

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Blida I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie des Populations et des Organismes



## *Mémoire de fin d'études*

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : Génomique et Biotechnologie Végétale

### **Thème**

**Contribution à la caractérisation morphologique,  
chimiotaxonomique et moléculaire du figuier du Hoggar  
(*Ficus salicifolia* Vahl).**

**Présenté par :**

**Soutenu, le 16 Septembre 2015**

M<sup>elle</sup> ABDENNBI SILIA

M<sup>elle</sup> BEN RALI INESSE

**Devant le jury :**

Mr .BESSAAD. M.A	Maître de conférences(B)	U B I	Président
Mme ZERKAOUA	Maître assistante (A)	U B I	Examinatrice
Melle AMEDJKOUH H.	Maître assistante (A)	U B I	promotrice

Promotion : 2014/ 2015

## REMERCIEMENTS

Nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.

Puis on exprime nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à M<sup>elle</sup> AMEDJKOUH H., Maître assistante A. à la faculté de biologie Université de Blida I pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordé nous a permis de réaliser ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à Mr BESSAAD .M. A Maître de conférences B. à l'Université de Blida I pour avoir accepté de présider le jury.

Nous remercions Mme ZERKAOUI., Maître assistante A. à l'Université de Blida I pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

Nous tenons également à adresser nos vifs remerciements à Mr. HIMRANE .H Maître Assistant A. à l'Université de Blida I pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire partie du jury.

Nous tenons à exprimer également notre profonde reconnaissance à Mr. HIMRANE .H Chercheur à l'Institut National de la Recherche Forrestière (INRF) pour sa contribution à la réalisation de ce travail et ses précieux conseils qu'il trouve ici nos sincères remerciements

Nos remerciements vont également à l'ensemble des enseignants de la faculté de biologie Blida, nos responsables de promo 2014-2015 et aussi à Mme Brik chaouch ingénieur de laboratoire de la filial biotique du groupe SAIDAL d'EL-Harrach.

Que tous ceux, que nous n'avons pas nommé, et qui de prêt ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce travail, trouvent ici nos sentiments de profonde gratitude et de reconnaissance infinie.

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail :*

*A mes très chers parents qui m'ont soutenu et aidé tout au long de mon cursus  
universitaire,*

*A mes frères Nazim et Safi et ma sœur Maya\*,*

*A ma très chère grand-mère Mami et mes tantes et oncles,*

*A mes cousins et cousines*

*Ma chère collègue et binôme INES et toute sa famille.*

*A ma promotrice Mme AMEDJKOUH qui m'a toujours soutenu.*

*Enfin à toute A tous mes collègues de promotion « Génétique et Biotechnologie  
Végétale »*

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

*Celia*  
**Celia**

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*À mes très chers parents.* Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie Inchallah.

*À mon cher mari SIDALI.* Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études.

*À ma très chère et unique sœur DALLEL et sa petite famille.* En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous, Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

*À ma prunelle de mes yeux CHAHINE.*

*À ma chère et adorable petite nièce DANIA.*

*À ma belle-famille KASASNI que j'aime beaucoup.*

*À toute ma famille BENRALI et MENNADI.*

*À mon binôme CELIA et toute la famille ABDENNEBI.*

*À mes adorables amies : RATIBA, MAYA, LILYA, SANA, MOUNIA,  
SELMA et AMINA.*

*À tous mes collègues de promotion « Génétique et Biotechnologie Végétale »*

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

**INES**

## Résumé

Le présent travail est une contribution à la caractérisation morphologique, chimio-taxonomique et moléculaire des feuilles de 15 individus appartenant à deux variétés de Figuier du Hoggar *Ficus salicifolia* Vahl. : La variété Teloukat et la variété Eucalyptoïdes, dans le but de déterminer la diversité génétique de cette espèce.

L'étude morphologique basée sur l'analyse biométrique des feuilles (longueur et largeur des feuilles et le rapport longueur / largeur des feuilles) du *Ficus salicifolia* a permis de révéler la diversité entre les deux variétés Teloukat et Eucalyptoïdes,

L'étude chimio-taxonomique basée sur l'extraction des flavones-flavonols, acides phénoliques et anthocyanes nous a permis de quantifier par spectrophotométrie UV-visible les teneurs absolues de chaque composé chez les individus des deux variétés.

Les coefficients de variabilité des flavones-flavonols et des acides phénoliques sont de 26,85% pour les deux variétés Teloukat et Eucalyptoïdes. Le coefficient de variabilité des anthocyanes est de 22,36%. Ces deux coefficients ont montré la présence d'une variabilité intra-variétale traduite par une distribution inégale de ces composés au sein des individus de chaque variété.

L'analyse par chromatographie liquide à haute performance (H.P.L.C.) nous a permis d'identifier chez les deux variétés les polyphénols constituant leur carte phénolique qui révèle la présence des composés communs.

L'étude moléculaire par les marqueurs microsatellites (SSR) représentés par l'analyse factorielle de correspondance (AFC) et le dendrogramme a confirmé une diversité intra-variétale, d'autre part, ces marqueurs microsatellites ont montré une diversité génétique plus élevée que les marqueurs morphologiques et biochimiques.

**Mots clés :** *Ficus salicifolia* Vahl., Teloukat, Eucalyptoïdes, Analyse biométrique, Chimiotaxonomie, Polyphénol, Microsatellites.

## Abstract

This work is a contribution to the morphological, chemotaxonomic and molecular characterization of the leaves of 15 individuals that belong to two varieties of Hoggar fig tree *Ficus salicifolia* Vahl : The variety Teloukat and the variety Eucalyptoïdes, in order to determine the genetic diversity of this species.

The morphological study based on the biometric analysis of leaves (leaf length and width and the length / leaf width ratio) of *Ficus salicifolia* has revealed the diversity between the two varieties Teloukat and Eucalyptoïdes,

The chemo-taxonomic study based on the extraction of flavones, flavonols, anthocyanins and phenols acids allowed us to quantify by UV-visible spectrophotometry the absolute concentrations of each compound in individuals of both varieties.

Coefficients of variability of flavones- flavonols and of phenolic acids is 26.85% for both varieties Teloukat and Eucalyptoïdes. The anthocyanin variability coefficient is 22,36% . These two factors showed the presence of an intra-varietal variability resulted in an unequal distribution of these compounds in individuals of each variety.

The analysis by high performance liquid chromatography (HPLC) allowed us to identify in both varieties polyphenols constituting their phenolic map that reveals the presence of common compounds.

The molecular study by microsatellite markers (SSR) represented by the factorial analysis of correspondence (AFC) and the dendrogram confirmed intra-varietal diversity, on the other hand, microsatellites markers showed a higher genetic diversity than morphological and biochemical markers.

**Keywords:** *Ficus salicifolia* Vahl, Teloukat, Eucalyptoïdes, biometric analysis, Chemotaxonomy, Polyphenol, Microsatellites.

## ملخص

هذا العمل مساهمة للتشخيص المرفلوجيو الكيموتصنيفي و الجزيئي لاوراق 15 صنف ينتمون الى نوعين من أشجار تين الصبار – *Ficus salicifolia* – : نوعية *Teloukat* و نوعية *Eucalyptoïdes* بهدف تحديد الاختلاف الحيوي لهذه السلالة.

الدراسة المرفلوجية المعتمدة على التحليل البيو متري للأوراق ( طول و عرض الأوراق و كذا المقارنة بين طول و عرض الأوراق *Ficus salicifolia* ابرز الاختلاف بين النوعين من الأشجار *Teloukat* و *Eucalyptoïdes*).

الدراسة الكيموتصنيفية المعتمدة على استخراج الفلافون – فلافونول و المركبات الفينولية و الانتوسيان مكننتنا بواسطة مقياس الطيف الضوئي من تحديد مقاييس كثافة المكونات لكل نوعية.

معاملات التغيير ل الفلافون – فلافونول و المركبات الفينولية هي %26,85 للنوعيتين تلوكات و ايكالبتويداس. معامل التغيير للانتوسيان هو %22,36 هذان المعاملان اثبتوا وجود تباين بين النوعيتين اظهر توزيع غير عادل للمكونات داخل عناصر كل نوعية.

التحليل بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء اللوني (H.P.L.C) مكننا من تشخيص لدى كل نوعية المركبات الفينولية المكونون للبطاقة الفينولية التي تثبت وجود مكونات مشتركة.

الدراسة الجزيئية بواسطة الوسومات الوراثية (SSR) و (AFC) اثبتت الاختلاف داخل كل نوعية من جهة كما يبين SSR وجود تباين جيني اعلى من الذي اثبتته الوسومات الجزيئية المرفلوجية و البيوكيميائية.

**الكنمات المفتاحية :-** *Ficus salicifolia*, *Teloukat*, *Eucalyptoïdes*, التحليل البيو متري, الكيموتصنيفية, المركبات الفينولية, الوسومات الوراثية.

# Abréviation

**ACP** :Analyse des Composantes Principale.

**AFC** : Analyse factorielle de correspondance.

**AFLP** :Amplified Fragment-Length Polymorphism

**AlCl<sub>3</sub>** :Chlorured'aluminium.

**CH<sub>3</sub>CN** :acétonitril.

**CH<sub>3</sub>COOH** :acide acétique.

**CH<sub>3</sub>OH** : méthanol.

**CV** : Coefficient de variation

**D.O** : Densité optique.

**H.P.L.C** : Chromatographie Liquide à Haute Performance.

**HCl** : acide chlorhydrique.

**RAPD** :RandomAmplifiedPolymorphic DNA

**SSR«Simple SequenceRepeats»** : séquences répétées en tandem.

**T** :teneur.

**UPGMA** :Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean

**UV** : Ultra-violet.

**Vahl** :Martin Vahl

## Liste des Tableaux

<b>Tableau I :</b> Principales classes de composés phénoliques.....	<b>10</b>
<b>Tableau II:</b> Préparation des solutions témoin et essai pour le dosage des extraits par spectrophotométrie.....	<b>19</b>
<b>Tableau III:</b> Les conditions de HPLC.....	<b>23</b>
<b>Tableau IV :</b> Résultats des analyses morphométriques de la longueur des feuilles (LF) de 15 individus du <i>Ficus salicifolia</i> : variétés Teloukat et Eucalyptoïdes.....	<b>26</b>
<b>Tableau V:</b> Analyses des variations significatives de la longueur de 20 feuilles de 2 variétés (Teloukat et Eucalyptoïdes) du <i>Ficus salicifolia</i> .....	<b>Annexe II</b>
<b>Tableau VI:</b> Résultats des analyses morphométriques de la largeur des feuilles (lf) de 15 individus du <i>Ficus salicifolia</i> variété Teloukat et Eucalyptoïdes.....	<b>27</b>
<b>Tableau VII:</b> Analyse des variations significatives de la largeur de 20 feuilles de deux variétés (Teloukat et Eucalyptoïdes) du <i>Ficus salicifolia</i> .....	<b>Annexe II</b>
<b>Tableau VIII:</b> Résultats des analyses morphométriques de la longueur sur la largeur des feuilles (LF/lf) de 15 individus du <i>Ficus salicifolia</i> variété Teloukat et Eucalyptoïdes.....	<b>28</b>
<b>Tableau IX:</b> Analyse des variations significatives du rapport longueur sur largeur des feuilles de deux variétés (Teloukat et Eucalyptoïdes) du <i>Ficus salicifolia</i> .....	<b>Annexe II</b>
<b>Tableau X:</b> Résultats des analyses morphométriques de la longueur des pétioles (LP) de 15 individus du <i>Ficus salicifolia</i> variété Teloukat et Eucalyptoïdes.....	<b>29</b>
<b>Tableau XI:</b> Analyse des variations significatives de la longueur des pétioles de 20 feuilles de deux variétés (Teloukat et Eucalyptoïdes) du <i>Ficus salicifolia</i> ...	<b>Annexe II</b>
<b>Tableau XII:</b> Résultats des analyses morphométriques de la longueur des stipules (LS) de 15 individus du <i>Ficus salicifolia</i> variété Teloukat et Eucalyptoïdes .....	<b>31</b>
<b>Tableau XIII :</b> Analyse des variations significatives de la longueur des stipules de vingt feuilles de deux variétés (Teloukat et Eucalyptoïdes) du <i>Ficus salicifolia</i> .....	<b>Annexe II</b>
<b>Tableau XIV :</b> Matrice de corrélation de quelques variables (individus confondus, N=15)...	<b>32</b>
<b>Tableau XV:</b> La variance totale expliquée par les axes de l'ACP (pourcentage expliqué par les axes principaux). Valeurs propres.....	<b>33</b>
<b>Tableau XVI:</b> Valeurs propres des variables sur les axes principaux.....	<b>33</b>
<b>Tableau XVII :</b> Teneur absolue en flavones-flavonols et en acide phénol des feuilles de 15 individus de <i>Ficus salicifolia</i> Vahl.VariétéTelouka et Eucalyptoïdes.....	<b>36</b>

<b>Tableau XVIII:</b> Teneur absolue en anthocyanes des feuilles de 15 individus de <i>Ficus salicifolia</i> Vahl. variétéTeloukat et. Eucalyptoïdes.....	<b>37</b>
<b>Tableau XIX:</b> Teneurs absolues en C-glycosides des feuilles de dix individus de <i>Ficus salicifolia</i> Vahl. VariétéTeloukat et Eucalyptoïdes.....	<b>38</b>
<b>Tableau XX:</b> Caractéristiques chromatographiques de flavones-flavonols détectés chez les deux variétés de <i>Ficus salicifolia</i> Vahl. (Teloukat et Eucalyptoïdes).....	<b>39</b>
<b>Tableau XXI :</b> Caractéristiques chromatographiques des acides phénols détectés chez les deux variétés de <i>Ficus salicifolia</i> Vahl. (Teloukat et Eucalyptoïdes).....	<b>41</b>
<b>TableauXXII :</b> Caractéristiques chromatographiques des anthocyanes détectés chez les deux variétés de <i>Ficus salicifolia</i> Vahl. (Teloukat et Eucalyptoïdes).....	<b>42</b>
<b>Tableau XXIII:</b> L'inertie totale expliquée par les axes de l'ACP (pourcentage expliqué par les axes principaux) des valeurs propres.....	<b>43</b>
<b>Tableau XXIV :</b> Valeurs propres des variables sur les axes principaux.....	<b>44</b>

## Liste des Figures

<b>Figure 01:</b> Aspect générale de <i>Ficus salicifolia</i> Vahl.....	<b>04</b>
<b>Figure 02 :</b> Feuille de <i>Ficus salicifolia</i> Vahl. ....	<b>05</b>
<b>Figure 03:</b> Fruits mature de <i>Ficus salicifolia</i> Vahl. ....	<b>06</b>
<b>Figure 04 :</b> Tronc du figuier incrusté dans la roche.....	<b>07</b>
<b>Figure 05:</b> Figuier sur failles rocheuses .....	<b>07</b>
<b>Figure 06 :</b> Situation de la zoned'étude .....	<b>13</b>
<b>Figure 07:</b> Protocole expérimental d'extraction, de dosage et d'identification des flavones- flavonols, des acides phénols, des anthocyanes et des C-glycosides des feuilles de <i>Ficus salicifolia</i> Vahl.....	<b>17</b>
<b>Figure 08 :</b> Schéma représentatif du principe de fonctionnement d'HPLC.....	<b>22</b>
<b>Figure09:</b> Diagramme d'ordination des variables dérivé de l'ACP dans le plan de projection des axes 1-2.....	<b>34</b>
<b>Figure 10 :</b> Profil chromatographique des flavones- flavonols présents dans les feuilles de <i>Ficus salicifolia</i> Vahl. détectés par H.P.L.C.à 365 nm en mode de gradient isocratique.....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 11 :</b> Profil chromatographique des acides phénols présents dans les feuilles de <i>Ficussalicifolia</i> Vahl. détectés par H.P.L.C.à 260 nm en mode de gradient isocratique.....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 12 :</b> Profil chromatographique des C-Glycosides présents dans les feuilles de <i>Ficus</i> <i>salicifolia</i> Vahl. détectés par H.P.L.C.à 370 nm en mode de gradient isocratique.....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 13 :</b> Diagramme d'ordination des variables dérivé de l'ACP dans le plan de projection de l'axe 1.....	<b>44</b>
<b>Figure 16:</b> Diagramme d'ordination dérivé de l'ACP dans le plan de projection des axes 1-2 (caractères feuilles).....	<b>51</b>
<b>Figure 17:</b> Dendrogramme de la classification hiérarchique des 15 individus du <i>Ficus</i> <i>salicifolia</i> basée sur les paramètres chimiotaxonomiques des feuilles.....	<b>52</b>
<b>Figure 18:</b> Analyse factorielle de correspondance (AFC) sur les deux premiers axes des15 individus du figuier <i>Ficus salicifolia</i> .....	<b>55</b>
<b>Figure 19:</b> Dendrogramme généré par l'analyse des marqueurs SSR des 15 individus du <i>Ficus salicifolia</i> .....	<b>56</b>

# Table des matières

Introduction.....	01
-------------------	----

## Partie bibliographique

### I. Généralités sur le figuier du Hoggar : *Ficus salicifolia*

I.1. Historique.....	03
I.2. Classification botanique.....	03
I.3. Description botanique.....	04
I.4. Distribution et écologie de <i>Ficus salicifolia</i> Vahl.....	06

### II. Diversité génétique et marqueurs biologiques

II.1. La diversité génétique.....	08
II.2. Les marqueurs biologiques.....	08
II.2.1. Les marqueurs morphologiques.....	08
II.2.2. Les marqueurs biochimiques.....	09
II.2.3. Marqueurs moléculaires.....	11

## Partie expérimentale

### I. Matériel et méthodes

I.1Matériel.....	13
I.1.1.Matériel biologique.....	13
I.1.2. Matériel non biologique.....	14
I.2. Méthodes.....	14
I.2.1. L'étude morphométrique.....	14
I.2.1.1. Analyse statistique.....	14
I.2.2. L'étude chimio-taxonomique.....	15
I.2.2.1. Etude phytochimique (extraction des polyphénols).....	15
I.2.2.2. Analyse quantitative des polyphénols par spectrophotométrie.....	18
I.2.2.3. Analyse qualitative par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	21

I.3. L'étude moléculaire.....	24
I.3.1. Le marquage moléculaire.....	24
Analyse de la structure génétique des individus.....	24

## **II. Résultat et discussion**

II.1. Résultats de l'étude morphologique.....	26
II.1.1. Analyse uni variable.....	26
II.1.2. Analyse multivariable.....	32
II.1.2.1. Matrice de corrélation.....	32
II.1.2.2. Analyse des composantes principales.....	33
II.2. Résultats de l'étude chimiotaxonomique.....	36
II.2.1. Résultats de l'analyse quantitative par spectrophotométrie UV-visible.....	36
II.2.1.1. Dosage des flavones-flavonols et des acides phénols.....	36
II.2.1.2. Dosage des Anthocyanes.....	37
II.2.1.3. Dosage des C-glycosides.....	38
II.2.2. Résultats de l'analyse qualitative par HPLC.....	39
II.2.2.1. Identification des flavones-flavonols.....	39
II.2.2.2. Identification des acides phénols.....	40
II.2.2.3. Identification des anthocyanes.....	42
II.2.3. Résultats de l'analyse statistique.....	43
II.2.3.1. Analyse multivariable.....	43
II.3. Résultat de l'étude moléculaire.....	46
II.3.1. Diversité génétique.....	46
II.3.2. Structure génétique du figuier.....	46
II.3.2.1. Analyse multivariable.....	46
<b>Conclusion.....</b>	<b>58</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>60</b>
<b>Annexes</b>	

## Introduction

A travers les âges, l'Homme a pu compter sur les plantes tant pour subvenir à ses besoins de base : alimentation (blé, maïs, pomme de terre), les soins de santé (digitale, pavot, pervenche), les vêtements (coton, chanvre), la construction (bambou, hévéa), que pour la purification de l'air et de l'eau (SCHIPPMANN *et al.*, 2006). Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux différents paramètres qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité.

Cependant l'évaluation de ces paramètres demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'objet de nombreuses études (GILLES, 1976 ; ISERIN, 2001).

Dans les régions arides, plus spécialement le Sahara central, La flore est restée jusqu'en 1928 seulement connue par des récoltes d'explorateurs, de militaires et des Touaregs (CHENOUNE, 2005). Elle est le résultat de nombreux changements climatiques survenus à l'ère quaternaire (SAHKI *et* SAHKI, 2004), par conséquent, les espèces constituant la flore du Hoggar sont de diverses origines biogéographiques. Hormis les espèces propres au Sahara, nous retrouvons également des éléments méditerranéens (olivier, lavande, myrte...) et tropicaux dont le **figuier du Hoggar** (*Ficus salicifolia* Vahl.) qui est une espèce tropicale de la famille des moracées, arbre endémique de l'Ahaggar, il est retrouvé à l'état de pied isolé (CHENOUNE, 2005) dont le tronc émerge entre les roches bordant les oueds et autres points d'eau de la région.

La description morphologique des feuilles et l'analyse des composés potentiels attribués aux métabolites secondaires de grande diversité de structure chimique ainsi que l'étude moléculaire à l'aide des marqueurs microsatellites (SSR) ont permis de cerner la grande diversité génétique, ces derniers possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études. Les inventaires axés sur cette végétation (MAIRE, 1961 ; QUEZEL, 1963 ; OZENDA, 1977) ont laissés place, sans disparaître pour autant, aux études morphologiques, biochimiques, et génétiques.

C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à l'étude de deux variétés de figuier *Ficus salicifolia* Vahl: Eucalyptoïdes et Teloukat de la famille des Moracées.

Le recours aux paramètres morphométriques en tant que marqueurs morphologiques et aux composés phénoliques comme marqueurs chimiotaxonomiques et les microsatellites (SSR) commemarqueurs moléculaires ont souvent été utilisés pour affiner la diversité entre les variétés intra spécifiques des espèces et la détermination de leurs relations phylogénétiques (MACHEIX *et al.*, 2005).

L'objectif de notre travail contribue à la caractérisation morphologique, chimiotaxonomique et moléculaire des feuilles du figuier du Hoggar (*figus salicifolia*). Pour cela notre étude englobe trois aspects :

- Le premier est d'ordre morphologique basé sur des paramètres morphométriques des feuilles.
- Le second est d'ordre phytochimique basé principalement sur l'extraction des composés phénoliques ainsi que leur dosage par l'utilisation des différentes techniques chromatographiques et spectrales.
- Le troisième aspect consiste à traiter les résultats de l'étude moléculaire réalisée au niveau de l'INRA de Montpellier et de les comparer avec les résultats obtenus des deux études précédentes, afin de confirmer cette diversité génétique du figuier.

## I.1. Historique

Le figuier appartient à la famille botanique des Moracées, il était connu dès la plus haute antiquité et cela fut démontré, d'une part, grâce aux résultats de nombreuses études paléontologiques, où sa présence a été signalé dans les sédiments fossiles de l'oligocène qui date de plus de 35 millions d'années avant J.C. (SOLEMAN, 1978 ; CARAGLIO, 2005), d'autre part, il était étroitement associé aux anciennes sociétés par sa très large et ancienne diffusion via la culture pour son fruit ; son nom a été mentionné dans le moyen orient par les Sumériens dès le III<sup>e</sup> millénaire (2900 ans avant J.C.), les Assyriens vers l'an 2000 avant J.C. et par les Egyptiens il y a plus de 5000 ans, au temps des Ramsès et des Pharaons, en témoigne, une peinture égyptienne représentant la cueillette des figues vieille de 4500 ans. Dans la mythologie Grecque, le figuier était un don de la déesse des moissons et de la terre. Les grecs s'en servaient comme source d'énergie aux athlètes (SOLEMAN, 1978 ; EL BOUZIDI, 2002 ; CARAGLIO, 2005).

Le figuier fait partie des arbres cités dans le coran dans la "sourate ettine": "Par le figuier et l'olivier"(CHENOUNE, 2005).

Certaines espèces de *Ficus* se trouvent au Sahara, il s'agit d'espèces tropicales (*Ficus salicifolia*) ayant colonisé cet endroit il y a deux mille cinq cent ans. Cela s'est produit quand la mousson tropicale est remontée vers le nord réchauffant ainsi le Sahara qui, jadis, était de climat froid (QUEZEL et SANTA, 1963).

## I.2. Classification botanique

La classification adoptée est basée sur le système APGIII (Groupe Phylogénique des Angiospermes établie en 2009 (CHASE et REVEAL, 2009)

- ◆ Règne : Plantae
- ◆ Embranchement : Spermaphytes
- ◆ Sous-embranchement : Angiospermes
- ◆ Classe : Magnoliopsida (Dicotylédones)
- ◆ Ordre : Urticales
- ◆ Famille : Moracées
- ◆ Genre : *Ficus* L.
- ◆ Espèce : *Ficus salicifolia* Vahl.
- ◆ Nom vernaculaire : - Fiquier du Sahara, Fiquier du Hoggar (en Français)(GÉHU, 2000).  
- Teloukat (en Tamâhaq) (SAHKI et SAHKI, 2004).

La famille des Moracées est une importante famille qui compte environ 1500 espèces classées en 52 genres (CARAGLIO, 2005), poussant essentiellement dans les zones tropicales, mais certaines vivent dans les régions tempérées (PROFFIT et al., 2009), les espèces lui appartenant sont caractérisées par la présence de latex blanc ou incolore (écoulement de lait au niveau de la moindre blessure provoquée sur toute partie de la plante) (CARAGLIO, 2005) et par leurs fruits en syncarpe (fruit composé formé d'akènes regroupés et fixés sur la paroi interne d'un réceptacle charnu) (SPICHIGER et al., 2004).



**Figure 01: Aspect générale de *Ficus salicifolia* Vahl. (ORIGINALE).**

Le genre *Ficus* décrit par Linné comporte en lui seul environ un millier d'espèces (RAMADE, 2008) ; le mot "*Ficus*" est un qualificatif désignant une verrue en référence au lait du figuier, le latex, qui guérit les verrues (OUKABLI, 2003). Ce genre n'est représenté au Sahara que par quelques espèces ; entre autre le figuier du Sahara, *Ficus salicifolia* Vahl. qui est représenté par deux variétés, la variété Teloukat Batt. et Trab. et la variété Eucalyptoïdes Maire (GÉHU, 2000). Ainsi que *Ficus ingens* Miq. (GAST, 2000).

### I.3. Description botanique

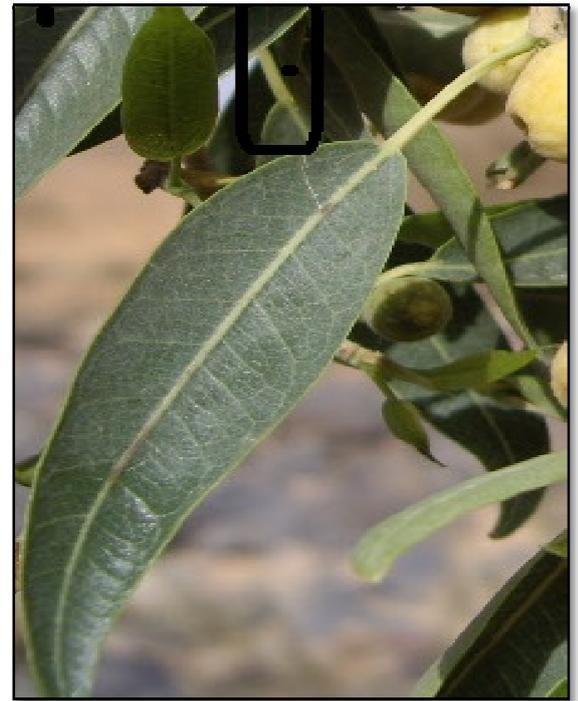
#### I.3.1. Le tronc

*Ficus salicifolia* Vahl. 1970, est un arbre de taille moyenne de 6 à 12 mètres de hauteur (SAHKI et SAHKI, 2004). Cependant BERG et WIEBES (1992) rapportent qu'il peut atteindre 15 mètres de hauteur (Figure 01). Le tronc n'est jamais très large (guère plus de 10 cm de diamètre) (GAST, 2000), ayant une écorce grise claire à fond verdâtre, elle est écailleuse chez les sujets âgés (SAHKI et SAHKI, 2004).

### I.3.2. Les feuilles

Les feuilles de *Ficus salicifolia* Vahl., dont le contour est entier ont un limbe lisse, de couleur vert foncé sur la face supérieure, plus claire sur la face inférieure, tantôt oblongue-lancéolé (3-12 x 1-5 cm), un peu cordé à la base avec une seule nervure principale, sans nervure au bord (variété **Teloukat**) ; tantôt étroitement lancéolé (5-8 x 1-2 cm), non cordé et arrondie à la base, bordé d'une nervure marginale, (variété **Eucalyptoïdes**) (MAIRE, 1961 ; OZENDA, 1977).

Selon BERG et WIEBES (1992), la taille du pétiole varie de 0.5 à 4 cm de long (Figure 02) et les feuilles sont pérennes.



**Figure 02 : Feuille de *Ficus salicifolia* Vahl. (ORIGINALE).**

### I.3.3. Les inflorescences et le fruit

Quel que soit l'espèce, un figuier se reconnaît aisément par sa figue qui est d'abord une inflorescence puis devient un fruit (CARAGLIO, 2005).

L'inflorescence est un réceptacle charnu en forme d'urne « **sycone** » dont l'intérieur est tapissé d'un alignement de fleurs unisexuées mâles et femelles (Figure 03), possédant un seul ovule (JOUSSELIN et al., 2001a). Elle peut contenir les deux types de fleurs pour les espèces monoïques, comme elle peut ne contenir qu'un seul type, mâle ou femelle pour les espèces dioïques. Au sommet du sycone un orifice appelé « **ostiole** » est obstrué par des bractées jusqu'à maturité physiologique (KJELLEBERG, 2008).

Les espèces appartenant au genre *Ficus* ont une pollinisation entomogame (RAMADE, 2008). En effet, le processus se réalise suite à une interaction entre *Ficus* (Moracées) et un insecte pollinisateur spécifique à chaque espèce de *Ficus* et qui appartient à la famille des Agaonides (JOUSSELIN et al., 2003).

Selon CARAGLIO (2005), la figue n'est pas un vrai fruit mais un réceptacle charnu qui abrite un grand nombre de petites graines « Akènes » qui forment le fruit.

Les figues de *Ficus salicifolia* Vahl. ont la dimension d'un pois (environ 1cm de diamètre), rouges et sucrées à maturité, légèrement velues et aplaties sur leurs parties supérieures (SAHKI et SAHKI, 2004). Ce sont des fruits assez fades qui sont séchées et préparées pour obtenir une boisson colorée et rafraichissante (Figure 03).

**Figure 03 : Fruits mature de *Ficus salicifolia* Vahl. (ORIGINALE).**

#### **I.4. Distribution et écologie de *Ficus salicifolia* Vahl.**

Selon KJELLBERG (2008), les Figueiers se trouvent dans toutes les régions tropicales et s'adaptent à des habitats étonnement variés. En effet, Ce sont des arbres très rustiques pouvant s'acclimater à des conditions édapho-climatiques assez difficiles (DURY, 1992) :

- \* Le figuier est naturellement peu exigeant et s'accommode à tout type de sol ; il se développera tout de même mieux dans des milieux sablonneux et fertiles avec une préférence pour les sols calcaires, de plus c'est une espèce adaptée à la sécheresse (CARAGLIO, 2005).
- \* Le climat du Hoggar, de type « tropical peu méditerranéen » et désertique, plus par la faiblesse des précipitations que par leur rareté, les précipitations annuelles s'étalent sur la période estivale du mois de Mai au mois de Septembre suite à la remontée du front intertropical (CHENOUNE, 2005).

*Ficus salicifolia*Vahl. est, selon SAHKI et SAHKI (2004) et CHENOUNE (2005), une espèce endémique du Sahara central où elle est fréquemment rencontrée. Dans le Hoggar, l'espèce se retrouve sur les failles rocheuses, les ravins humides et à proximité des oueds (Figure 04 et 05) plus exactement au niveau des stations In zbib, Tit, In Houter, IH Aghi et Tadanine, elle est également rencontrée en Arabie Saoudite et en Afrique tropicale (OZENDA, 1977 ; SAHKI et SAHKI, 2004).



**Figure 04 : Tronc du figuier incrusté dans la roche(ORIGINALE).**

**Figure 05 : Fiquier sur failles rocheuses(ORIGINALE).**

## II. 1. La diversité génétique

La diversité génétique est la variation qui existe au niveau des gènes. C'est la variation de la quantité d'informations génétiques des individus, des populations, des espèces, et des communautés. Elle est définie par le niveau de similarité ou de différence et représente le fondement de la biodiversité (**BUDAK *et al.*, 2003**). C'est la diversité intra-spécifique (polymorphisme génétique) qui représente le potentiel et la capacité à répondre aux changements environnementaux, à la fois sur le court terme (faculté d'adaptation) et sur le long terme (potentiel d'évolution)(**GIANCOLA *et al.*, 2006**).

## II.2. Les marqueurs biologiques

La diversité génétique est le résultat de plusieurs phénomènes dont la sélection, les mutations, la migration et la dérive génétique. Ces forces évolutives ont toutes des effets sur l'importance et l'organisation de la variabilité génétique. Les effets de ces forces portent sur l'ampleur et l'organisation du polymorphisme : la mutation et la migration augmentent la diversité alors que la sélection et la dérive génétique la diminuent(**SAMOUELIAN *et al.*, 2009**). L'utilisation de la diversité génétique dans un programme de sélection passe inévitablement par son estimation et par le choix du type de marqueur susceptible de la traduire le plus fidèlement possible (**RAVEL *et al.*, 2004**). Trois types de marqueurs sont largement utilisés pour l'évaluation de la variabilité génétique, à savoir les marqueurs morphologiques, les marqueurs biochimiques et les marqueurs moléculaires(**CUI *et al.*, 2001**).

### II.2.1. Les marqueurs morphologiques

Dans les programmes de sélection des plantes, les caractères morphologiques sont les premiers à être observés. Ces caractères intéressent diverses parties de la plante : la longueur des tiges, les surfaces foliaires, l'initiation de la floraison et le fruit(**GOMEZ *et al.*, 2004**). Les marqueurs morphologiques ont été retenus dans un premier temps parce qu'ils présentaient l'avantage d'être immédiatement disponibles et nécessitent seulement un équipement simple. Ils représentent des variations de type qualitatif (couleur..), morphologique (forme), des résistances à des maladies ou des ravageurs (**SAMOUELIAN *et al.*, 2009**).

L'étude des différents caractères quantitatifs se rapporte aux parties morphométriques : longueur et largeur des feuilles, longueur des pétioles, longueur des stipules et le fruit (**CRONK, 2010**).

Ces critères sont utilisés pour décrire et identifier les lignées et les variétés chez les végétaux. Cependant, ces marqueurs sont peu polymorphes et en général dominants, ils ont fréquemment une base génétique complexe, ils sont limités en nombre et leur expression est souvent fortement influencée par l'environnement (ANDERSSON *et al.*, 2006).

### II.2.2. Les marqueurs biochimiques

Les marqueurs biochimiques ont été mis en œuvre pour étudier la variabilité génétique (HARRY, 2001). Ils se caractérisent par un pouvoir de discrimination plus élevé que les marqueurs morphologiques (BANK *et al.*, 2001).

Les composés phénoliques forment un groupe de composés phytochimiques le plus important des plantes (BETA *et al.*, 2005), comme c'est le cas pour la plupart des substances naturelles qualifiées de métabolites secondaires, leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, les organes, les tissus et les stades physiologiques (SARNI-MACHADO *et CHEYNIER*, 2006), d'où leur utilisation en tant que marqueurs biochimiques en chimiotaxonomie pour caractériser les cultivars ou les variétés de différentes espèces (VAN SUMERE *et al.*, 1993).

La diversité génétique des espèces a été étudiée à l'aide des marqueurs enzymatiques tels que les alloenzymes qui sont des formes moléculaires distinctes d'une enzyme chez un même organisme et ayant la même activité catalytique. Ces marqueurs ont été également utilisés en combinaison avec des marqueurs morphologiques pour comparer la structuration de la diversité génétique.

Vu le faible niveau de polymorphisme révélé par les marqueurs biochimiques et sa variabilité en fonction des conditions environnementales, il est souvent nécessaire d'utiliser les marqueurs moléculaires pour compléter l'évaluation et l'étiquetage des ressources génétiques.

#### II.2.2.1. Les composés phénoliques

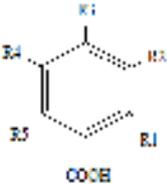
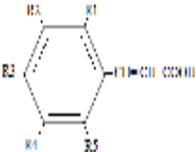
Les composés phénoliques ou polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes (BAHORUN, 1997), ils constituent un ensemble de molécules très largement répandues dans le règne végétal (MAROUF, 2000), avec plus de 8000 structures (LÉGER *et AMIOT*, 2000 ; LUGASI *et al.*, 2003), allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tannins (MARTIN *et ANDRIANTSITOHAINA*, 2002).

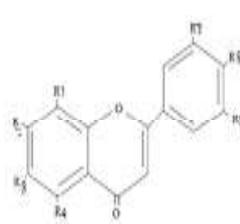
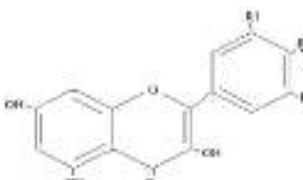
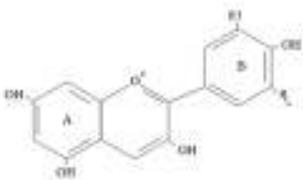
### A. Les principales structures chimiques

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol en C<sub>6</sub> aux flavonoïdes en C<sub>15</sub>. Ces molécules sont présentées sous forme soluble dans la vacuole (MACHEIX *et al.*, 2005).

D'après SARNI-MANCHADO et CHEYNIER (2006), les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (Tableau I) :

**Tableau I : Principales classes de composés phénoliques.**

Classe	Groupe	Structure chimique	Exemples
Phénols simples	Acides hydroxy-benzoïques	<p>C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub></p> 	<p><b>Ac. p – hydroxybenzoïques</b></p> <p>R1= H, R2 = H, R3 = OH, R4 = H, R5 = H</p>
			<p><b>Ac.protocatéchuque</b></p> <p>R1= H, R2 = OH, R3 = OH, R4 = H, R5 = H</p>
			<p><b>Ac.Gallique</b></p> <p>R1= H, R2 = OH, R3 = OH, R4 = OH, R5 = H</p>
			<p><b>Ac. Syringique</b></p> <p>R1= H, R2 = OCH<sub>3</sub>, R3 = OH, R4 = OCH<sub>3</sub>, R5 = H</p>
			<p><b>Ac.Gentisique</b></p> <p>R1= OH, R2 = H, R3 = H, R4 = OH, R5 = H</p>
	Acides hydroxy-cinnamiques	<p>C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub></p> 	<p><b>Ac. p-Coumarique</b></p> <p>R1= H, R2 = H, R3 = OH, R4 = H, R5 = H</p>
			<p><b>Ac. Caféique</b></p> <p>R1= H, R2 = OH, R3 = OH, R4 = H, R5 = H</p>
			<p><b>Ac. Férrulique</b></p> <p>R1= H, R2 = OCH<sub>3</sub>, R3 = OH, R4 = H, R5 = H</p>
			<p><b>Ac. Sinapique</b></p> <p>R1= H, R2 = OCH<sub>3</sub>, R3 = OH, R4 = OCH<sub>3</sub>, R5 = H</p>

Flavonoïdes	Flavones	$C_6-C_3-C_6$ 	<b>Tangéretine</b> R1= R2 = R3 = R4 = R6 = OCH <sub>3</sub> ; R5 = R7
			<b>Sinensertine</b> R1= R2 = R3 = R4 = R6 = OCH <sub>3</sub> ; R5 = R7
			<b>Apigénine</b> R1= H ; R2 = OH
	Flavonols	$C_6-C_3-C_6$ 	<b>Lutéoline</b> R1 = R2 = OH
			<b>Kaempférol</b> R1= R3 = H ; R2 = OH
			<b>Quercétine</b> R1= R2 = OH ; R3 = H
	Anthocyanes	$C_6-C_3-C_6$ 	<b>Cyanidine</b> R1= OH ; R2 = H
			<b>Pétunidine</b> R1= OCH <sub>3</sub> ; R2 = OH
			<b>Pélagonidine</b> R1=R2 = H

\*Ac : acideSARNI- MANCHADO et CHEYNIER (2006).\* ρ : para

### II.2.3. Marqueurs moléculaires

Un marqueur génétique est un marqueur moléculaire qui permet de révéler un polymorphisme(SERRE, 2006).

D'aprèsALONSO-BLANCO et *al.*,(2005), un bon marqueur doit être :

- ✓ **Polymorphe** (la matière première du généticien est la variabilité)
- ✓ **co-dominant** (l'hétérozygote présente simultanément les caractères des deux parents homozygotes)
- ✓ **multialléliques**,
- ✓ **non épistatique** (son génotype peut être lu à partir de son phénotype quelque soit le génotype des autres locus)

- ✓ **neutre** (les substitutions alléliques au locus marqueur n'ont pas d'autres effets phénotypiques)
- ✓ **insensible au milieu** (le génotype peut être inféré à partir du phénotype quelque soit le milieu)

Les marqueurs moléculaires répondent bien à ces critères et, contrairement aux marqueurs associés à des caractéristiques morphologiques ou biochimiques, ils révèlent directement les modifications du patrimoine génétique, c'est-à-dire de l'ADN, qu'elles se traduisent ou non par une modification phénotypique. Ce polymorphisme de l'ADN résulte de mutations, produisant soit des substitutions nucléotidiques, soit des insertions ou des délétions d'une ou plusieurs bases. L'analyse par ces marqueurs peut être réalisée tout au long du développement de la plante. Ces marqueurs ont le potentiel d'exister en nombre illimité, couvrant le génome entier, et ils ne sont pas influencés par l'environnement (**DE MORAES et al., 2007**).

De nombreux marqueurs moléculaires ont été mis à la disposition des chercheurs, et de nouveaux sont régulièrement décrits et mis en évidence selon l'ordre chronologique : RFLP «Restriction Fragment Length Polymorphism», RAPD «Random Amplified Polymorphic DNA»), AFLP «Amplified Fragment Length Polymorphism» et les microsatellites ou SSR «Simple Sequence Repeats» (**RUSSELL et al., 2004**).

### **II.2.3.1. Les Microsatellites ou SSR «Simple Sequence Repeats»**

Les microsatellites sont constitués de répétitions en tandem de motifs mono-, di-, tri-, ou tétra-nucléotidiques sur une longueur inférieure à 100 paires de bases, de tels motifs sont très nombreux dans le génome des organismes eucaryotes. Les SSR présentent un taux de polymorphisme extrêmement élevé qui repose sur la variation du nombre d'unités de répétition (n) constituant le microsatellite (**SOLEIMANI et al., 2007**).

Les microsatellites sont des marqueurs codominants, extrêmement polymorphes, faciles à manipuler et permettant le multiplexage. Ils requièrent très peu d'ADN (quelques nanogrammes) et sont bien répartis dans le génome. Ces marqueurs sont très reproductibles et moins lourds d'utilisation que les RFLP ou AFLP avec une bonne résolution analytique.

Ces marqueurs ont été très utiles pour des études de diversité génétique, phylogénétique, ainsi que pour l'évaluation des ressources génétiques et la construction de cartes génétiques. (**MATUS et HAYES, 2002**).

Ce travail a été réalisé durant la période s'étalant du mois de février au mois de mai 2015, le travail ainsi réalisé comprend trois volets :

Une étude morphologique basée sur l'analyse biométrique des feuilles, réalisée au niveau du laboratoire de projet de fin d'étude (PFE) université Blida I.

Une étude chimio taxonomique a été réalisée au niveau du laboratoire de physico-chimie au niveau de la filiale biotique du groupe SAIDAL à EL Harrach ALGER, son objectif consistait à réaliser des extractions des métabolites secondaires à partir des poudres végétales des feuilles du figuier du Hoggar, ainsi que leur dosage par une spectrophotométrie et une Chromatographie Liquide à Haute performance (HPLC).

Une étude moléculaire basée sur les microsatellites SSR, obtenue en collaboration avec l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), et le Centre International de la Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD) Montpellier, France.

## I.1. Matériel

### I.1.1 Matériel biologique

Notre étude a été réalisée sur des feuilles de 15 individus de *Ficus salicifolia* Vahl., dont 12 appartenant à la variété Teloukatet 3 appartenant à la variété Eucalyptoïdes, récoltées en décembre 2014, dans les stations Tit, In zbib, In Houter et IhAghi, située dans la wilaya de Tamanrasset (Figure 06).

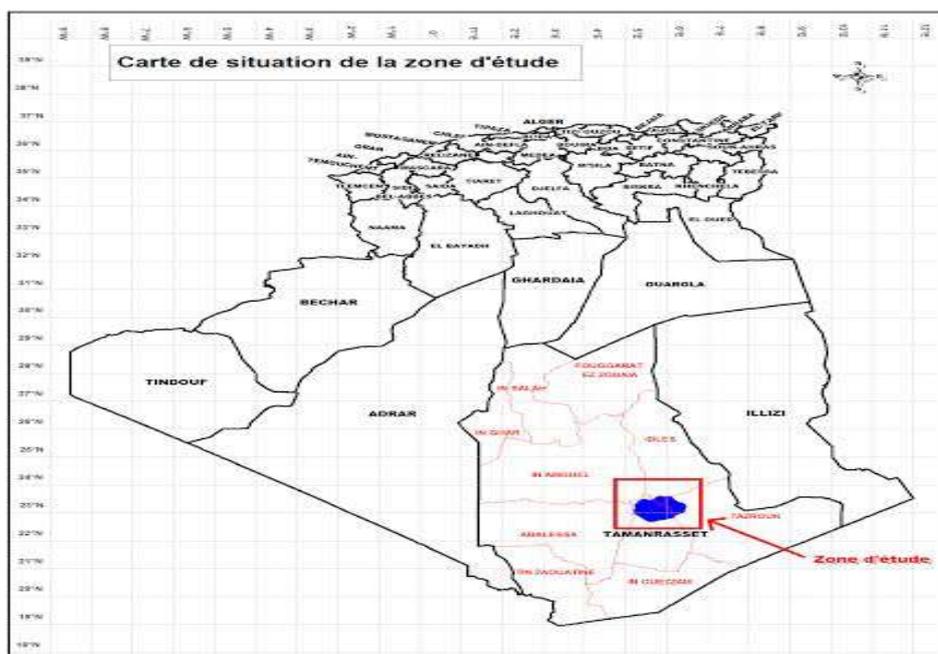


Figure 06: Situation de la zone d'étude (originale).

### **I.1.2. Matériel non biologique**

Le matériel utilisé en laboratoire (l'appareillage, la verrerie et les réactifs) est énuméré en ANNEXE I.

## **I.2. Méthodes**

Pour chaque site étudié, les feuilles ont été prélevées au hasard sur 15 arbres, afin de réaliser l'étude morphométrique et l'étude chimio-taxonomique.

### **I.2.1. L'étude morphométrique**

L'étude des différents caractères se rapportant aux parties morphométriques permettra de décrire la plante et de comparer les différentes parties du figuier selon la grille de description utilisée, qui s'appuie sur le descripteur du figuier (**IPGRI, 2003**).

Les différents paramètres étudiés à savoir : la longueur des feuilles (LF), la largeur des feuilles (lf), La longueur des pétioles (LP) et La longueur des stipules (LS) ont été mesurés à l'aide d'une règle graduée sur des lots de 20 feuilles du *Ficus salicifolia* récoltées au niveau des différents points de l'arbre.

#### **I.2.1.1. Analyse statistique**

À la fin de cette étude, une analyse statistique à l'aide d'un logiciel S.A.S (Statistics Analysis System. 10) sur l'ensemble des paramètres étudiés, permettra d'en choisir les plus intéressants pour une étude discriminante des individus étudiés.

#### **A. Analyse univariable**

##### **✓ Test ANOVA**

L'objectif d'une analyse de variance (ANOVA) vise à tester les différences significatives entre les moyennes (**DAGNELIE, 2006**).

##### **✓ Test de Newman et Keuls**

Le test de *Newman-Keuls* est basé sur la statistique des étendues, il est utilisé pour déterminer les différences significatives entre les moyennes des groupes dans une analyse de variance (**DAGNELIE, 2006**).

## B. Analyse multivariable

### ✓ Matrice de corrélation

Une matrice de corrélation est utilisée pour évaluer la dépendance entre plusieurs variables en même temps. Le résultat est une table contenant les coefficients de corrélation entre chaque variable et les autres (DAGNELIE, 2006).

### ✓ Analyse des Composantes Principales (ACP)

L'analyse des composantes principales est une méthode statistique essentiellement descriptive, son objectif est de présenter sous une forme graphique le maximum de l'information contenue dans un tableau de données. Ce tableau doit être constitué en ligne des individus sur lesquels sont mesurées des variables quantitatives ou pouvant être disposées en colonnes (BRETON *et al.*, 2006)

## I.2.2. L'étude chimio-taxonomique

Le matériel végétal (les feuilles) récolté a été séché à l'air libre, dans un endroit sec pour éviter le développement des moisissures et à l'abri de la lumière afin de garder l'aspect biochimique des molécules.

Les feuilles récoltées de chaque individu ont été broyées, à l'aide d'un moulin à café, en poudre verdâtre que nous avons conservé dans des piluliers sombres dans un endroit sec.

### I.2.2.1. Etude phytochimique (extraction des polyphénols)

Cette extraction est réalisée dans le but d'obtenir : des flavones-flavonols, acides phénols, anthocyanes et C-glycosides.

Nous avons utilisé la méthode mise au point par LEBRETON *et al.* en 1967 à partir d'un schéma initial de BATE SMITH *et al.* en 1954.

Dans un bécher, une hydrolyse acide est réalisée à partir de 4g de poudre végétale, auquel est ajouté 320 ml d'acide chlorhydrique HCl à 2N (ANNEXE I), le mélange est porté au bain marie à 40°C pendant 40 mn avec insufflation d'air toutes les 10 mn à l'aide d'une pipette. Après refroidissement, le décocté est transféré dans une ampoule à décanter et soumis à 3 bains d'éther diéthylique successifs de 50 ml chacun, pendant 30 mn, il s'agit de l'extraction à l'éther.

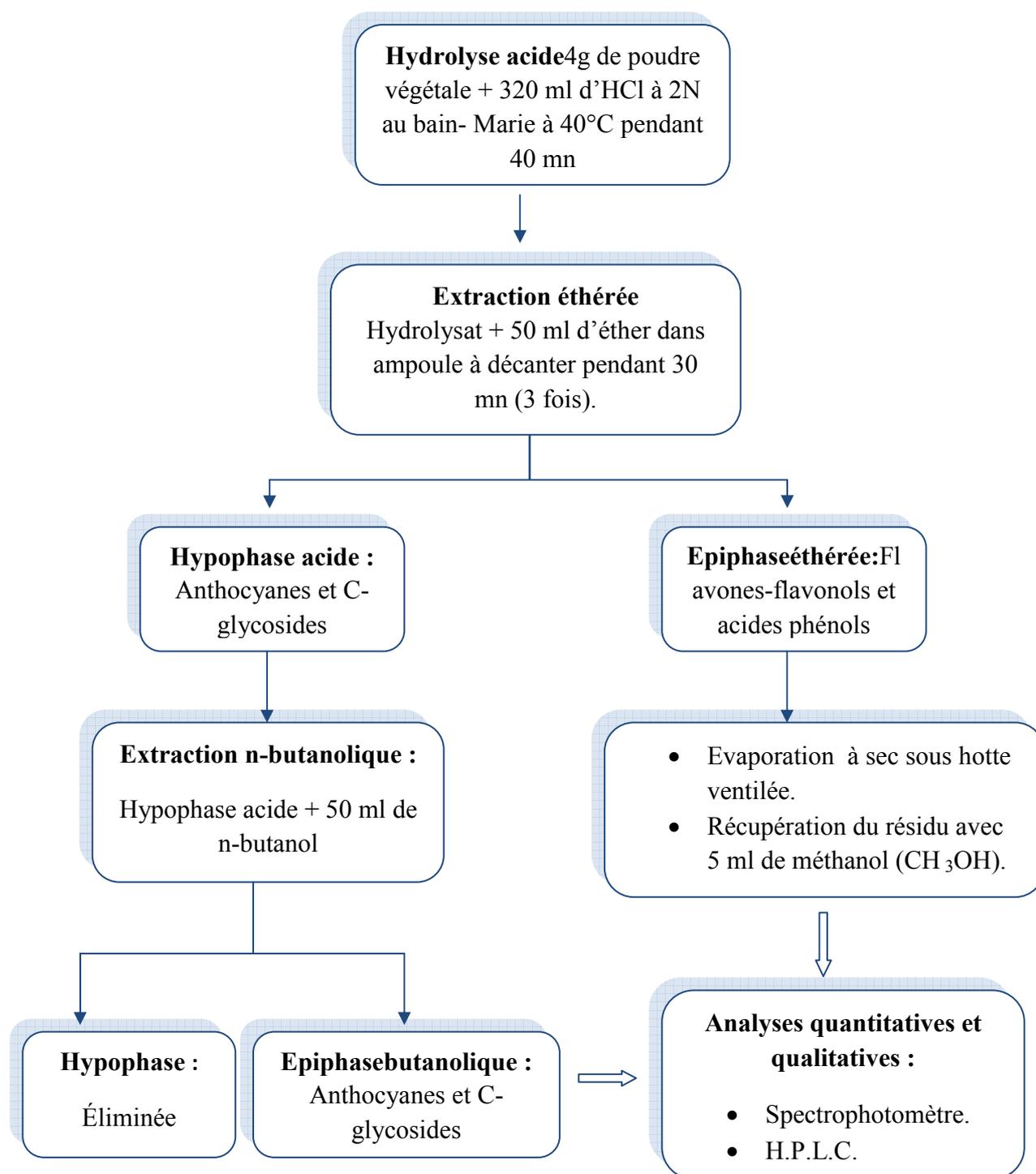
A chaque décantation, deux phases se distinguent, l'une supérieure dite épiphase et l'autre inférieure dite hypophase :

**L'épiphase étherée** : de couleur vert-jaunâtre contient les flavones-flavonols et les acides phénols, elle est récupérée après chaque bain, et mise à évaporation sous hotte ventilée, dans de grandes boîtes de pétries en verre, le résidu sec est récupéré avec 5ml de méthanol (CH<sub>3</sub>OH).

**L'hypophase acide** : de couleur brune rougeâtre renferme les C-glycosides et les anthocyanes, à la dernière décantation est ajouté 50 ml de n-butanol, la décantation dure 30 mn. Il s'agit de l'extraction n-butanolique.

Le n-butanol forme une épiphase rougeâtre qui est séchée sous hotte ventilée, le résidu sec est récupéré avec 5 ml de méthanol.

Ces 2extraits secs issus de l'épiphase étherée et de l'épiphasebutanolique de l'extraction des feuilles de *Ficus salicifolia* sont conservés dans des tubes à essai au frais à 4°C pour une analyse quantitative par spectrophotométrie UV-visible, une analyse qualitative par chromatographie liquide à haute performance (H.P.L.C) (**Figure 07**).



**Figure 07: Protocole expérimental d'extraction, de dosage et d'identification des flavones-flavonols, des acides phénols, des anthocyanes et des C-glycosides des feuilles de *Ficus salicifolia* Vahl. (LEBRETON et al., 1967).**

### I.2.2.2. Analyse quantitative des polyphénols par spectrophotométrie

La spectrophotométrie est une technique analytique qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution préalablement étalonnée sur la longueur d'onde de l'espèce chimique à étudier (**HARBORNE et al., 2009**).

L'identification structurale des composés phénoliques utilise très fréquemment leur spectre d'absorption (résultant de la présence combinée du cycle(s) benzénique(s), des fonctions hydroxyles portées par ce(s) cycle(s) et des différentes doubles liaisons présentes dans la molécule), soit dans le visible pour les anthocyanes, soit dans l'UV pour les autres composés.

Le spectrophotomètre utilisé dans notre cas est le spectrophotomètre UV- visible, ce dernier comprend deux sources  $S_1$  (lampe deutérium) et  $S_2$  (lampe tungstènehalogène) et deux cuves  $V_1$  (cuve témoin) et  $V_2$  (cuve essai).

Les lectures sont faites par rapport à un témoin ne contenant que le méthanol pur. Le protocole que nous avons suivi pour la mesure des densités optiques ( $DO$ ) est décrit par (**JURD et GEISSMAN, 1956**), repris par (**MABRY et al., 1970**).

#### a) Formation des complexes avec le chlorure d'aluminium

La formation par chélation de complexe entre les composés phénoliques et les métaux est largement utilisée, pour la réalisation des spectres d'absorption.

Le chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) fait intervenir les propriétés chélatantes des ions d'aluminium ( $Al^{3+}$ ) à l'égard des flavonoïdes (**LAURANSON, 1989**). Il forme un complexe avec un hydroxyle en position 5 et/ou en 3 (**MABRY et al., 1970**), donc il est nécessaire de préparer pour chaque extrait à analyser deux solutions. (**Tableau III**)

- \* Une solution de référence (témoin) et une solution test (essai) (**ANNEXE I**)

**Tableau II : Préparation des solutions témoin et essai pour le dosage des extraits par spectrophotométrie.**

	Cuve 1	Cuve 2
Témoin	4 ml de méthanol	4 ml de chlorure d'aluminium à 1% dans le méthanol
Essai	4 ml de chlorure d'aluminium à 1% dans le méthanol	0.1 ml de solution à doser + 3.9 ml de chlorure d'aluminium à 1% dans le méthanol

### b) Dosage des extraits

#### ➤ Dosage des flavones-flavonols

Les deux séries de solution (témoin, essai) sont passées dans le spectrophotomètre pour lecture à 430nm, la teneur absolue en flavones-flavonol est exprimée en mg/g et elle est calculée comme pour la Quercétine par la formule suivante (LAURANSON, 1989) :

$$T \text{ (mg/g de matière végétale séchée)} = \Delta \text{ DO} / \text{E.M.V. d/p}$$

$\Delta \text{ DO}$  : densité optique du pic différentiel.

$V$  : volume de solution méthanolique (ml).

$d$  : facteur de dilution.

$M$  : masse moléculaire ( $M = 302 \text{ g/mole}$ ).

$P$  : poids sec du matériel végétal hydrolysé en gramme.

$E$  : coefficient d'absorption molaire de la quercétine dans le chlorure d'aluminium ( $= 23000$ ).

#### ➤ Dosage des C-glycosides

La lecture des extraits s'établit également par spectrophotomètre UV-visible à 340nm, la teneur des C-glycosides est exprimée en Orientine et elle est calculée par la formule suivante (LAURANSON, 1989) :

$$T \text{ (mg/g de matière végétale séchée)} = \text{DO} / \text{E.M.V.}$$

**DO** : densité optique.

**p** : poids sec du matériel végétal hydrolysé en gramme.

**E** : coefficient d'absorption molaire (=18850).

**M** : masse molaire (= 448 g/mole).

**V** : volume de la phase méthanolique contenant les C-glycosides (ml).

**d** : facteur de dilution.

### ➤ Dosage des anthocyanes

La lecture des extraits s'établit également par spectrophotomètre UV-visible à 520 nm, la teneur des anthocyanes (T) est exprimée et elle est calculée par la formule suivante (LAURANSON, 1989) :

$$T \text{ (mg/g de matière végétale séchée)} = 5.2 \cdot 10^{-2} \cdot DO \cdot V \cdot d/p$$

**5.2. 10<sup>-2</sup>** : masse molaire / coefficient d'absorption molaire de la procyanidine

**DO** : densité optique.

**p** : poids sec du matériel végétal hydrolysé en gramme.

**V** : volume de la phase méthanolique contenant les C-glycosides (ml).

**d** : facteur de dilution.

### c) Analyse statistique

Nous avons utilisé les lois ci-dessous pour l'analyse de la variance.

**Calcul de la moyenne :**

$$\bar{X} = 1/n \sum_{i=1}^n x_i$$

où  $x_i$  sont les valeurs observées.

**Calcul de la variance :**

$$S^2 = 1/n - 1 \sum_i^n (x_i - \bar{X})^2$$

**Calcul de l'écart type :**

$$S = \sqrt{1/n - 1 \sum_i^n (x_i - \bar{X})^2}$$

**Calcul de coefficient de variabilité :**

$$C.V = \frac{\text{écart type } (S)}{\text{moyenne } (\bar{X})} \times 100$$

**II.2.2.3. Analyse qualitative par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)**

L'analyse qualitative a pour but de déterminer la composition des différentes fractions analysées : flavones-flavonols, acides phénoliques et anthocyanes.

Dans notre travail nous avons utilisé la technique de chromatographie liquide à haute performance HPLC qui est à la base du dosage des différents composés phénoliques.

**✓ Principe**

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC), est la technique la plus performante et la plus utilisée pour la séparation et l'identification de produits non volatiles et thermodégradables, tels que les composés phénoliques. Elle ne demande qu'une faible quantité d'échantillon végétal et permet de combiner en une seule opération rapide reproductible les analyses qualitatives d'un extrait phénolique complexe, ce qui permet l'étude du matériel végétal très variés (SALGAROLO, 2003 ; PIETTA *et al.*, 2003).

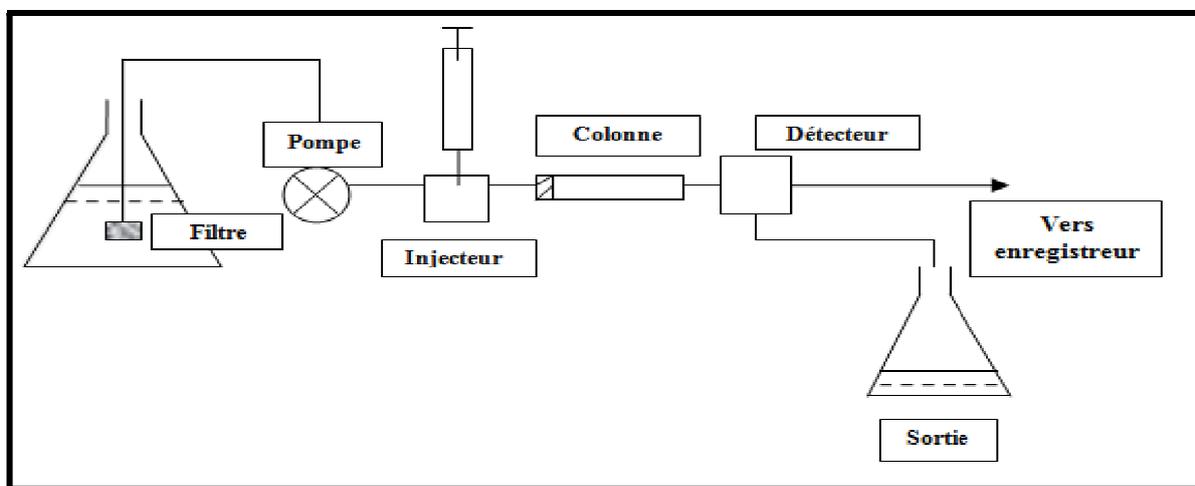
La séparation des composés dépend de leurs affinités pour deux phases non miscibles, une phase stationnaire et une phase mobile de polarité différente. (MACHEIX *et al.*, 2005).

L'échantillon à analyser est injecté au sommet de la colonne, la phase mobile va le faire migrer suivant. La phase mobile étant alors de composition constante. (LAURANSON, 1989).

### ✓ Appareillage de HPLC

L'appareillage de HPLC est représenté schématiquement sur la **Figure 08**; il comprend essentiellement :

- Un ou plusieurs réservoirs de la phase mobile.
- Un système de pompe.
- Un système d'introduction d'échantillon.
- Une colonne.
- Un système de détection et d'enregistrement.



**Figure 08 : Schéma représentatif du principe de fonctionnement d'H.P.L.C.  
(HOSTETTMAN et MARSTON, 2005)**

✓ **Condition expérimentale de l'HPLC****Tableau III: Les conditions de HPLC**

<b>Matériel</b>	<b>Types de caractéristiques</b>
Colonne	C18
Diamètre	4.6 mm
Longueur	25 cm
Température	25°C
Longueur d'onde	(260 / 365 / 370 / 520) nm
Pompe : Débit	1 ml/mn
Détecteur	UV-VISIBLE
Solvant	H <sub>2</sub> O/CH <sub>3</sub> COOH/CH <sub>3</sub> CN Eau/ ac.acétique/ acétonitril (200 :20 :20) ml

**A. Analyse statistique****a) Analyse univariable****b) Analyse multivariable**

- ✓ Matrice de corrélation
- ✓ Analyse des Composantes Principales (ACP)
- ✓ Dendrogramme

### I.3. L'étude moléculaire

#### I.3.1. Le marquage moléculaire

Le marquage moléculaire a été réalisé à l'aide des microsatellites (SSR), selon la méthode décrite par **ACHTAK et al (2010)**.

##### ✓ Mode opératoire

Le marquage moléculaire consiste en l'amplification par PCR de fragments de l'ADN génomique en utilisant des amorces SSR (Simple Sequence Repeats), les produits d'amplification sont séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide 6% et le génotypage microsatellite a été réalisé sur séquenceur automatique (ABI prism 3130 XL).

Six marqueurs microsatellites utilisés (**Tableau V**) ont été sélectionnés en fonction de leur polymorphisme et la facilité de leur marquage.

Les données SSR ont été marquées comme plusieurs allèles par des locus distingués par leur taille. Sur la base de l'identification génotype, nous avons calculé les paramètres de la diversité génétique

#### I.3.2. Analyse de la structure génétique des individus

##### I.3.2.1. Analyses multivariées

La diversité génétique au sein des individus du figuier *Ficus salicifolia* a été analysée à deux niveaux :

La variabilité inter et intra-variétale. Le but de cette approche a été de caractériser à l'aide d'un ensemble de paramètres, la variabilité des individus du *Ficus salicifolia* et leurs proximités génétiques. Dans ce travail, on a utilisé la loi de Hardy-Weinberg pour étudier la diversité des individus du *Ficus salicifolia*.

La phylogénie (dendrogramme) a été reconstruite à l'aide de l'approche NeighbourJoining (N-J) à l'aide du logiciel Darwin version 5.0 (**PERRIER et al., 2006**)

##### ➤ Les paramètres de la diversité génétique :

La diversité génétique a été révélée par les paramètres suivants, calculés à l'aide du logiciel Genetix 3.0 (**BELKHIR et al. 2004**).

- **N** : nombre d'allèles (tous les allèles détectés dans l'échantillon) par locus. Ce paramètre traduit la richesse en allèles d'une population.
- **F** : fréquence allélique. C'est la richesse allélique d'une population, définie comme le nombre d'allèle présent à un locus donné.
- **He** : hétérozygotie attendue, il est calculé sous l'hypothèse d'équilibre de Hardy-Weinberg à partir des fréquences alléliques déterminé pour chaque locus.
- **Ho** : hétérozygotie observée. C'est la proportion d'individus hétérozygote au locus K comme dans la formule :

$$H_o = \frac{1}{l} \sum_{k=1}^l H_{ok} \text{ avec : } H_{ok} = \sum_{i,j=1}^a p(i \neq j)$$

**P** : l'estimation de la fréquence du génotype (ij) au locus K

**a** : le nombre d'allèle au locus K

- **F<sub>is</sub>** : indice de fixation. Ce paramètre mesure l'écart entre la population d'individus trouvés à l'écart hétérozygotie observée Ho et le taux d'hétérozygotie attendue He

$$F = 1 - H_o / H_e$$

Les relations génétiques entre les individus des variétés du figuier ont été étudiées sur la base des données SSR nucléaires et l'analyse factorielle de correspondance (AFC) à l'aide du logiciel Darwin version 5.0.

#### ✓ Principe de l'AFC

L'analyse factorielle des correspondances (AFC), est un type d'analyse canonique qui vise à rassembler en un nombre réduit de dimensions de la plus grande partie de l'information initiale en ne s'attachant pas aux valeurs absolues mais aux correspondances entre les variables (valeurs relatives). Elle est particulièrement bien adaptée pour décrire les associations entre deux variables qualitatives (ESCOFIER et PAGES, 1990).

## II.1. Résultats de l'étude morphologique

### II.1.1. Analyse uni variable

#### II.1.1.1. La longueur des feuilles (LF)

Les résultats de l'analyse de l'étude de la longueur des feuilles (LF) sont représentés dans le **Tableau IV**.

**Tableau IV : Résultats des analyses morphométriques de la longueur des feuilles (LF) de 15 individus du *Ficus salicifolia* : variétés Teloukat et Eucalyptoïdes.**

individus	Moyenne ± Ecart type	individus	Moyenne ± Ecart type
<b>T1</b>	9,49 ± 2,67	<b>T9</b>	12,53 ± 2,69
<b>T2</b>	9,74 ± 2,66	<b>T10</b>	11,95 ± 2,35
<b>T3</b>	9,81 ± 2,54	<b>T11</b>	12,06 ± 2,45
<b>T4</b>	10,18 ± 2,52	<b>T12</b>	11,66 ± 2,31
<b>T5</b>	9,94 ± 2,74	<b>E13</b>	8,42 ± 2,12
<b>T6</b>	10,04 ± 2,62	<b>T14</b>	11,98 ± 2,28
<b>E7</b>	8,02 ± 2,08	<b>E15</b>	8,97 ± 1,95
<b>T8</b>	12,56 ± 2,75		
<b>CV</b>	<b>24,02 %</b>		
<b>F calculé</b>	<b>7,54 &gt; 1,73</b>		

\*CV : coefficient de variation

\*F : constante de fisher

La moyenne de la longueur des feuilles varie entre 9,49mm et 12,56mm pour la variété Teloukat et elle est de 8,15mm pour la variété Eucalyptoïdes. Le coefficient de variation (CV) de l'ensemble des individus est de 24,02%, il est supérieur à 20% donc nous marquons une hétérogénéité entre les individus, ce qui explique une variation intra-variétés.

L'analyse de la variance significative par le test ANOVA nous confirme l'hétérogénéité de la longueur des feuilles des 15 individus du *Ficus salicifolia*. La variable F de Fisher calculée est de 7,54, elle est nettement supérieure au F critique qui est de 1,73 (table de distribution F à  $\alpha = 0,05$ ) (**Tableau V, Annexe II**).

L'analyse de la longueur des feuilles des 15 individus du *Ficus salicifolia* par le test Newman et Keuls, a révélé que la variété Eucalyptoïdes est représentée par les individus E7, E13 et E15 qui sont rassemblés en un seul groupe avec une variation hautement significative.

Les individus de la variété Teloukat présentent aussi une variation hautement significative et ils sont représentés par quatre groupes:

- ✓ Le premier groupe représenté par T2, T3, T4, T5 et T6.
- ✓ Le deuxième groupe représenté par T10, T11, T12 et T14.
- ✓ Le troisième groupe représenté par T9 et T8.
- ✓ Le quatrième groupe représenté par l'individu T12.
- ✓ Le cinquième groupe intermédiaire représenté par T1 présente des caractères morphométriques plus proches que la variété Eucalyptoïdes.

### II.1.1.2. La largeur des feuilles (lf)

Les résultats de l'analyse de l'étude de la largeur des feuilles (lf) sont représentés dans le **Tableau VI**.

**Tableau VI : Résultats des analyses morphométriques de la largeur des feuilles (lf) de 15 individus du *Ficus salicifolia* variété Teloukat et Eucalyptoïdes.**

individus	Moyenne ± Ecart type	individus	Moyenne ± Ecart type
T1	3,04± 1,06	T9	3,87± 1,02
T2	3,05± 0,99	T10	3,55± 1,00
T3	2,92± 1,01	T11	3,64± 1,14
T4	2,79 ± 1,05	T12	3,41± 0,91
T5	2,80±0,92	E13	1,60± 0,34
T6	2,83±0,94	T14	3,60± 0,89
E7	1,74 ± 0,25	E15	1,57 ± 0,34
T8	3,97± 0,79		
CV	<b>33,89 %</b>		
F calculé	<b>15,66 &gt; 1,73</b>		

\*CV : coefficient de variation

\*F : constante de fisher

La moyenne de la largeur des feuilles varie entre 2,35 mm et 3,97 mm pour la variété Teloukat et elle est de 1,63 mm pour la variété Eucalyptoïdes. Le coefficient de variation (CV) de l'ensemble des individus est de 33,89%, il est supérieur à 20%, donc nous avons constaté une hétérogénéité entre les individus, ce qui explique une variation intra-variétés.

L'analyse de la variance significative par le test ANOVA nous confirme l'hétérogénéité de la largeur des feuilles des 15 individus du *Ficus salicifolia*. La

variable F de Fisher calculée est de 15,66 elle est nettement supérieure au F critique qui est de 1,73 (table de distribution F à  $\alpha = 0,05$ ) (**Tableau VII, Annexe II**).

L'analyse de la largeur des feuilles des 15 individus du *Ficus salicifolia* Val. par le test Newman et Keuls a révélé que les individus E7, E13 et E15 représentant la variété Eucalyptoïdes forment un seul groupe avec une variation hautement significative.

Les individus de la variété Teloukat présentent aussi une variation hautement significative et ils sont représentés par trois groupes:

- ✓ Le premier groupe représenté par T1, T2, T3, T4, T5 et T6.
- ✓ Le deuxième groupe représenté par T8 et T9.
- ✓ Le troisième groupe représenté par T10, T11, T12 et T14.

**II.1.1.3. Le rapport longueur sur largeur des feuilles (LF/lf)**

Les résultats de l'analyse de l'étude de la longueur sur la largeur des feuilles (LF/lf) sont représentés dans le **Tableau VIII**.

**Tableau VIII : Résultats des analyses morphométriques de la longueur sur la largeur des feuilles (LF/lf) de 15 individus du *Ficus salicifolia* variété Teloukat et Eucalyptoïdes.**

individus	Moyenne ± Ecart type	individus	Moyenne ± Ecart type
T1	3,24 ± 0,48	T9	3,31 ± 0,36
T2	3,26 ± 0,29	T10	3,47 ± 0,49
T3	3,48 ± 0,51	T11	3,49 ± 0,65
T4	3,86 ± 0,69	T12	3,48 ± 0,35
T5	3,63 ± 0,42	E13	5,23 ± 0,52
T6	3,64 ± 0,33	T14	3,40 ± 0,45
E7	4,57 ± 0,73	E15	5,73 ± 0,55
T8	3,16 ± 0,15		
<b>F calculé</b>	<b>49,24 &gt; 1,73</b>		

\*F : constante de Fisher

La moyenne du rapport longueur sur largeur des feuilles de la variété Teloukat est de 3,5 cela signifie que la longueur est trois fois plus grande que la largeur donc les feuilles ont une forme allongée et rétrécie tandis que pour les individus de la variété Eucalyptoïdes ceux-ci présentent un rapport de 5,17 ce qui révèle que la longueur de la feuille est cinq fois plus grande que la largeur donc les feuilles de cette variété présentent une forme plus ou moins arrondie.

L'analyse de la variance significative par le test ANOVA nous confirme

l'hétérogénéité de la longueur sur la largeur des feuilles des 15 individus du *Ficus salicifolia*. La variable F de Fisher calculée est de 49,24 elle est nettement supérieure au F critique qui est de 1,73 (table de distribution F à  $\alpha = 0,05$ ) (**Tableau IX, Annexe II**).

L'analyse du rapport longueur sur largeur des feuilles des 15 individus du *Ficus salicifolia* par le test Newman et Keuls a révélé que les individus E7, E13 et E15 de la variété Eucalyptoïdes forment un seul groupe avec une variation hautement significative.

Les individus de la variété Teloukat présentent aussi une variation hautement significative et ils sont représentés par trois groupes:

- ✓ Le premier groupe représenté par T1, T2, T8 et T9.
- ✓ Le deuxième groupe représenté par l'individu T4.
- ✓ Le troisième groupe représenté par T3, T5, T6, T10, T11, T12 et T14.

#### II.1.1.4. La longueur des pétioles (LP)

Les résultats de l'analyse de l'étude de la longueur des pétioles (LP) sont représentés dans le **Tableau X**.

**Tableau X : Résultats des analyses morphométriques de la longueur des pétioles (LP) de 15 individus du *Ficus salicifolia* variété Teloukat et Eucalyptoïdes.**

individus	Moyenne ± Ecart type	individus	Moyenne ± Ecart type
<b>T1</b>	1,92 ± 0,76	<b>T9</b>	3,55 ± 0,73
<b>T2</b>	2,02 ± 0,84	<b>T10</b>	3,23 ± 0,93
<b>T3</b>	1,82 ± 0,45	<b>T11</b>	3,23 ± 0,86
<b>T4</b>	1,77 ± 0,58	<b>T12</b>	2,88 ± 1,07
<b>T5</b>	1,64 ± 0,53	<b>E13</b>	1,73 ± 0,34
<b>T6</b>	1,98 ± 0,45	<b>T14</b>	2,15 ± 0,51
<b>E7</b>	1,92 ± 0,38	<b>E15</b>	1,76 ± 0,39
<b>T8</b>	3,48 ± 0,94		
<b>CV</b>	<b>27,89 %</b>		
<b>F calculé</b>	<b>21,21 &gt; 1,73</b>		

\*CV : coefficient de variation

\*F : constante de Fisher

La moyenne de la longueur des pétioles varie entre 1,64 mm et 3,60 mm pour la variété Teloukat et elle est de 1,80 mm pour la variété Eucalyptoïdes, ainsi que le

coefficient de variation (CV) de l'ensemble des individus est de 27,89%, il est supérieur à 20%, donc nous marquons une hétérogénéité entre les individus, ce qui explique une variation intra-variétés.

L'analyse de la variance significative par le test ANOVA nous confirme l'hétérogénéité de la longueur des pétioles des 15 individus du *Ficus salicifolia*. La variable F de Fisher calculée est de 21,21 elle est nettement supérieure au F critique qui est de 1,73 (table de distribution F à  $\alpha = 0,05$ ) (**Tableau XI, Annexe II**).

L'analyse de la longueur des pétioles des 15 individus du *Ficus salicifolia* par le test Newman et Keuls a révélé le regroupement des individus basé sur une variation hautement significative en quatre groupes :

- ✓ Le premier groupe représenté par T5, E13, E15, T4, T3, E7, T1, T6, T2 et T14.
- ✓ Le deuxième groupe représenté par T9 et T8.
- ✓ Le troisième groupe représenté par T12.
- ✓ Le quatrième groupe intermédiaire représenté par T10 et T11 et qui présente des caractères morphométriques plus proches que les individus du 2<sup>ème</sup> groupe (T9 et T8).

#### **II.1.1.5. La longueur des stipules (LS)**

Les résultats de l'analyse de l'étude de la longueur des stipules (LS) sont représentés dans le **Tableau XII**.

**Tableau XII : Résultats des analyses morphométriques de la longueur des stipules (LS) de 15 individus du *Ficus salicifolia* variété Teloukat et Eucalyptoïdes.**

individus	Moyenne ± Ecart type	individus	Moyenne ± Ecart type
T1	0,64 ± 0,39	T9	1,38± 0,53
T2	0,67± 0,40	T10	1,26± 0,34
T3	0,73± 0,45	T11	1,31± 0,40
T4	0,80 ± 0,46	T12	1,09± 0,46
T5	0,92± 0,33	E13	0,78± 0,38
T6	0,66± 0,30	T14	1,47± 0,42
E7	0,83 ± 0,54	E15	0,76± 0,40
T8	1,16± 0,43		
CV	43,73 %		
F calculé	9,62 > 1,73		

\*CV : coefficient de variation

\*F : constante de fisher

La moyenne de la longueur des stipules varie entre 1,16 mm et 3,23 mm pour la variété Teloukat et elle est de 0,73 mm pour la variété Eucalyptoïdes, ainsi que le coefficient de variation (CV) de l'ensemble des individus est de 43,73 % et qui est supérieurs à 20%, donc nous avons marqué unehétérogénéité entre les individus, ce qui explique une variation intra-variétés.

L'analyse de la variance par le test ANOVA nous confirme l'hétérogénéité de la longueur des stipules des 15 individus du *Ficus salicifolia*. La variable F de Fisher calculée est de 9,62elle est nettement supérieure au F critique qui est de 1,73 (table de distribution F à  $\alpha = 0,05$ )(**Tableau XIII, Annexe II**).

L'analyse de la longueur des stipules des 15 individus du *Ficus salicifolia* parle test Newman et keuls :

Le test de Newman et keuls a révélé le regroupement des individus basé sur une variation hautement significative en six groupes:

- ✓ Le premier groupe représenté par T1,T2 etT6.
- ✓ Le deuxième groupe représenté par T3, E13,E15.
- ✓ Le deuxième groupe intermédiaire représenté par T4, T5et E7.
- ✓ Le troisième groupe représenté par T12.
- ✓ Le quatrième groupe intermédiaire représenté par T8 et qui présente des caractères morphométriques plus proches que l'individu du 4<sup>ème</sup> groupe (T12)
- ✓ Le cinquième groupe intermédiaire représenté par T9, T10 et T11.

- ✓ Le sixième groupe représenté par T14.

A partir de ces résultats, nous avons remarqué que la longueur des pétioles et des stipules ne révèlent pas une variation entre les deux variétés donc la variation réside au sein des deux premiers paramètres : la longueur et la largeur des feuilles.

Afin de confirmer la contribution de ces paramètres dans la variabilité entre les deux variétés de l'espèce *Ficus salicifolia*, nous avons réalisé une analyse multivariable.

## II.1.2. Analyse multivariable

### II.1.2.1. Matrice de corrélation

Les résultats de l'étude de la corrélation entre les différentes variables sont représentés dans le **Tableau XIV**.

**Tableau XIV: Matrice de corrélation de quelques variables (individus confondus, N=15)**

	LF	lf	LF/lf	LP	LS
LF	1,00				
lf	0,91***	1,00			
LF/lf	-0,42	-0,73**	1,00		
LP	0,83***	0,79***	-0,40	1,00	
LS	0,78***	0,70***	-0,31	0,70**	1,00

\*\*\* : Corrélation hautement significative.  $P > 0,5$

\*\* : Corrélation moyennement significative.  $P < 0,01$

P : coefficient de corrélation

Selon la matrice de corrélation nous avons obtenu un coefficient de corrélation entre les deux variables longueur des feuilles (LF) et largeur des feuilles (lf) qui est de 0,91 et qui est supérieur au  $R$  critique = 0,51 (DDL=13,  $\alpha = 0,05$ ) selon la table de corrélation, ce qui confirme que les deux variables sont fortement liées.

### II.1.2.2. Analyse des composantes principales

Le pourcentage de la variance totale expliqué par chaque axe est mentionné dans le **Tableau XV**.

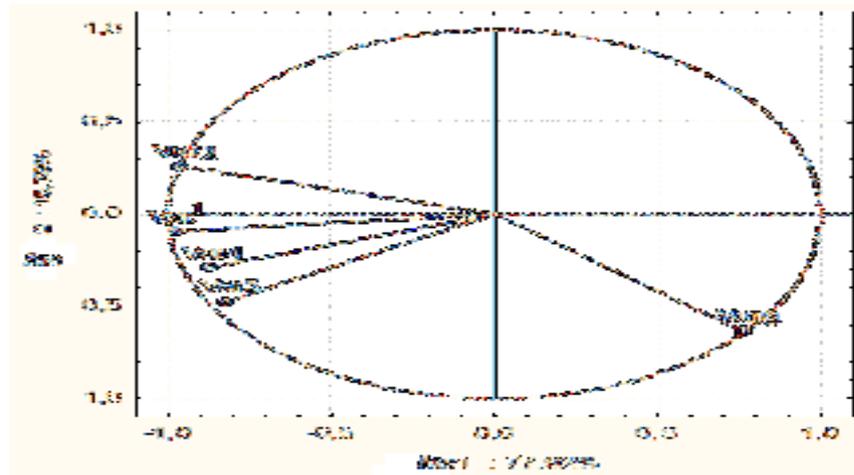
**Tableau XV: Lavariance totale expliquée par les axes de l'ACP (pourcentage expliqué par les axes principaux). Valeurs propres**

	Val. propr	% Total variance	Cumul Val. Propr	Cumul%
Axe1	0,896118	77,92237	3,896118	77,9224
Axe2	0,789672	15,79343	4,685790	93,7158
Axe3	0,237847	4,75693	4,923637	98,4727
Axe4	0,073583	1,47167	4,997220	99,9444
Axe5	0,002780	0,05560	5,000000	100,0000

Nous constatons que le premier recèle 77,92% de la variance totale, les suivants décroissants régulièrement à partir de 15,79% (axe 2) et 4,68% (axe 3). D'après ces résultats on remarque que ces premiers axes représentent une bonne description de la dispersion des individus puisqu'ils expliquent presque la majorité de la variation totale ; donc il y a une séparation nette des premiers axes. Le cumul atteint jusqu'à 93,71% (axe 2), ce qui explique l'importance de la contribution de chaque variable (longueur et largeur des feuilles).

**Tableau XVI: Valeurs propres des variables sur les axes principaux**

	Axe1	Axe 2	Axe 3	Axe 4	Axe 5
<b>LF</b>	<b>0,244485</b>	0,011182	0,004651	0,500898	0,238784
<b>Lf</b>	<b>0,237669</b>	0,085643	0,001575	0,058344	0,616769
<b>LF/lf</b>	0,148651	<b>0,512198</b>	0,009261	0,187126	0,142764
<b>LP</b>	0,196328	0,106358	0,607672	0,089144	0,000497
<b>LS</b>	0,172866	0,184619	0,376841	0,164489	0,001185



**Var1** : longueur des feuilles (LF) ; **Var2** : largeur des feuilles (lf) ; **Var3** : longueur sur largeur des feuilles(LF/LF) ; **Var4** : longueur des pétioles (LP) ; **Var5** : longueur des stipules (LS)

**Figure 09 : Diagramme d'ordination des variables dérivées de l'ACP dans le plan de projection des axes 1 et 2**

L'étude de la contribution absolue (somme absolue de la contribution de chaque variable) permet d'hierarchiser les caractères responsables de la formation de chaque axe (**Tableau XVI**)et (**Figure09**).

- ✓ Pour l'axe 1 : Il est représenté par la longueur (LF) et la largeur (lf) des feuilles.
- ✓ Pour l'axe 2 : Il est représenté par le rapport longueur sur largeur des feuilles (LF/lf).

Sur le plan de projection d'axes (1) et (2), la distribution des individus est plus claire. L'ensemble d'individus E7, E13 et E15 situé sur l'abscisse positive de l'axe (1) correspond aux individus avec une faible longueur et largeur de feuilles et un rapport important.

Un deuxième groupe représenté par les individus T8, T9, T10, T11, T12 et T14 et qui est caractérisé par une longueur et largeur importante et un faible rapport comparé au groupe antérieur.

Un groupe intermédiaire formé par les individus T1, T2, T3, T4, T5 et T6 présente les valeurs des paramètres (LF) et (lf) intermédiaires et un rapport intermédiaire par rapport aux groupes 1 et 2.

**Discussion**

L'établissement du phénotype morphologique d'un végétal nécessite l'action

conjugué du génotype (l'expression des gènes propres à l'espèce) et de l'environnement (l'influence des facteurs biotiques et abiotiques du milieu).

La variation morphologique des individus des figuiers a été estimée par analyse des composantes principales des caractères décrits ci-dessus et elle a montré 93,71% de la variation totale expliquée par les deux premiers axes. Le nuage de points ACP a montré la divergence morphologique des individus du *Ficus*, afin d'examiner la structure de la variation morphologique et d'estimer la distance entre individus du figuier.

À partir des résultats morphométriques obtenus, nous avons révélé une diversité entre les deux variétés (Teloukat et Eucalyptoïdes) qui réside au niveau de la longueur et la largeur des feuilles avec un coefficient de contribution élevé et une forte corrélation qui est confirmé par l'analyse des composantes principales.

Les caractères morphologiques utilisés sont des descripteurs de figuiers standards, et peuvent être utilisés pour identifier plusieurs variétés au sein de la même espèce du figuier, car la plupart des caractères phénotypiques sont liés aux feuilles du figuier (**IPGRI et le CIHEAM, 2003**).

Ce résultat est en accord avec **CHATTI et al, (2007)**, qui ont analysé les mêmes paramètres morphologiques et ont constaté une forte variation du figuier commun *Ficus carica. L.* en Tunisie.

Selon **SADDOUD et al, (2011)** l'analyse des paramètres morphométriques tel que la longueur et la largeur des feuilles a révélé une diversité morphologique élevée ainsi que la présence de plusieurs variétés chez le *Ficus carica*.

Par ailleurs une étude de diversité morphologique basée sur les paramètres morphométriques à révéler la présence de plusieurs espèces chez l'olivier (**HAOUANE, 2012**).

Selon **KEBBOUR (2013)**, la diversité entre les différentes espèces du pistachier réside au niveau des paramètres morphométriques des feuilles (longueur et largeur).

## **II.2. Résultats de l'étude chimiotaxonomique.**

### **II.2.1. Résultats de l'analyse quantitative par spectrophotométrie UV-visible**

### II.2.1.1. Dosage des flavones-flavonols et des acides phénols

L'étude quantitative des aglycones extraits par hydrolyse acide de notre poudre végétale, a été réalisée par dosage spectrophotométrique différentiel, à la longueur d'onde 430 nm. L'obtention d'un pic d'absorption de maximal certifie la présence de flavones-flavonols dans les feuilles des deux variétés de *Ficus salicifolia* Vahl. Ce dosage nous a permis d'en calculer la teneur absolue (T) en mg/g de poudre végétale. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau XVII** :

**Tableau XVII : Teneur absolue en flavones-flavonols et en acide phénol des feuilles de 15 individus de *Ficus salicifolia* Vahl. Variété Telouka et Eucalyptoïdes.**

Flavones, flavonols , acides phénols			
Individus	teneur absolue eq mg/g en quercétine	Individus	teneur absolue eq mg/g en quercétine
T1	1,26	T9	1,19
T2	1,23	T10	1,25
T3	1,3	T11	1,23
T4	1,15	T12	1,31
T5	1,29	E13	1,65
T6	1,27	T14	1,3
E7	1,68	E15	1,69
T8	1,23		
<b>Moyenne</b>	<b>1,33</b>		
<b>Variance</b>	<b>0,03</b>		
<b>Ecart type</b>	<b>0,35</b>		
<b>Coefficient de variation (CV)</b>	<b>26,85%</b>		

eq : équivalent

Les teneurs absolues (T) en flavones-flavonols et acides phénols des 15 Individus obtenus à partir des feuilles de *Ficus salicifolia* Vahl. Variété Telouka et Eucalyptoïdes varient de 1,19mg/g à 1,69mg/g avec une moyenne de 1,33mg/g et un coefficient de variation de 26,85% nettement supérieur à 20%. La valeur de ce dernier prouve la présence d'une nette hétérogénéité inter-individu, traduite par un écart type de 0,35 ce qui explique une répartition inégale de ces composants au sein des individus de la même espèce.

### II.2.1.2. Dosage des Anthocyanes

Le dosage spectrophotométrique de l'extrait méthanolique récupéré à partir de l'évaporation de la phase butanolique a été mesuré à la longueur d'onde 520 nm. L'observation d'un pic d'absorption maximal lors du balayage spectrophotométrique nous a certifié la présence d'Anthocyanes dans les feuilles des deux variétés de *Ficus salicifolia* Vahl. (Teloukat et Eucalyptoïdes). Les teneurs en anthocyanes en mg/g de matière végétale sont représentées dans le **Tableau XVII**.

**Tableau XVIII: Teneur absolue en anthocyanes des feuilles de 15 individus de *Ficus salicifolia* Vahl. variété Teloukat et. Eucalyptoïdes.**

Anthocyanes			
Individus	teneur absolue en mg/g en procyanidine	Individus	teneur absolue en mg/g en procyanidine
T1	20,75	T9	20,93
T2	20,91	T10	20,85
T3	20,8	T11	20,89
T4	20,63	T12	21,14
T5	20,93	E13	26,04
T6	20,72	T14	21,09
E7	25,59	E15	25,63
T8	21,01		
<b>Moyenne</b>		<b>21,52</b>	
<b>Variance</b>		<b>2,85</b>	
<b>Ecart type</b>		<b>4,81</b>	
<b>Coefficient de variation</b>		<b>22,36%</b>	

eq : équivalent

Les teneurs absolues (T) en Anthocyanes varient de 21,01 mg/g à 26,04 mg/g, avec une moyenne de 21,52 mg/g présentent un coefficient de variation égale à 22,36% nettement supérieur à 20%. La valeur de ce dernier prouve la présence d'une nette hétérogénéité inter-individu, traduite par un écart type de 4,48 ce qui explique une répartition inégale de ces composants au sein des individus de la même espèce.

### II.2.1.3. Dosage des C-glycosides

Les teneurs absolues en C-glycosides en mg/g de poudre végétale des feuilles

des deux variétés (Teloukat et Eucalyptoïdes) ont été obtenues grâce à un dosage spectrophotométrique à une longueur d'ondes de 340 nm.

La présence d'un pic d'absorption maximal lors du balayage spectrophotométrique confirme la présence de ces composés flavoniques. Le **Tableau (XIX)**, traduit les résultats obtenus lors de cette analyse

**Tableau XIX: Teneurs absolues en C-glycosides des feuilles de dix individus de *Ficus salicifolia* Vahl. Variété Teloukat et Eucalyptoïdes.**

<b>C-Glycosides</b>			
<b>Individus</b>	<b>teneur absolue mg/g en orientine</b>	<b>Individus</b>	<b>teneur absolue mg/g en orientine</b>
<b>T1</b>	3,62	<b>T9</b>	3,64
<b>T2</b>	3,54	<b>T10</b>	3,62
<b>T3</b>	3,59	<b>T11</b>	3,59
<b>T4</b>	3,6	<b>T12</b>	3,69
<b>T5</b>	3,59	<b>E13</b>	2,9
<b>T6</b>	3,62	<b>T14</b>	3,63
<b>E7</b>	2,84	<b>E15</b>	3,66
<b>T8</b>	3,65		
<b>Moyenne</b>		<b>3,51</b>	
<b>Variance</b>		<b>0,06</b>	
<b>Ecart type</b>		<b>0,87</b>	
<b>Coefficient de variation</b>		<b>24,82%</b>	

Les teneurs absolues (T) en C- Glycosides des 15 individus obtenus à partir des feuilles de *Ficus salicifolia* Vahl. De la variété Teloukat et Eucalyptoïdes varient de 2,84 mg/g à 3,66 mg/g. La moyenne obtenue est de 3,51 mg/g, dont le coefficient de variation 24,82%, témoigne de la présence d'une nette variabilité inter-individus traduite par un écart type de 0,87 ce qui explique une répartition inégale de ces composés au sein des variétés de la même espèce.

## II.2.2. Résultats de l'analyse qualitative par HPLC

### II.2.2.1. Identification des flavones-flavonols

Le passage en HPLC des extraits de *Ficus salicifolia* Vahl. des deux variétés Teloukat et Eucalyptoïdes, contenant les aglycones flavoniques après hydrolyse acide à une longueur d'onde de 365 nm en mode isocratique a permis d'obtenir des profils représentés par la **Figure 10 (ANNEXE II)** :

Les profils chromatographiques des deux variétés font apparaître des pics qui correspondent à des composés flavoniques dont l'identification a été réalisée par comparaison des temps de rétention obtenus avec ceux du standard.

Les caractéristiques des composés identifiés sont regroupées dans le **Tableau XX**.

**Tableau XX : Caractéristiques chromatographiques de flavones-flavonols détectés chez les deux variétés de *Ficus salicifolia* Vahl. (Teloukat et Eucalyptoïdes)**

Composés Individus	Teneur (%)							
	Qu	Lu	My	Tr	Ch	IR	Ka	Ru
T1	1.46	3.10	38.16	29.60	10.26	/	3.41	2.50
T2	1.23	3.25	38.59	30.17	10.02	/	3.69	2.41
T3	1.50	3.13	38.21	30.25	10.34	/	3.39	2.63
T4	1.43	3.11	38.42	30.11	10.24	/	3.35	2.59
T5	1.35	2.98	38.52	30.52	10.21	/	3.31	2.60
T6	1.29	3.20	37.12	29.86	9.77	/	3.71	2.42
E7	2.09	27.22	/	/	26.89	5.86	6.38	3.10
T8	1.62	3.35	38.19	30.18	10.16	/	3.45	2.41
T9	1.65	3.29	38.22	30.23	10.11	/	3.39	2.39
T10	1.53	2.78	37.66	30.54	10.51	/	3.26	2.97
T11	1.49	2.89	37.87	39.37	10.46	/	3.21	2.60
T12	1.26	3.13	38.13	29.71	10.30	/	3.49	2.59
E13	2.21	28.09	/	/	27.03	5.35	6.16	3.12
T14	1.42	3.25	38.43	30.05	9.81	/	3.70	2.16
E15	2.16	27.79	/	/	26.63	5.71	5.98	3.16

La comparaison qualitative par HPLC des aglycones flavoniques identifiés

dans les deux variétés de *Ficus salicifolia* Vahl. Révèle que ces derniers ont des profils différents.

Cette différence de composition en flavones et flavonols repose d'un côté sur les teneurs relatives de ces composés au sein de chaque variété, comme le cas du flavone Lutéoline et flavonol Chrysoeriol que nous observons à l'état majoritaire (27,7% ; 26,83%) dans les feuilles de la variété Eucalyptoïdes, alors qu'il se trouve à des faibles teneurs (3,70% ; 10,18%) dans les feuilles de la variété Teloukat; et d'un autre côté sur la présence de composés caractéristiques à chaque variété, comme le cas de flavone Tricine et de flavonol Myricétine qui représentent les composés majoritaires (30,88 % ; 38,12%) des feuilles de la variété Telouka alors qu'ils sont absents dans les feuilles de la variété Eucalyptoïdes, de même pour le flavonol Isorhamnétine présent en faible quantité (5.64%), caractéristique aux feuilles de la variété Eucalyptoïdes.

Ainsi, nos résultats montrent que les flavones Lutéoline et Tricine et le flavonol Myricétine peuvent être utilisés comme marqueurs biochimiques de classification, autrement appelés marqueurs chimiotaxonomiques, en complétant la classification botanique classique.

#### II.2.2.2. Identification des acides phénols

Le changement de la longueur d'onde de 365 nm à 260 nm (longueur d'onde caractéristique des acides phénols), nous a permis d'avoir des nouveaux profils chromatographiques pour les mêmes extraits représentés par la **Figure 11** (ANNEXE II).

Ces profils font apparaître des pics qui correspondent à des acides phénols dont quelques-uns n'ont pas pu être identifiés. La comparaison des temps de rétention obtenus avec les résultats du standard a conduit à l'identification de 8 acides phénols dont les caractéristiques sont regroupées dans le **Tableau XXI**.

**Tableau XXI : Caractéristiques chromatographiques des acides phénols détectés chez les deux variétés de *Ficus salicifolia* Vahl. (Teloukat et Eucalyptoides)**

Composés Individus	Teneur (%)									
	AF	AC	AG	AS	AC1	AP	AG 1	AV	AH	AC 2
T1	66.71	0.32	3.51	6.13	2.68	/	/	/	2.14	2.15
T2	63.34	0.31	3.37	6.56	2.38	/	/	/	2.21	2.11
T3	63.34	0.29	3.52	5.90	2.56	/	/	/	2.13	2.09
T4	65.12	0.32	3.45	6.51	2.53	/	/	/	2.30	2.11
T5	66.16	0.28	2.98	6.12	2.12	/	/	/	2.16	2.23
T6	61.78	0.31	3.13	5.53	2.25	/	/	/	2.23	2.10
E7	41.16	3.17	14.23	2.87	2.95	10.74	2.34	5.53	1.31	/
T8	67.20	0.25	3.11	5.89	2.08	/	/	/	2.45	2.23
T9	66.83	0.29	2.78	6.08	2.11	/	/	/	2.53	2.13
T10	66.42	0.32	3.35	6.42	2.53	/	/	/	2.31	2.31
T11	65.51	0.25	3.05	6.58	2.49	/	/	/	2.35	2.38
T12	61.23	0.30	3.52	6.46	2.13	/	/	/	2.06	2.08
E13	40.51	3.51	13.26	3.06	3.01	10.35	2.13	5.13	1.42	/
T14	63.89	0.28	3.56	6.15	2.70	/	/	/	2.25	2.16
E15	40.78	3.23	13.78	3.12	3.12	11.02	2.81	4.92	1.38	/

La comparaison qualitative par HPLC des acides phénols contenus dans les extraits éthérés de *Ficus salicifolia* Vahl. des deux variétés Teloukat et Eucalyptoides révèle que ces derniers ont des profils différents. L'interprétation de ces profils nous a amené à l'identification de 10 acides phénols appartenant aux deux séries : la série cinnamique représentée par les acides, syringique, caféique,  $\rho$ -coumarique, l'acide férulique et l'acide gesticque et la série benzoïque représentée par les acides, Protocatéchique,  $\rho$ -hydroxy-benzoïque, gesticque, Acide cinapique et l'acide vallinique.

Les différences de composition en acides phénols des feuilles des deux variétés Teloukat et Eucalyptoides reposent d'un côté sur la différence de teneurs de ces composés, comme le cas de l'acide férulique appartenant à la série cinnamique, où nous l'observons à l'état majoritaire (64,79%) dans les feuilles de la variété Teloukat alors qu'il présente des teneurs inférieures (40,81%) dans les feuilles de la variété Eucalyptoides et d'un autre côté sur la présence de composés spécifiques pour

chaque variété, comme le cas de l'acide vallinique, l'acide protocatéchique et l'acide gesticique appartenant à la série benzoïque, qui représente le composé majoritaire (10,70% ; 2,42% ; 5,19%) de la variété Eucalyptoides, alors qu'il est absent dans les feuilles de la variété Teloukat.

### II.2.2.3. Identification des anthocyanes

Le passage en H.P.L.C. en mode isocratique des extraits de *Ficus salicifolia* Vahl. des deux variétés Teloukat et Eucalyptoides récupérés à partir de la phase butanolique contenant les anthocyanes à la longueur d'onde de 520 nm, a permis d'obtenir les profils représentés par la Figure 12 (ANNEXE II).

Les deux profils présentent un pic majeur qui correspond au même composé flavonique dont l'identification a été faite après comparaison des temps de rétention obtenus avec ceux du standard, les caractéristiques sont regroupées dans le Tableau XXII :

**Tableau XXII : Caractéristiques chromatographiques des anthocyanes détectés chez les deux variétés de *Ficus salicifolia* Vahl. (Teloukat et Eucalyptoides)**

Composés Individus	Teneur (%)			
	Cy1	Cy2	Cy3	PL
T1	12.03	8.31	25.61	21.03
T2	11.60	7.41	25.04	21.21
T3	12.16	8.29	25.43	21.17
T4	12.07	8.45	25.51	21.51
T5	12.12	8.37	25.43	21.13
T6	11.78	7.89	24.91	22.03
E7	23.27	21.30	16.49	5.78
T8	12.23	7.67	24.51	22.20
T9	12.19	7.90	24.78	22.05
T10	12.54	8.33	25.07	21.89
T11	12.49	8.42	25.13	21.81
T12	12.07	8.51	25.63	21.41
E13	22.35	21.56	17.01	6.13
T14	12.13	8.31	25.16	21.30
E15	23.34	22.08	17.25	6.22

Le temps de rétention du standard cyanidine a permis d'identifier cet anthocyane qui représente le composé majeur (cyanidine 3) dans nos extraits avec des teneurs élevées (25,18%) dans les feuilles de la variété Teloukat.

### II.2.3. Résultats de l'analyse statistique

### II.2.3.1.Analyse multivariable

#### A. Analyse des composantes principales

Le pourcentage de la variance totale expliqué par chaque axe est mentionné dans le **Tableau XXIII**.

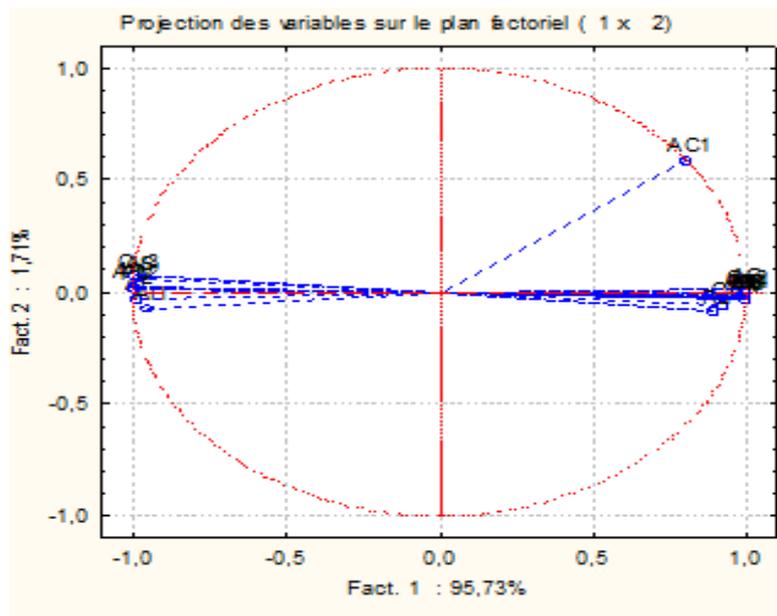
**Tableau XXIII: L'inertie totale expliquée par les axes de l'ACP (pourcentage expliqué par les axes principaux) des valeurs propres.**

	Valeurs propres	% Total variance	Cumul Val. propr	Cumul%
<b>axe1</b>	21,060	95,731	21,060	95,7313
<b>axe2</b>	0,376	1,711	21,437	97,4426
<b>axe3</b>	0,260	1,185	21,698	98,6286
<b>Axe 4</b>	0,200	0,911	21,898	99,5402

Nous avons constaté que le premier axe recèle 95,73% de la variance totale, les suivants décroissants régulièrement à partir de 1.71% (axe 2) et 1.18% (axe 3).D'après ces résultats nous avons remarqué que le premier axe représente une bonne description de la dispersion des individus puisqu'il explique la majorité de la variation totale ; donc il y a une séparation nette entre les axes.

**Tableau XXIV : Valeurs propres des variables sur les axes principaux.**

Acide phénols	Axe 1	Axe 2	Flavonoïdes	Axe 1	Axe 2
AF	-0,988	-0,030	My	-0,999	0,028
AC	0,997	-0,020	Tr	-0,999	0,024
AG	0,999	0,007	Ch	0,999	-0,028
AS	-0,985	0,062	IR	0,999	-0,029
AC1	0,807	0,585	Ka	0,897	-0,018
AP	0,999	-0,026	Ru	0,893	-0,086
AG1	0,992	-0,015	Cy1	0,899	-0,026
AV	0,998	-0,035	Cy2	0,897	-0,005
AH	0,953	-0,071	Cy3	-0,897	0,072
AC2	0,996	0,022	PL	-0,979	0,009
Qu	0,926	-0,060	Pu	0,999	-0,030



**Figure 13 :Diagramme d'ordination des variables dérivées de l'ACP dans le plan de projection de l'axe 1**

L'étude de la contribution absolue (somme absolue de la contribution de chaque variable) permet d'hierarchiser les caractères responsables de la formation de l'axe (1) et (2) (tableau XXIV) et (Figure 13).

✓ axe 1 : Il est représenté par le groupe de variables : AG, AP, My, Tr, Ch,

**IRet Ru**

- ✓ axe 2 : Il est représenté par :AC1

Sur le plan de projection d'axe (1), la distribution des individus est plus claire.

- ✓ L'ensemble d'individus E7, E13 et E15 situés sur l'abscisse positive de l'axe (1) correspond aux individus avec valeurs élevées de AC, AG, AP, AG1, AV, Qu, Pu, Ch, IR, Ka, Ru, Cy1 et Cy2 et de faibles valeurs de AF, AS, AC1, AH, AC2, My, Tr, Cy3 et PL.
- ✓ Et un deuxième groupe situé sur l'abscisse négative représenté par les individus T1, T2, T3, T4, T5, T6, T8, T9, T10, T11, T12 et T14 et qui est caractérisé, contrairement au premier groupe, par des valeurs élevées de AF, AS, AC1, AH, AC2, My, Tr, Cy3 et PL et de valeurs faibles AG, AP, AG1, AV, Qu, Pu, Ch, IR, Ka, Ru, Cy1 et Cy2.

Sur le plan de projection d'axe 2 des ordonnées, nous avons obtenu deux groupes d'individus.

- ✓ Le premier groupe correspond aux individus E7, E13, E15, T1, T14, T10, T11, T2 et T3 avec une valeur d'AC1 élevée
- ✓ Contrairement au deuxième groupe représenté par les individus T6, T12, T5, T8 et T9 qui ont une valeur de AC1 faible.

**Discussion**

Les résultats de l'étude chimio taxonomique par l'analyse des composants phénoliques a révélé une grande diversité entre les individus des deux variétés du *Ficus Salicifolia*.

Selon **GAO(2000)**. Les marqueurs biochimiques ont un pouvoir de discrimination plus élevé que les marqueurs morphologiques, ils sont utilisés comme marqueurs pour les gènes qui les codent, et ils sont neutres et peuvent être révélés dans plusieurs organes à différents stades de développement.

Une étude qui a pour objectif d'évaluer la variabilité chimio taxonomique des populations sauvages d'haricots de Lima a été réalisé à l'aide des marqueurs

biochimiques (composants phénoliques)(**FORD et al., 2002**).

Les travaux de **OUAFI (2007)**, ont révélé une diversité chimio taxonomique intra-population chez le palmier dattier en utilisant les composants phénoliques comme marqueurs biochimiques.

### **II.3. Résultat de l'étude moléculaire**

#### **II.3.1. Diversité génétique**

Cette étude montre une diversité génétique importante attestée par le niveau d'hétérozygotie moyen ( $He = 0.71$ ) et par le fait que la majorité des génotypes sont distincts par le nombre d'allèles qui varie de 11 à 15

L'analyse des 15 individus du figuier à l'aide des six locus SSR a révélé deux génotypes différents. Le nombre d'allèles varie de 11 à 15 allèles par locus avec une moyenne de 13,5 allèles. Le plus grand nombre d'allèles (15 allèles) a été détecté au niveau du locus FCYCO1 30 et MFC8, alors que le plus petit nombre (11 allèles) a été obtenu pour le locus 30. La fréquence allélique varie de 0,13 au locus LMFC 30 à 0,18 au locus FSYCO1 et MFC8. L'hétérozygotie attendue ( $He$ ) varie de 0,53 au niveau du locus MFC12 à 0,80 au niveau du locus FSYCO1. L'hétérozygotie observée ( $Ho$ ) varie entre 0,26 au locus MFC8 à 1,80 au locus MFC12, MFC2 et LMFC26 avec une moyenne de 0,54. Pour les deux locus MFC3 et LMFC19, les valeurs  $Fis$  étaient négatives et elles varient entre (-0,12) pour le locus MFC1 et (-0,86) pour le locus MFC12.

#### **II.3.2. Structure génétique du figuier**

##### **II.3.2.1. Analyse multivariable**

###### **A. Analyse factorielle de correspondance (AFC)**

Les relations génétiques entre les individus du *Ficus salicifolia* ont été étudiées sur la base des données SSR nucléaires et l'analyse factorielle de correspondance (AFC) à l'aide du logiciel Genetix 3.0 (**BELKHIR et al., 2004**). Les résultats de l'analyse factorielle de correspondance (AFC) réalisée pour les 15 individus à l'aide des six profils SSR identifiés est décrite par la projection de la

variabilité sur les deux premiers axes .Dans cette analyse, nous avons étudié la proximité génétique entre les 15 individus du figuier.

Sur le plan de projection des axes, la distribution des individus entrais groupes, est claire.

Nous avons obtenues deux groupes d'individus situés négativement par rapport à l'axe des abscisses et positivement par rapport à l'axe des ordonnées .Le premier représenté par E7, E13 et E15 correspond à la variété Eucalyptoïdes et sont génétiquement liés et un autre groupe intermédiaire, représenté par les individus T<sub>14</sub>, T<sub>10</sub>, T<sub>11</sub>, T<sub>9</sub> et T<sub>8</sub> génétiquement liés, correspond à la variété Telouket et sont génétiquement plus proches des individus de la variété Eucalyptoïdes .

un troisième groupe situé positivement par rapport à l'axe des abscisses et négativement par rapport à l'axe des ordonnées représenté par les individus T1, T2, T3, T4 ,T5 , T6 et T12 représentant la variété Telouket et il sont génétiquement liés entre eux.

### **Discussion**

Dans cette étude, des approches moléculaires (SSR) ont été utilisées pour évaluer la diversité génétique au sein d'une espèce de figuier.

Diverses études conduites à travers le monde ont montré le grand polymorphisme de ces marqueurs (**MIGNOUNA et al., 2003**) .En effet, les marqueurs microsatellites utilisés se sont tous révélés polymorphiques produisant au total 81 allèles ce qui a permis **démontrer une différenciation génétique élevée chez le *Ficus salicifolia***, Ce fait est conforme aux travaux de **KHADARI et al., (2008)** qui ont montré une diversité génétique élevée par les marqueurs microsatellites chez le ***Ficus Carica***.

Les résultats de cette étude montre également la présence des individus correspondant à deux variétés avec vraisemblablement des variations génétiques. Ces variations ont pu conduire à une certaine diversification génotypique et phénotypique suggérant la présence de deux variétés au sein de cette espèce *Ficus salisifolia*.

En 2009, **Achtak**, avait réalisé l'identification moléculaire des individus de figuiers Marocains utilisant les mêmes marqueurs microsatellites (**CABRITA et al., 2011**).

Aussi, l'étude de la diversité génétique par les marqueurs microsatellites a permis de révéler que les individus du *Ficus Carica. L* introduits en Tunisie sont très diversifiés, et regroupés en plusieurs variétés différentes avec des structures génétiques spécifiques pour chacune d'entre elles (**SADDOUD, 2011**).

Les travaux de **HAOUANE, (2012)** ont montré une diversité génétique importante sur la base des marqueurs microsatellites (SSR), chez l'olivier (*Olea europaea L.*)

Par ailleurs, les observations antérieures (**ADOUKONOU-SAGBADJA et al., 2014**) sur d'igname (*Dioscorea alata L*) introduites au Bénin, confirme l'importance de ces marqueurs SSR dans l'évaluation de la diversité génétique de cette espèce

Les marqueurs microsatellites sont maintenant très utilisés pour la caractérisation moléculaire des arbres fruitiers : le raisin (*Vitis vinifera*) (**TESSIER et al., 1999**), la pêche (*Prunus persica L*) (**SOSINSKI et al., 2000**), l'abricot *Prunus armeniaca L*) (**HORMAZA, 2002**), le cacao (**ZHANG et al., 2006**) et l'olive (*Olea europaea L.*) (**CHARAFI et al., 2008**).

Une étude comparative des marqueurs microsatellites SSR, et d'autres marqueurs (RAPD, AFLP) pour la caractérisation de la diversité chez le figuier a montré que les marqueurs SSR sont plus informatifs que les autres marqueurs et ils sont plus reproductibles (**KHADARI et al., 2003**). Ces études ont confirmé l'efficacité des marqueurs SSR pour l'identification des variétés au sein des espèces de figuier. Ils ont été largement utilisés pour les études de la diversité génétique du figuier (**GIRALDO et al., 2008**; **KHADARI et al., 2008**; **SADDOUD et al., 2007**).

## Conclusion

L'étude que nous avons entreprise a porté sur l'aspect morphologique, biochimique et moléculaire de deux variétés : la variété Teloukat et la variété Eucalyptoïdes du *Ficus salicifolia* vahl.

### ➤ Sur le plan morphologique

Une mesure des paramètres morphométriques : la longueur des feuilles (LF), la largeur des feuilles (lf), la longueur des pétioles (LP) et la longueur des stipules (LS) a été réalisée afin d'étudier la diversité entre les deux variétés et a révélé le classement des individus en 3 groupes :

- 1<sup>er</sup> groupe : comprend les individus T1, T2, T3, T4, T5 et T6.
- 2<sup>ème</sup> groupe : les individus E7, E13 et E15.
- 3<sup>ème</sup> groupe : les individus T8, T9, T10, T11, T12 et T14.

### ➤ Sur le plan biochimique

L'étude chimio-taxonomique basée sur l'extraction des flavones-flavonols, acides phénols et anthocyanes nous a permis de quantifier par spectrophotométrie UV-visible les teneurs absolues de chaque composé chez les individus des deux variétés.

Les coefficients de variabilité des flavones-flavonols et des acides phénols est de 26,85% pour les deux variétés Teloukat et Eucalyptoïdes. Le coefficient de variabilité des anthocyanes est de 22,36%. Ces deux coefficients ont montré la présence d'une variabilité intra-variétale traduite par une distribution inégale de ces composés au sein des individus de chaque variété.

L'analyse par chromatographie liquide à haute performance (H.P.L.C.) nous a permis d'identifier chez les deux variétés les polyphénols constituant leur carte phénolique qui révèle la présence des composés communs et des composés spécifiques pour chaque variété.

Cette différence en composition chimique chez les deux variétés traduit la présence d'une diversité intra-variétale.

L'analyse des résultats par les marqueurs chimiques nous a permis de classer les individus d'une manière plus claire par rapport aux marqueurs morphologiques.

➤ **Sur le plan moléculaire**

L'étude moléculaire par microsatellite (SSR) a permis d'étudier la diversité génétique en se basant sur différents paramètres (le nombre d'allèles, la fréquence allélique, l'hétérozygotie observée, l'hétérozygotie attendue et l'indice de fixation). Les résultats représentés par l'analyse factorielle de correspondance (AFC) et le dendrogramme ont confirmé l'existence de deux variétés Teloukat et Eucalyptoïdes au sein de l'espèce *Ficus salicifolia* Vahl traduite par le regroupement des individus d'une manière plus précise en deux catégories représentant chacune une variété.

Par les résultats de ce travail nous avons pu caractériser les deux variétés (Teloukat et Eucalyptoïdes) du figuier du désert *Ficus salicifolia*, néanmoins d'autres perspectives s'offrent aux chercheurs par l'augmentation du nombre d'individus et l'élargissement de sa zone d'étude.

## Références bibliographiques

**ACHTAK H., ATER M., OUKABLI A., SANTONI S., KJELLBERG F. and KHADARI B. 2010.** Traditional agroecosystems as conservatories and incubators of cultivated plant varietal diversity : the case of fig (*Ficus carica* L.) in Morocco. *BMC Plant Biology* 10:28.

**ACHTAK H., OUKABLI A., ATER M., SANTONI S., KJELLBERG F., KHADARI B., 2009.** Microsatellite Markers as Reliable Tools for Fig Cultivar Identification, 624–631. Tetouan, Morocco.

**ADOUKONOU-SAGBADJA H., WAGNER C., DANSI A., AHLEMEYER J., DAINOU O., AKAPAGANA K., ORDON S. et FRIEDT W., 2014.** Genetic diversity and population differentiation of fonio millet (*Digitaria* spp.) landraces from different agro-ecological zones of West Africa. *Theoretical and Applied Genetics* 115: 917-931.

**AHMED S., DAWSON D.A., COMPTON S.G. and GILMARTIN P.M. 2007.** Characterization of microsatellite loci in the african fig, *Ficus sycamorus* L. (Moraceae). *Mol. Ecol. Notes* 7:1175-1177.

**AIACHE J.M., CARNAT A.P., COUDERT P., TEULADE J.C., 2011.** Sources actuelles et futures des matières premières chimiques, édition Elsevier Masson, 94p.

**ALONSO-BLANCO C., MENDEZ -VIGO B et KOORNEEF M., 2005.** From phenotypic to molecular polymorphisms involved in naturally occurring variation of plant development. *Int. J. Dev. Boil.* 49 : 717-723.

**ANDERSSON MS., SCHULTZ-KRAFT R., PETERS M., HINCAPIE B et LASCANO CE., 2006.** Morphological, agronomic and forage quality diversity of the *flemingiamacrophylla* word collection. *Field Crops Research* 96: 387-406.

**BAHORUN T., 1997.** Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. Food and agricultural research council. Réduit, Mauritius, 83-94 pp.

**BANK H.V.D., BANK M.V.D et WYK B.E.V., 2001.** A review of the use of allozyme electrophoresis in plant systematics. *Biochem. Syst. Ecol.* 29: 469-483.

**BATE SMITH E.C., OSTONE L. et LERMIOGLU F.,1954.** LeucoanthocyanidinsII : the nature and distribution in leaves. Ed. *lantamedica*, 34-37pp.

**BELKHIR K, BORSA P, CHIKHI L, RAUFASTE N et BONHOMME F., 2004.** GENETIX 4.05, logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, Centre National de la Recherche Scientifique, Unité Mixte de Recherche 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France.

**BERG C.C. et WIEBES J.T., 1992.** African fig trees and fig wasps. Ed. KoninklijkeNederlandseAkademie van wetenschappen, Amesterdam, 1-298 pp.

**BETA T., NAM S., DEXTER J.E. et SAPIRSTEIN H.D., 2005.** Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cerealchem.*, 390-393 pp.

**BOUCHAITA M. et TIDJINI Y., 2008.** Contribution à la caracterisation et l'identification des composés phénoliques du Pacanier (*Carya illinoensis*) et leurs effets antimicrobiens. Thèse ing. Biologie. Biotechnologie végétale, U.S.D.B., 69 Pages.

**BRETON C., TERSAC M. and BERVILLE A., 2006.** Genetic diversity and gene flow between the wild olive (oleaster, *Olea europaea* L.) and the olive: several plio-pleistocene refuge zones in the Mediterranean basin suggested by simple sequence repeats analysis. *J Biogeogr* 33(11):1916-1928.

**BUDAK H., PEDRAZA F., BAENZIGER PS., CREGAN PB et DWEIKAT I., 2003.** Development and utilization of SSR to estimate genetic diversity in a collection of pearl millet germplasm. *Crop Sci.* 43: 2284-2290.

**CABRITA L.F., AKSOY U., HEPAKSOY S. and LEITAO J.M., 2011.** Suitability of isozyme, RAPD and AFLP markers to assess genetic differences and relatedness among fig (*Ficus carica* L.) clones. *ScientiaHort.* 87:261–273.

**CARAGLIO Y., 2005.** De la taille à la conduite des arbres fruitières : Figuier. Ed. educargi, France, 103-110pp.

**CHARAFI J., EL MEZIANE A., MOUKHLI A., BOULOUHA B., EL MODAFAR C. and KHADARI B., 2008.** Menara gardens: A Moroccan olive germplasm collection identified by a SSR locus-based genetic study. *Genet. Resources Crop Evol.* 55:893–900.

**CHASE M.W. et REVEAL J.L., 2009.** A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III. *Botanical journal of the Linnean society* (161) pp 122-127.

**CHATTI K, SADDOUD O, SALHI-HANNACHI A, MARS M, MARRAKCHI M, and TRIFI M. 2007.** Analysis of genetic diversity and relationships in a Tunisian fig (*Ficus carica*) germplasm collection by Random Amplified Microsatellite Polymorphisms. *Journal of Integrative Plant Biology* 49(3): 386–391.

**CHENOUNE K., 2005.** La flore et la végétation du Hoggar : Bois et forêts des tropiques (2), N°284, 79-83pp.

**CRONKQC., 2010.** Plant evolution and development in a post-genomic context. *Nat. Rev. Genet.* 2: 607-619.

**CUI Z., CARTER TE, Jr., BURTON JW et WELLS R., 2001.** Phenotypic Diversity of Modern Chinese and North American Soybean Cultivars. *CropSci* 41: 1954-1967.

**DAGNELIE P., 2006.** Statistique théorique et appliquée. 1. Statistique descriptive et base de l'inférence statistique. 3ème édition. Éditions De Boeck

**DE MORAES P.L.R., NEHME C.J., ALVES M.C., TERESA M., DERBYSHIRE M.T et CAVALHEIRO A.J., 2007.** Chemical composition of flavonoids and styrylpyrones and the genetic variability of isozymes in natural populations of *Cryptocaryamandiocana* Meisner (Lauraceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 35: 233-244.

**DURY S., 1992.** Approche ethnobotanique des ficus au nord du Cameroun, Rapport de stage, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier 53 pages.

**EL BOUZIDI S., 2002.** Le figuier : histoire, rituel et symbolisme en Afrique de nord in : Dialogue d'histoire ancienne, volume 30, partie (01), université de Besançon, centre de recherche ancienne, institut des sciences et techniques de l'antiquité. Ed. Presse universitaire, France-comtoises, 103-120pp.

**ESCOFFIER B. et PAGES J., 1990.** Analyses factorielles simples et multiples. Objectifs, méthodes et interprétation. 2ème édition, Bordas, Paris, 1990. 274 p.

**FORD R., Le ROUX K., ITMAN C., BROUWER JB. and TAYLOR PWJ. (2002).** Diversity analysis and genotyping in *Pisum* with sequence tagged microsatellite site (STMS) primers. *Euphytica* 124, p. 397–405.

**GAO LZ. and HONG SGDY. (2000).** Allozyme variation and population genetic structure of common wild rice *Oryzarufipogon* Griff. in China. *Theor. Appl. Genet.* **101**, p. 494–502.

**GAST M., 2000.** Moisson se désert: utilisation des ressources naturelles au Sahara central, Ed. Ibis press, Paris, 90 pages.

**GÉHU J.M., 2000.** Les données de la phytosociologie sigmatiste : structure, gestion, utilisation, Ed. Jean-Marie GÉHU, Paris, 1128 pages.

**GIANCOLA S., MCKHANN H., BERARD A., CAMILLERI C., DURAND S., LIBEAU P., ROUX F., REBOUD X., GUT I.G et BRUNEL D., 2006.** Utilization of the three high-throughput SNP genotyping methods, the GOOD assay, Amplifluor and TaqMan, in diploid and polyploid plants. *TheorAppl Genet* 112: 1115-1124.

**GILLES W., 1976.** L'Encyclopédie des Médecines Naturelles et des Secrets de Santé, Elina, Lavoisier, Paris, pp 212-222.

**GIRALDO E., VIRUEL M.A., L'OPEZ-CORRALES M, and HORMAZA J.I. 2008.** Characterization and cross-species transferability of microsatellites in the common fig (*Ficus carica* L.). *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 80:217–224. 630 J.

**GIRALDO E., VIRUEL M.A., LOPEZ-CORRALES M. and HORMAZA J.I. 2005.** Characterization and cross-species transferability of microsatellites in the common fig (*Ficus carica* L.) *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 80:217-224.

**GOMEZ OJ., BLAIR MW., FRANKOW-LINDBERG BE et GULLBERG U., 2004.** Molecular and Phenotypic Diversity of Common Bean Landraces from Nicaragua. *CropSci* 44: 1412-1418.

**HAOUANE H., 2012.** Origines, domestication et diversification variétale chez L'olivier (*Olea europaea* L.) à l'ouest de la Méditerranée 135-87- P323

**HARBORNE J.B., GHESTEM A. et SEGUIN E., 2009.** Phytochemical methods : guide to modern technique of plante analysis. Ed. Chapman and Hall, London, 378 pages.

**HARRY M., 2001.** Génétique moléculaire et évolutive. Editions Maloine., Paris.p39.

**HORMAZA J.I. 2002.** Molecular characterization and similarity relationships among apricot (*Prunus armeniaca* L.) genotypes using simple sequence repeats. *Theor. Appl. Genet.* 104:321–328.

**HOSTETTMAN K. et MARSTON A., 2005.** Saponins and pharmacology of natural products. Cambridge University Press, Cambridge isbn-10:0521020174.

**IPGRI and CIHEAM. 2003.** Descriptors for fig (*Ficus carica* L.). IPGRI, CIHEAM.

**ISERIN P., MASSON M., RESTELLINI J. P., YBERT E., DE LAAGE DE MEUX A., MOULARD F., ZHA E., DE LA ROQUE R., DE LA ROQUE O., VICAN P., DEELESALLE –FEAT T., BIAUJEAUD M., RINGUET J., BLOTH J., et BOTREL A. 2001.** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins ; ed Larousse. p10-12.

**JOUSSELIN E., HOSSAERT-MCKEY M., VERNET D. & KJELLBERG F., 2001a.** Egg deposition patterns of fig pollinating wasps: implications for studies on the stability of the mutualism. *Blackwell Science Ltd. Ecological Entomology*, 26: 602-608.

**JOUSSELIN E., RASPLUS J.Y. et KJELLEBERG F., 2003.** Convergence and coevolution in a mutualism : Evidence from a molecular phylogeny of *Ficus* evolution, 57 : 1255-1269.

**KEBBOUR D. 2013.** Variabilités génétiques du pistachier vrai « *Pistacia vera* L.» en Algérie. Thèse de doctorat en amélioration des plantes, U.S.D.B.

**KHADARI B., HOCHU I., SANTONI S. and KJELLBERG F. 2001.** Identification and characterization of microsatellites loci in the common fig (*Ficus carica* L.) and representative species of the genus *Ficus*. *Molecular Ecology Notes* 1: 191-193.

**KHADARI B., ROGER J.P., ATER M., ACHTAK H., MAMOUNI A., OUKABLI A. and KJELLBERG F., 2003.** Molecular characterization of Moroccan fig germplasm using intersimple sequence repeat and simple sequence repeat markers to establish a reference collection. *HortScience* 40:29–32.

**KHADARI B., ROGER J.P., ATER M., ACHTAK H., OUKABLI A. and KJELLBERG F., 2008.** Moroccan Fig Presents Specific Genetic Resources: a High Potential of Local

Selection Amélioration des Plantes et Conservation des Ressources Phytogénétiques, INRA,B.P. 578 Meknès, Morocco.

**KJELLEBERG F., 2008.** Coévolution et speciation: le cas des calchidiens associés aux figues. Peut-on classer le vivant ? Espèce, évolution, diversité.Ed. Belin, Paris, 253-262 pp.

**LEBRETON P., JAY M., VOIRIN B., et BOUCHER M.P.,1967.** Analyse qualitative et quantitatives des flavonoides. Chimie analytique N°49, 375-385 pp.

**LÉGER C.L. et AMIOT M.J., 2000.** Les polyphénols in : alimentation méditerranéenne et santé : actualités et perspectives. Ed. J.L.Eurotext, 175 pages.

**LUGASI A., HOVAR J., SAGI K.V. et BIRO L., 2003.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. Ed. Actabiologicaszegedientsis, 1-4, 119-125 pp.

**MABRY T.J., MARKHAM K.R. et THOMAS M.B., 1970.** The systematic identification of flavonoides. Ed. Springerlag, Berlin, 354 pages.

**MACHEIX J-J., FLEURIET AA. et JAY-ALLEMAND C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques, 192p.

**MAIRE R., 1961.** Encyclopédie biologique : Flore de l'Afrique de nord. Ed. Paul le chevalier, Paris, 329 pages.

**MAROUF A., 2000.** Dictionnaire d botanique « les phanérogames », Edition Dunod, Paris, p199.

**MARTIN S. et ANDRIANTSITOHAINA R., 2002.** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. Annales de cardiologie et d'angéologie, 51 : 304-315.

**MATUS I.A. et HAYES P.M., 2002.** Genetic diversity in three groups of barley germplasm assessed by simple sequence repeat. Genome 45: 1095-1106.

**MIGNOUNA H.D., ABANG M.M. and FAGBEMI S.A., 2003.** A comparative assessment of molecular marker assays (AFLP, RAPD and SSR) for white yam (*Dioscorea rotundata* Poir) germplasm characterisation. Annals of Applied Biology 142: 269-276.

**OUAFI S., 2007.** Contribution à l'étude biochimique du palmier dattier : Analyse de polyphénols des folioles de palme de cultivar du *Phoenixdactylifera* L. dans un but chimiotaxonomique. Thèse d'état en science de la nature, physiologie végétale, U.S.T.H.B., 140 pages.

**OUKABLI A., 2003.** Le figuier un patrimoine génétique diversifié à exploiter. Transfert de technologie en agriculture, bull n° 106, 4pages.

**OZENDA P., 1977.** Flore du Sahara septentrional. 2<sup>ème</sup> Ed. C.N.R.S., Paris, 622 pages.

**PAGERDM., 1998.** treeview: an application to display phylogenetic trees on personal computers. computer applications in the biosciences,12: 357–358.

**PERRIER X., FLORI A. et BONNOT F., 2006.** Data analysis methods. DARwin software <http://darwin.cirad.fr/darwin>.

**PIETTA F., GARDANA C., et PIETTA A., 2003.** Flavonoids in herbs in : flavonoids in health and disease. Ed. Marcel dekker, New York, 43-69 pp.

**PROFFIT M., CHEN C., SOLER C., BESSIERE J.M., SCHATZ B. et HOUSSAERT-McKEY M., 2009.** Can chemical signals, responsible for mutualistic partner encounter, promote the specific exploitation of nursery pollination mutualisms? - The case of figs and fig wasps. EntomologiaExperimentalis&Applicata, 131:46-57.

**QUEZEL P. et SANTA S., 1963.** Nouvelle Flore De L'Algérie et des régions désertiques méridionales Tom. II. 7<sup>ème</sup> Edition. Ed. C.N.R.S., Paris, 1170 pages.

**RAMADE F., 2008.** Dictionnaire encyclopédique des sciences de la nature et de la biodiversité, Ed. DUNOD, Paris, 726 pages.

**RAVEL C., PRAUD S., CANAGUIER A., DUFOUR P., GIANCOLA S., BALFOURIER F., CHALHOUB B., BRUNEL D., LIHOSSIER L., DARDEVET M., BECKERT M., ROUSSET M., MURIGNEUX A., CHARMET G., 2004.**DNA sequence polymorphism and their application in bread wheat. In: Vollmann J,Grausgruber H, Ruckenbauer P (eds) Genetic variation for plant breeding. Eucarpia: Tulln,

**RUSSELL J., BOOTH A., FULLER J., HARROWER B., HEDLEY P., MACHRAY G et POWELL W. 2004.** A comparison of sequence-based polymorphism and haplotype content in transcribed and anonymous regions of the barley genome. *Genome* 47: 389-398.

**SADDOUD O., BARAKET G., CHATTI K., SALHI-HANNACHI A., MARS M., MARRAKCHI M. and Trifi M., 2011.** Using morphological characters and simple sequence repeat (ssr) markers to characterize tunisian fig (*ficuscarical.*) cultivars P404.

**SADDOUD O., CHATTI K., SALHI-HANNACHI A., MARS M., RHOUMA A., MARRAKCHI M. and Trifi M., 2007.** Genetic diversity of Tunisian figs (*Ficuscarica* L.) as revealed by nuclear microsatellites. *Hereditas* 144:149–157.

**SAHKI A. et SAHKI R., 2004.** Le Hoggar promenade botanique. Ed. Ésope, Lyon/chamonix. 310 pages.

**SALGAROLO P., 2003.** Pratique des manipulations de chimie à l'usage des biologistes. Tec & doc, Paris, 363 pages.

**SAMOUELIAN F., GAUDIN V. et BOCCARA M., 2009.** Génétique moléculaire des plantes. Edition Quae. 208p.

**SAMOUELIAN T., VEGA J.M. , HAN F. , LAMB J.C et BRICHER J.A. , 2009:** Advances in plant chromosome identification and cytogenetic techniques. *Current Opinion in Plant Biology*. 8:148-154.

**SARNI-MANCHADO P. et CHEYNIER V., 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Lavoisier (Tec et Doc), Paris, pp300-398.

**SCHIPMANN, UWE, DANNA J. LEAMAN et ANTHONY B. CUNNINGHAM. 2006.** « A Comparison of Cultivation and Wild Collection of Medicinal and Aromatic Plants Under Sustainability Aspects ». Chap. 6 In *Medicinal and Aromatic Plants*, éd. R.J. Bogers, L.E. Craker et Lange Dagmar, Compterendu du Frontis Workshop on Medicinal and Aromatic Plants (Wageningen, Pays-Bas, 17-20 avril 2005), p. 75-95.

**SERRE J.L., 2006.** Génétique des populations. Edition Dunos, Paris.p56.

**SOLEIMANI V.D., BAUM B.R et JOHNSON D.A., 2007.** Analysis of genetic diversity in barley cultivars reveals incongruence between S-SAP, SNP and pedigree data. *Genet. Res. CropEvol.* 54: 83-97.

**SOLEMAN T., 1978.** Etude sur le système de fructification des figuiers : croissance et biochimie. Thèse D.O ing. Univ. Sci. 98Pages.

**SOSINSKI B., GANNAVAPU M., HAGER L.D., BECK L.E., KING G.J, RYDER C.D., RAJAPAKSE S., BAIRD W.V., BALLARD R.E., and ABBOTT A.G..2000.** Characterization of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Theor. Appl. Genet.* 101:421–428.

**SPICHIGER R.E., SAVOLAINENV.V., FIGEAT M. et JEANMONOD D., 2004.** Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérés et tropicales, 3<sup>ème</sup> Ed. Presses polytechniques et universitaires Romandes, Lausanne, 413 pages.

**TESSIER C., DAVID J., THIS P., BOURSQUOT J.M. and CHARRIER A., 1999.** Optimization of the choice of molecular markers for varietal identification in *Vitis vinifera* L. *Theor. Appl. Genet.* 98:171–177.

**ZHANG D., MISCHKE S., R. GOENAGA A., HEMEIDA A. and SAUNDERS J.A., 2006.** Accuracy and reliability of high throughput microsatellite genotyping for cacao clone identification. *CropSci.* 46:2084–2092.J.

## Annexe I

### Matériel de laboratoire et appareillage

#### I- LA VERRERIE

- Ampoules à décanter.
- Béchers.
- Boîte de Petri en verre
- Boîte de Petri
- Eprouvettes graduées
- Fioles.
- Pipettes graduées.
- Micropipettes.
- Tubes à essai.

#### II- L'APPAREILLAGE

- Spectrophotomètre.
- Bains marie.
- Étuve
- Balance de précision
- Chromatographie liquide à haute performance(H.P.L.C.).
- Autoclave
- Bec benzène

- Etuve d'incubation
- pied à coulisse
- vortex
- Hotte ventilée
- Rota vapeur

#### III- REACTIFS ET PRODUITS CHIMIQUES (Solvants)

- Acétonitril grade H.P.L.C.
- Acide acétique grade H.P.L.C.
- Acide chlorhydrique (HCl) à 2N.
- n- Butanol C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O
- Eau distillée.
- Éthanol à 70° C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH
- Ether diéthyliqueC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>
- Méthanol CH<sub>3</sub>OH
- Méthanol grade H.P.L.C.
- Méthyle éthyle cétone.
- Chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>).

- **Préparation de l'acide chlorhydrique à deux fois normal (HCl à 2N)**

On prend un volume V de HCl à 37% puis on ajuste jusqu'à 1L avec de l'eau distillée

$$V = \frac{100 * Mm * 2}{d * 37}$$

**Mm** : masse molaire de HCl.

**d** : densité de HCl.

- **Préparation du chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>)**

1g de chlorure d'AlCl<sub>3</sub> —————> 100ml de méthanol

0.5g de chlorure d'AlCl<sub>3</sub> —————> 50ml de méthanol

## Annexe II

**Tableau V : Analyse des variations significatives de la longueur de 20 feuilles de deux variétés (Teloukat et Eucalyptoïdes) du *Ficus salicifolia*.**

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
longueur des feuilles (LF)	639,04	14	45,65	7,54	0,00	1,73
Erreur	1725,98	285	6,06			
<b>Total</b>	<b>2365,02</b>	<b>299</b>				

**Tableau VII: Analyse des variations significatives de la largeur de 20 feuilles de deux variétés (Teloukat et Eucalyptoïdes) du *Ficus salicifolia*.**

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
longueur des feuilles (LF)	172,66	14	12,33	15,6	0,00	1,73
Erreur	224,29	285	0,78			
<b>Total</b>	<b>396,91</b>	<b>299</b>				

**Tableau IX: Analyse des variations significatives durapport longueur sur largeur des feuilles de deux variétés (Teloukat et Eucalyptoïdes) du *Ficus salicifolia*.**

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
longueur des feuilles (LF)	172,624	14	11,758	49,24	0,00	1,73
Erreur	224,294	285	0,239			
<b>Total</b>	<b>396,918</b>	<b>299</b>				

**Tableau XI: Analyse des variations significatives de la longueur des pétioles de 20 feuilles de deux variétés (Teloukat et Eucalyptoïdes) du *Ficus salicifolia*.**

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
longueur des feuillets (LF)	141,080	14	10,07	21,21	0,00	1,73
Erreur	135,42	285	0,47			
<b>Total</b>	<b>276,502</b>	<b>299</b>				

**Tableau XIII: Analyse des variations significatives de la longueur des stipules de vingt feuilles de deux variétés (Teloukat et Eucalyptoïdes) du *Ficus salicifolia*.**

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
longueur des feuilles (LF)	22,95	14	1,63	9,62	0,00	1,73
Erreur	48,56	285	0,17			
<b>Total</b>	<b>71,51</b>	<b>299</b>				

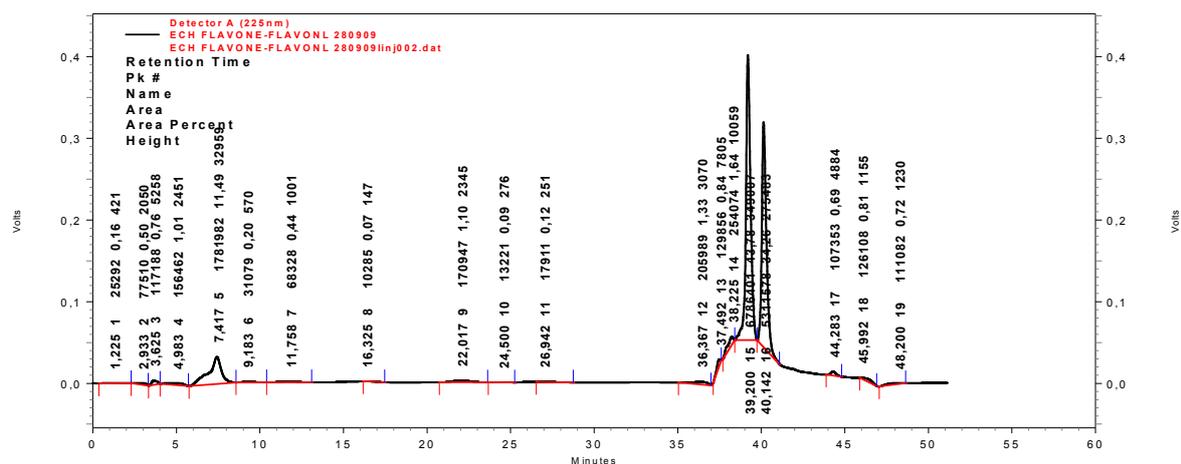


Figure 10 : Profil chromatographique des flavones- flavonols présents dans les feuilles de *Ficus salicifolia* Vahl. détectés par H.P.L.C. à 365 nm en mode de gradientisocratique

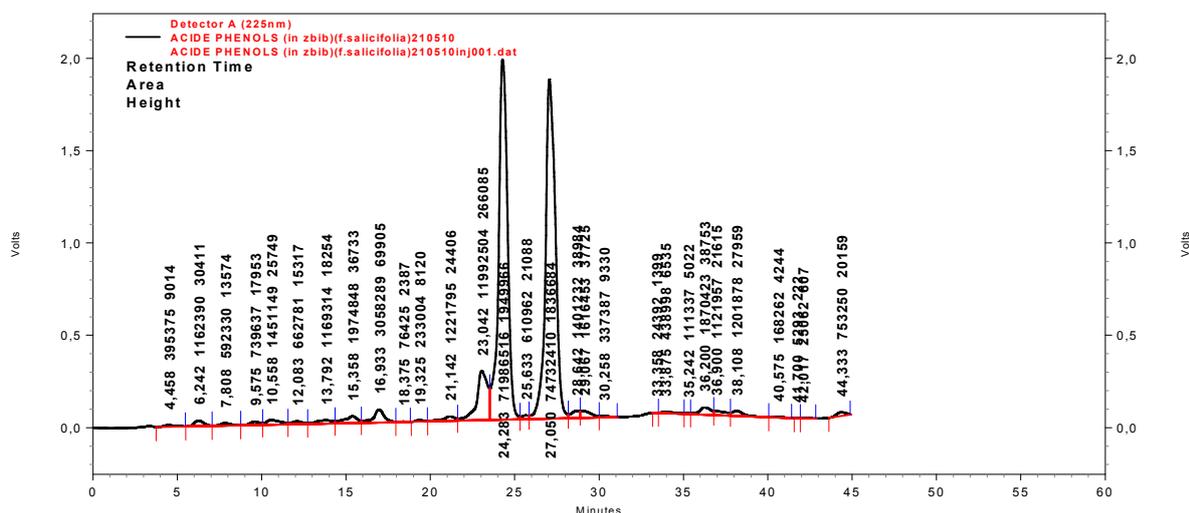
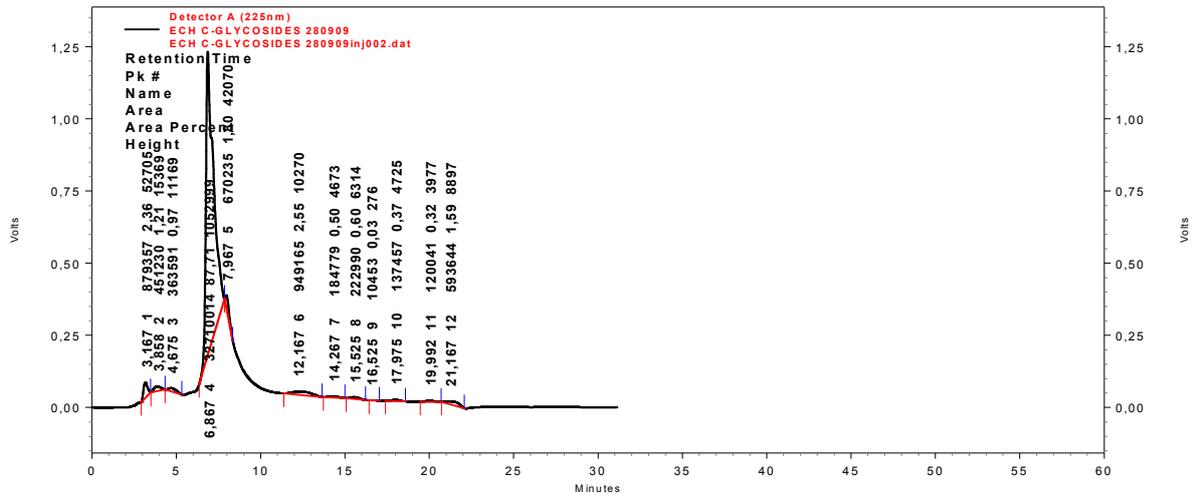


Figure 11: Profil chromatographique des acides phénols présents dans les feuilles de *Ficussalicifolia* Vahl. détectés par H.P.L.C. à 260 nm en mode de gradientisocratique.



**Figure 12: Profil chromatographique des C-Glycosides présents dans les feuilles de *Ficus salicifolia* Vahl. détectés par H.P.L.C. à 370 nm en mode de gradientisocratique.**

# Introduction









# I. Matériel et méthodes

# III. Résultats et discussion

# Conclusion

# Références bibliographiques

# Annexes