto-génétiques ». La sécheresse et les amplitudes thermiques imposent la pérennité des espèces adaptées aux effets de ce stress. Parmi ces espèces, le Pistachier de l'Atlas est un candidat imposé, où une prospection et une évaluation de la variabilité génétique qu'elle offre permettent sa préservation et sa valorisation sur différents plans. Les actions se complètent et conditionnent la définition des stratégies indispensables à la protection du patrimoine génétique existant et son enrichissement à travers des actions de reforestation.

Le pistachier de l'Atlas est un arbre dioïque de la famille des Anacardiaceae qui comportant 55 genres et environ 500 espèces, répartis pour leur majorité dans le bassin méditerranéen, au sud-ouest et à l'est de l'Asie centrale et dans le continent Américain (Anjum et Qaiser, 2010).

En Algérie, il est recensé depuis la plaine de Mitidja jusqu'à la région saharienne (Monjauze, 1982). Comme le souligne Belhadj (2004), il existe à l'état disséminé dans la région de Djelfa (Senalba, Ain Oussera, Messaâd), au sud de Laghouat et à Ghardaïa (oued M'zab). D'après Ozenda (1983), le pistachier de l'Atlas peuplait, jadis, la région située entre Laghouat et Biskra et une partie des hauts plateaux.

Le pistachier de l'Atlas est impliqué dans plusieurs utilisations. Il sert de porte greffe pour le pistachier vrai (*Pistacia vera*), où son système racinaire, moins pivotant et plus vigoureux, lui confère une bonne reprise à la plantation (Chaba et al., 1993). Il sert d'aliment pour la population (consommation de graines), de fourrage pendant la période estivale et de combustible (Chaba et al., 1993; Chenoune, 2005). D'autres rôles aussi importants, liés à sa rusticité, se rapportent à son utilisation dans la reforestation des zones arides, la fixation des dunes et par conséquent la lutte contre la désertification (Belhadj, 2007; Belhadj et al., 2008).

Le genre *pistacia* dont fait partie le pistachier de l'Atlas appartient aux xérophytes (Al-saghir et al, 2006). Ce groupe écologique regroupe les plantes des habitats secs capables de

s'adapter aux effets défavorables de la sécheresse, grâce à des particularités anatomico-physiologiques. (Oppenheimer ,1959 ,1961).

Cependant, la variabilité des mécanismes d'adaptation aux climats arides conditionnant la rusticité et la plasticité de cette espèce est en déperdition continue. Son aire de répartition est en phase de déclin ce qui le qualifie comme étant une espèce en danger (Amara, 2014). Cette dégradation est le résultat de la conjugaison de nombreux facteurs, essentiellement d'ordre anthropiques (Smail-Saadoune, 2005).

L'étude des structures primaires et secondaires des organes végétales ainsi que leurs modifications ou adaptation est l'une des clés de la biologie végétale. Les transformations anatomiques concernent particulièrement la réduction de la surface foliaire, l'épaississement du mésophylle, l'accroissement du nombre des fils cellulaires à son niveau et la réduction des dimensions des cellules chlorophylliennes qui le constituent. Ces particularités anatomiques favorisent le maintien d'une activité photosynthétique optimale en conditions climatiques régies par les déclarations de sécheresse et les fortes variations de température.

L'évaluation de la variabilité morpho-anatomique au sein de l'espèce révèle être l'outil fondamental voir décisif lors des divers opérations de sa conservation. Pour que cette espèce puisse jouer ses rôles sociaux économiques, il est nécessaire d'évaluer ses vertus médicinales par l'étude d'activité antibactérienne de ses huiles essentielles et la caractérisation de sa résine .et de sa valorisation.

Notre zone d'investigation abrite une population du pistachier d'Atlas, qui se localise dans la région de Rechaiga.

Le présent travail est composé de deux parties, une première partie consiste à une synthèse bibliographique et la deuxième partie est consacrée à une partie expérimentale englobant la description de la zone d'étude, la méthodologie de travail et les résultats obtenus. Ces derniers ont été confrontés à une analyse statistique approfondie afin d'en tirer le maximum d'informations.

PARTIE 1 :

RECHERCHE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 :

*MONOGRAPHIE DU
PISTACHIER DE L'ATLAS*

1. Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.)

1.1. Généralités sur le pistachier de l'Atlas

Le pistachier de l'Atlas appartient à la famille des Anacardiaceae. Celle-ci, comportant 55 genres et environ 500 espèces, est répartie dans sa grande majorité en méditerrané, au sud-ouest et à l'est centrale de l'Asie et à l'Amérique (Maberly, 1987 in Anjum, 2010).

Le genre *Pistacia* est apparu au tertiaire. C'est à Linné (1737) que le concept *Pistacia* est noté et Tournefort (1707) mentionna deux espèces, le lentisque et le térébinthe. Le genre *Pistacia*, qui dérive du persan (Posta), par les grecs (Pistake) qui se rapproche du nom syrien « Foustok » (Mitchell, 1992).

Les espèces relevant du genre *Pistacia* se répartissent dans le bassin méditerranéen et au moyen orient, la figure .1 illustre cette répartition (Ben Douissa et al., 2005 in Ghalem et al., 2009) . Le nombre absolu d'espèces demeure non encore défini, si l'on se réfère à la littérature.

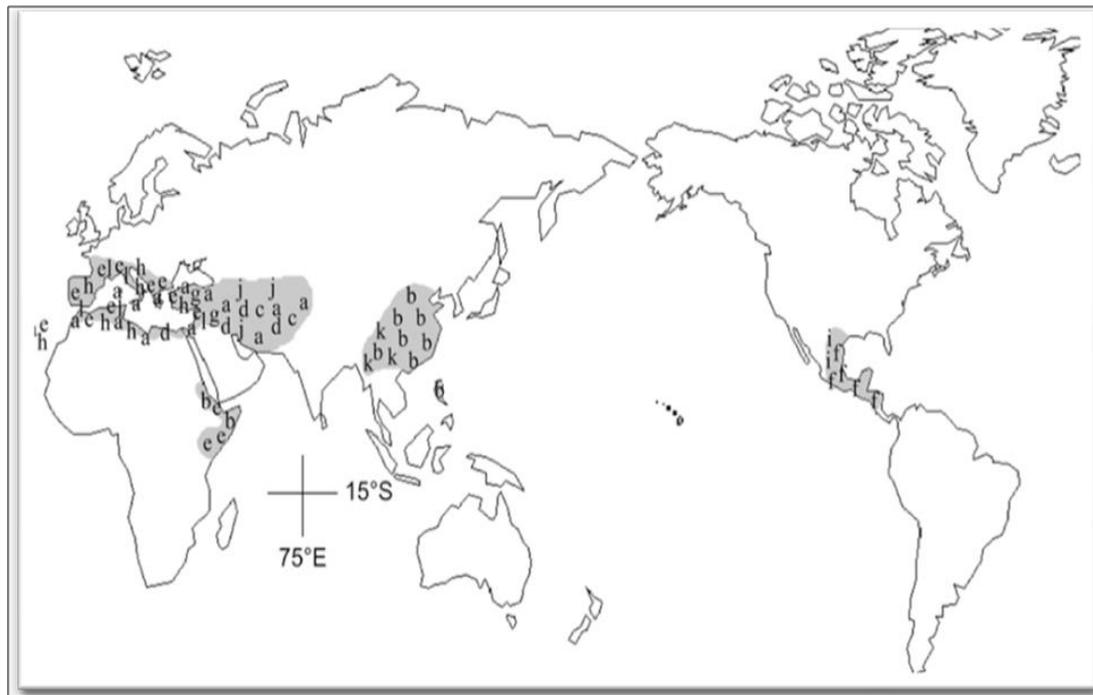
Tutin et al., (1968 in Tsokou et al., 2007), Farhoosh et al. (2008), Mohsen Hosseini et al. (2007), Shanjani et al., (2008), AL-Saghir (2005) et İsfendiyaroğlu et al. (2009) recensent, sur la base des propriétés médicinales onze espèces. Par ailleurs, lin et al., (1984 in Alvarez et al., 2008) relèvent dix espèces caractérisées par des feuilles alternées et composées. Taran et al.,(2009, 2010) révèlent la présence de quinze espèces relatives à ce genre.

Les rares études faites sur ce genre se basent essentiellement sur les caractéristiques morphologiques. La première étude morphologique faite par Engler (Zohary, 1952 in Kafkas et al., 2002 ; Kafkas,2006) révèle huit espèces.

L'étude taxonomique la plus complète est celle élaborée par Zohary (1952). Elle recense, au total, onze espèces réparties à travers quatre sections :

- 1- Section Lenticella Zoh: contient *P. Mexicana* HBK, *P. Texana* Swingle ;
- 2- Section Eu lentiscus. Zoh: contient *P. lentiscus*.L, *P. weinmamifolia* poisson, *P. Saportae* Burnat.
- 3- Section Butmela. Zoh : contient *P. atlantica* Desf.
- 4- Section Euterebinthus: contient *P. terebinthus* L, *P. palestina* Bois, *P. khinjuk* Stocks, *P. Vera* L, et *P. chinensis*.Bge. (Zohary, 1952 in Kafkas et al., 2002 et Inbar ; 2008 ; Farhoosh et al., 2008).

- *P. terebinthus*, très répandu par tout le Bassin Méditerranéen, est un porte-greffe adapté aussi bien aux sols calcaires qu'aux roches volcaniques acides. Il est très résistant à la sécheresse. Cette espèce est un porte-greffe utilisé principalement en Italie et en Turquie (Kaska.,1990 ; Mazzola *et al.*, 1996).
- *P. palestina* est très voisin de *P. terebinthus* (Zohary., 1996). Il pousse à l'état spontané en Grèce, en Turquie, en Syrie et en Palestine. Le type Tsikoudia, proche à *P. palestina* est considéré comme d'origine hybride entre *P. palestina* et *P. terebinthus*, est le porte-greffe le plus utilisé en Grèce (Rouskas, 1996). Il est bien adapté aux sols calcaires.
- *P. integerrima* est une espèce très vigoureuse résistante au *Verticilliumdahliae*. Très employé comme porte-greffe aux Etats-Unis (Crane et Maranto, 1988), il est aussi de plus en plus utilisé pour la constitution de nouveaux vergers intensifs en Italie et en Espagne.
- *P. khinjukse* rencontre en Turquie, Iran, Afghanistan, Pakistan, etc. (Kaska, 1990 ; Kaska *et al.*,1996 ; Zohary, 1996). En Turquie, il sert de porte-greffe vigoureux et très résistant à la sécheresse.
- *P. vera* est aussi utilisé comme porte-greffe dans différents pays : Syrie, Iran, Turquie, Tunisie, etc. (Hadj-Hassan et Kardouch, 1995 ; Kaska, 1995 ; Sheibani, 1994). C'est une espèce considérée comme très sensible aux nématodes et aux maladies des racines (*Phytophthora*, *Armillaria*, *Verticillium*). Il a un développement lent mais présente une excellente affinité au greffage. Actuellement, cette espèce est de plus en plus délaissée au profit principalement de porte-greffe d'origine interspécifique (Monastra *et al.*,1997).



a = *P. atlantica*, b = *P. chinensis*, c = *P. integerrima*, d = *P. khinjuk*, e = *P. lentiscus*, f = *P. mexicana*, g = *P. palaestina*, h = *P. terebinthus*, i = *P. texana*, j = *P. vera*, k = *P. weinmannifolia*, l = *P. saportae*

Fig.1 :Répartition des espèces du genre *Pistacia* dans le monde (Tingshuang et al.,2008)

1.2. Caractères biologiques et botaniques

Le pistachier de l'Atlas est un arbre protecteur et productif (Monjauze, 1967 in Kadi-bennane et al., 2005). Soumise à des actions anthropiques, l'espèce est répertoriée parmi celles à protéger en Algérie (Smail-Saadoune, 2005). L'espèce peut atteindre des proportions grandioses et un âge très élevé, son bois remarquablement dur (Ozenda, 1983).

Sur la base de la classification taxonomique d'Emberger (1960), le pistachier de l'Atlas appartient à l'embranchement des Spermaphytes, au sous-embranchement des Angiospermes, à l'ordre des Terebinthales et à la famille des Anacardiacees.

Le pistachier de l'Atlas est par excellence l'arbre des milieux steppiques. Il peut même s'installer jusqu'aux régions sahariennes (Kadi-bennane et al., 2005).

Il peut être classé selon la morphologie des feuilles en quatre sous-espèces (Alyafi 1978 in Kafkas et al., 2002), à savoir *mutica*, *cabulica*, *kurdica* et *atlantica*. Celle-ci est recensée en Afrique du Nord (Benhassaini et Belkhodja, 2004 in yaaqobi, 2009; Zohary 1952 in Belhadj, 2008).

Le pistachier de l'Atlas peut atteindre 20 m de hauteur totale et 4 m de circonférence (Boudy, 1952 ; Benhssaini et Belkhodja, 2004). Quant à l'âge, des sujets peuvent atteindre facilement 1000 ans (Gourine et *al.*, 2009; Benabderrahmane et *al.*, 2009).

1.2.1. Feuille

Arbre à feuilles caduques, il possède un tronc bien individualisé à frondaison hémisphérique, avec une odeur simplement résineuse (Quezel et Santa ,1963). Les feuilles, caduques, de couleur pale, sont composés de 7 à 9 folioles oblongues lancéolées, alternées à la base et légèrement ondulées sur les bords et très glabres (Auguste, 1860) (Fig .2). Les folioles sont obscurément rhomboïdales avec leur plus grande largeur au tiers inférieur du limbe (Monjauze, 1980).

Le pistachier de l'Atlas a une inflorescence en grappe rameuse (Yaaqobi, 2009). Il produit en abondance une térébenthine identique à celle du pistachier térébinthe (Auguste ,1860).



Fig.2 : Feuille du pistachier de l'Atlas (photo prise le 16/06/2011)

1. 2.2. Ecorce

L'écorce du pistachier produit une résine mastic (Belhadj, 2004 ; Benabderrahmane et *al.*, 2009). Son bois, dur, lourd et peu résilient dispose d'une bonne conservation (Boudy, 1952). L'aubier jaunâtre et peu épais lui succède un duramen brun flammé. Excellent bois de chauffage et de carbonisation, c'est aussi un bois d'artisanat (Monjauze, 1980).

1.2.3. Fruit

Les fruits (appelés elkhodiri), drupes de la grosseur d'un pois, sont des drupes comestibles légèrement ovales et aplaties (fig.3), riches en huiles dense très énergétique et comestibles (Manjouze, 1980; Belhadj, 2007). Ils sont d'une flave-pourpre devenant bleuâtre à maturité légèrement acide. (Auguste, 1860).



Fig.3 : Fruits du pistachier de l'Atlas

1.2.4. Fleurs

Les fleurs mâles et femelles sont portées par des pieds différents. Les fleurs sont petites en panicules axillaires et sont apétales. De couleur rougeâtre, ce sont des fleurs régulières avec une tendance à la zygomorphie; la floraison a lieu en mai- juin (Chehma, 2006; Yaaqobi, 2009).

Les fleurs mâles sont apétales en grappes terminales (Manjouze, 1980). Le calice possède quatre sépales. A l'aisselle du calice, se trouve une bractée de couleur jaune pâle, glabrescente, allongée et de grande taille par rapport aux fleurs. Sa longueur varie entre 2 à 2,5 mm et sa largeur varie de 1 à 1,4 mm (Yaaqobi, 2009).

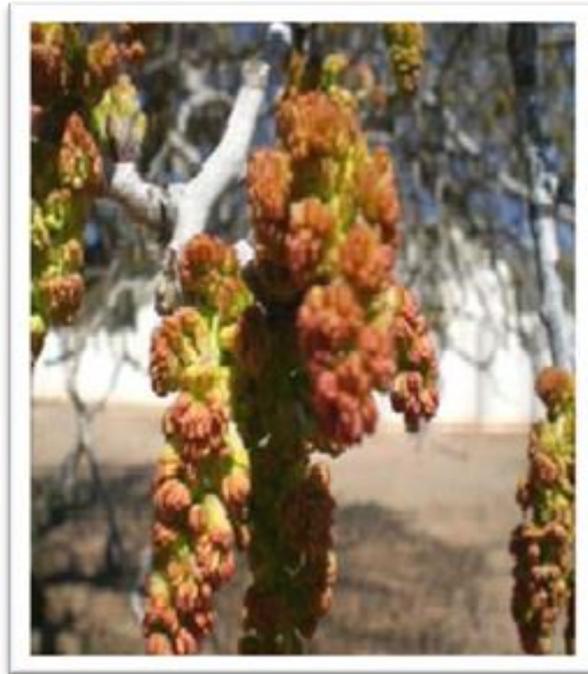


Fig.4 : Fleurs mâles du pistachier de l'Atlas

Les fleurs femelles sont apétales en drupes mesurant environ 6 à 8 mm de long et 5 à 6 mm de large (Monjauze, 1980). Le calice dispose de neuf sépales enchevêtrés et soudés à la base. Les sépales sont de taille variable selon les provenances (Fig.5) A l'aisselle du calice, se trouve une bractée semblable à celle de la fleur mâle (Yaaqobi, 2009).



Fig.5 : Fleurs femelles du pistachier de l'Atlas

1.3. Régénération

La semence du pistachier de l'Atlas, trop huileuse, ne peut se conserver longtemps dans la nature. Même en cave et stratifiée dans du sable, elle ne peut garder son pouvoir germinatif plus d'un printemps. En chambre froide, par contre, ce pouvoir peut subsister plusieurs années. Faute de couvert protecteur, le gel est à craindre la première année (Manjauze, 1980).

La régénération du pistachier de l'Atlas est significative dans les zones arides où peu d'espèces arborescentes peuvent s'établir et se développer (Belhadj et al., 2008). Il se régénère et pousse à l'intérieur du *Zyziphus lotus* qui protège les jeunes pousses à l'abri du pâturage. La litière des feuilles de *Zyziphus lotus*, en acidifiant le sol, favorise la germination des graines (Belhadj, 2004).

1.4. Caractéristiques anatomiques des feuilles du pistachier d'Atlas

La structure interne de la feuille du pistachier de l'Atlas ne s'échappe pas de l'ensemble des caractéristiques anatomiques des dicotylédones avec certaines différences reflétant les types d'adaptation de cette espèce au milieu. La feuille est enveloppée d'un épiderme inférieur et supérieur. Les faces des cellules épidermiques tournés vers l'extérieur sont recouvertes d'une cuticule, ce dernier fournit une protection contre la dessiccation (Roland, 1994 ; Berthet, 2006), entre ces deux épidermes se localise les tissus photosynthétiques composé par des cellules parenchymateuses contenant des chloroplastes (Campbell et al., 2006 ; Roland, 1994).

1.5. Caractéristiques écologiques du pistachier de l'Atlas

Le pistachier de l'Atlas, ou Betoum, dispose d'une grande tolérance aux variations climatiques. Il peut croître sous des tranches pluviométriques assez faibles et s'accommodent de tous les sols (Ghalem et al., 2007).

Le pistachier de l'Atlas est un arbre héliophile, de l'étage aride et accessoirement de l'étage semi-aride. Cela n'exclut pas de trouver quelques spécimens éparpillés dans l'étage Subhumide et humide à hiver froid et doux. Il est xérophile qui peut vivre dans les conditions écologiques les plus sévères (Ozenda, 1983).

Dans la zone présaharienne, il ne se développe en général que dans les points de concentration des eaux (talwegs) et les dépressions (dayas) (Jacamon, 2002; Chehma, 2006).

Il pousse uniquement sous forme éparse et isolée. Son cortège floristique est très rudimentaire (Benhassaini et al., 2007).

1.5.1. Les conditions climatiques

1.5.1.1. Pluviométrie

Le pistachier de l'Atlas est un arbre d'une grande plasticité vis-à-vis de la sécheresse. Son adaptation reste exceptionnelle pour des grandes variations climatiques, hiver froid, Eté sec et chaud. Pour une bonne fructification de cette essence, la tranche pluviométrique doit être entre 200 et 500 mm/an, notons que l'espèce se développe dans une tranche pluviométrique allant de 250 à 600mm. Il bénéficie de 1300mm/an au niveau de sa limite septentrionale à l'ouest d'Alger (Blida) et reçoit 600mm an sur le bord méridional de l'Atlas tellien, enfin jusqu'à 250mm / an, dans la plaine de Boughar – Boughezoul. Au sud du pays, le Bétoum reçoit seulement 70mm /an dans la région de Ghardaïa, au pied de l'Atlas saharien (Chraa, 1988). Dans la région occidentale de l'Algérie, le pistachier de l'Atlas se rencontre entre l'isohyète 511mm /an à Mascara et 325mm à Relizane. Le Bétoum craint l'humidité atmosphérique, l'aire saline et les irrigations abondantes.

1.5.1.2. Température

Le pistachier de l'Atlas a une grande amplitude thermique allant d'une température très basse de l'ordre de 5 °C parfois même à -12°C (Djelfa) jusqu'à une température très élevée de + 49 °C avec un maximum de 52°C, cependant les jeunes plants craignent les gelées fréquentes (Pesson et Louveaux, 1984).

1.5.2. L'altitude

Le pistachier de l'Atlas peut se développer jusqu'à 2000 m d'altitude dans les montagnes sèches (Atlas saharien). Par ailleurs, on note que le pistachier de l'Atlas se rencontre à une altitude de 45m dans la région (Belhadj, 2004).

1.5.3. Caractéristique édaphique

On rencontre le pistachier de l'Atlas dans les zones steppiques et sahariennes, dans les dayas, ou parfois on a l'affleurement de la croûte calcaire à la surface (Monjauze, 1980).

Cependant, il préfère les sols lourds, les pieds jeunes sont sensibles aux gelées et se développent sur les alluvions de plaines. Le calcaire n'affecte pas son développement (Abdelkrim, 1985 in Chaba et al. 1991). Elle préfère aussi les sols bien drainés.

Indifférent à la nature du sol, il peut occuper, dans son aire, des situations des plus extrêmes (Manjouze, 1980). En dépit qu'il croît sur tous les sols, il préfère les argiles et les limons (alluvions des dayas) (Monjauze, 1982; Quezel et Médail, 2003 in Harfouche et al.,

2005). Il tolère les conditions édaphiques les plus difficiles même alcalines et peut survivre sans irrigation (Onay, 2000; Karimi et al., 2009 in Rezaeyan et al., 2009).

1.6. Répartition dans le monde

Le pistachier de l'Atlas peuple de façon diffuse un territoire considérable centré sur les pays méditerranéens à saison sèche et chaude bien marquée (Fig.6). Il est le plus ubiquiste des arbres du Nord de l'Afrique et du Proche-Orient (Monjauze, 1980). L'aire géographique de cette espèce s'étale sur les canaries et les montagnes de l'Atlas dans l'Ouest jusqu'aux montagnes d'Afghanistan et l'Iran vers l'Est (Pourmajidian et Rezaeyan, 2009).

Le pistachie de l'Atlas est réparti naturellement dans les régions méditerranéennes, la mer noire, dans la région centrale d'Anatolie en Turquie (Kaska et Bilgen, 1988 in Kafkas, 2005), en Algérie, au Maroc, en Syrie, en Palestine, en Grèce et en Egypte (Browicz, 1988 in Kafkas, 2005; Kaska et al., 1996; Khaldi et Khouja, 1996; Sheibani, 1996 in Monastra et al., 1997).

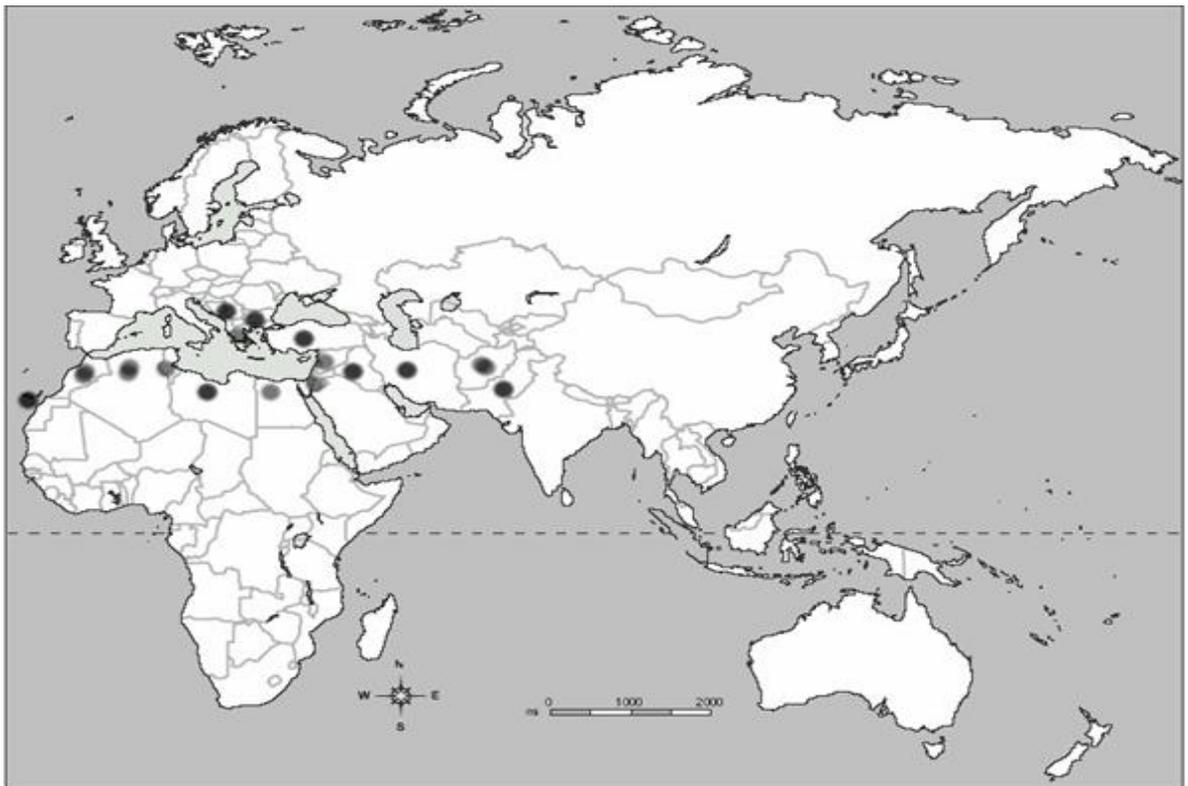


Fig.6. Répartition du pistachier de l'Atlas dans le monde (AL-Saghir, 2006).

1.7. Répartition du pistachier de l'Atlas en Algérie

Le plus caractéristique de la région présaharienne, c'est l'une des rares espèces arborescentes encore présente dans les régions semi-arides et arides, voire mêmes sahariennes. Sa limite extrême se trouve en plein cœur du Hoggar où il existe à l'état de relique (Monjauze, 1980 *in* Smail-saadoune, 2005).

En Algérie, il est recensé depuis la plaine Mitidja jusqu'à la région saharienne (Monjauze, 1980 *in* Belhadj, 2007). Comme le soulève Monjauze (1980 *in* Belhadj, 2004), il existe à l'état disséminé dans la région de Djelfa (Senalba, Ain Oussera, Messaâd), au sud de Laghouat et à Ghardaïa (oued M'zab). D'après Ozenda (1983), le pistachier de l'Atlas peuplait, jadis, la région située entre Laghouat et Biskra et une partie des hauts plateaux.

1.8. Importance écologique et économique du pistachier de l'Atlas

Le pistachier de l'Atlas sert de porte greffe pour le pistachier vrai (*Pistacia vera*). Son système racinaire, moins pivotant et plus vigoureux que celui du pistachier vrai, lui confère une bonne reprise à la plantation (Ait radi, 1979 *in* Chaba et *al.*, 1993). Il sert d'aliment pour la population (consommation de graines), de fourrage pendant la période estivale et de combustible (Chaba et *al.*, 1993; Chenoune, 2005).

Comme il est rustique, il sert de fixation des dunes (lutte contre la désertification) et dans la reforestation des régions arides (Belhadj, 2007; Belhadj et *al.*, 2008).

Le pistachier de l'Atlas produit une résine mastic (oléorésine), qui exsude d'une façon naturelle et abondante par temps chaud (Dogan et *al.*, 2003), cette résine est d'une odeur proche de la térébenthine, elle est utilisée en industrie photographique et en médecine dentaire, elle est également utilisée comme colle (Yousfi et *al.*; 2003 *in* Acheheb 2008). La résine du pistachier de l'Atlas est riche en huiles essentielles (32,6%) (barrero et *al.*; 2005) présentant un pouvoir antibactérien très intéressant surtout vis à vis *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

1.9. Association du pistachier de l'Atlas

Dans l'ensemble, le pistachier de l'Atlas se trouve en association avec les espèces suivantes : *Juniperus phoenicea*, *Quercus ilex*, *Olea europea*, *Anagyris foetida*, *Calycotome spinosa*, *Ceratonia siliqua*, *Rhamnus alaternus*, *Ziziphus lotus*, *Fraxinus excelsior*, *Stipa tenacissima*, *Ampelodesma mauritanicum*, *Anthemisarvensis*, *Galactitesto mentosa* (Benhassaini et *al.*, 2007).

1.10. Ennemis du pistachier de l'Atlas

Les pucerons provoquent des galles sur les feuilles du pistachier de l'Atlas . On en cite parmi les genres: *Geoica* (*Geoica mimeuri*, *Geoica swirskii*), *Slavum* (*Slavum wertheimae*), *Forda* (*Forda riccobonii*), *Fordini* (*Fordinisp.A*), *Smynthurodes* (*Smynthuro desbetae*) (Remaudierp et al ., 2004; Inbar et al., 2004 ; Inbar et kark, 2007 ; Inbar, 2008).

CHAPITRE 02 :

VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE

2.1 Diversité des espèces

Depuis très longtemps, l'observation a montré aux botanistes que les plantes appartenant à une même espèce ne sont pas exactement semblables les unes des autres. Linne reconnaissait déjà l'existence d'une telle variabilité mais l'interprétait, uniquement ou presque, en fonction de l'action du milieu. C'est donc à une époque récente, depuis la découverte des lois de Mendel vers 1900, que l'étude de la variation intra spécifique s'est trouvée pleinement justifiée pour finalement devenir la base des analyses taxonomiques et le support de toutes les considérations relatives au phénomène de l'évolution (Bidault, 1971 *in* Mehded ,2012).

2.1.1 Notion de l'espèce

Une espèce est un groupe de populations naturelles composées d'individus capables de se reproduire entre eux, mais incapables de se croiser avec des individus appartenant à d'autres groupes semblables (Raven et *al*, 2000)

Le concept biologique de l'espèce est apparue vers le milieu du 20 siècle, défini l'espèce comme étant un groupe de populations réellement ou potentiellement capables de se croiser et qui, du point de vue de la reproduction, est isolé dans la nature, des autres groupes ayant les mêmes propriétés. Selon Klug (2006),

Selon Guignard (2001), l'espèce est la collection des individus nés les uns des autres, ou issus de parents communs, et de tous ceux qui leur ressemblent autant qu'ils se ressemblent entre eux.

En pratique « les espèces biologiques » sont généralement identifiées essentiellement en fonction d'une estimation de leurs caractères morphologiques ou structuraux distinctifs. En fait, la plupart des espèces reconnues par les taxonomistes ont été désignées comme telles sur la base de critères anatomiques et morphologiques. Cette approche pratique est le concept morphologique de l'espèce.

Dans une perspective évolutive, une espèce est une population ou un groupe d'organismes unis d'un point de vue reproducteur, mais qui se modifie très probablement quand il se déplace dans l'espace et dans le temps (Raven et *al*, 2000).

2.1.2. Les subdivisions de l'espèce

- ✓ La sous espèce : principale subdivision de l'espèce. Certains botanistes utilisent le terme variété comme équivalent de sous espèce, on peut aussi diviser les sous espèces en variétés.
- ✓ La variété : groupe végétal ou animal inférieur à l'espèce, certains botanistes considèrent que les variétés correspondent aux sous espèces, d'autres les considèrent comme des subdivisions de la sous espèce.
- ✓ L'écotype : groupe d'individus de même espèce végétale caractérisée par une adaptation à des facteurs écologiques donnés. Les caractéristiques anatomiques et physiologiques particulières de ces écotypes du milieu (Lüttge et al, 1997).

2.1.3 Notion de caractère

Un caractère taxonomique est l'ensemble ou une partie des traits ou propriétés d'un végétal susceptibles d'être soumis à une mesure ou de recevoir un qualificatif permettant des comparaisons avec les mêmes traits ou propriétés d'un végétal. La mesure ou la qualification d'un caractère ainsi défini permettant d'en indiquer les états ou les valeurs (Bidault ,1971).

2.1.4. Les principaux types de variation

Quel que soit la nature des caractères envisagés, trois types de variations sont distingués.

- ✓ Une variation individuelle affectant les diverses parties d'un individu à un moment donné ;
- ✓ Une variation affectant les mêmes parties à des moments différents ;
- ✓ une variation à l'intérieur d'une unité systématique qui distingue les populations d'une unité taxonomique (Bidault, 1971).

2.3. La diversité génétique

La diversité génétique joue un rôle primordial dans l'évolution des essences forestières. Cette diversité a permis aux arbres et aux forêts de s'adapter, depuis des millénaires, aux changements et aux conditions défavorables, accumulant un stock unique et irremplaçable de ressources génétiques forestières.

La diversité génétique est la variation (le niveau de similarité ou de différence dans la composition génétique) qui existe au niveau des gènes d'un individu, d'une population, d'une espèce ou d'une communauté. Plus une population ou une espèce est diversifiée génétiquement, plus certains de ses membres arrivent à s'adapter aux modifications survenant dans l'environnement. Il est donc important de comprendre les mécanismes de création et de maintien des formes diverses observées dans la nature. Les études concernant la diversité génétique ont le potentiel de contribuer à l'avancée de nos connaissances en de nombreux domaines comme la biologie de la conservation (Duminel, 2006).

2.3.1. L'interaction génotype et milieu

Le phénotype d'un individu est déterminé par son génotype et l'environnement. On parle d'interaction entre ces deux, lorsque différents génotypes répondent différemment à un changement d'environnement (Sheridan, 1990 *in* Mignon-Grastreau, 2007). Le génotype peut être une souche, une race ou une lignée, mais également un individu au sein d'une même population ou la présence d'un gène particulier (Mignon-Grastreau, 2007). En effet, on dit qu'il y a interaction génotype x milieu lorsqu'une condition de milieu affecte différemment les génotypes comparés et que l'écart entre les génotypes n'est pas le même selon les conditions de milieu.

La diversité génétique globale d'une espèce peut se décomposer en deux niveaux : la diversité présente à l'intérieur de chaque population et le degré de différenciation entre populations. Diversité et différenciation peuvent se mesurer au niveau de l'ADN ou à travers la quantification de la variance entre phénotypes pour différents caractères. (Brachet *et al* ; 2006, Dajoz ; 2008).

2.4. Méthodes d'analyse de la variabilité génétique

Les généticiens des populations ont très tôt convenu que la meilleure manière de décrire la variabilité génétique présente au sein d'une espèce est de la diviser entre la fraction présente au sein d'une population et celle rencontrée entre les populations de l'espèce (Wright, 1978 in Parizeau, 1997). Quand la mesure de la variabilité génétique est basée sur la variation phénotypique, le biologiste a recours aux techniques statistiques traditionnelles d'analyse de la variance pour estimer l'importance relative de la variabilité intra et inter populations (Scheffe, 1959 in Parizeau, 1997). Si la mesure est basée sur l'étude du matériel génétique lui-même ou sur ses produits directs, la variabilité intra populationnelle est généralement représentée par trois indices numériques, le pourcentage des gènes étudiés qui sont variables dans la population, le nombre moyen d'allèles différents recensés pour chaque gène et taux d'hétérozygotie (Hart et Clarck, 1989 in Parizeau, 1997).

Selon Parizeau (1997), il existe trois grandes approches pour quantifier la variabilité génétique intra spécifique. La première approche phénotypique souvent utilisée, car elle est simple, rapide et peu onéreuse. C'est aussi la seule méthode généralement applicable à l'étude d'espèces éteintes ou de populations anciennes dont subsistent des spécimens fossiles ou naturalistes. Une seconde approche indirecte pour mesurer la variabilité génétique est l'analyse de la variabilité enzymatique (Sneath et Sokal, 1973 in Parizeau, 1997). On étudie ici des protéines qui sont des produits relativement directs de la transcription du matériel génétique. La troisième approche est l'analyse directe de la variabilité génétique, elle consiste à établir la séquence des nucléotides qui, assemblés par centaines de façon linéaire, forment un gène (Hillis et Larson , 1990 in Parizeau, 1997). Cette approche directe est de plus en plus régulièrement utilisée bien que les techniques employées soient coûteuses et lentes, et qu'elles exigent des équipements spécialisés ainsi qu'un personnel qualifié. Il existe aussi des façons

d'analyser le matériel génétique lui-même sans déchiffrer l'ensemble des nucléotides. Les méthodes les plus répandues sont l'analyse des sites de restriction (RFLP) et l'hybridation de l'ADN (Dowling et Moritz, 1990 in Parizeau, 1997). Ces méthodes sont moins onéreuses, mais aussi moins précises, que le séquençage. Elles ont été des méthodes de choix jusqu'à très récemment, quand l'apparition de la technique d'amplification en cascade (PCR) et une diminution de coût ont rendu le séquençage plus intéressant (Parizeau, 1997).

2.5. Polymorphisme de plante

Le polymorphisme est une caractéristique étudiée pour différencier des populations d'organismes, cibler des populations naturelles pour en apprécier les relations et donc les distances génétiques ou déterminer l'écotype (Bertheau *et al.*, 1993). Il existe de nombreux types de polymorphismes dont les critères utilisés peuvent être phénotypiques, biochimiques ou moléculaires.

2.5.1. Polymorphisme morphologique

Ce polymorphisme porte sur des détails de la morphologie. Les caractères morphologiques sont très importants et révèlent de la caractérisation. Ils peuvent être influencés par des facteurs environnementaux et comprennent d'une part des mesures biométriques portant sur la plante (taille et nombre...etc.) et d'autre part des données qualitatives (couleur et forme...) (Gharnit *et al.*, 2004).

2.5.2. Polymorphisme biochimique

Ce polymorphisme touche les molécules protéiques. On distingue, le polymorphisme enzymatique où une même enzyme existe dans les individus de populations sous des formes moléculaires distinctes. Ces derniers correspondent à autant d'allèles du gène de structure de l'enzyme (Yahiatene, 2000).

2.5.3. Polymorphisme chromosomique

Ce polymorphisme peut être dû à une variation du nombre des chromosomes soit à un changement de leur structure (Yahiatene .2000).

2.5.4. Polymorphisme moléculaires

Il est détecté par des marqueurs moléculaires constitués d'acides nucléiques et utilisés dans le domaine de la connaissance du génome (Konate, 2007).

2.6. Marqueurs moléculaires

Un marqueur moléculaire est un locus génétique qui renseigne sur le génotype de l'individu, ou sur le génotype des locus voisins. Les marqueurs moléculaires permettent de caractériser des gènes spécifiques, des gènes étrangers, des gènes liés à certaines maladies, des gènes liés au sexe. Il existe plusieurs types de marqueurs moléculaires tels que RFLP, RAPD, Microsatellites ou SSR, ISSR et AFLP (Konate, 2007).

Les marqueurs dominants comme RAPD et ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) ont été très utilisés dernièrement dans des études moléculaires. Ces marqueurs, devenus une alternative aux isozymes, sont spécialement attractifs, étant donné leur hyper variabilité, notamment, le grand nombre de loci exploités et la petite quantité de matériel biologique requise pour leur mesure (Lynch *et* Milligan, 1994).

CHAPITRE 03 :

HUILES ESSENTIELLES

ET RÉSINE

Introduction

Les plantes aromatiques appartiennent à la fois au domaine des plantes médicinales et des matières premières industrielles d'origine végétale, et constituent des sources de substances naturelles complexes qu'on appelle les huiles essentielles. Ces huiles sont utilisées en thérapeutique depuis des siècles, mais ce n'est que récemment que des recherches scientifiques sont menées à leur sujet.

3.1. Définition d'une huile essentielle

C'est une substance de nature volatile, car les molécules qui la constituent s'évaporent plus ou moins rapidement pour se déplacer dans l'air (Buronzo, 2012), c'est pourquoi il est nécessaire de la conserver correctement à fin qu'elle garde intact son principe actif. Ces liquides réfringents, optiquement actifs, voisins des huiles sont d'odeurs tout à fait caractéristiques. Se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produit du métabolisme secondaire.

3.1.1. Répartition systématique

D'après Buronzo (2012), sur terre, seulement environ 10% des espèces végétales répertoriées sont classées plantes aromatiques extraites des Huiles essentielles appartenant aux diverses familles, parmi elles :

- Les conifères : sapin, pin, cèdre
- Les apiacées : aneth, angélique, le fenouil, le cumin...
- Les astéracées : les achillées, l'armoise, la camomille...
- Les lamiacées : la lavande, le romarin, la menthe...

3.1.2. Synthèse et localisation

La partie dont là quelle la plante extraite les H.E est très diversifier, elle peut être la plante entière comme elle peut être une partie d'elle comme l'écorce, la feuille, les tiges, les racines, les fruits, les rhizomes... (Festy, 2008)

On générale ses gouttes minuscules aromatiques se forment dans les chloroplastes des feuilles ou s'effectue la photosynthèse (Buronzo, 2008), au niveau du cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent dans les cellules glandulaires spécialisées situés en surface d'elles et recouvertes d'une cuticule. Elles sont soit stockées dans une cellule transformée en cellule à essence, ou dans des poils

glandulaires, des poches sécrétrices, des canaux sécréteurs voire des papilles, qui peuvent être transportées dans l'espace intracellulaire lorsque les poches sont localisées dans les tissus internes : comme le cas des rhizomes de fougère mâle (Teuscher *et al.*, 2005).

Les huiles essentielles ne sont jamais les mêmes, chaque huile est unique puisque chaque plante à ses caractéristiques climatiques et édaphiques... qui la rend déférente aux autres. Même au sein d'une plante l'huile provenant de l'écorce et de la feuille n'auront pas les mêmes propriétés et aussi le même nom (Festy, 2008).

3.1.3. Le rôle des huiles essentielles au niveau des plantes

Les plantes survivent grâce à leurs huiles essentielles , étant donné qu'elles ne peuvent se déplacer pour se mettre à l'abri, il devait inventer un système de défense pour une protection extrêmement efficace : antibiotique, antisolaires..., ce sont les Huiles essentielles qui servent à séduire les insectes pollinisateurs, servent aussi à réguler la température à l'intérieur de la plante lui permettant ainsi de mieux supporter la chaleur, ainsi que de se protéger des brûlures solaires, des maladies et des prédateurs et enfin permettre des guérissons à la fois des blessures et d'autres attaques diverses...) (Festy, 2008 ; Lisan, 2014)

3.1.4. Caractères physico-chimiques

Selon Festy (2008), les huiles essentielles sont des liquides huileuses mais pas grasses, s'évaporent rapidement possédant des odeurs, certaines sont particulièrement épaisses (visqueuses) et d'autres foncées de couleur variable du jaune au bleu, rouge, joli vert pâle et vert émeraude .Ce sont des essences très légères que l'eau non miscible avec lui, liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels.

Selon Teuscher *et al* (2005), la composition d'une huile essentielle est très complexe, les méthodes analytiques modernes rendent possibles la détection, l'identification. Jusqu'à présent, plus de 3000 constituants ont été isolés à partir des huiles essentielles.

Buronzo (2008) les a nommées : des carbures monoterpéniques acycliques ou cycliques, des aldéhydes et des alcools monoterpéniques ainsi des hydrocarbures sesquiterpéniques, des alcools sesquiterpéniques, des cétones et des époxydes

sesquiterpéniques. Parallèlement à ces terpènes existe également des phénols, des asters et les acides.

Ajoute Teuscher et *al* (2005), que les gouttelettes des huiles essentielles sont entourées de membrane spéciale constituées d'esters d'acide gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur lipophilie et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air.

3.1.5. Propriétés générales des huiles essentielles

Les plantes aromatiques forment des huiles essentielles qui ont des propriétés très variés à effet médicinal (Frantšek, 1992). Ces huiles sont capables de lutter contre toutes sortes d'agents pathogènes en plus de leur effet anti-inflammatoire ainsi que leur rôle de régulateur d'action des organes (Lefiel, 2012).

Ils ont également des propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques par l'inhibition de la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures et la stérilisation des cultures.

Par ailleurs les huiles essentielles ont des propriétés antivirales, cicatrisantes, circulatoires, digestives, antiparasitaires en permettant la régulation métabolique et l'action antispasmodique. Elles sont généralement à l'état homogène liquide à température ambiante sauf quelques-unes qui se présentent sous l'état solide (anis, fenouil, menthe de japon....)

Quantitativement, les teneurs en huiles essentielles sont faibles parfois très faibles, leur ordre varie de 0, 1% à 1%, ce qui explique le coût élevé de l'huile essentielles, à l'exception de quelque uns comme par exemple le clou de girofle qui renferme plus de 15% d'essence. L'indice de réfraction et leur pouvoir rotatoire sont généralement élevés, et la plupart devient à la lumière polarise, et sont plus souvent optiquement actives car elles sont contenus des molécules asymétrique. Elles sont très sensibles à l'oxydation et ont également tendance à se polymériser pour former des produits résineux. Dans l'air c'est des propriétés désodorisantes et purifiantes. ce sont les seules alternatives aux antibiotiques (Buronzo, 2008 ;Festy, 2008).Teuscher et *al*,

2005, les huiles essentielles des arômes fascinant et particulièrement raffiné, rehausser la saveur des plats.

3.1.6. Domaine d'application des huiles essentielles

Frantšek (1992) et Wilson (2010), montrent que ces dérivés des plantes aromatiques sont d'une grande importance économique comme ils sont commercialisés, on les emploie dans l'industrie pharmaceutique, la médecine, industries alimentaires, cosmétologie, en parfumerie, en aromathérapie et gastronomie.

Les Huiles essentielles ont un gain dans l'industrie alimentaires puisqu'elles sont des substances bio rien que bio, elles sont utilisées dans la conservation des aliments ça est dus à leur vertu antimicrobienne importante contre plusieurs agents pathogènes tel que les moisissures...utilisé aussi comme arômes alimentaires pour enrichir le goût ainsi la couleur des aliments.

3.2. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les végétaux renferment à l'intérieure de leurs cellules des essences, des sécrétions naturelles que l'on extrait pour obtenir les Huiles essentielles. Il existe plusieurs méthodes d'extraction qui se pratiquent selon la partie choisie du végétal (Buronzo, 2008). Parmi ces procédés les plus importants sont :

3.2.1. La distillation (hydro distillation)

C'est le procédé le plus ancien et le plus utilisé, nécessite l'emploi de trois cuves reliées par de minces tubes. Les parties choisies de la plante sont placées dans une première cuve, traversée par la vapeur d'eau qui se charge au passage des huiles, elle se passe à la deuxième cuve. Ensuite, la vapeur se refroidit et se condense en passant dans un compartiment pour arriver dans la troisième cuve où elle redevient liquéfiée (eau et essence), et les huiles se désolidarisent séparées de l'eau puisqu'elles sont légères et flottent en surface gardant ses propriétés on les récupère après par la décantation. le temps de la distillation varie selon l'essence concernée, cette méthode nécessite des températures élevées qui ne conviennent pas toujours aux fleurs plus fragiles. (Buronzo,2008 ; Festy,2008 ; Wilson,2014).

2.2.2. L'expression

Appelée aussi « pression à froid » ou « grattage », c'est un procédé très simple presser la partie de la plante concernée pour en récupérer les essences. Il est principalement utilisé pour les écorces d'agrumes qui renferment une quantité importante d'huile essentielle cette opération mécanique vise à éclater les minuscules vésicules, les poches à essence, et pour pouvoir ainsi recueillir un mélange d'essence et d'eau. Dans le cas des agrumes on parle d'essence et non pas d'huile essentielle, car aucune modification chimique liée à des solvants ou à la vapeur n'a eu lieu (Buronzo, 2008 ; Festy, 2008 ; Wilson, 2014).

3.2.3. L'enfleurage

C'est une ancienne méthode manuelle des essences, très coûteuse et complexe. Son principe est de disposer les plantes à température ambiante sur des plaques de graisse ou corps gras purifiés ont pour but d'absorber le parfum. Une fois la plaque bien imprégnée, la matière grasse sera séparée de l'huile essentielle à l'aide d'un solvant tel que l'alcool. Cette méthode pratiquée essentiellement pour les huiles essentielles fragiles, elle n'est plus tellement utilisée de nos jours mais les huiles essentielles obtenues par elle sont de grande qualité (Buronzo, 2008; Beneteaud, 2011).

3.2.4. L'extraction par solvant

Cette méthode est pratiquée au niveau industriel, consiste à dissoudre les essences dans un solvant volatil et non pas dans l'eau tel que le benzène et l'éthanol. Elle est utilisée pour les fleurs délicates qui ne supportent pas la chaleur de la distillation, après macérées dans le solvant, se charge des molécules odorantes en dissolvant les composantes parfumées des plantes. Pour récupérer l'huile essentielle on élimine le solvant par évaporation. On obtient ce qu'on appelle la concrète, un parfum cireux, demi solide.

Après un lavage à l'alcool, dans des batteuses pour séparer les cires végétales, un filtrage et une distillation, la concrète donnera l'absolue ou l'essence d'absolue, très prisée des parfumeurs. L'intensité et la finesse de son parfum est incomparable, c'est l'essence la plus coûteuse. L'huile essentielle obtenue peut garder des traces du solvant utilisée dans l'opération (2 ou 3%), l'huile essentielle est utilisée on

parfumerie, pas en thérapeutique. Le résultat est appelé absolu. (Buronzo, 2008 ; Festy, 2008 ; Wilson, 2010 ; Beneteaud, 2011).

3.2.5. L'extraction par CO₂ supercritique

Il s'agit d'une technique moderne, très coûteuse : du dioxyde de carbone à haute pression est employé pour faire exploser les poches végétales contenant l'essence qu'il est possible de les récupérer. (Buronzo, 2008, Teuscher et al., 2005) passant dans un courant de gaz carbonique supercritique (intermédiaire entre l'état gazeux et liquide) à température basse, moins de 40° C et sous pression élevée, plus de 75 bars. Cette méthode a beaucoup d'avantages, elle est propre, respecte l'environnement, préserve la qualité même de l'essence dans l'état exacte dans la nature, permet d'obtenir un huile essentielle complète (Festy, 2008, Beneteaud, 2011).

3.2.6. L'extraction par entraînement à la vapeur sèche

Pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse sur des composants de l'huile essentielle ou des réactions chimiques pouvant altérer les résultats, les techniciens ont mis au point le procédé de l'entraînement à la vapeur sèche. Basée sur le principe suivant :

Dans la cuve, la masse végétale repose sur une grille vers laquelle la vapeur sèche est pulsée, les cellules se distendent et les particules d'essences se libèrent. Ces dernières sont alors vaporisées et décondensées dans le serpentin réfrigéré et la récupération de l'huile essentielle est la même que dans le cas de l'hydro- distillation.

3.3. Les résines

Les matériaux naturels organiques peuvent être classés suivant leurs propriétés chimiques ou physiques, comme leur point de fusion, leur dureté, leur solubilité dans divers solvants, etc. (Perego, 2005). Ces propriétés renvoient directement à l'utilisation qui en est faite et aux techniques de mise en œuvre. En effet, pour les résines par exemple, celles contenant beaucoup de molécules volatiles et odorantes comme l'élémi, l'oliban ou encore la myrrhe sont utilisées en tant qu'encens et ont aussi des propriétés médicinales (Langenheim, 2003). D'autres sont essentiellement utilisées pour les vernis, certaines relativement dures comme le copal Congo servent à l'épaissir, à le rendre plus consistant et d'autres comme les oléorésines (térébenthine) sont plutôt molles, et apportent au vernis souplesse et élasticité .

3.3.1. Origine et composition chimique des matériaux

Les résines et les gommes sont des sécrétions dues à des incisions ou blessures au niveau de l'écorce du végétal qui sont par la suite récoltées.

Les résines sont formées majoritairement de composés appelés les terpènes, dont certains sont volatils, et également d'une section colorante. Ces composés terpéniques consistent en la répétition d'unités d'isoprène (C5) de façon linéaire ou cyclique, et se classent suivant différents groupes :

- monoterpènes en C10
- sesquiterpènes en C15
- diterpènes en C20
- sesterterpènes en C25
- triterpènes en C30
- carotènes en C40
- polyisoprènes en (C5)n

3.3.2. Les résines diterpéniques

Les résines diterpéniques possèdent trois squelettes types principaux : l'abiétane et le pimarane tricycliques, principalement acides, et produits uniquement par des conifères, ainsi que le labdane bicyclique produit par des conifères et des angiospermes. (Daher, 2012)

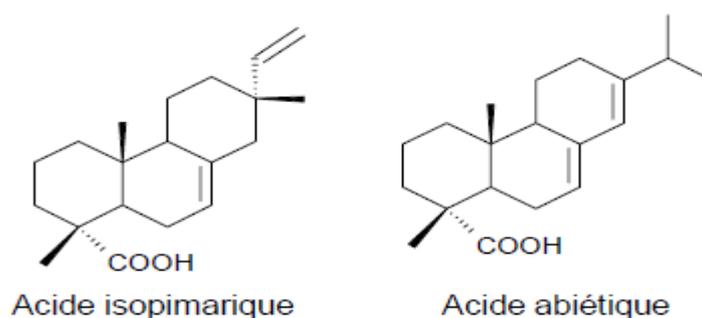


Fig .7 : Composés majoritaires des résines diterpéniques .

3.3.3. Les résines triterpéniques

Les triterpènes sont pour la plupart tétra- (type euphane, dammarane) ou pentacycliques (type oléane, lupane, ursane). Parmi les résines triterpéniques, trois

proviennent d'arbres de la famille *Burseraceae* : l'élémi, l'oliban et la myrrhe. L'élémi provient d'arbres du genre *Caranium* et ses composés majoritaires sont les alcools α -et β -amyrine (type ursanane et oléanane), et l'acide α -élémiqique basé sur le squelette type euphane. L'oliban provient de plantes du genre *Boswellia* et a pour composés majoritaires les acides α - et β -boswelliques et leurs dérivés acétylés basés sur le squelette type oléanane ainsi que l'acide lupéolique (type lupane). La myrrhe provient d'arbres du genre *Commiphora*, avec un mélange complexe de triterpènes dont les alcools α - et β -amyrine. Ces deux dernières résines contiennent une quantité non négligeable de gomme (polysaccharides) et sont souvent chimiquement confondues (Edwards et Falk, 1997).

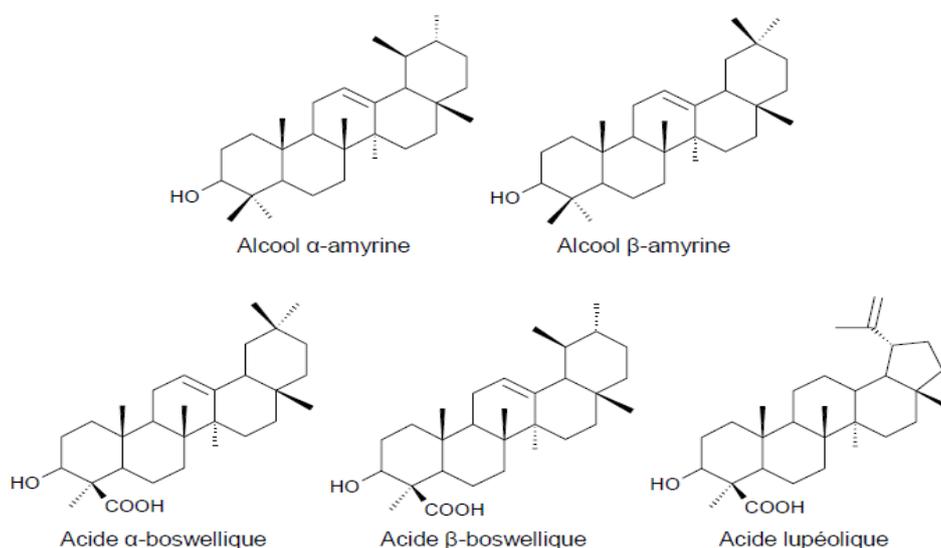


Fig .8 : Composés majoritaires des résines triterpéniques .

Deux autres résines triterpéniques sont mastic provenant d'arbres du genre *Pistacia* (famille des *Anacardiaceae*) avec pour composés les acides masticadiénonique (squelette type euphane), oléanonique et moronique (squelette type oléanane) ; et le dammar issu d'arbres de différents genres en fonction de la localisation géographique (famille des *Dipterocarpaceae*) qui a pour biomarqueurs l'acide dammarénolique et l'acide ursonique (respectivement type dammarane et ursane).

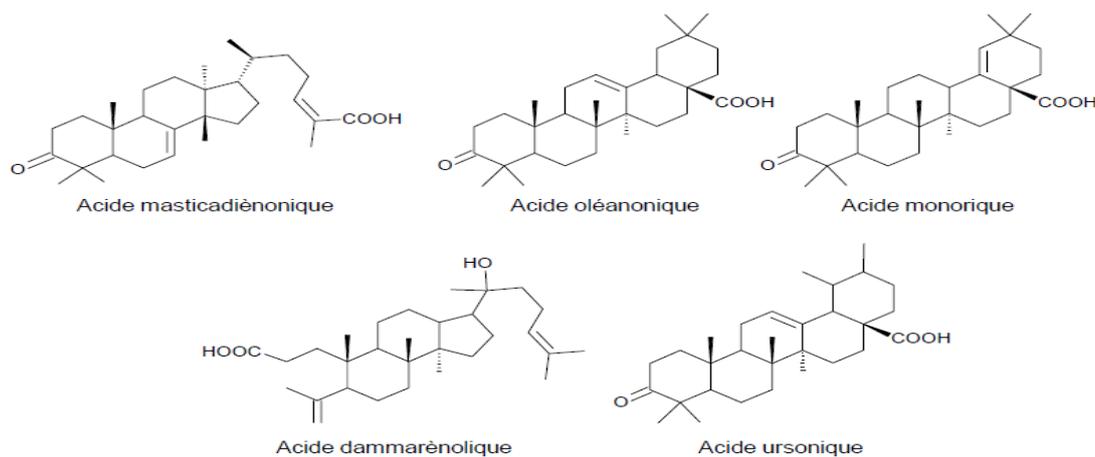


Fig.9: composés majoritaires du mastic et du dammar

3.3.4. Les gommes-laques

La dernière classe de résines est celle des gommes-laques. Elles sont formées de composés aliphatiques : les acides aleuritique et butolique ; ainsi que d'acides cycliques dérivés des sesquiterpènes comme par exemple l'acide jalarique. Elles sont relativement riches en composés colorants de type anthraquinones. Elles sont très souvent traitées après récolte avec notamment une étape de « décirage » plus ou moins appliquée en fonction du rendu désiré (Daher, 2012).

PARTIE 2 :

RECHERCHE

EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE 4 :

ZONE D'ÉTUDE

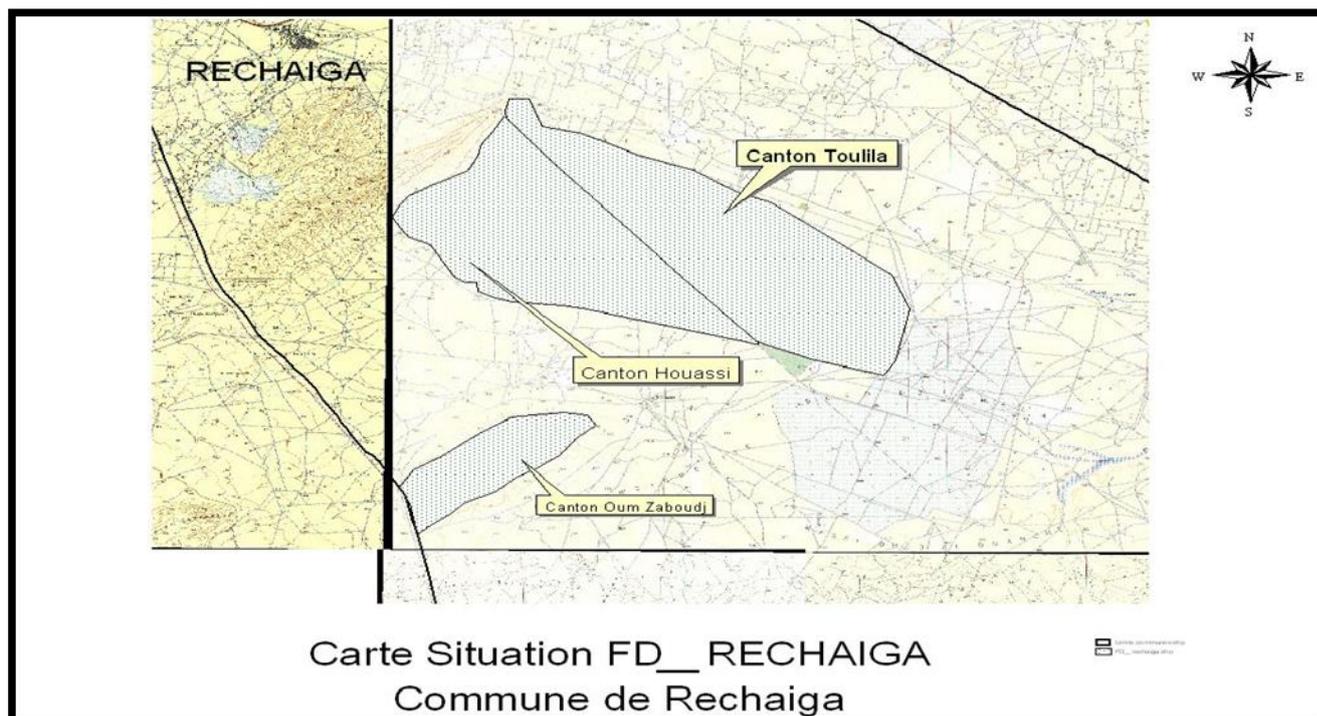
4. Zone d'étude

Située au nord-est du Nador et d'une superficie de 6986 ha, la forêt domaniale de Rechaiga est formée de trois cantons: Touilila, Oum Zeboudj et Houassi (Fig.10). Le canton Houassi est celui ayant fait l'objet d'étude d'inventaire du pistachier de l'Atlas. La zone d'étude relève du district de Rechaiga de la circonscription de Mahdia, soit de la conservation des forêts de la wilaya de Tiaret.

Le canton Touilila, d'une superficie de 2976 ha, disposait, si l'on se réfère à Boudy (1955), de moins de 40 pistachiers sur toute la superficie. Actuellement, on n'y recense nullement du pistachier de l'Atlas. Le canton Touilila, étant contigu au canton Oum Zeboudj, forment ensemble une véritable « daya ».

Le Canton Oum Zeboudj, d'une superficie de 1741 ha, est dans l'ensemble dénudé sur toute la superficie.

Le canton Houassi, de 2539 ha comprend au moins 2000 pistachiers sur toute la superficie et des sujets de jujubiers buissonnants et rabougris (Boudy, 1955). Il est situé à 6 km au sud-est de la commune de Rechaiga.



E : 1/50000

Fig.10 : Carte de situation de la zone d'étude «canton El Houassi»

(Source: Conservation des forêts de la wilaya de Tiaret, 2011)

4.1. Relief

D'une altitude moyenne de 820 m, le relief, non accidenté à toutes expositions, présente une pente de 0 à 5% (Mauvezy, 1951).

4.2. Sol

Au niveau du canton Houassi, on relève la présence d'un sol de nature sableuse avec calcaire superficiel (Mauvezy, 1951).

4.3. Géologie

On recèle la présence des systèmes géologiques appartenant aux différentes ères géologiques : Trias, Jurassique, Crétacé, dépôt de Miocène, Pliocène et Quaternaire.

4.4. Richesse faunistique et floristique

Au niveau de la zone d'étude, on recense une diversité faunistique et floristique. La faune est représentée par des oiseaux (Moineaux, Outarde, Tourterelle, Faucon, Perdrix gamba), des herbivores (lapin, lièvre), des carnivores (chacal, renard, chouette), des insectivores (hérisson, tortue) et des reptiles (serpent, vipère).

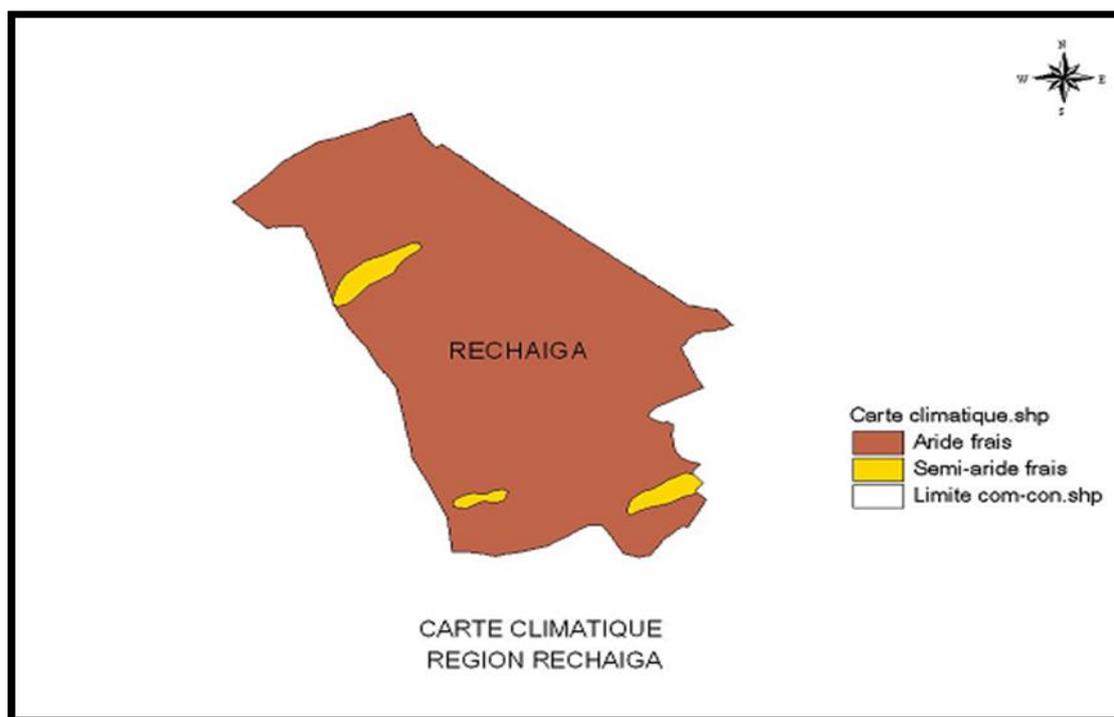
Quant à la flore, en dépit de l'aridité du climat et de l'action anthropique, on y recense au niveau du canton une diversité végétale. L'association végétale « *Pistacia atlantica* et *Ziziphus lotus* » forme la végétation principale. On y recense des plantations de *Pinus halepensis*. Le cortège floristique au sein du peuplement est représenté par *Thymella hirusata*, *Noea micronata*, *Peganum harmala*, *Bronus rubence*, *Artemisia herba alba*,

4.5. Climat

Le climat représente le facteur déterminant fondamental de la distribution des organismes, dont l'influence s'exerce et peut être perçue à toutes les échelles d'observation de la biosphère (Guinier, 1995; Lacoste et al., 2006).

Dans le but de pouvoir caractériser le climat d'une station ou d'une localité, nombreux indices, formules et expressions graphiques ont été proposés. Ces diverses formulations font toutes intervenir températures et précipitation comme variables principales (Lacoste et al., 2006).

La zone de Rechaiga se caractérise par un climat de type méditerranéen, contraste avec une saison estivale sèche et chaude alternante avec une saison hivernale pluvieuse, fraîche voire froide (Fig.11). Les précipitations enregistrées, plus faibles, présentent une grande variabilité inter-mensuelle et interannuelle. Les régimes thermiques sont relativement contrastés de type continental.



E : 1/15000

Fig. 11 . Carte climatique de la zone d'étude « Rechaiga »

(Source: Conservation des forêts de la wilaya de Tiaret, 2011)

Pour pouvoir identifier le climat de la zone d'étude, nous nous sommes référés aux données climatiques enregistrées par la station météorologique de Ksar Chellala pendant la période **2000-2010**. La différence altitudinale entre la zone d'étude et celle de la station météorologique est de 11 m.

4.5.1. Précipitations

La concordance relativement étroite qui se manifeste, à l'échelle du globe, entre pluviosité générale et répartition des grands biomes, suffit à démontrer l'importance du facteur eau sur la distribution des organismes (Lacoste et *al.*, 2006).

Les précipitations enregistrées durant la période 1990-2009 font l'objet de présentation du tableau .1.

Tableau.1 : Précipitations mensuelles moyennes enregistrées dans la station de Ksar Chellala durant la période 1990-2009.

Mois	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Précipitations (mm)	21.4	18.2	24.7	22.7	31.8	10.6	8.7	9.6	40.5	32.9	19	23

4.5.2. Températures

Les températures enregistrées dans la station de Ksar Chellala, durant la période 1999-2009, sont relevées dans le tableau .2.

Tableau.2 : Températures mensuelles moyennes enregistrées dans la station de Ksar chellala durant la période 1990-2009.

Mois	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Températures (°C)	7.45	8.5	12.15	14.55	19.5	25.45	29.5	28.55	18.85	18.25	12.2	18.15

Comme le montre la figure.12, les périodes sèche et humide de la zone d'étude sont déterminés à travers le diagramme ombrothermique de GAUSSEN établi à partir des données de précipitations et de températures.

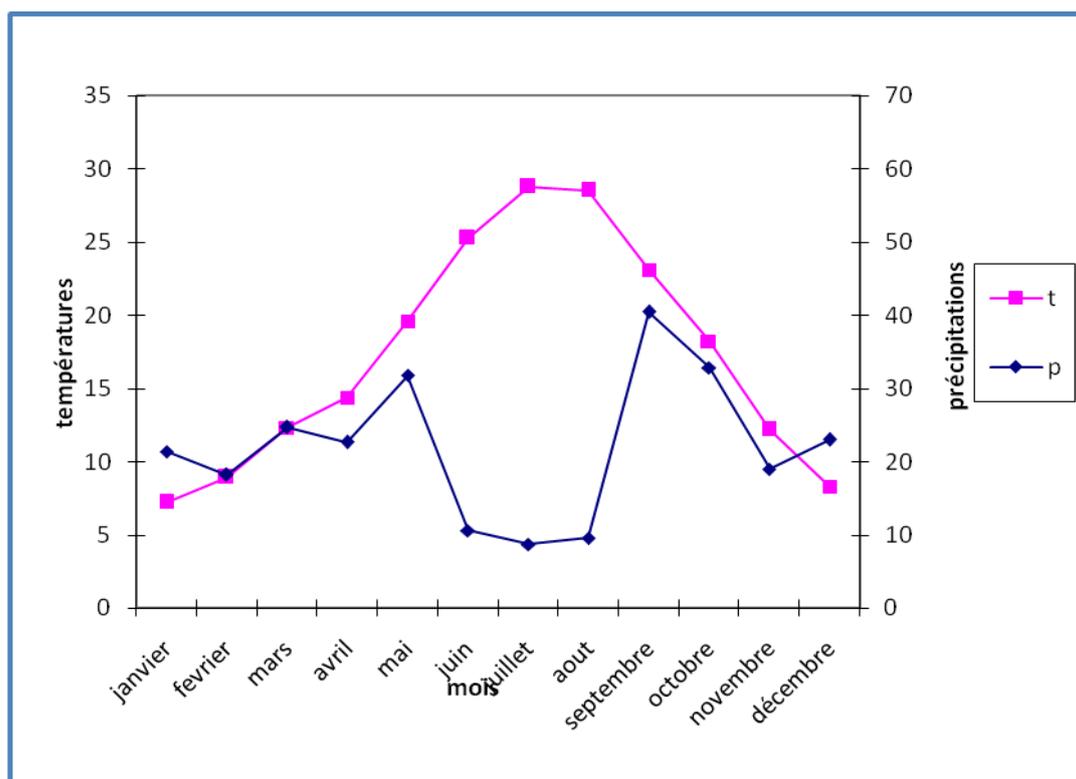


Fig.12 .Diagramme ombrothermique de la zone d'étude

A travers le tracé du diagramme ombrothermique de la zone d'étude (Fig.12), il en ressort que la période sèche s'étale essentiellement du mois de Mars jusqu'au mois de Novembre de l'année. Les températures les plus basses y sont enregistrées au courant des

mois de janvier et février, alors que les températures maximales durant les mois de juillet et d'août.

L'étage bioclimatique de la zone d'étude est déterminé sur la base du quotient pluviométrique d'EMBERGER « Q₂ » (Guinier, 1995)

$$Q_2 = \frac{(100 * P)}{(M^2 - m^2)}$$

Avec : -**P** : Précipitation annuelle;

-**M** : température moyenne des **Max**imas du mois le plus chaud;

-**m** : température moyenne des **min**imas du mois le plus froid;

-**Q₂** : Quotient d'EMBERGER.

Par application numérique à la zone d'étude, la valeur de Q₂ est égale à 18.99. Dès lors, la zone d'étude est retenue être soumise à l'étage bioclimatique aride à hiver froid (Fig. 13).

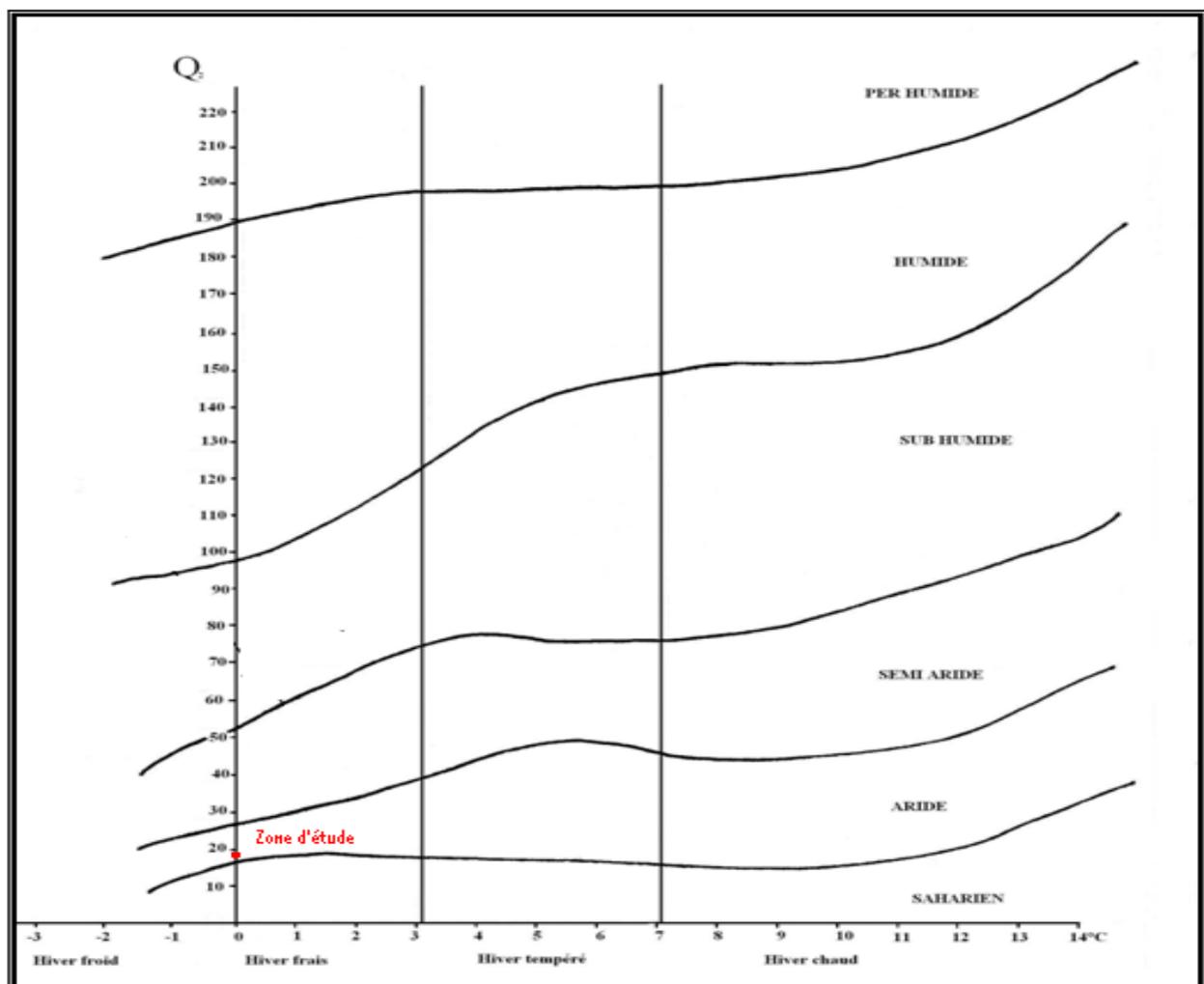


Fig.13. Localisation de la zone d'étude dans le climagramme d'EMBERGER

4.6. Actions anthropiques

La zone d'étude est soumise à des actions anthropiques jugées sévères. Coupes illicites, surpâturage répété, labours et campements sont les principaux facteurs de destruction et de dégradation des végétaux.

Le pâturage, quoiqu'il s'agit d'une activité pouvant être tolérée en forêt, il n'en demeure que les passages répétés du bétail demeurent l'une des causes de dégradation des écosystèmes forestiers et de l'appauvrissement de la biodiversité. La pistacheraie est soumise à un pâturage sévère et répété. Par ailleurs, les tiges de pistachier de l'Atlas de moins de 1.50 m de haut sont entièrement soumises à la dent du bétail.

Des coupes illicites y sont enregistrées à travers la forêt en particulier dans la zone d'étude. Ces coupes sont pratiquées par les riverains sans autorisation de l'administration forestière.

Des labours y sont fréquemment signalés. Ils demeurent la pratique de la population nomade sédentaire sur des terres ne faisant nullement leurs propriétaires juridiques.

Si l'on se réfère à l'administration forestière de la circonscription de Mahdia, les opérations illicites enregistrées durant les cinq dernières années, soit au courant de la période 2007-2011, sont de natures diverses: campement, coupes, labours et pacages. Le Tableau.3 et permet de mieux visualiser cette situation.

Tableau.3 : Délits signalés enregistrés au niveau de la forêt domaniale de Rechaiga durant la période 2007-2011.

année	Délits							
	Campement		Pacage		Labour		Coupe	
	Nombre	dommage	Nombre	dommage	Nombre	dommage	Nombre	dommage
2007	09	90.000 m ²	04	146 ha	16	57.1 ha	-	-
2008	-	-	03	31 ha	08	27 ha	-	-
2009	03	30.000 m ²	19	207 ha	23	56 ha	02	35 tiges
2010	03	30.000 m ²	41	739 ha	24	70 ha	01	11 tiges
2011	-	-	03	46 ha	-	-	-	-

CHAPITRE 05 :

MATÉRIEL ET MÉTHODES

5.1. Objectif

L'objet de cette étude consiste à valoriser un peuplement naturel de pistachier d'Atlas situé dans la région de Rechaiga, cette valorisation est basé sur l'étude du polymorphisme morphologique des feuilles et fleurs (quantitatif et qualitatif) et anatomique, ainsi que l'étude de l'effet antibactérien des huiles essentielles extraites à partir des feuilles de cette espèce. La résine extraite à partir des arbres de cette espèce a fait l'objet d'une caractérisation par spectrophotométrie de type RAMAN.

5.2. Etude de la variabilité morphologique des feuilles

5.2.1. Choix du type d'échantillonnage

Dans le but d'entreprendre une étude rationnelle et objective, un choix de type d'échantillonnage s'avère être d'un intérêt indéniable. Suite à une recherche préalable dans la littérature forestière, la méthode d'échantillonnage retenue est celle de l'échantillonnage subjectif.

Dans le cadre de ce type d'échantillonnage, les individus sont choisis parce qu'ils paraissent typique et représentatifs à l'observateur d'après son expérience (Gounot, 1969).

5.2.2. Caractères étudiés

Les caractères étudiés se rapportent aux aspects morphologiques des feuilles chez les individus des deux sexes. Le choix des caractères concernés par cette étude s'est fait, principalement selon leur faible sensibilité aux influences environnementales et donc d'une forte héritabilité. Ces paramètres se groupent en caractères qualitatifs et quantitatif. Les prélèvements des échantillons de pistachiers pour l'étude des paramètres morphologique des feuilles ont été effectués durant le stade végétatif le plus développé. Les mesures ont porté sur 100 échantillons englobant à moitié chacun les deux sexes, Le prélèvement des échantillons est effectué pendant le mois de mai 2015. L'ensemble des paramètres étudiés sont présentés dans le tableau 4 .

Tableau 4: Mesures quantitatives et qualitatives des feuilles

Caractères quantitatifs	Caractères qualitatifs
Nombre des folioles	Mode de disposition des folioles sur l'axe foliaire
Longueur de l'axe foliaire	Forme du pétiole
Longueur du pétiole	forme des folioles
Longueur des entrenœuds	Forme de la foliole terminale
Longueur des folioles	Couleur des folioles
Largeur des folioles	Position des folioles
Longueur de la foliole terminale	
Largeur de la foliole terminale	

5.3. Etude de la variabilité morphologique des fleurs

Pour une évaluation efficace de la différence morphologique existante entre les individus de la même population. Les prélèvements sont effectués au cours du mois de mars 2016. La réalisation des mesures quantitatives et qualitatives sont effectuées en utilisant une loupe binoculaire. L'ensemble des caractères concernés par ces mesures sont consignés dans le tableau 5

Tableau 5 : Caractères quantitatifs et qualitatifs étudiés sur les fleurs

Caractères quantitatifs	Caractères qualitatifs
Nombre des étamines par fleur	Couleur du stigmate
Nombre des loges polliniques	Longueur du style
	Disposition de l'ovaire
	Forme de l'ovaire
	Couleur des chatons
	Longueur du filet

5.4. Etude des paramètres anatomiques

Les échantillons prélevés au nombre de 52 englobent à moitié chacun les deux sexes, mâle et femelle. L'étude anatomique a été effectuée sur des coupes histologiques réalisées sur les folioles des feuilles des individus mâles et femelles.

La partie médiane du limbe des folioles est prélevée et immédiatement fixée avec un mélange d'éthanol et acide acétique (15, 3), pendant 24 heures. Les échantillons sont ensuite lavés à l'eau courante durant un temps égal à la durée de fixation. Les échantillons sont ensuite déshydratés par passage dans des bains d'éthanol à concentrations croissantes (70%, 100%). Les échantillons sont ensuite imprégnés et inclus dans des blocs de paraffines et coupés suivant une orientation horizontale avec un microtome (LEICA RM 2145) à une épaisseur de 7 μ m. Après déparaffinage et coloration des coupes, les mesures ont porté sur les paramètres structuraux des parenchymes, de l'épiderme et des tissus conducteurs. Les paramètres parenchymateux retenus se rapportent à l'épaisseur des couches lacuneuses et palissadiques ainsi que le nombre de files des cellules constituant ce dernier. Au sein des deux parenchymes, le nombre des canaux excréteurs a été déterminé. Les mesures portant sur la structure de l'épiderme concernent l'épaisseur de la paroi externe des cellules de revêtement. Le nombre de vaisseaux ligneux du métaxylème et leurs diamètres de la nervure centrale ont été également déterminés. Enfin les rapports parenchyme palissadique/épaisseur de la feuille et parenchyme lacuneux/épaisseur de la feuille ont été déterminés.

5.4. Eude de l'effet antibactérien des huiles essentielles du Pistachier de l'Atlas

5.4.1. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles (HE) des feuilles du pistachier de l'atlas a été faite par un hydro distillateur de type Clevenger. Cinquante grammes (50g) des feuilles de pistachier de l'atlas sont mises dans un ballon en verre pyrex, additionnées de 400 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition, suivi par l'apparition de la première goutte de distillat à la sortie du tube de condensation de la vapeur, l'huile essentielle est entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par un condensateur, fixé par un support approprié en position verticale pour faciliter l'écoulement du distillat. Le temps nécessaire de cette extraction est d'environ trois à quatre heures.

Le distillat obtenu est récupéré dans une ampoule à décanter. En fin, le distillat est recueilli dans un tube à essai et les huiles essentielles des deux espèces seront par la suite récupérées dans un flacon approprié (tube à essai).

L'huile récupérée est ensuite conservée dans une température voisine de 4°C, dans un tube en verre stérile hermétiquement fermé.

5.4.2. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement en huile essentielle (Rd), est défini comme étant le rapport entre le poids de l'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est donné par la formule suivante : $Rd = \frac{PHE}{M} \cdot 100$

Rd: Rendement en huile essentielle exprimée en pourcentage (%) ;

PHE : Poids de l'huile essentielle obtenue en gramme (g) ;

M: Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme (g) et qui vaut 50 g.

5.4.3. Test microbiologique

5.4.3.1. Préparation des suspensions bactériennes

5.4.3.1.1. Purification et revivification des souches

La purification se fait par l'ensemencement de ces souches sur des milieux spécifiques:

- Milieu Chapman est utilisé pour l'isolement des Staphylocoques pathogènes qui donnent des colonies jaunes par fermentation du mannitol et virage du rouge de phénol. Sa forte teneur en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des autres espèces. Sa composition chimique est comme suit/

- Peptones 10,00, Extrait de viande de bœuf 1,00 ,D-mannitol 10,00 ,Chlorure de sodium 75,00 Rouge de phénol 0,025 Agar 15,00, avec un pH final à 25°C : 7,4 ± 0,2 ;
- Mac conky :est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement des Salmonella, des Shigella, ainsi que des bactéries coliformes dans eaux, les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques et biologiques d'origine animale
- Mueller Hinton : C'est le milieu de culture utilisé pour étudier l'activité antibactérienne parce que c'est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens (Gachkaretal., 2006).Ce milieu est préparé selon la méthode suivante :on pèse avec précision une quantité de poudre déshydratée du MH équivalente 29.4 g dans un ballon en y ajoutant 700 ml d'eau distillée (selon les flacons utilisés).
- Le mélange de la poudre-eau distillée mit dans un bécher est chauffé sur un agitateur magnétique à l'aide d'un barreau magnétique pendant 20 min afin d'assurer une bonne dissolution des cristaux. Le milieu MH est ensuite réparti dans des flacons stériles remplis 3/4 avant d'être autoclavés pendant 15 min à 121°C avec une pression de 1 bar.

5.4.3.1.2. Repiquage sur milieu sélectif

Nous avons tenu de vérifier la pureté des souches testées par l'ensemencement de 0.5 ml de suspension de chaque souche sur leur milieu sélectif. Puis les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures.

5.4.3.1.3. Préparation des aliquotes

Des cultures jeunes de 18 heures, sont préparées par l'ajout de 1 ml de chaque suspension bactérienne à 9 ml d'eau physiologique, l'incubation a été effectuée à 37°C pendant 18 heures.

5.4.3.1.4. Standardisation des suspensions bactériennes

Une solution de l'eau physiologique a été préparée par l'ajout 20.7 g de chlorure de sodium NaCl plus 300 ml de l'eau distillé. La solution est ensuite mise dans des tubes identiques à ceux qui ont été utilisés pour préparer la suspension bactérienne.

Un spectrophotomètre a été utilisé pour contrôler l'exactitude de la densité optique à une longueur d'onde de 625 nm, l'absorbance doit être 0.08. Pour une charge microbienne est entre 10^7 et 10^8 germes \ ml. Une dilution par l'eau physiologique doit être effectuée pour standardiser les suspensions bactériennes à 10^6 germes \ ml (Duraffour et al., 1990).

5.4.3.1.5 Méthode de diffusion sur disques (aromatogramme)

L'aromatogramme ou méthode de diffusion sur milieu gélose est une technique qui permet de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis d'une substance antimicrobienne. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des HE à l'intérieur d'une boîte de Pétri, dans un milieu nutritif solide (Mueller Hinton).

La méthode de diffusion de disques sur milieu gélosé a été utilisée dans plusieurs études pour déterminer l'activité antibactérienne des HE (Chao *et al.*, 2000 ; Andreams, 2001 ; Pibiri, 2006).

L'ensemencement des souches est réalisé en surface du milieu gélosé (Mueller Hinton) préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 30 minutes. Des disques stériles de diamètre de 6 mm de papier wattman imprégnés d'huiles essentielles (20, 25 et 30 µl) d'HE sont déposés dans les boîtes de Pétri en plusieurs répétitions. Celles-ci sont ensuite fermées et laissées diffuser pendant 2 heures puis incubées à 37°C pendant 24 heures. Après l'incubation, l'absence de croissance bactérienne exprimant une activité antimicrobienne se traduit par un halo translucide autour du disque, de même couleur de la gélose stérile et dont le diamètre est mesuré en mm. La sensibilité des différentes souches vis-à-vis des HE étudiées est classée selon le diamètre d'inhibition (Benzeggouta, 2005 ; Pibiri, 2006).

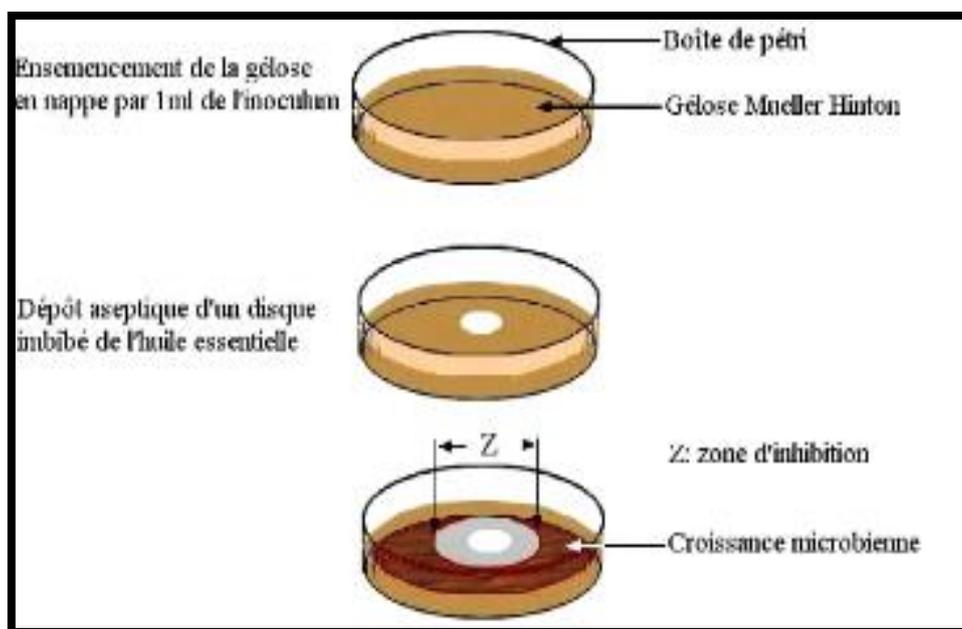


Fig.14: Illustration de la méthode des aromatoigrammes sur boîtes de Pétri (Zaiki, 1988)

5.5. Caractérisation de la résine du pistachier de l'Atlas

La résine collecté durant la période chaude de l'année 2016 (mois de juillet) a fait l'objet d'analyse spectrophotométrique de type Raman. Les échantillons collectés ont été étalés sur des lames(Fig .15).



Fig.15 les échantillons de résines

Des spectres Raman, s'effectue à l'aide d'un spectromètre de type Jobin Yvon Xplora,, équipé d'un objectif de 50X. Le spot à la surface de l'échantillon est focalisé sur un diamètre environ 1 mm, ce qui améliore le pouvoir de résolution, la largeur de la fente utilisée étant de 50nm. La source laser utilisée est à 532 nm.



Fig.16 : spectrophotomètre RAMAN utilisé

5.5.1. Principe de la spectroscopie RAMAN

La spectroscopie Raman est une technique d'analyse totalement non-destructive, elle ne demande aucune préparation de l'échantillon et n'implique pas de contact avec l'objet lors de l'analyse. Elle est facile à mettre en œuvre puisque aucune mise en forme particulière de l'échantillon n'est demandée. N'importe quel type d'objet peut être analysé, quels que soient sa forme, son état, amorphe ou cristallin, sa nature, minérale ou organique. Les informations extraites des spectres Raman renseignent tant sur la composition chimique que sur la structure et les interactions moléculaires dans le matériau. Il est ainsi possible de caractériser un matériau mais aussi d'identifier les composés dont il est constitué (Paris, 2004).

La spectroscopie Raman exploite l'interaction entre l'échantillon à analyser et une onde électromagnétique. Lors de cette irradiation, la majorité de la lumière est transmise ou réfléchi par le matériau de l'échantillon tandis qu'une faible partie est diffusée (Figure 5.4) (Daher ,2012).

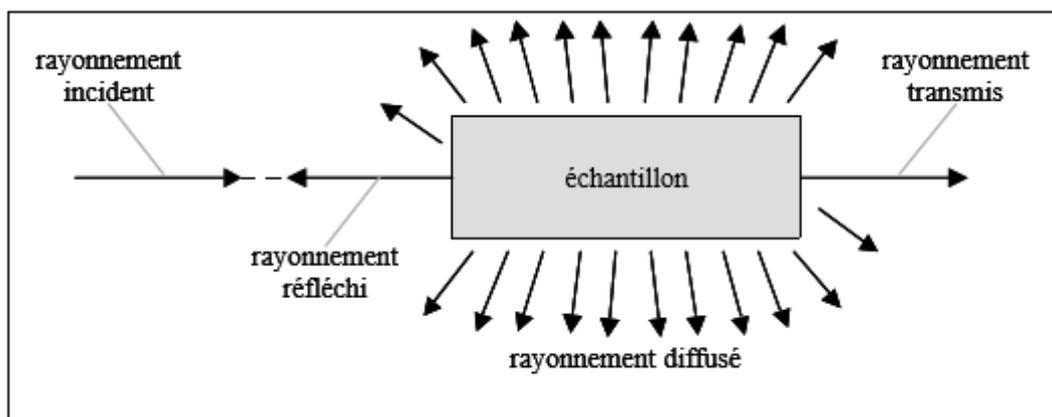


Fig.17 : Interaction d'un rayonnement monochromatique avec un échantillon

Une vibration est active en diffusion Raman s'il y a une variation de la polarisabilité de la molécule au cours de la transition vibrationnelle. Les molécules du matériau sont portées à un niveau d'énergie virtuel par absorption des photons incidents et émettent une radiation en revenant à un état stable. Deux groupes de photons sont émis. Le premier correspond à une diffusion élastique de la lumière, la diffusion Rayleigh. Les photons sont réémis à la même longueur d'onde que les photons incidents. Le second groupe de photons correspond à la

diffusion Raman, diffusion inélastique de la lumière, les molécules absorbant ou émettant de l'énergie. Si les molécules réémettent des photons d'énergie inférieure à celle des photons incidents, c'est la diffusion Raman Stokes, dans le cas d'une énergie supérieure, c'est la diffusion Raman anti-Stokes (Paris, 2004) (Figure (17)).

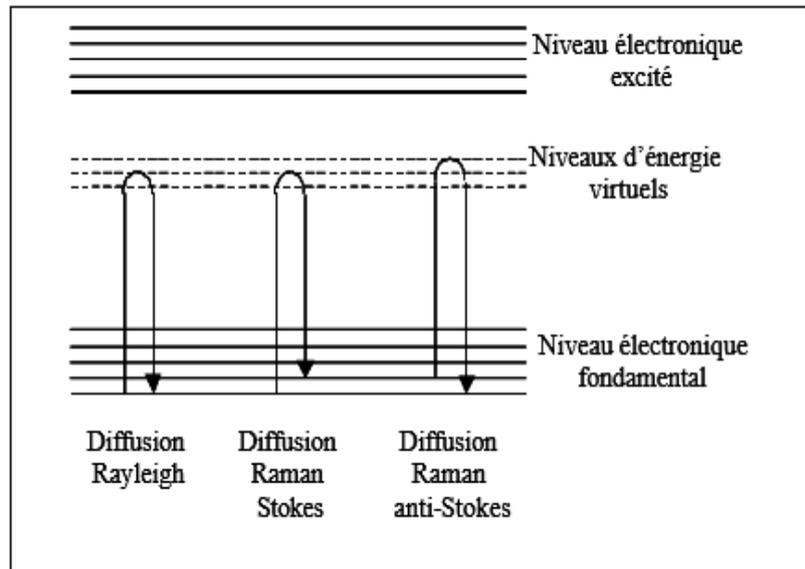


Fig.18 : Diagramme de relaxation de l'énergie photonique : diffusions Rayleigh et Raman.

Le spectre Raman se présente comme un ensemble de bandes, d'intensité variable, dont les décalages par rapport à la longueur d'onde d'excitation correspondent aux fréquences de vibration des molécules. Les bandes Stokes et anti-Stokes sont symétriques par rapport à celle de la diffusion Rayleigh, et beaucoup moins intenses. Les transitions Stokes étant de plus forte intensité que les anti-Stokes, seul leur spectre est enregistré.

CHAPITRE 06 :

*RÉSULTATS ET
INTERPRÉTATION*

6.1. Paramètres morphologiques de la feuille

6.1.1. Paramètres quantitatifs de la feuille

6.1.1.1. Nombres des folioles

Le nombre de foliole présente d'importantes variations à travers les individus mâles et femelles étudiés (tableau.6), le degré de variation des résultats obtenus s'avère très prononcé chez les deux sexes ($P < 0,001$).

Tableau 6. : Analyse de la variance du nombre de folioles par feuille

Variable	individu	Test F	Probabilité
Nombre de foliole	mâle	2,44	0,000085
	femelle	2,94	0,000003

Les résultats relevés dans les deux sexes étudiés sont compris entre 7 et 13 avec un coefficient de variation de 14,51 % au niveau des individus femelles et 13,9% pour les individus mâle .La répartition du nombre 11 folioles par feuille est très réponde pour la majorité des individus des deux sexes (45, 33% chez les individus femelles et 42% chez les individus mâles).

6.1.1.2. Longueur de l'axe foliaire

Les longueurs de l'axe foliaire, relevés présentent à leur tour une variation importante parmi les individus du même sexe (Tableau.7). Ainsi, chez les individus femelles les valeurs de ce paramètre sont comprises entre 3.9cm et 10.10cm et présente un degré de variation estimé à 20.04%. Chez les individus mâles les extrêmes de ces valeurs sont estimés à 3.9 cm et 8.8cm et présentant un taux de variation de 19.06%.

Tableau .7 : Analyse de la variance des résultats de la longueur de l'axe foliaire

Variable	individu	Test F	Probabilité
Longueur de l'axe foliaire	Mâle	2.221	0.000385
	Femelle	2.979	0.000002

5.1.1.3. Longueur du pétiole

L'étude des données (Tableau.8) dégagées de l'évaluation de la longueur du pétiole, montre que les variations induites par la nature des individus, sont hautement significatives ($P < 0,001$).

Tableau .8 : Analyse de la variance des résultats de la longueur du pétiole

Variable	individu	Test F	Probabilité
Longueur du pétiole	Mâle	2.197	0.00045
	femelle	2.356	0.00015

A l'échelle de la population mâle, les résultats moyens enregistrés pour ce paramètre varient entre 0.9 et 3.60 cm avec un degré de variation égale à 25.10%. Au niveau des individus femelles, la longueur oscille entre 1et.3.7 cm, avec un coefficient de variation estimé 26.77%.

6.1.1.4. Longueur d'entre-nœuds sur l'axe foliaire

L'analyse statistique de la variance de la longueur des entre-nœuds (Tableau 9), révèle des différences significatives ont été relevées entre les individus des deux sexes ($P \leq 0.001$),

Tableau 9 : Analyse de la variance des résultats de la longueur des entre-nœuds sur l'axe foliaire

Variable	individu	Test F	Probabilité
Longueur d'entre-nœuds sur l'axe foliaire	Mâle	6.683	0.000000
	Femelle	6.676	0.000000

La lecture des résultats moyens (annexe 01), montre que chez les individus mâles, la longueur d'entre-nœuds oscille entre 0.66cm et 2.8cm. Au sein de la population femelle, ce paramètre fluctue entre 0.48 et 2.9 cm (annexe 02).

6.1.1.5. Longueur des folioles

L'analyse statistique par le test de la variance, a révélé une différence très hautement significative pour la longueur des folioles ($P < 0.001$) pour tous les individus mâles et femelles traités.(Tableau.10).

Tableau 10 : Analyse de la variance des résultats de la longueur de des folioles

Variable	Individu	Test F	Probabilité
Longueur des folioles	Mâle	5.46	0.000000
	Femelle	3.985	0.000000

Les résultats moyens enregistrés (annexe 01), marquent que la longueur des folioles oscille entre 1.74 et 4.47cm chez la population mâle avec un coefficient de variation égale à 16.81%. Concernant la population femelle les valeurs moyennes de la longueur sont exprimées entre 1.07 et 4.51 cm avec un coefficient de variation égale à 18.78 .(annexe 02).

II.1.1.6. Largeur des folioles

Les résultats de la largeur des folioles sont sujets d'importantes variations chez les individus mâles et femelles ($p < 0.001$)(Tableau.11)

Tableau.11 : Analyse de la variance des résultats de la longueur des folioles

Variable	Individu	Test F	Probabilité
Largeur des folioles	Mâle	0.985	0.0000000
	Femelle	0.978	0.000

Les résultats moyens dégagés par les individus mâles sont compris entre 0 ,56 cm et 1.12 cm et présentent un taux de variations évalué à 15.02%. Chez les individus femelles les résultats des diamètres relevés sont compris entre 0 .54 cm et 3.49 cm avec un coefficient de variation de 41 ,46% (annexe 1 et 2).

6.1.1.7. Longueur de la foliole terminale

L'analyse de la variance (Tableau.12), montre que les différences entre individus au sein des deux sexes sont très hautement significatives ($P < 0.001$).

Tableau.12 : Analyse de la variance des résultats de la longueur de la foliole terminale

Variable	Individu	Test F	Probabilité
Longueur de la foliole terminale	Mâle	5.427	0.0000000
	Femelle	3.54	0.0000000

Les résultats moyens obtenus (annexe 01) montrent que les valeurs de longueur de la foliole terminale sont comprises entre 1.7cm et 5.5 cm pour les individus mâles. Ainsi au niveau de la population femelle, les valeurs de la longueur de la foliole terminale varie entre 2.3 et 5.10cm (annexe 02).

6.1.1.8. Largeur de la foliole terminale

L'analyse de la variance (Tableau 13), montre que les différences entre individus mâles sont très hautement significatives ($P \leq 0.001$), par contre, Aucune distinction génotypique significative n'est relevée chez les individus femelles ($p > 0.05$).

Tableau 13 : Analyse de la variance des résultats de la largeur de la foliole terminale

Variable	Individu	Test F	Probabilité
Largeur de la foliole terminale	Mâle	3.355	0.000000
	Femelle	0.9803	0.58

D'après les résultats moyens (annexe 01), au sein de la population mâle, la largeur affiche des valeurs moyennes comprises entre 0.4cm et 1.3cm. Au niveau de la population femelle, ces données fluctuent entre 0.5cm et 1.5cm (annexe 02).

Dans le lot des individus mâles, la proportion de 30.66% enregistrée par la valeur de 0.9cm qui est la plus remarquable, inscrit une proportion de 32.66 % chez les individus femelles.

6.1.2. Paramètres qualitatifs de la feuille

6.1.2.1. La couleur de la feuille

L'analyse des résultats obtenus pour ce caractère démontre que la couleur des feuilles est répartie sur trois variantes parmi les individus des deux sexes étudiés (Figure .19). Ces trois variantes sont représentées par le vert clair, vert, vert foncé.



Fig.19 : Les trois variantes de couleur des feuilles

La fréquence d'apparition de ces trois niveaux de couleur au sein de la population femelle démontre une hétérogénéité très apparente. On note que les individus femelles portant la couleur vert clair représentent 12% de la population contre 32% pour la couleur vert et 56% pour la couleur vert foncé. Pour les individus de la population mâle, on remarque que la fréquence d'apparition de la couleur vert clair est de 24% contre 38% pour chacune des deux autres couleurs.

6.1.2.1. Forme des folioles

Les formes des folioles rencontrées au sein des individus des deux sexes étudiés sont de deux types, lancéolé et rhomboïdale.



Fig.20 : formes des folioles

On considère que ce paramètre est d'une forte héritabilité. Les résultats obtenus démontrent que la population femelle est caractérisée par la présence des deux types de folioles avec des fréquences de 42% pour la forme rhomboïdale et 48% pour la forme lancéolée. Pour la population mâle, on ne note aucune variabilité pour ce caractère avec la présence de la forme lancéolée pour l'ensemble des individus.

6.1.2.3. Forme de la foliole terminale

Les résultats obtenus pour ce caractère démontrent que la population mâle est caractérisée par la forme rhomboïdale seulement, alors que la population femelle est

polymorphe pour ce caractère. On note que la forme lancéolée présente une fréquence de 48% contre 52% pour la forme rhomboïdale.

6.1.2.4. Forme du pétiole

A travers les résultats obtenus pour ce caractère, nous avons remarqué la présence de deux formes de pétiole, il s'agit de la forme ronde et la forme aplatie.

En ce qui concerne les individus femelles, la forme ronde est répartie sur 60% des individus par contre la forme aplatie se répartit sur 40% des individus. Pour la population mâle, on remarque que 84% des individus représentent la forme ronde.

6.1.2.5. Mode de disposition des folioles

Les modes de disposition rencontrés au sein des deux sexes étudiés sont de deux types, opposé et alterné.



Fig.21 : disposition des folioles. (A : alternée ; B :opposée)

On considère que ce paramètre est d'une forte héritabilité. A partir des résultats obtenus, on remarque que les deux sexes sont polymorphes. Pour les individus femelles les fréquences d'apparition du mode de disposition opposée est de 78% contre 22% seulement pour le mode alterné. Pour les individus du sexe mâle, la fréquence d'apparition du mode opposé est de 84% contre 16% pour le mode alterné.

6.1.2.6. Position des folioles sur l'axe foliaire

L'analyse des résultats obtenus pour ce paramètre démontre la présence de deux positions des folioles sur l'axe foliaire. Ces deux positions sont représentées par la position pendante et la position érigée (Fig.22).



Fig.22 : Position des folioles sur l'axe foliaire. (A : érigé, B : Pendante)

Pour la population femelle, on remarque que 60% des individus présente une position pendante, les individus présentant une position érigée des folioles représentent 40% de la population. Les mêmes constatations sont enregistrées au sein de la population mâle.

6.1.3.1. Classification des individus de la population femelle en fonction des paramètres morphologiques de la feuille

L'établissement de la classification hiérarchisée (Fig.23) des 50 individus de la population femelle et concernant ce groupe de paramètre permet de distinguer la position des individus au sein de cette population. On observe une forte variabilité au niveau de cette population. Ainsi la classification révèle l'existence de 4 groupes distincts. Un premier groupe renferme 16 individus, un deuxième groupe est constitué de 17 individus, un troisième groupe renferme 14 individus, et le quatrième renferme 2 individus.

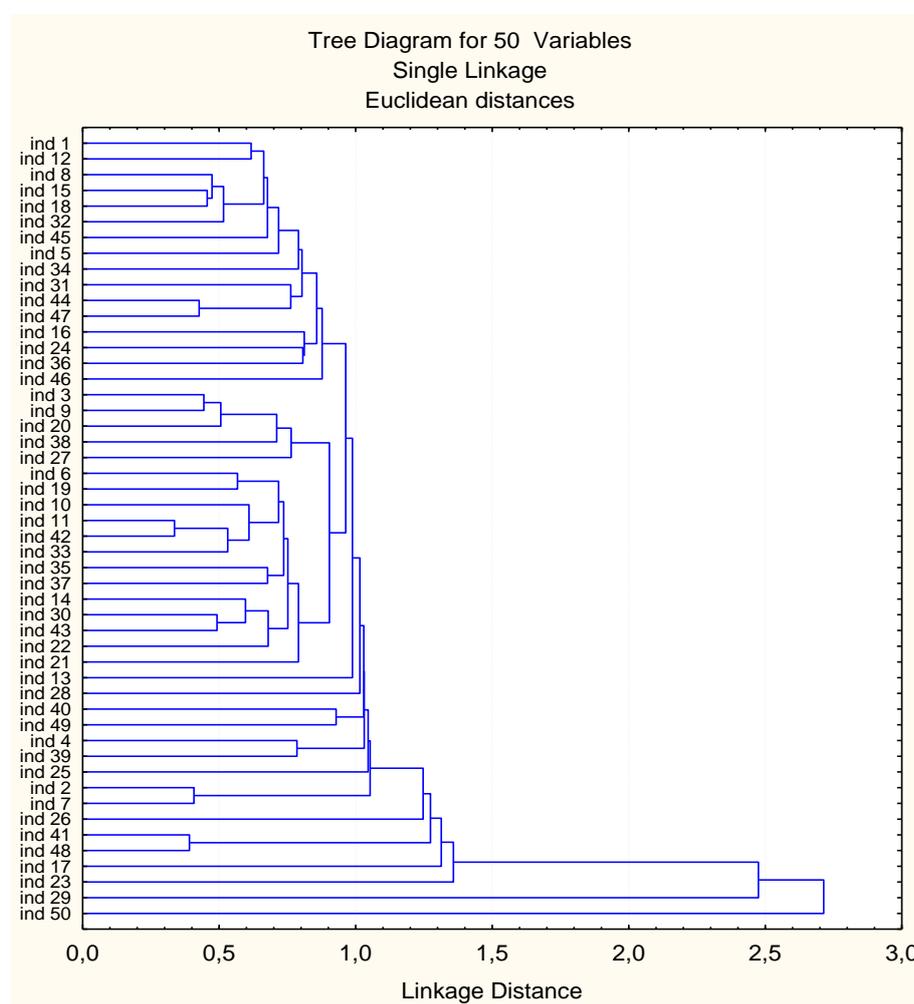


Fig. 23: Classification des individus de la population femelle en fonction des paramètres morphologiques de la feuille

6.1.3.2. Classification des individus de la population mâle en fonction des paramètres morphologiques de la feuille

Cette étude (Figure.24) démontre que les individus se répartissent selon 4 groupes distincts. Un premier groupe renferme 2 individus, un second groupe comprend 7 individus, le troisième contient 37 individus et le quatrième renferme 4 individus.

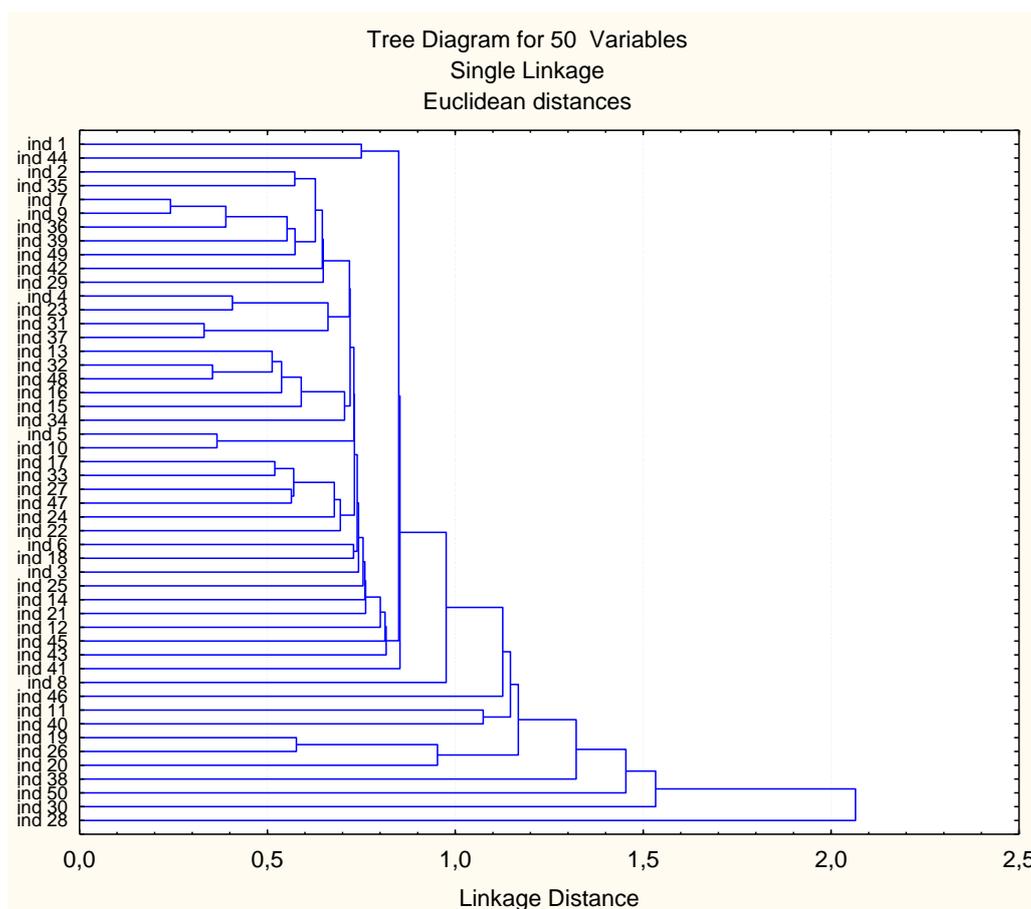


Fig. 24: Classification des individus de la population mâle en fonction des paramètres morphologiques de la feuille

6.2. Paramètres morphologiques de la fleur

6.2.1. Paramètres quantitatifs

6.2.1.1. Nombre des étamines par fleur

Les observations faites à propos de ce caractère montrent que le nombre moyen des étamines oscille entre 4 et 9 avec une dominance de 9 étamines par fleur avec une proportion de 37%, suivi par le nombre 8 avec dont la proportion de 23%. Les valeurs 7 et 6 étamines par fleur présente 13% chacune (Fig.25).



Fig.25: Nombre des étamines

6.2.1.2. Nombre de loges polliniques

Le nombre des loges polliniques (segmentation) est un paramètre très variable d'une fleur à une autre. En effet, tous les individus de la population femelle concernés par cette étude, présentent le même nombre de loge ovarienne pas ovaire qui est de l'ordre de 1.



Fig.26 : nombre des loges polliniques

6.2.2. Caractères qualitatifs de la fleur

6.2.2.1. Population mâle

Les paramètres qualitatifs ciblés pour l'estimation de la variabilité morphologique chez cette espèce sont les suivants :

6.2.2.1.1. Couleur du chaton

D'après l'étude faite sur ce caractère, trois couleurs se distinguent à travers les individus de cette population, le rouge, le jaune et le vert. Cependant, 53% des chatons sont de couleur jaune. Une proportion de 30% est constatée pour les chatons ayant une couleur rouge et 27% des chatons sont de couleur verte (Figure.27).



Fig.27: Couleur des chatons

6.2.2.1.2. Taille du filet

L'estimation des taux de variations de la taille du filet au niveau des individus, démontre que 60% des fleurs disposent d'un filet, alors que 40% sont dépourvue de ce dernier.

6.2.2.2. Population femelle

6.2.2.2.1. Forme de l'ovaire

Les observations faites à propos de ce caractère au niveau de cette population montrent que 67.67% des individus ont un ovaire de forme sphérique et 23.33% des individus sont d'une forme ovale.



Fig.28 : Forme de l'ovaire

6.2.2.2.2. Disposition de l'ovaire

L'analyse des résultats obtenus pour ce paramètre démontre la présence de trois dispositions de l'ovaire. Ces trois dispositions sont représentées par la disposition pendante dressée, oblique et inclinée.

A partir des résultats obtenus, on remarque que les fréquences d'apparition du mode de disposition dressée est de 70%, contre 20% pour le mode oblique et 10% seulement pour le mode incliné.

6.2.2.2.3. Couleurs des stigmates

L'analyse des résultats obtenus pour ce caractère démontre que la couleur des stigmates est répartie sur trois variantes parmi les fleurs du sexe femelle. Ces trois variantes sont représentées par le rouge, jaune et le rose.

La fréquence d'apparition de ces niveaux de couleur au sein de la population femelle démontre une hétérogénéité très apparente. On note que les fleurs femelles portant des

stigmates de couleur rouge représentent 33.33% de la population contre 50% pour la couleur jaune, et 16.67% pour la couleur rose.

6.2.2.2.4. Taille du style

L'analyse des résultats obtenus pour ce caractère démontre que la couleur des stigmates est répartie sur trois variantes parmi les fleurs du sexe femelle. Ces quatre variantes sont représentées par le rouge, jaune et le rose.

La fréquence d'apparition de ces niveaux de taille au sein de la population femelle démontre que les fleurs femelles portant des styles longs représentent 36.67% de la population contre 23.33% pour les styles de taille moyenne, et 40% pour les styles courts.

6.3. Paramètres anatomiques

6.3.1. Caractérisation du mésophylle de la feuille

Les paramètres retenus pour la caractérisation de ce constituant de la feuille portent sur l'épaisseur du parenchyme palissadique et le nombre des cellules qui le constituent, l'épaisseur du parenchyme ainsi que l'épaisseur du parenchyme lacuneux (Figure 29).

L'épaisseur du parenchyme palissadique présente d'importantes variations à travers les individus mâles et femelles étudiés. Par comparaison, le degré de variation des résultats obtenus s'avère plus prononcé chez la population mâle ($P < 0,01$) que chez les femelles ($P < 0,001$). Chez les individus femelles les résultats d'épaisseur relevés sont compris entre 44,07 μm et 310,72 μm avec un coefficient de variation de 46%. Cette fluctuation des valeurs annonce l'existence d'une variabilité très prononcée parmi les individus femelles de la population. Une variation concerne également ce paramètre au sein des individus mâles. Les résultats inscrits vacillent par conséquent entre des extrêmes de 44,25 μm et 144,93 μm et sont concernés par un degré de variation de 25%.

Les épaisseurs du parenchyme lacuneux, relevés présentent à leur tour une variation très importante parmi les individus au sein du même sexe. Ainsi, chez les individus femelles les valeurs de ce paramètre (Tableau.14) sont comprises entre 15,19 μm et 208,77 μm et présente un degré de variation estimé à 49%. Chez les individus mâles les extrêmes de ces valeurs sont estimés à 25,75 μm et 115,77 μm et présentant un taux de variation de 28%.

Les résultats obtenus de l'établissement des rapports des deux parenchymes révèlent un polymorphisme accentué au sein des individus mâle ($p > 0,05$) ; l'indice obtenu par le rapport entre le parenchyme palissadique et l'épaisseur de la feuille constitue un critère d'expression de la variabilité structurale au sein des individus du même sexe ($P < 0,001$). Cette variabilité est importante et se justifie par les fluctuations des valeurs de ce rapport qui sont comprises entre 0,19 et 2,21 pour les individus femelles et 0,21 et 0,58 pour les individus mâles. Ces résultats divergent significativement le taux de variation d'expression de ce paramètre parmi les individus au sein des deux groupes de sexe. Ainsi, la variation est plus importante au niveau des individus du groupe femelle que ceux du sexe mâle. Ces variations progressent entre 63,70% et 22,12%.

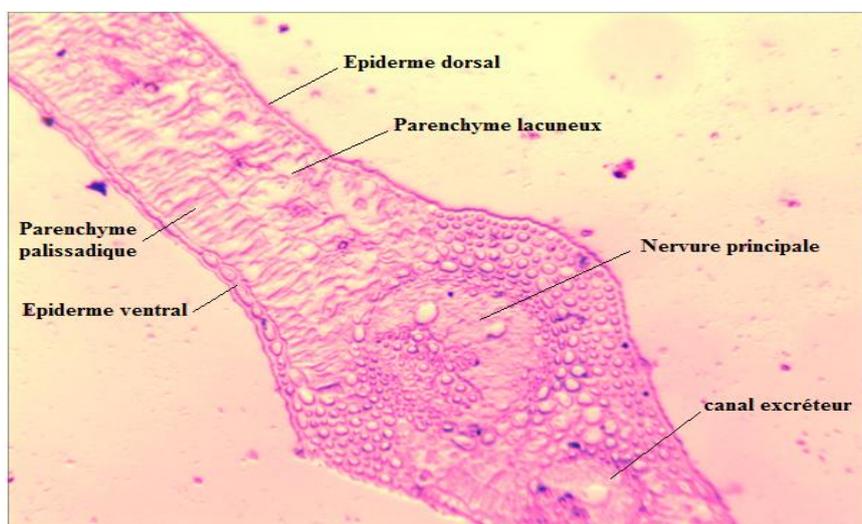


Fig. 29: coupe anatomique montrant la structure de la feuille du pistachier de l'Atlas (Gx40)

L'importance du parenchyme palissadique au sein de la feuille est conditionnée par le nombre de files de cellules ainsi que leurs diamètres respectives. Les résultats obtenus et portant sur le nombre de files des cellules parenchymateuses palissadiques indiquent l'existence de deux valeurs, 2 et 3 couches par structure foliaire. La répartition de ces valeurs s'avère indifférente en relation avec la nature du sexe.

6.3.2. La structure des vaisseaux ligneux du xylème

Un autre paramètre qui concerne la structure de la feuille et se rapporte au nombre des vaisseaux ligneux du métaxylème ainsi que leur diamètre. L'étude des résultats concernant le nombre des vaisseaux ligneux au niveau de la nervure principale (Tableau.14) montre une importante variation dans leur expression parmi les individus mâles et femelles. Les données moyennes montrent que chez les individus des deux sexes, ce nombre se répartit dans un intervalle délimité par les valeurs extrêmes et équivalentes à 2 et 6 vaisseaux par nervure (Fig.30).

L'autre caractéristique du tissu conducteur concerne le diamètre des vaisseaux ligneux et dont les résultats sont sujets d'importantes variations chez les individus mâles ($p < 0.01$) et femelles ($P < 0.001$). Les résultats moyens dégagés par les individus mâles sont compris entre 18,46 μm et 75,41 μm et présentent un taux de variations évalué à 28,95%. Chez les individus femelles les résultats des diamètres relevés sont compris entre 15,51 μm et 76,15 μm avec un coefficient de variation de 28,33%.



Fig.30 : coupes anatomiques montrant la variabilité du nombre des vaisseaux ligneux (Gx10)

6.3.3. La structure des canaux excréteurs

La structure foliaire de cette espèce se distingue par la présence de canaux excréteurs des résines. Les observations faites au niveau des coupes, indiquent que leurs nombres sont soumis à des variations très marquées. Chez les individus femelles, ce nombre fluctue entre 1 et 6 canaux tout en constatant que le nombre le plus répandu est de 2. Chez les individus mâles la variation s'avère plus accentuée où on relève le nombre se délimite par 1 et 9 canaux par structure foliaire (Fig.31)

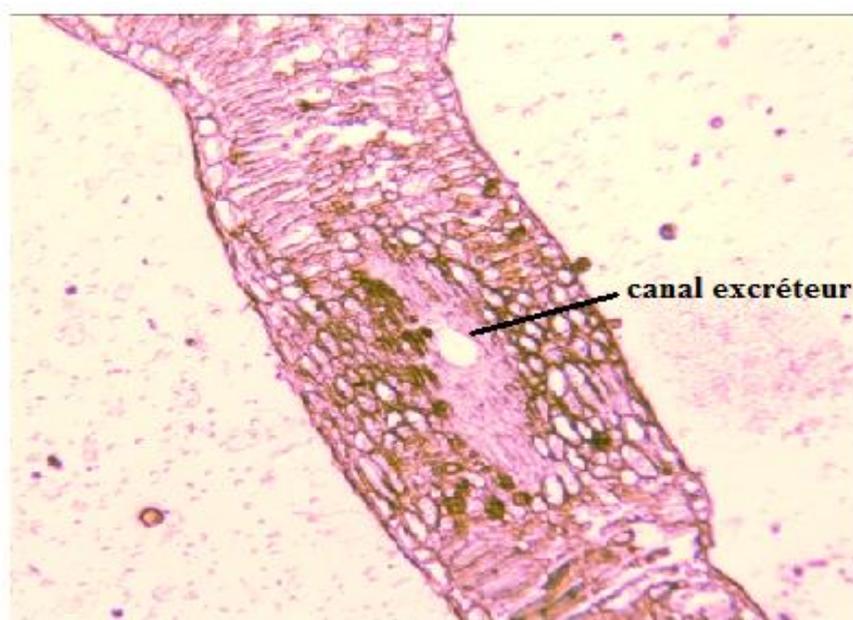


Fig.31 : coupe anatomique montrant le canal excréteur (Gx10)

Tableau.14 : le carré moyen, le test F et le degré de signification de l'influence de la nature des individus étudiés sur les variations des paramètres anatomiques

Paramètres	CM		Test F		Coefficient de variation (%)	
	Mâle (ddl=25)	Femelle (ddl=24)	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle
EPP	757,3	28,51325	3,300***	14,241**	25,1998	46,3638
EF	2176	50683	18,14**	89,87**	12,9119	50,3103
R1	0,01372	0,22809	1,697***	4,173*	22,1240	63,7023
EPL	427,6	2232,0	2,949ns	5,638*	28,5132	48,8226
R2	0,3436	1,0233	1,3935***	1,7742**	38,1398	43,6085
EE	27,56	479,55	3,784***	60,719**	17,90057	45,70978
DVLM	266,6	237,3	2,884**	2,558	28,9762	28,3356

EPP : épaisseur du parenchyme palissadique, EF : épaisseur de la feuille, EPL : épaisseur du parenchyme lacuneux, R1 : rapport entre l'épaisseur du parenchyme palissadique et l'épaisseur de la feuille, R2 : le rapport entre l'épaisseur du parenchyme palissadique et le

parenchyme lacuneux, EE : épaisseur de l'épiderme, DVL : diamètre des vaisseaux ligneux, NVL : nombre des vaisseaux ligneux, NFCPP : nombre de files des cellules du parenchyme palissadique

6.3.4. Classification des individus de la population mâle en fonction des paramètres anatomiques de la feuille

Le dendrogramme réalisé pour les 26 individus mâles étudiés (Fig.32) permet de distinguer 03 groupes différents. Un premier groupe renferme 18 individus différents, un deuxième se constitue de six individus, enfin un autre groupe renfermant deux individus.

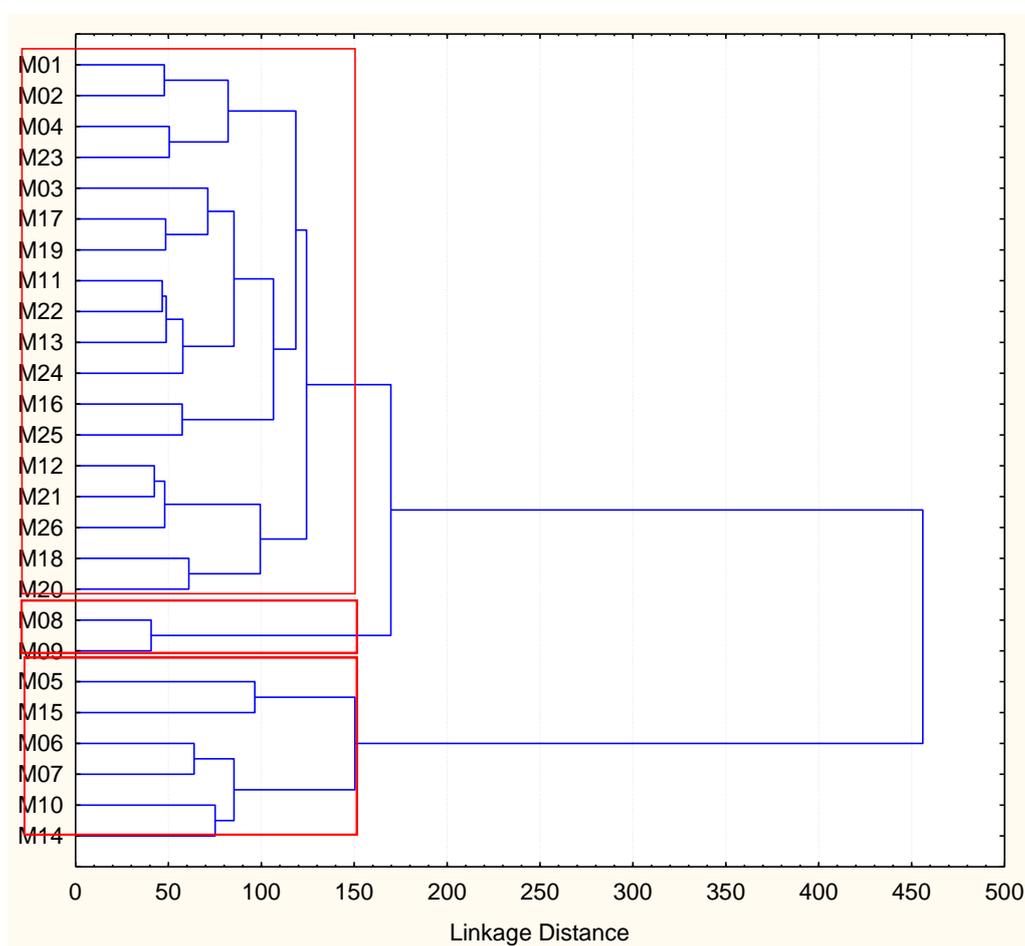


Fig.32:Dendrogramme de classification des individus mâles selon les paramètres anatomiques.

6.3.5. Classification des individus de la population femelle en fonction des paramètres anatomiques de la feuille

La classification des 25 individus femelles étudiés nous permet de distinguer 03 groupes différents (Fig.33). Un premier groupe renferme 22 individus différents, un autre se constitue de deux individus, enfin un autre groupe renfermant un individu.

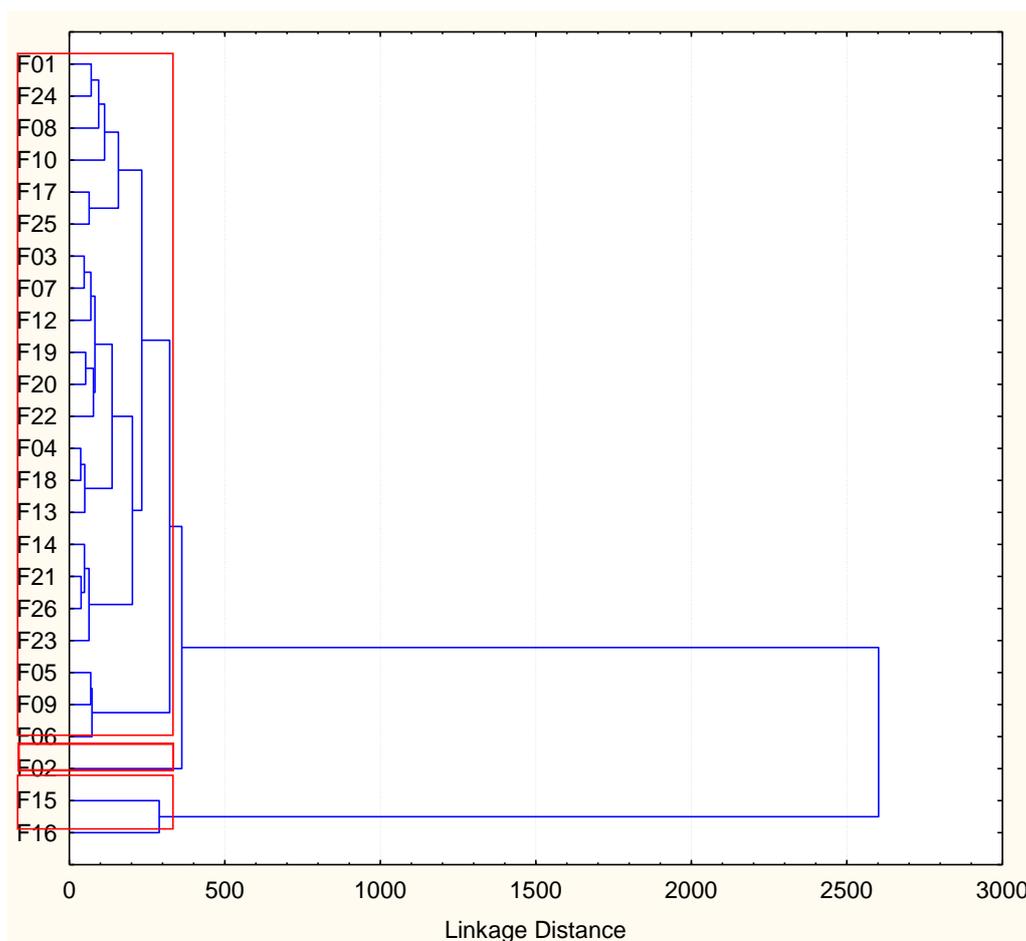


Fig.33 : Dendrogramme de classification des individus femelles selon les paramètres anatomiques

Ces résultats confirment l'existence d'une variabilité pour les caractères étudiés. Ces variabilités expliquent des variations au niveau de la structure anatomique des individus et leur fonctionnement génétique.

6.4. Effet antibactérien des huiles essentielles du Pistachier de l'Atlas

6.4.1. Rendement en huile essentielle

Suite à l'extraction de l'huile essentielle du pistachier d'Atlas par la méthode d'hydrodisillation, on a procédé au calcul du rendement de ce dernier ; les valeurs moyennes du rendement les feuilles des pieds femelles est de 0,58%, par contre on note une valeur moyenne de 0,51 % pour les feuilles des pieds mâle. L'histogramme établi à partir des moyennes du rendement des deux sexes, montre qu'il y a une variabilité du rendement entre les deux sexes et que les feuilles du sexe femelle contiennent plus d'huiles essentielles que les feuilles des pieds mâles. (Fig.6.16)

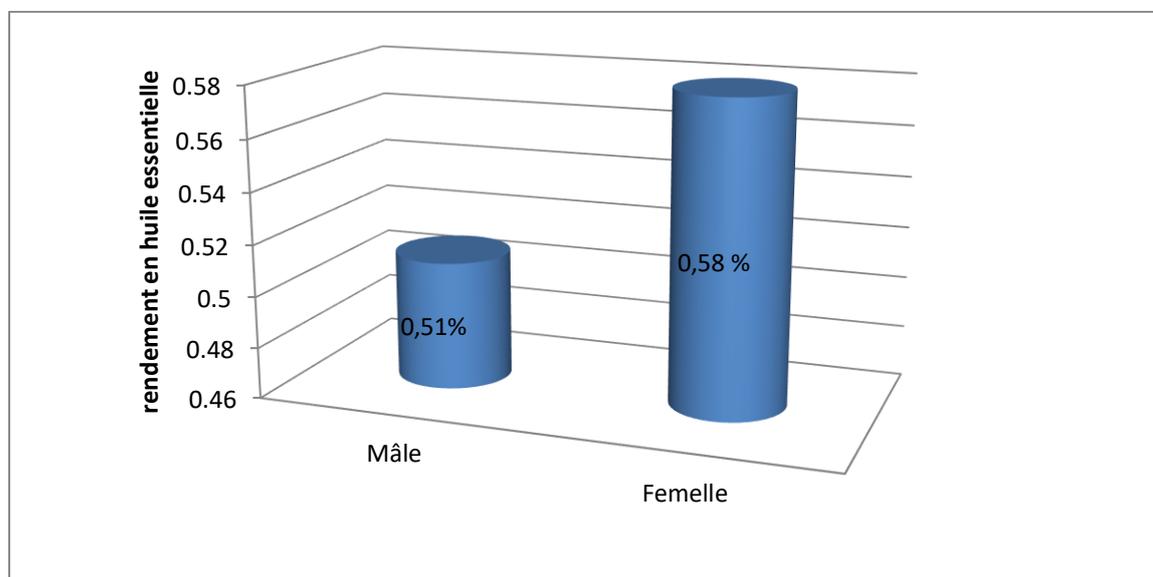


Fig.34: rendement en huile essentielle des feuilles du pistachier d'Atlas (pieds femelles et mâles)

Le rendement en huiles essentielles extraites à partir des feuilles de *Pistacia Atlantica Desf.* est supérieur à celui qui est obtenu par Benabdallah (2012) pour la station de Oued djellal qui est de l'ordre de 0.24% et les résultats trouvés par Barrero et *al.*, (2005) qui étaient de l'ordre de 0.2% .

Ces variations de teneurs peuvent être dues à plusieurs facteurs : l'interaction avec l'environnement (type de climat, sol), La période de récolte, traitement après récolte ainsi que la durée de stockage du matériel végétal peuvent entraîner de profondes modifications sur

l'essence Bouzidi (2016) et la méthode d'extraction, le solvant et le temps d'extraction.

6.4.2- L'activité antibactérienne des huiles essentielles des espèces

Nous avons testé les huiles essentielles de notre espèce vis-à-vis des souches bactériennes précédemment citées en appliquant la méthode de diffusion sur disque.

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle obtenus sont résumés respectivement dans le tableau.15 et les Figures 35 et 36 .

Tableau.15: Résultats des mesures des halos d'inhibitions des deux souches bactériennes.

Diamètre d'inhibition des HE Souches bactériennes	HE du pistachier de l'Atlas		
	20 µl	25 µl	30 µl
<i>Escherichia coli</i>	13 .19	14 .67	12.75
<i>Staphylococcus aureus</i>	11.25	10.48	8 .18

Nos résultats indiquent une sensibilité pour les deux souches bactériennes à l'huile essentielle du Pistachier de l'Atlas.

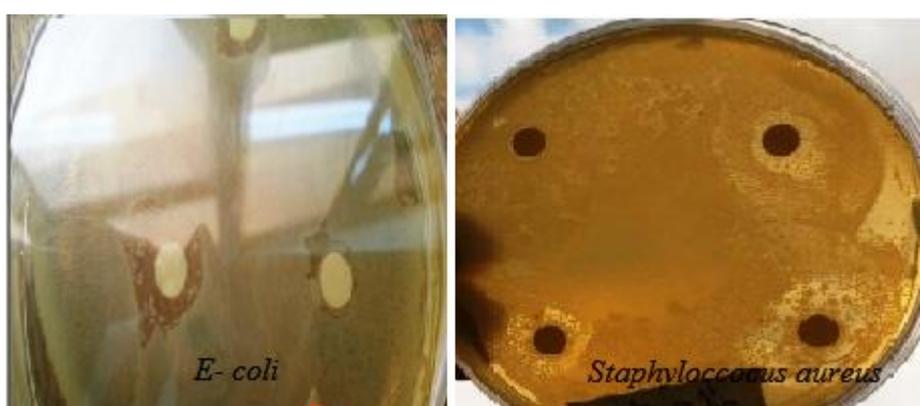


Fig .35: halos d'inhibition des souches bactériennes testées sous l'effet des huiles essentielles du pistachier d'Atlas.

L'action des huiles essentielles contre la souche bactérienne *E. coli* s'est traduite par l'apparition d'un halo d'inhibition de 13.19mm à une dose de 20µl, par contre à une dose de 25 µl, l'halo d'inhibition est égal à 14.67mm. Pour la dose de 30 µl, le diamètre de la zone d'inhibition est de 12.75mm.

Pour la souche bactérienne *Staphylococcus aureus*, l'effet antibactérien de l'huile essentielle s'est traduit par l'apparition d'halo d'inhibition d'une valeur moyenne égale à 11.25mm à une dose de 20µl, 10.48mm pour la dose 25 µl et 8.18mm pour la dose 30 µl.

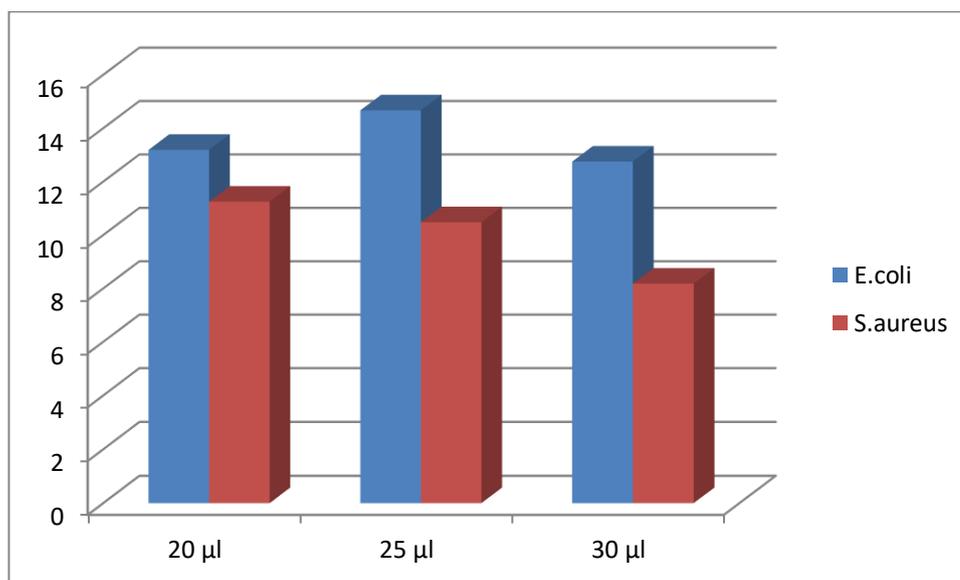


Figure. 36 : Diamètres (en mm) des zones d'inhibition des souches à Gram (+) et Gram (-) par l'effet des huiles essentielles du Pistachier de l'Atlas.

Nos résultats concordent avec ceux de la littérature (Benabdallah, 2012 ; Ghalem et Benali, 2009), qui ont noté que les bactéries Gram (+) sont plus sensibles aux huiles essentielles que les Gram (-).

6.5. Caractérisation de la résine par spectroscopie RAMAN

Le spectre RAMAN de la figure 37 montre plusieurs pics très étroits, spécifiques aux composantes de la résine.

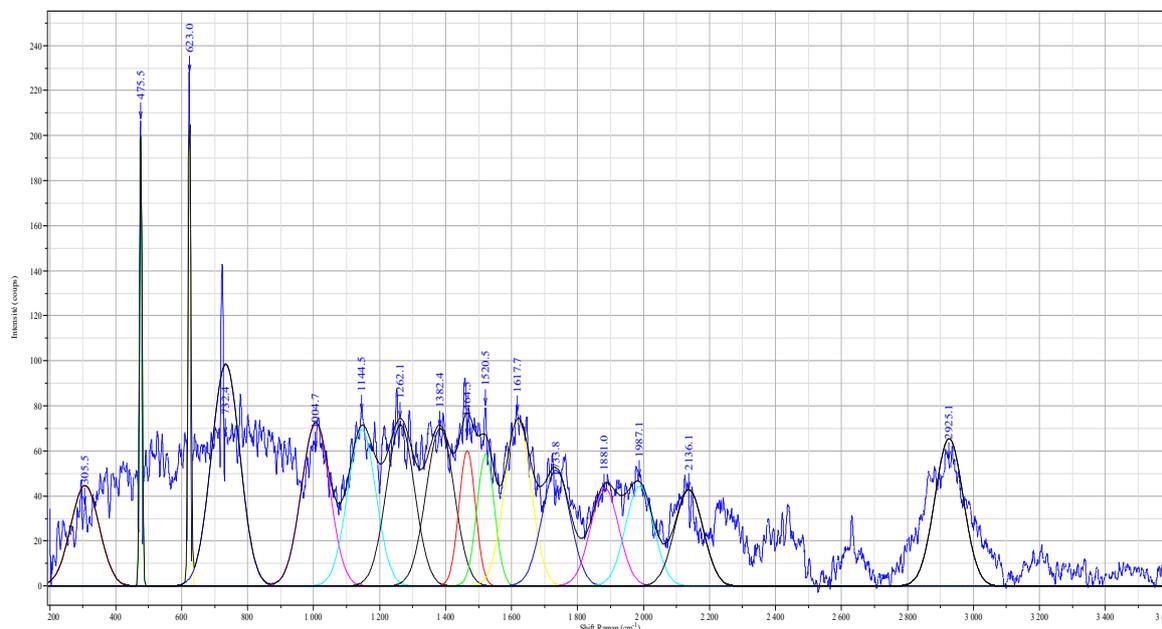


Fig.37 : spectre RAMAN de la résine du pistachier de l'Atlas

Dans l'intervalle $[540-400] \text{ cm}^{-1}$, les transitions Raman les plus importantes en termes d'intensité sont identifiées comme des vibrations de déformation de la liaison X-C=O. Le pic de la région $[700-660] \text{ cm}^{-1}$ correspond aux vibrations de déformation dans le plan des liaisons C-H. Le pic de la région $[960-900]$ correspond aux vibrations d'élongation des liaisons C-X et C-C des groupements esters (X-C=O et C-C=O). La région $[1130-1105] \text{ cm}^{-1}$ est dominée par la vibration chaînes C-C tandis que la zone $[1180-1130] \text{ cm}^{-1}$ correspond à la vibration d'élongation (C-O). Les vibrations de déformations C-H dans les groupements CH₂ et CH₃ à 1470 et 1190 cm^{-1} , la vibration d'élongation des liaisons (C-C) à 1625 et 1470 cm^{-1} , la vibration d'élongation des groupes C=O C-H et O-H dans la région $3420 - 2085 \text{ cm}^{-1}$ (tableau .16).

Tableau.16 : Assignements des groupes chimiques de la résine du pistachier de l'Atlas

Assignements	Start Wn (cm ⁻¹)	End Wn (cm ⁻¹)
X-C=O in plane	450	400
X-C=O def	540	460
C-H Bend,	700	660
X-C=O, C-X Stretch	780	700
C-C=O,C-C Stretch	960	910
C-C Skeletal	1130	1105
C-O Stretch, Aryloxy	1180	1130
C-H Bend, Alpha CH ₂	1210	1190
C-H Bend, CH ₂ /CH ₃	1470	1445
C-C Stretch, Ring	1520	1470
C-C Stretch, Ring	1625	1580
C=O Stretch	1825	1780
C-H Stretch, Alkyl	3000	2855
C-H Stretch, Aryl	3090	3015
O-H Stretch	3420	3280

Le spectre RAMAN confirme la présence de tous les groupements fonctionnels spécifiques aux polymères composants de la résine des Anacardiacees. Nous notons que la plupart des bandes identifiées dans nos spectres sont confirmées par la littérature (Nagai,1963 ; Mas Rosemal et *al*, 2010 ; Willis et Zichy,1969 ;Neppel, et Butler, 1984).

6.5. Discussion des résultats

La survie des plantes spontanées au niveau des zones à climat aride et semi-aride repose sur les facultés d'adaptation qu'elles développent afin de tolérer les contraintes imposées par ces stress abiotiques. Les mécanismes impliqués dans la fonction d'adaptation sont de divers ordres et dont leur efficacité dans la lutte contre la sécheresse se trouve conditionnée par leur forte héritabilité et la vitesse de leur apparition qui s'inscrit de sa part dans le processus de réaction de la plante à ces conditions contraignantes.

Les résultats démontrent que le pistachier de l'Atlas de la région de Rechaiga est caractérisé par une variabilité morphologique très accentuée au niveau des feuilles, cette variabilité concerne les caractères quantitatifs et qualitatifs des feuilles.

Les relations établies entre l'ensemble des paramètres morphologiques étudiés chez les individus des deux sexes démontrent la distinction des modèles structuraux. Ainsi, chez les individus femelles, le nombre de foliole est favorisé par l'accroissement de l'axe foliaire($r=0,488^{**}$). Cette augmentation du nombre s'accompagne également par la diminution des longueurs des pétioles. On note que la longueur de l'axe foliaire est conditionné par l'augmentation de la longueur du pétiole($r=0,2403^{**}$) et des entrenœuds($r=0,4281^{**}$). (Tableau.17). Pour les individus du sexe mâle, l'augmentation du nombre des folioles s'accompagne avec l'augmentation de l'axe foliaire($r=0,41294^{**}$) ainsi qu'une diminution des longueurs des entrenœuds (tableau.18).

Tableau .17 : relations entre les différents paramètres morphologiques au sein des individus du sexe femelle

	NF	L A F	LP	LE	LF	LRF	LFT
LAF	0,488**						
LP	-0,319**	0,2403**					
LE	-0,1038	0,4281**	0,4522**				
LF	-0,1112	0,1790**	0,2355**	0,04520			
LRF	-0,1242	0,063210	0,12481	0,5545**	-0,2973**		
LFT	-0,236**	0,040412	-0,1314	0,2944**	0,4580**	0,1887**	
LRFT	-0,150	-0,074987	-0,014166	0,069216	0,099870	0,075742	0,1905**

Tableau.18 : relations entre les différents paramètres morphologiques au sein des individus du sexe mâle.

	NF	L A F	LP	LE	LF	LRF	LFT
LAF	0,41294**						
LP	-0,125901	0,4487**					
LE	-0,17525**	0,49665**	0,42171**				
LF	-0,142527**	0,35091**	0,36520**	0,6206**			
LRF	-0,133439	0,3850**	0,44921**	0,4805**	0,7562**		
LFT	-0,274207**	0,0685	0,0158	0,4907**	0,7318**	0,5089**	
LRFT	-0,217939**	0,0902	0,0551	0,3262**	0,5021**	0,6394**	0,7171**

NF : Nombre de foliole, LAF : longueur de l'Axe foliaire, LP : longueur du pétiole, LE : longueur des entrenœuds, LF : longueur des folioles, LRF : largeur des folioles, LFT : longueur de la foliole terminale, LRFT : largeur de la foliole terminale.

Les fleurs du Pistachier de l'Atlas sont apétales et le nombre de loges polliniques est stable après l'ouverture de ces dernières, les fleurs mâles s'épanouissent et les étamines prennent une structure pétaloïde (Yaaqobi et al, 2009).

La couleur des chatons est variable du vert au rouge avec de couleurs intermédiaires. Les stigmates ont présenté également des tailles, des couleurs variées.

Le nombre de stigmates varie de deux à trois stigmates par fleur, ce qui est cité dans la littérature, la forme de l'ovaire est variable. La Double formation de l'ovaire n'a pas été signalée pour les espèces du genre *Pistacia* jusqu'ici (İsendiyaroglu, 2009).

Les paramètres anatomiques définissant la structure de la plante constituent un groupe de caractéristiques qui s'avèrent efficaces pour lutter contre les stress abiotiques (Oppenheimer 1959, 1960). Ainsi, ces paramètres se regroupent en trois principales catégories, selon leur implication dans la valorisation des ressources hydriques disponibles et rares.

Les tissus protecteurs des organes végétatifs et essentiellement la feuille conditionnent l'efficacité de régulations des échanges hydriques avec l'environnement immédiat de la plante (Roland, 1994 ; Berthet, 2006 ; Roland et al 2008). La structure du parenchyme chlorophyllien de cet organe et les modifications qu'engendrent s'impliquent dans une meilleure efficacité d'utilisation des ressources hydriques dans les différents processus de réalisation de la nutrition carbonée de la plante (Fahn et Brido ,1963 ; Smail-Saadoun, 2005 ;Muhaidat et al,2007). Enfin, différents travaux (Vidal et Pognonec,1984 ; Oppenheimer , 1959) ont démontré l'efficacité des transformations qui subissent les tissus conducteurs afin d'assurer une meilleure circulation de la sève en conditions de rareté des ressources en eau.

Les résultats obtenus démontrent que le pistachier de l'Atlas est caractérisé par une variabilité très accentuée se rapportant aux paramètres anatomiques étudiés au niveau du limbe de la feuille. Ce niveau de variabilité concerne indistinctement les populations des individus mâles et femelles. Parmi les traits concernés par ces variations on retient les transformations du tissu protecteur épidermique qui est concerné par un épaissement de la paroi externe des cellules de revêtement. Les transformations de la paroi à ce niveau de la

structure foliaire constituent l'une des stratégies développées par les plantes pour limiter efficacement les déperditions d'eau par la voie cuticulaire (Smail-Saadoune, 2005). Cette transformation résulte d'un simple épaissement cellulosique de la paroi ainsi des incrustations des substances chimiques renforçant l'imperméabilité pariétale, telle que la cutine et les cires.

Comme toutes les espèces dicotylédones, le pistachier de l'Atlas présente un mésophylle hétérogène constitué de la superposition de deux types de parenchyme, palissadique et lacuneux. Les résultats obtenus indiquent que l'organisation de ces derniers est très variable à travers les individus au sein de chacun des sexes, mâle et femelle. Ainsi, le parenchyme palissadique est constitué par un nombre de files cellulaires variable. Son importance conditionne l'épaisseur de la feuille et le nombre des cellules photosynthétiques par unité de surface foliaire. La réduction de la surface de la feuille dans les conditions sèches est compensée par son épaissement afin d'assurer une activité photosynthétique optimale (Smail-Saadoun, 2005). Les conditions de sécheresse imposent également la réduction des dimensions des cellules parenchymateuse afin de mieux préserver un état d'hydratation optimal (Houari et al, 2012).

Les transformations qui concernent les tissus conducteurs, notamment le xylème constituent des mécanismes fortement impliqués dans l'adaptation des plantes aux conditions sèches. Les travaux de Bokhari et Wendelbo (1978) démontrent que la réduction du nombre de vaisseaux ligneux et leurs diamètres contribuent à une meilleure circulation de la sève en accroissant la résistance hydraulique. Pour les populations étudiées, ce paramètre extériorise une importante variabilité au sein des individus mâles et femelles.

Les relations établies entre l'ensemble des paramètres étudiés chez les individus des deux sexes démontrent la distinction des modèles structuraux. Ainsi, chez les individus femelles, l'épaissement de la feuille est favorisé par l'accroissement des épaisseurs des deux parenchymes, palissadique ($r=0.829^{**}$) et lacuneux (0.585^{**}). Ces augmentations des épaisseurs s'accompagnent également par le renforcement de l'épiderme de la feuille. On note que l'épaissement du parenchyme palissadique est conditionné par l'augmentation du nombre des files cellulaires qui le constituent ($r=0.286^{**}$) (tableau .19). Les mêmes relations

ont été notées au niveau de la structure de la feuille des individus de la population mâle (tableau.20).

Tableau .19: relations entre les différents paramètres anatomiques au sein des individus du sexe femelle

variable	PP	EF	R1	PL	R2	R3	EE	D VL	NVL	NFCPP
EF	0,8298**									
R1	0,0571	-0,3469*								
P L	0,5853**	0,6321**	-0,0879							
R2	0,2510*	0,0838	0,1099	-0,5242**						
R3	-0,1202	-0,3781**	0,7845**	0,2639	-0,4378**					
E E	0,8151**	0,8604**	0,0119	0,6171**	0,0974	-0,0844				
DV L	-0,0436	-0,1875	0,3422**	-0,1739	0,1040	0,1979	-0,0152			
NVL	-0,1613	-0,0392	-0,1814	0,1112	-0,2862*	0,0400	-0,1519	-0,1003		
N FCPP	0,2864**	0,3638**	-0,1126	0,1820	0,1343	-0,1752	0,3084**	0,0567	0,0255	
NCE	-0,2581*	-0,1276	-0,2067*	-0,0400	-0,1610	-0,0586	-0,2076*	-0,1770	0,2214*	0,1573

Tableau.20 : relations entre les différents paramètres anatomiques au sein des individus du sexe mâle

variable	PP	EF	R1	PL	R2	R3	EE	D VL	NVL	NFCPP
EF	0,4344**									
R1	0,8399**	-0,1093								
PL	0,0057**	0,0240	-0,0256							
R2	0,6263*	0,2688**	0,5420**	-0,6984**						
R3	-0,1751	-0,3799**	0,0164	0,9076**	-0,7532**					
EE	0,0332	0,3638**	0,1851	0,0797	-0,0111	-0,0641				
DVL	0,0192	-0,1704	0,1359	0,0155	-0,0388	0,0616	-0,2854**			
NVL	-0,0517	-0,0405	-0,032	0,0559	-0,0445	0,0622	0,0896	0,1646		
NFCPP	0,0056	0,0680	-0,047	0,0365	-0,0189	-0,0235	-0,1974	0,0486	0,0375	
NCE	0,1214	0,3697*	-0,1040	-0,0681	0,14246	-0,1913	0,10756	0,0248	0,1022	0,0996

EPP : épaisseur du parenchyme palissadique, EF : épaisseur de la feuille, EPL : épaisseur du parenchyme lacuneux , R1 : rapport entre l'épaisseur du parenchyme palissadique et l'épaisseur de la feuille, R2 : le rapport entre l'épaisseur du parenchyme palissadique et le parenchyme lacuneux , R3 :le rapport entre l'épaisseur du parenchyme lacuneux et l'épaisseur de la feuille, EE : épaisseur de l'épiderme , DVL : diamètre des vaisseaux ligneux , NVL : nombre des vaisseaux ligneux, NFCPP : nombre de files des cellules du parenchyme palissadique NCE : nombre des canaux excréteurs, ** significatif au seuil de 0.1%.

Le rendement en huile essentielle obtenu du pistachier de l'atlas par la méthode d'hydro distillation est proche de la littérature. Il est égal à 0.51%.

L'effet inhibiteur de l'Huile essentielle du pistachier de l'Atlas vis-à-vis les souches Gram + et plus élevées à celui des Gram- , mais il est toujours efficace vis-à-vis *E. Coli* . Cette différence d'effet peut être expliquée par la différence de la composition de la paroi cellulaire et le type de Gram. Plusieurs études ont montré que les bactéries Gram- sont plus résistantes que les Gram+ vis-à-vis des huiles essentielles.

La faible sensibilité des bactéries Gram- est justifiée par la présence d'une seconde membrane lipo-polysaccharidique jouant un rôle de barrière. On outre, elle est plus riche en protéines que celle de Gram + ce qui les rend plus hydrophiles empêchant ainsi les composés hydrophobes de pénétrer dans la couche lipidique et exercer leur activité antimicrobienne à l'intérieur de la cellule microbienne (Al-bayati, 2008; Alvesalo et *al.*, 2008).

Le mode d'action des H.E dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane. (Cox et *al.*, 2000)

Selon Bakkali et *al* (2008), l'activité antibactérienne est due à la cytotoxicité des HE qui peuvent endommager la membrane cellulaire des bactéries lorsqu'elles passent à travers leur paroi cellulaire et leur membrane cytoplasmique (déstructuration de la membrane et ses polysaccharides).

Les résines sont formées majoritairement de composés appelés les terpènes, dont certains sont volatils, et également d'une section colorante. Les composés monoterpéniques et sesquiterpéniques correspondent principalement à des composés volatils ou liquides, produits respectivement par des conifères et des angiospermes. Cette fraction du matériau n'est pas la plus importante, et n'est pas caractérisable par spectroscopie vibrationnelle. C'est la composition non-volatile (polymérisée) des résines qui a été caractérisée par la spectroscopie Raman. Cette dernière, soluble dans divers solvants organiques mais insoluble dans l'eau, est complexe tant du point de vue des molécules présentes que de leurs modes d'assemblages.

Peu de recherches ont été menées sur les mécanismes d'assemblage (Scalarone *et al.*, 2003). Certaines résines sont sensibles à l'oxydation et contiennent des produits dérivés initialement absents des substances fraîches. De plus, ces matériaux complexes présentent une

grande variabilité de par l'étendue des espèces d'arbres les sécrétant ; et très peu d'études cherchent à différencier les résines en gardant un lien avec leur origine botanique. Il est donc difficile de donner les compositions chimiques exactes de ces matériaux, on parle uniquement de « composés majoritaires » ou de « squelette carboné type » sur lequel se greffent des fonctions chimiques principalement acides (Mills et White, 1994 ; Petit, *et al.*, 2005). Ces molécules types sont généralement celles utilisées pour l'identification des matériaux par techniques séparatives : nous parlons alors de bio-marqueurs. Les résines naturelles sont formées de mono-, sesqui, di et triterpènes et ne contiennent pas (ou que très rarement) à la fois des di- et des triterpènes (Azemard, 2015).

CONCLUSION

Conclusion

L'Algérie recèle un immense patrimoine génétique très peu connu et surtout peu valorisé. Le pistachier de l'Atlas est l'un des espèces menacées qui présente un intérêt écologique et socioéconomique et constitue un patrimoine très intéressant. Pour que cette espèce puisse jouer pleinement ces multiples rôles, il est nécessaire de rechercher une éventuelle variabilité au sein des peuplements pour valoriser, réhabiliter et protéger ces derniers. L'étude de l'effet antibactérien des huiles essentielles extraites à partir des feuilles de cette espèce et la caractérisation de sa résine semblent être très intéressantes pour démontrer l'intérêt du pistachier de l'Atlas.

L'évaluation de la variabilité des paramètres morphologiques des feuilles au sein du peuplement de Rechaiga, démontre une forte divergence des caractères qualitatifs et quantitatifs entre les individus du même sexe et entre les deux sexes étudiés. L'étude des dendrogramme obtenue par l'établissement de la classification hiérarchisée, confirme la variabilité au sein des individus du même sexe et les individus des deux sexes étudiés. La classification des individus des deux sexes, démontre l'existence de 4 groupes pour chacun.

L'évaluation de la variabilité des paramètres structurales des feuilles (épaisseurs des parenchymes palissadique et lacuneux, l'épaisseur de l'épiderme, le diamètre des vaisseaux ligneux et le nombre des canaux ex-sécréteurs) entre les individus mâles et femelles, montre des variations très importantes au sein des individus des deux sexes et entre les individus du même sexe. La classification des individus des deux sexes étudiés en fonction des paramètres anatomiques, révèle l'existence de 3 groupes pour chacun.

L'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraite à partir des feuilles du pistachier d'Atlas a été déterminée sur deux souches bactériennes, selon la méthode de diffusion sur disque. L'extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation a permis d'obtenir un rendement moyen de 0.58 % pour le sexe femelle et une valeur moyenne de 0.51% pour le sexe mâle.

Les résultats indiquent une sensibilité pour les deux souches bactériennes à l'huile essentielle du Pistachier de l'Atlas avec des zones d'inhibition oscillant entre 12.72 mm et 14,67 mm contre *E. coli*, et entre 8.18 mm et 11.25 mm contre *Staphylococcus aureus*.

Cette action antibactérienne peut être expliquée par le fait que les plantes produisent différentes métabolites secondaires à certaines classes connues pour avoir ce type d'activité.

La caractérisation de la résine du pistachier d'Atlas par la spectroscopie RAMAN de type Horiba Jobin, a permis de détecter les vibrations des groupes chimiques caractéristiques de la résine des anacardiées (les composés majoritaires). Il s'agit de l'acide p-coumarique, l'acide oléique et l'acide masticolique ainsi que l'acide ursolique.

On considère que l'évaluation de la variabilité génétique des ressources naturelles est indispensable dans la définition des stratégies de leur valorisation. Cette étude a également indiqué une grande variabilité chez le Pistachier d'Atlas, qui pourrait aider le choix de réintroduction de cette espèce dans des milieux steppiques. La caractérisation de la résine du pistachier d'Atlas par le spectroscopie Raman serait d'un premier apport dans l'évaluation et la détermination de sa composition chimique.

En guise de perspective, comme la régénération de cette espèce est difficile il serait intéressant de réaliser une culture *in vitro* de cette espèce. Pour mieux valoriser le pistachier de l'Atlas, une étude de la composition chimique des huiles essentielles s'avère très importante pour identifier les composés actifs.



International Journal of Botany

ISSN: 1811-9700

science
alert

ANSI*net*
an open access publisher
<http://ansinet.com>



Research Article

Evaluation of the Anatomical Polymorphism of *Pistacia atlantica* Population in the Rechaiga Area, Tiaret, Algeria

¹Fatima Zohra Mokhfi, ¹Aek Dellal, ²H. Ben Hassaini and ^{1,3}A. Adda

¹Agro Biotechnology and Nutrition Laboratory in Arid Areas, University Ibn Khaldoun, Faculty of Natural and Life Sciences, Tiaret, Algeria

²Laboratory of Ecodevelopment of Spaces, University Djillali Liabes, Faculty of Natural and Life Sciences, Sidi Belabbes, Algeria

³Laboratory of Plant Physiology Applied to Offshore Crops, University Ibn Khaldoun, Faculty of Natural and Life Sciences, Tiaret, Algeria

Abstract

Background and Objective: Algeria got a rich genetic patrimony unknown and unvalued. The Atlas pistachio tree, a vanishing species, which presents an ecological and a socio-economical interest. It is an important patrimony. In order to develop this specie an eventual variability in these stocks to valorize, rehabilitate and protect them. The aim of the study was evaluation of the genetic variability of anatomic parameters of the leaves in the stock of Rechaiga. **Materials and Methods:** Fifty two samples (folioles limb) were studied histologically, to characterize leaf structure and estimated the targeted population genetic variability. The data of different measurements in this study have been analyzed statistically (ANOVA one-way and dendrogram elaboration) by Statistica 8.0. **Results:** The results showed a high variability of the structural characters (thickness of the lacunae and palisade parenchyma, the thickness of the epiderm, the diameter of the ligneous ducts and the number of the ex-secretors channels) between males and females. **Conclusion:** This study noted that, the foliar structure of the atlas pistachio tree has an important variability at the individuals of the two studied sexes. It was noticed that this variability is rather marked at the individuals of the females compared to that of the males.

Key words: *Pistacia atlantica* Desf., genetic variability, anatomic parameters, folioles limb, epiderm

Citation: Fatima Zohra Mokhfi, Aek Dellal, H. Ben Hassaini and A. Adda, 2017. Evaluation of the anatomical polymorphism of *Pistacia atlantica* population in the Rechaiga area, Tiaret, Algeria. Int. J. Bot., 13: 59-66.

Corresponding Author: Fatima Zohra Mokhfi, Agro Biotechnology and Nutrition Laboratory in Arid Areas, University Ibn Khaldoun, Faculty of Natural and Life Sciences, Tiaret, Algeria Tel: 0213668077171

Copyright: © 2017 Fatima Zohra Mokhfi *et al.* This is an open access article distributed under the terms of the creative commons attribution License, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Competing Interest: The authors have declared that no competing interest exists.

Data Availability: All relevant data are within the paper and its supporting information files.

INTRODUCTION

The Algerian ecologic area faces many obstacles, mainly climatic, which limits the conservation and preservation of vegetal genetic diversity¹. Some species adapt to drought and high temperatures and can live longer². The Atlas pistachio tree of is an imposed kind. A prospection and an evaluation of the genetic variability offered and allow its preservation and valorization on different ways. Complementary actions are to reach a strategy required for the protection of the existing genetic patrimony and its development through reforestation^{3,4}.

Pistacia atlantica tree is a dioecious tree of the anacardiaceous family 55 genus and about 500 species dispatched around the Mediterranean sea, in South West and East of central Asia and the American continent⁵. In Algeria it is recorded from the Mitidja in the North until the Southern region Monjaouze⁶ and Belhadj⁷ shows that it exist around Djelfa (Senalba, Ain Ouessara, Messaâd), in the South of Laghouat and Guardaia (oued mزاب). According to Ozenda⁸, *Pistacia atlantica* of, time ago, existed between Laghouat and Biskra and in the Northern part of the country.

The Atlas pistachio tree is used as a rootstock for another pistachio tree (*Pistacia vera*), it is not a taproot and it is vigorous. It is used as a food (the seeds are eaten) and as a forage in summer and sometimes as a fuel^{9,1}. Its rusticity allows the reforestation of arid zones it permits also the immobilization of the dunes in order to stop the desertification^{10,4}.

The genus pistacia which includes *Pistacia atlantica* belongs to xerophytes¹¹, this ecological clamp regroups dry places plants able to support aridity, due to anatomico-physiologic particularities^{12,13}. Unfortunately its repartition area is decreasing¹⁴. The main cause of this regression is essentially anthropogenic¹⁵.

The study of primary and secondary structures of vegetal organs and there remodeling is the aim of vegetal biology. Reduction of foliar area, the mesophyll thickness, the increasing of cellular veins and the diminution of chlorophyllien cells number are the aim of anatomic transformation^{14,16,13}. These anatomic particularities help to maintain an optimal photosynthetic activity in a climate dominated aridity and high variations of temperature¹⁷. The estimation of the anatomic variability in the specie appears to be the fundamental and decisive mean during the operations of valorization and conservation. The present work treaty the characterization of leave anatomy of some individuals issued

from a population around Rechaiga (South-East of Tiaret). This anatomic study is a way of estimation of the targeted population genetic variability. Use of structural parameters in genetic variability estimation is advantageous, for most of them are characterized by high heritability.

The most works about *Pistacia atlantica* were consecrated mainly to study of chemical composition of leaves¹¹. Few works have been done on anatomical studies. The aim of the study was evaluation of the genetic variability of anatomic parameters of the leaves in the stock of Rechaiga.

MATERIALS AND METHODS

The study was carried out during the period of August 2015 and December 2016, the samples used in this research come from the district houassi, forest of Rechaiga (latitude 35°18'09" N and 35°22' 50" N, Longitude: 02°06' 37" and 02°08' 45"), in an area of 2539 ha including about 2000 *Pistacia atlantica* trees. Each of the 52 samples is divided into male and female half. Histological section of leaves folioles were used for anatomic study.

The folioles limb median part is extracted and immediately fixed with a mixture of ethanol [C₂H₆O] and acetic acid [CH₃COOH] (15: 3) during 24 h. After that, the samples were washed with tap water for another 24 h. The samples were dehydrated in ethanol with increasing concentrations (70, 100%) the samples are after that impregnated and included in blocs of paraffin and cut horizontally with a microtome (LEICA RM 2145) 7 µm thick. After paraffin taking off and coloration of the sections, the measures concerned structural parameters of parenchyma's, of the epidermis and the conducting ducts. The parenchymatous parameters considered are linked to the lacunous and polyssadic strata and the number of cell veins in the two parenchyma. The number of excreting ducts was determined. The measurements on the epidermis structure concern the thickness the external wall of revetment cells. The central nervure number of metaxylem ligneous veins and there diameters were also determined. Finally the ratios polyssadic parenchyma/leave thickness and lacunous parenchyma/leave thickness were determined.

Statistic analysis: The data of different measurements in this study have been analyzed statistically (ANOVA one-way at 5% probability level and dendrogram elaboration) by Statistica 8.0.

RESULTS

Characterization of the leaf mesophyll: The thickness of the palisade parenchyma presents important variations after study of males and females cases. The variation is higher in male population ($p < 0.01$) than female ($p < 0.001$). For female cases the thickness results are included between 44.07 μm and 310.72 μm with a variation coefficient equal to 46%. This values fluctuation means an important variability in the female cases. There is a variation too in the male cases. The results reported are between the extremes 44.25 and 144.93 μm with variation degree equal to 25% (Table 1).

The lacunous parenchyma recorded thicknesses present themselves an important variation between the cases of the same sex. In the female cases the values of this parameter (Fig. 1) are between 15.19 and 208.77 μm and present a variation rate about 49%. In male individuals, the extreme values are included between 25.75 and 115.77 μm with a variation rate of 28%.

The results obtained from the two parenchyma show an accentuated polymorphism in the male cases ($p > 0.05$).

The index obtained from the ratio of palisade parenchyma and leaf thickness express partly the structural variability in all individuals ($p < 0.001$). This variability is important and is justified by the values fluctuation ratios (between 0.19 and 2.21 μm) for female (between 0.21 and 0.58 μm) and male, individuals.

These results differentiate significantly, the variation rate of this parameter expression between the two sexes. Therefore the variation is more important in female sex than male these variations are between 63.70 and 22.12%. The leaf thickness gives a high polymorphism for both sexes ($p < 0.01$ for females and $p < 0.001$ for males). For female individuals, the results are included between 38.35 and 722.48 μm with a variation ratio of 50.31%. The males' results are included between 147.64 and 276.91 μm with a variation ratio of 12.91%.

Table 1: The mean square, the F test and the degree of significance of the influence of the individuals nature studied on the variations of the anatomical parameters

Parameters	CM		F-test		Coefficient of variation (%)	
	Male (ddl=25)	Female (ddl=24)	Male	Famele	Male	Female
TPP (μm)	757.3	28.51325	3.300***	14.241**	25.1998	46.3638
TL (μm)	2176	50683	18.14**	89.87**	12.9119	50.3103
R1	0.01372	0.22809	1.697***	4.173*	22.1240	63.7023
TLP (μm)	427.6	2232.0	2.949ns	5.638*	28.5132	48.8226
R2	0.3436	1.0233	1.3935***	1.7742**	38.1398	43.6085
TE (μm)	27.56	479.55	3.784***	60.719**	17.90057	45.70978
DLD (μm)	266.6	237.3	2.884**	2.558	28.9762	28.3356

TPP: Thickness of the palisade parenchyma, TLP: Thickness of the lacunary parenchyma, TL: Thickness of leaf, R1: Relationship between the thickness of the palisade parenchyma and the thickness of the leaf, R2: Relationship between the thickness of the palisade parenchyma and the lacunary parenchyma, TE: Thickness of epiderm, DLD: Diameter of the ligneous ducts *Significant, **and ***Highly significant

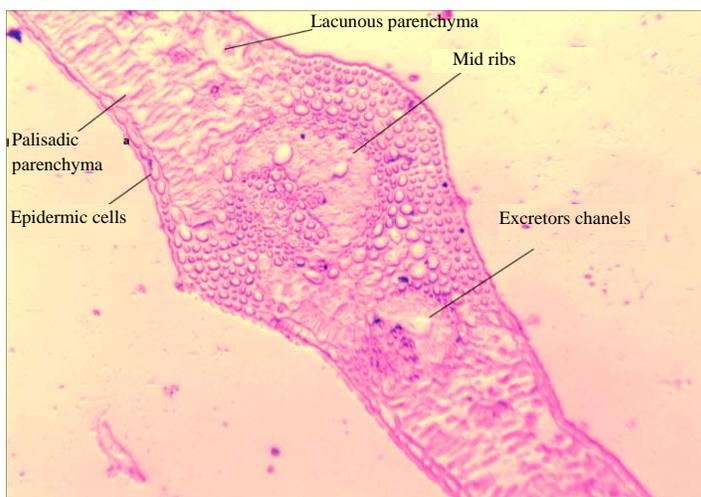


Fig. 1: Anatomic section showing the structure of the pistachio tree of Atlas

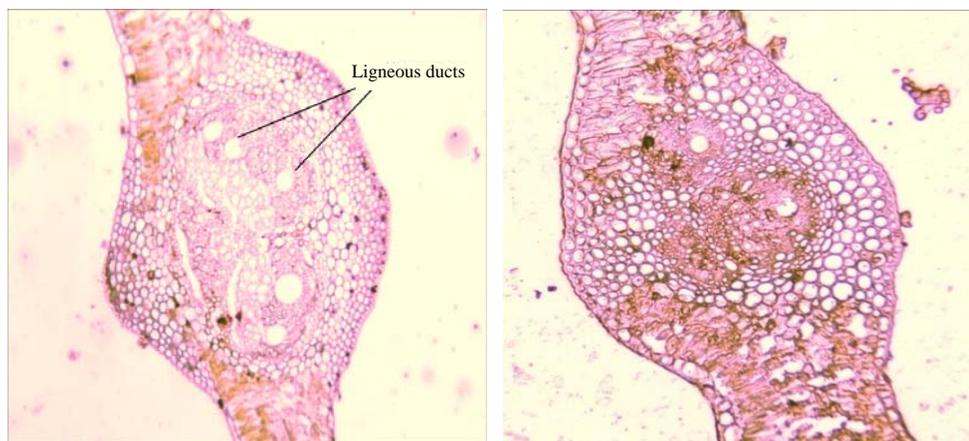


Fig. 2: Anatomic sections showing the variability of the ligneous ducts

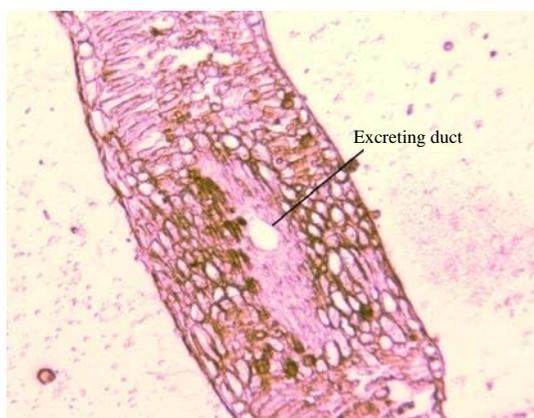


Fig. 3: Anatomic section showing the excreting duct

The thickness of the epiderm is studied includes the epidemic cells with thickness due to modifications of external walls. The values given by the different individuals studied and belonging to the two sexes are variables (Table 1). For female cases, the values are between 8.46 and 83.95 μm with a variation equal to 45.70%, for male cases the values are included between 12.22 and 29.61 μm with a variation ratio of 17.90%.

The obtained number of parenchymatous palisades cells fibers shows the existence of two values 2 or 3 strata by foliate structure. The repartition of these values does not depend on the sex.

Structure of ligneous ducts of xylem: The study of the results concerning the number of ligneous ducts of the chief nerve (Table 1) shows an important variation in there development between males and females. The medium data shows a repartition of this number in an interval between 2 and 6 ducts by nerve (Fig. 2).

The ligneous duct diameter present an important variation in male individuals ($p < 0.01$) and females ($p < 0.001$). The medium results got from males are between 18.46 and 75.41 μm with an variation rate about 28.95%. Concerning the female individuals, the diameters recorded are between 15.51 and 76.15 μm with a variation rate of 28.33%.

Structure of excreting ducts: The foliar structure of this specie got resin excreting ducts. The sections show that there number is variable. For female individuals, the number varies between 1 and 6, though 2 is preponderant. For male individuals, the variation is more important, it is between 1 and 9 ducts per foliar structure (Fig. 3).

The dendrogram for the 26 male individuals studied (Fig. 4) permit the distinction of 3 different groups. The first one is composed of 18 different individuals, the second six and the third two individuals.

The dendrogram for the 26 female individuals (Fig. 5) permit the distinction of 03 different groups. The

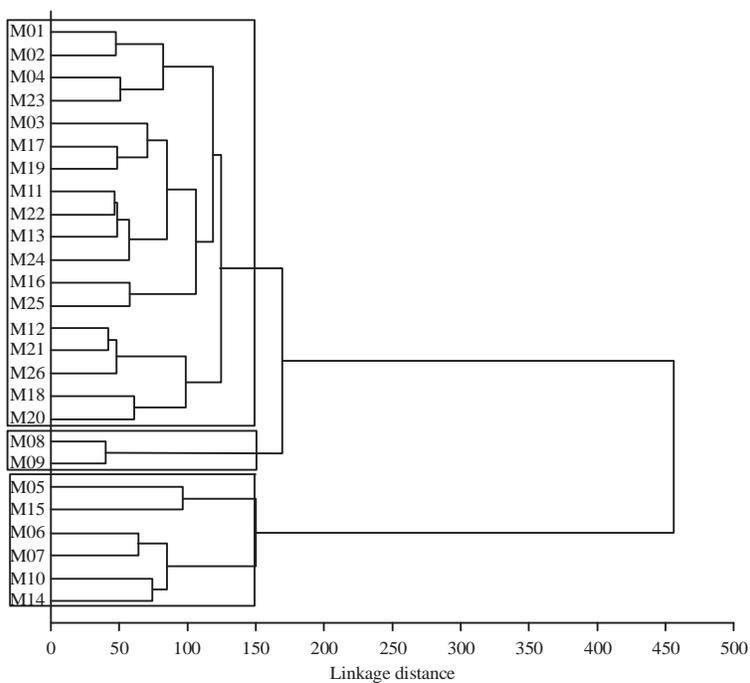


Fig. 4: Dendrogram showing a classification of male individuals according to anatomic parameters

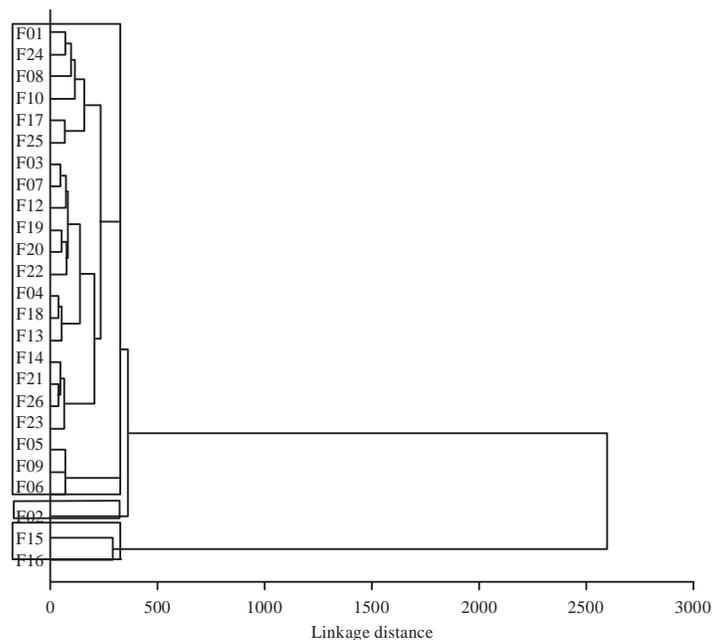


Fig. 5: Dendrogram showing a classification of female individuals according to anatomic parameters

first one is composed of 22 different individuals, the second tow and the third one individual.

These results confirm the existence of variability for the studied characters. These variability explain variations at the lever of the anatomic structure for the individuals and their genetic operation.

DISCUSSION

The survival of spontaneous plants in dry land areas depends on their developed adaptation faculty to tolerate the imposed pression by the abiotic stress. The responsible mechanisms adaptation functions are of multiple orders. Their

Table 2: Relations between the various anatomical parameters within the individuals of the female sex

Variable	TPP	TL	R1	TLP	R2	R3	TE	DLD	NLD	NTCPP
TL (µm)	0.8298**									
R1	0.0571	-0.3469*								
TLP (µm)	0.5853**	0.6321**	-0.0879							
R2	0.2510*	0.0838	0.1099	-0.5242**						
R3	-0.1202	-0.3781**	0.7845**	0.2639	-0.4378**					
TE (µm)	0.8151**	0.8604**	0.0119	0.6171**	0.0974	-0.0844				
DLD (µm)	-0.0436	-0.1875	0.3422**	-0.1739	0.1040	0.1979	-0.0152			
NLD	-0.1613	-0.0392	-0.1814	0.1112	-0.2862*	0.0400	-0.1519	-0.1003		
NTCPP	0.2864**	0.3638**	-0.1126	0.1820	0.1343	-0.1752	0.3084**	0.0567	0.0255	
NED	-0.2581*	-0.1276	-0.2067*	-0.0400	-0.1610	-0.0586	-0.2076*	-0.1770	0.2214*	0.1573

TPP: Thickness of the palisade parenchyma, TL: Thickness of the leaf, TLP: Thickness of the lacunary parenchyma, R1: Relationship between the thickness of the palisade parenchyma and the thickness of the leaf, R2: Relationship between the thickness of the palisade parenchyma and the lacunary parenchyma, R3: Relationship between the thickness of the lacunary parenchyma and the thickness of the leaf, TE: Thickness of the epiderm, DLD: Diameter of the ligneous ducts, NLD: Number of the ligneous ducts, NTCPP: Number of the threads cells of palisade parenchyma, NED: Number of the excreting ducts. *,**Significant with the threshold of 0.1%

effectiveness to combat drought depends on their high heritability and their speed appearance which appears in the reaction process to these difficult conditions. The anatomic parameters defining the plant structure constitute an effective group of characteristics to combat the abiotic stress (Oppenheimer)^{12,13}. These parameters are classified in three main categories, following their implication in the use of hydric resources necessary and rare.

The protection ducts of vegetative organs and specially the leaf rule the hydric exchanges with the immediate plant environment^{18,19,20}. The chlorophyllian parenchyma structure of this organ and the resulting modifications give a better efficiency in using the hydric resources for different processes to reach the carbonate plant nutrition^{21,22,23}. Indeed, many researches^{17,12}, showed the efficiency of the conducting ducts transformations to facilitate the crud sap circulation in water deficit conditions.

The results obtained showed that the Atlas pistachios trees situated in Rechaiga area is characterized by a high variability related to the anatomic parameters studied on the leaf limb. This variability level concerns both populations male and female. Among the features concerned with these variations one retains the transformations of the epidermic protective ducts concerned by thickening of the external wall of revetment cells. The wall transformations at this level of the foliar structure constitute one of the strategies developed by the plants to effectively limit the water losses by the cuticular way²². This transformations result from a simple cellulosic thickening of the wall and the incrustations of chemical substances reinforcing the parietal impermeability, such as cutin and waxes.

Like all the species dicotyledonous, the Atlas pistachio tree presents a heterogeneous mesophyll made up of the superposition of two types of parenchyma, palisade and lacunary. The results indicate that the organization of the latter is very variable through the individuals within each one of the sexes, male and female. Thus, the palisade parenchyma is constituted by a number of cellular threads variable. Its importance conditions the thickness of the leaf and the number of the photosynthetic cells/foliar unit of area. The leaf surface reduction under the dry conditions is compensated by its thickening in order to ensure an optimal photosynthetic activity²². The conditions of drought also force the parenchymatous cells reduction in order to better preserve a state of optimal hydration²⁴. The transformations which relate to conducting ducts, in particular the xylem constitute mechanisms strongly implied in the adaptation of the plants to the dry conditions. Boukhari and Wenbeldou²⁵ shows that the reduction amongst woody vessels and their diameters contribute to a better circulation of the sap by increasing hydraulic resistance. In the study, these parameters exteriorizes an important variability within the male and female individuals. The relations established between the whole of the parameters studied at the individuals of the two sexes show the distinction of the structural models. Thus, at the females individual, the thickening of the leaf is supported by the increase thicknesses of the two parenchyma's, palisade ($r=0.829^{**}$) and lacunary (0.585^{**}). These increases thicknesses are also accompanied by the reinforcement by the leaf skin. It is noted that the thickening of the palisade parenchyma is conditioned by the increase amongst cellular threads which constitute it ($r=0.286^{**}$) (Table 2). The same relations were noted on the level of the male individuals population leaf structure (Table 3).

Table 3: Relations between the various anatomical parameters within the individuals of the male sex

Variable	TPP	TL	R1	TLP	R2	R3	TE	DLD	NLD	NTCPP
TL	0.4344**									
R1	0.8399**	-0.1093								
TLP	0.0057**	0.0240	-0.0256							
R2	0.6263*	0.2688**	0.5420**	-0.6984**						
R3	-0.1751	-0.3799**	0.0164	0.9076**	-0.7532**					
TE	0.0332	0.3638**	0.1851	0.0797	-0.0111	-0.0641				
DLD	0.0192	-0.1704	0.1359	0.0155	-0.0388	0.0616	-0.2854**			
NLD	-0.0517	-0.0405	-0.032	0.0559	-0.0445	0.0622	0.0896	0.1646		
N TCPP	0.0056	0.0680	-0.047	0.0365	-0.0189	-0.0235	-0.1974	0.0486	0.0375	
NED	0.1214	0.3697*	-0.1040	-0.0681	0.14246	-0.1913	0.10756	0.0248	0.1022	0.0996

TPP: Thickness of the palisade parenchyma, TL: Thickness of the leaf, TLP: Thickness of the lacunary parenchyma, R1: Relationship between the thickness of the palisade parenchyma and the thickness of the leaf, R2: Relationship between the thickness of the palisade parenchyma and the lacunary parenchyma, R3: Relationship between the thickness of the lacunary parenchyma and the thickness of the leaf, TE: Thickness of the epiderm, DLD: Diameter of the ligneous ducts, NLD: Number of the ligneous ducts, NTCPP: Number of the threads cells of palisade parenchyma, NED: Number of the excreting ducts, *, ** Significant with the threshold of 0.1%

CONCLUSION

This study noted that, the foliar structure of the Atlas pistachio tree has an important variability at the individuals of the two studied sexes, this variability relates to the structure of the mesophyll, the epiderm, the conducting vessels (xylem) as well as the channels excretors. It was noticed that this variability is rather marked at the individuals of the females compared to that of the males.

SIGNIFICANCE STATEMENTS

This study searching for the characterization of leave anatomic of some individuals issued from a population around Rechaiga (South East of Tiaret). This anatomic study is a way of estimation of the targeted population genetic variability. The present work will contribute to the definition of the leaves anatomy of this species and its variations likely to deepen the mechanisms of adaptation to dry climatic conditions.

REFERENCES

- Chenoune, K., 2005. The flora and vegetation of the Hoggar. Wood For. Trop., 284: 79-83.
- Bitu, C.E. and T. Gerats, 2013. Plant tolerance to high temperature in a changing environment: Scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. Frontiers Plant Sci., 4: 273-273.
- Benhassaini, H., Z. Mehdadi, L. Hamel and M. Belkhdja, 2007. Phytoecology of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* in Northwest Algeria. Sci. Changements Planétaires/Secheresse, 18: 199-205.
- Belhadj, S., A. Derridj, Y. Auda, C. Gers and T. Gauquelin, 2008. Analysis of morphological variability in eight spontaneous populations of *Pistacia atlantica* in Algeria. Bot./Botanique, 86: 520-532.
- Perveen, A. and M. Qaiser, 2010. Pollen flora of Pakistan-LXVI: Anacardiaceae. Pak. J. Bot., 42: 1401-1406.
- Monjauze, A., 1980. Knowledge of betoum: *Pistacia atlantica* Desf. Forest biology. French Scient. Rev., 4: 357-363.
- Belhadj, S., 2004. Algerian pistachio nuts: Current state and degradation. University Center of Djelfa, Algeria, pp: 107-109.
- Ozenda, P., 1983. Flora of the Sahara. National Centre for Scientific Research, Paris, France., Pages: 622.
- Chaba, B., O. Chraa and M. Khichane, 1991. Germination Root Morphogenesis and Growth Rhythms of the Atlas pistachio (*Pistacia atlantica* Desf.): Physiology of Trees and Shrubs in Arid and Semi-Arid Zones. Study Groups of the Tree, Paris, France, pp: 465-472.
- Belhadj, S., A. Derridj, T. Aigouy, C. Gers, T. Gauquelin and J.P. Mevy, 2007. Comparative morphology of leaf epidermis in eight populations of Atlas Pistachio (*Pistacia atlantica* Desf., Anacardiaceae). Microscopy Res. Tech., 70: 837-846.
- Al-Saghir, M.G., 2006. Phylogenetic analysis of the genus pistacia (Anacardiaceae). Ph.D. Thesis, Department of Biological Sciences, Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Oppenheimer, H.R., 1959. Adaptation to drought: Xerophytism. Research and culture report. UNESCO., pp: 54. http://unesdoc.unesco.org/Ulis/cgi-bin/ulis.pl?catno=148782&set=4F64B8F7_3_39&gp=&lin=1&ll=c
- Oppenheimer, H.R., 1961. Adaptation to drought: Xeromorphism. Water exchange of plants from arid and semi-arid environments. Research and culture report. UNESCO., pp: 115-153.
- Amara, M., 2008. Contribution to the study of groupings in *Pistacia atlantica* subsp *atlantica* in Algerian North West. Ph.D. Thesis, Tlemcen University.
- Smail-Saadoun, N., 2005. Stomata types of Pistacia genus: *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* and *Pistacia lentiscus* L. Options Méditerranéennes, 63: 369-371.
- Stocker, O., 1961. The morphological effects and lack of water on the plant. Water exchanges of plants in arid or semi-arid environment. Research report. UNESCO., pp: 69-113.

17. Vidal, A. and J.C. Pogonoc, 1984. Effect of water supply on some characters Morphological and anatomical characteristics of soybean leaves (*Glycine max*(L.)). Merrill, 4: 967-975.
18. Roland, J.C. and F. Roland, 1994. Atlas of Plant Biology: Flowering Plants. 6th Edn., Masson, Paris, Pages: 133.
19. Berthet, J., 2006. Dictionary of Biology. De Boeck University, Brussels, Pages: 1034.
20. Roland, J.C., F. Roland, H.E.M. Bouteau and F. Bouteau, 2008. Atlas of Biology: Flowering Plants. DUNOD., Paris, Pages: 143.
21. Fahn, A. and S. Broido, 1963. The primary vascularization of the stems and leaves of the genera *Salsola* and *Suaeda* (*Chenopodiaceae*). Phytomorphology, 13: 156-165.
22. Smail-Saadoun, N., 2005. Adaptive response of *Chenopodiaceae* anatomy of the Algerian Sahara to conditions of extreme aridity. Drought, 16: 121-124.
23. Muhaidat, R., R.F. Sage and N.G. Dengler, 2007. Diversity of Kranz anatomy and biochemistry in C₄ eudicots. Am. J. Bot., 94: 362-381.
24. Haouari, M. and A. Ferchichi, 2008. Study of genetic polymorphisme of *Artemisia herba-alba* in Tunisia using ISSR markers. Afr. J. Biotechnol., 7: 44-50.
25. Boukhari, M.H. and P.E.B. Wenbeldou, 1978. On anatomy, adaptations to xerophytism and taxonomy of *Anabasis incl.* *Esfandiaria*. Botaniska Notiser, 131: 279-292.