

UNIVERSITÉ SAAD DAHLEB DE BLIDA 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie

THESE DE DOCTORAT

En Sciences agronomiques

Spécialité: Amélioration des productions végétales

**ETUDE DU POLYMORPHISME PHENOTYPIQUE ET MOLECULAIRE ET ESSAI
DE REGENERATION *IN VITRO* DE QUELQUES ESPECES D'*OPUNTIA* (SOUS
GENRE *PLATYOPUNTIA*) EXISTANTES DANS LES STEPPES ALGERIENNE**

Par

Boubakr HADJ KOUIDER

Devant le jury composé de :

A. GUENDOOUZ-BENRIMA	Professeur, U. de Blida 1	Président
A. BOUTEKRABT	Professeur, U. de Blida 1	Promoteur
L. BENDERRADJI	Maître de conférences, U. de M'sila	Examineur
B. BOUSALHIH	Maître de conférences, U. de Khemis M.	Examineur
M. MEFTI	Maître de conférences, ENSA. Alger	Examineur
D. KEBOUR	Maître de conférences, U. de Blida 1	Examineur

Blida, 28 juin 2018 à 9^h00

REMERCIEMENTS

Au terme de cette étude, je tiens à adresser ma profonde reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont soutenu, aidé et encouragé tout au long de ce travail, en particulier.

Mes remerciements s'adressent à mon directeur de thèse le Professeur **BOUTEKRABT Ammar**, pour son encadrement, ses discussions toujours très enrichissantes et pour son effort et sa patience lors de la correction du manuscrit.

Je suis particulièrement reconnaissant à M^{me}. **GUENDOZ-BENRIMA Atika**, Professeur à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université SAAD DAHLEB, Blida 1, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant la présidence du jury de ma thèse. Qu'elle soit assurée de ma respectueuse considération.

Mes remerciements s'adressent aussi à Monsieur **BENDERRADJI Laid**, Maître de conférences à l'université de M'sila, Monsieur **BOUSALHIH Brahim**, Maître de conférences à l'université de Khemis Miliana, Monsieur **MEFTI Mohamed** Maître de conférences à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique et M^{me}. **KEBOUR Djamila**, Maître de conférences à l'université de Blida 1, qui ont bien voulu accepter d'examiner ma thèse.

Je tiens à remercier tout spécialement **Dr. ZOGLAMI Néjia**, Maître de Conférences au Laboratoire de Physiologie Moléculaire des Plantes (CBBC), qui malgré ses lourdes tâches m'a accueilli durant deux stages consécutifs au cours des années 2014 et 2015 pour la réalisation de la partie Biologie moléculaire. Ses expertises dans les domaines de la biologie moléculaire et la bio-informatique, sa rigueur scientifique, ainsi que sa gentillesse, son soutien moral, sa patience a grandement contribué à l'aboutissement de cette thèse.

Mes remerciements vont également à Monsieur le Professeur **MLIKI Ahmed**, Directeur du Laboratoire de Physiologie Moléculaire des Plantes (LPMP) au CBBC., en Tunisie de m'avoir accepté au sein de son Laboratoire et mis à ma disposition les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail.

Je désire remercier également **BEN RHOMDHANE Mariame**, Thésard au Laboratoire Physiologie Moléculaire des Plantes (CBBC) pour son aide précieuse lors de la réalisation de l'analyse moléculaire.

Un remerciement particulier s'adresse à mes parents et toute ma famille.

Enfin, Ma profonde reconnaissance à ma chère épouse M^{me}. **LALLOUCHE Bahia**, enseignante à l'université de M'sila pour son assistance, sa contribution dans la réalisation de cette thèse et sans s'oublier mes très chères filles **Kinana, Ithar et Ghofrane**.

ملخص

من خلال هذا العمل، قمنا أولاً بدراسة الاختلاف والتباين الشكلي والمظهري لخمسة أنواع من التين الشوكي

وهي: *Opuntia ficus indica*, *Opuntia amycleae*, *Opuntia streptacantha*, *Opuntia engelmannii* et *Opuntia robusta*.

في السهوب الجزائرية وذلك باستخدام 49 واصفا كمي ونوعي، بغية إيجاد الواصفات والمعلومات من بين 49 واصفا والمسببة للاختلاف والتباين بين مختلف الأنواع المدروسة من التين الشوكي. فالسؤال المطروح هو ما مدى الاختلاف، التباين والتنوع الشكلي لدى التين الشوكي في الجزائر؟ بعد ذلك قمنا بدراسة التنوع الجزئي باستخدام واصف مهيمن نوع RAPD من أجل تحليل التنوع الوراثي في التين الشوكي والسعي للحصول على علاقة الترابط الجينية بين هذه الموارد النباتية. إضافة إلى ذلك قمنا بدراسة التكاثر عن طريق البذور في المختبر لهته الأنواع السالفة الذكر، وذلك لمعرفة سلوكياته ودراسة خصائصها والمتمثلة في الإنبات والنمو.

أظهرت دراسة التباين المورفولوجي أن هناك معلومات قادرة على تمييز الأنواع فيما بينها، كذلك من خلال تحليل الواصفات الكمية، سجلنا فارق كبير جدا على مستوى جميع المعلومات التي تم دراستها، الشجرة، الظلف، الأزهار، الثمار والبذور. وأظهر تحليل المكونات الرئيسية والتحليل العنقودي الهرمي تمايزا متناسقا عند جميع أنواع التين الشوكي المدروسة. كما أنه من خلال تحليل المكونات الرئيسية وجدنا 8 معلومات من بين 49 معلما هي الأكثر تمييزا بين الأنواع المدروسة، التمثيل العنقودي الذي أجري بحساب المسافة الإقليدية بين كل زوجين من أنواع التين الشوكي المدروسة سمحت لنا بالحصول على 3 مجموعات بدل من 4 عند تحليل المكونات الأساسية حيث وجدنا ان النوعين الأكثر تقاربا شكليا هما: *Opuntia ficus indica*، *Opuntia amycleae*. كما أظهرت تحاليل التنميط الجيني RAPD، وتحليل العوامل AFC على جميع المعطيات، أنه يوجد إختلاف واضح بين جميع الأنماط الجينية المدروسة. كما سجلنا إختلاف كبير بينها. ونتيجة لذلك لم نسجل أي إختلاف بين هذه الأنواع سواء بالنسبة للتصنيف الهرمي أو إنتثار المتغيرات في المحورين 1 و 2، علاوة على ذلك فإن أقرب مسافة جينية سجلت بين النوعين (*Opuntia robusta* و *Opuntia streptacantha*) على عكس النوع (*Opuntia engelmannii*) الذي يمثل أبعد مسافة جينية بينه وبين الأنواع الأخرى.

وأخيرا، فإن النباتات المخبرية التي تم الحصول عليها تتميز بشكل مظهري مماثل بالنسبة لجميع الأنواع المدروسة. لكنه لوحظ فرق على مستوى مجمل الخصائص المدروسة وهي: معدل الإنبات، عدد الجذور، طول الجذر، طول وسمك الظلف. حيث تمثل هذه النتائج الحالية خطوة مهمة في إنتقاء الأنواع الجيدة ذات الميزات المهمة وتحسين إستغلالها والمحافظة عليها وحمايتها.

الكلمات المفتاح:

التين الشوكي، التنوع الشكلي والجزئي، التباين الجيني، التكاثر، الزراعة المخبرية.

RESUME

Dans le présent travail, nous avons étudié tout d'abord, la variation phénotypique de cinq génotypes de genre *Opuntia*: *Opuntia ficus indica*, *Opuntia amyycleae*, *Opuntia streptacantha*, *Opuntia engelmannii* et *Opuntia robusta*, provenant des steppes algériennes en utilisant 49 descripteurs de l'UPOV (2006), en vue de rechercher lequel des 49 descripteurs peuvent être utilisés comme de puissants estimateurs de la diversité phénotypique au sein des espèces d'*Opuntia*. Comment se forme la diversité morphologique dans l'*Opuntia* en Algérie? Ensuite nous avons étudié le polymorphisme moléculaire à l'aide de marqueurs dominants de type RAPD dans le but d'analyser la diversité génétique de l'*Opuntia* et de chercher les liens phylogénétiques existant entre ces différentes phyto-ressources. De plus, nous avons étudié la régénération *in vitro* de ces génotypes, afin de reconnaître le comportement de germination et de croissance *in vitro* des graines des espèces d'*Opuntias*.

L'étude de la variabilité morphologique a montré qu'il existe des paramètres susceptibles de distinguer les espèces entre elles. Aussi, l'analyse des paramètres quantitatifs, nous a permis d'enregistrer une très grande différence au niveau de tous les paramètres traités : pieds, cladodes, fleurs, fruits et graines. L'Analyse en Composantes Principales et l'Analyse en Grappes Hiérarchiques ont indiqué une différenciation cohérente entre toutes les espèces étudiées. La magnitude relative des deux premiers vecteurs propres à la ACP n'a montré que 8 descripteurs sur 49 identifiés comme les descripteurs les plus discriminants pour la classification des espèces étudiées. Le dendrogramme effectué sur les distances euclidiennes calculées entre toutes les paires d'espèces a permis l'identification de 3 groupes, contrairement à l'ACP qui a identifié 4 groupes. Les espèces *Opuntia ficus-indica* et *Opuntia amyycleae* ont été identifiées comme très proches morphologiquement. Les données du génotypage RAPD, ainsi que l'analyse AFC réalisée sur l'ensemble des données ont montré la nette discrimination de tous les génotypes. Par ailleurs, l'examen de l'éclatement du nuage de points sur les axes 1 et 2 de l'AFC a montré un niveau de variabilité très important. Cette grande variabilité pourrait être attribuée à la nature des génotypes étudiés qui appartiennent à différentes espèces. D'autre part, la classification hiérarchique et radiée fait apparaître presque le même schéma de clustérisation précédemment décrit sur l'AFC. En effet, la proximité génétique entre les génotypes partageant le même ancêtre commun a été également retrouvé sur les deux représentations. C'est le cas de l'*Opuntia robusta* et l'*Opuntia streptacantha*. Toutefois, l'*Opuntia engelmannii* a été strictement isolé de tous les génotypes étudiés. Cet isolement pourrait être la conséquence d'une spécificité génotypique.

En dernier lieu, les vitro-plants obtenus présentent un aspect phénotypique semblable pour toutes les espèces mais la différence est observée au niveau de la totalité des paramètres étudiés à savoir : le taux de germination, le nombre de racines, la longueur de la racine, la longueur et l'épaisseur du cladode. Le résultat actuel représente une étape primordiale vers la sélection rapide d'espèces intéressantes et pour leur meilleure gestion et conservation.

Mots clés:

Opuntia, polymorphisme phénotypique et moléculaire, diversité, régénération, *in vitro*.

ABSTRACT

In the present work, we first studied the phenotypic variation of five opuntia genotypes: *Opuntia ficus indica*, *Opuntia amycleae*, *Opuntia streptacantha*, *Opuntia engelmannii* and *Opuntia robusta*, from the Algerian steppes using 49 UPOV descriptors. To find out which of the 49 descriptors can be used as powerful estimators of phenotypic diversity within *Opuntia* species. How is the morphological diversity formed in *Opuntia* in Algeria? Next, we studied molecular polymorphism using dominant markers of the RAPD type in order to analyze the genetic diversity of *Opuntia* and to look for the phylogenetic links existing between these different phyto-resources. In addition, we studied in vitro regeneration of these genotypes, in order to recognize the germination and in vitro growth behavior of seeds of *Opuntia* species.

The study of the morphological variability showed that there are parameters able to distinguish the species between them, also the analysis of the quantitative parameters, allowed us to record a very big difference at the level of all processed parameters, feet, cladodes, flowers, fruits and seeds. Principal component analysis and hierarchical cluster analysis indicated consistent differentiation across all species studied. The relative magnitude of the first two PCA-specific vectors showed that 8 out of 49 descriptors were identified as the most discriminating descriptors for species classification. The dendrogram performed on the Euclidean distances calculated between all the pairs of species allowed the identification of 3 groups, unlike the ACP which identified 4 groups. The species *Opuntia ficus-indica* and *Opuntia amycleae* have been identified as very close morphologically. The RAPD genotyping data, thus, the AFC analysis performed on all the data showed the clear discrimination of all genotypes. Moreover, the examination of the bursting of the scatter plot on axes 1 and 2 of the AFC showed a very high level of variability. This great variability could be attributed to the nature of the genotypes studied that belong to different species. On the other hand, the hierarchical and radiated classification shows almost the same clustering scheme previously described on the AFC. Indeed, the genetic proximity between genotypes sharing the same common ancestor was also found on both representations. This is the case of *Opuntia robusta* and *Opuntia streptacantha*. However, *Opuntia engelmannii* was strictly isolated from all genotypes studied. This isolation could be the consequence of genotypic specificity.

Finally, the obtained vitro-plants have a similar phenotypic appearance for all species; but the difference is observed at the level of the totality of the studied parameters namely: the rate of germination, the number of the roots, the length of the root, the length and the thickness of the cladode. The current result represents a crucial step towards the rapid selection of interesting species and their better management and conservation.

Key words:

Opuntia, phenotypic and molecular polymorphism, diversity, regeneration, *in vitro*

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION	11
CHAPITRE 1 : ORIGINE HISTORIQUE ET PRESENTATION DE L' <i>OPUNTIA</i>	13
1.1 Introduction	13
1.2 Origine et historique	13
1.3 Encadrement géographique de l' <i>Opuntia</i>	14
1.3.1 En Amérique	14
1.3.2 En Asie	15
1.3.3 En Europe	15
1.3.4 En Afrique	15
1.4 Classification botanique	19
1.4.1 Systématique de genre <i>Opuntia</i>	19
1.5 Ressources génétiques d' <i>Opuntia</i> disponibles	20
1.5.1 Les variétés fruitières	20
1.5.2 Cultivars fourragers	21
1.5.3 Amélioration des ressources génétiques	22
1.5.4 Polymorphisme des espèces	22
1.5.5 Caryologie	24
1.6 Présentation de l' <i>Opuntia</i>	25
1.6.1 Aspect général	25
1.6.2 Système racinaire	26
1.6.3 Cladodes	27
1.6.4 Aréoles	28
1.6.5 Epines et glochides	28
1.6.6 Fleurs	29
1.6.7 Fruits	30
1.6.8 Graines	31

CHAPITRE 2 : CONCEPTION DE MULTIPLICATION, CULTURE ET IMPORTANCE DE L'OPUNTIA	32
2.1 Introduction	32
2.2 Conception de multiplications de l'Opuntia	32
2.2.1 Multiplication par graine (voie sexuelle)	32
2.2.2 Multiplication végétative (voie asexuée)	33
2.3 Culture de l'Opuntia	34
2.3.1 Choix de l'espèce et du cultivar	34
2.3.2 Plantation	35
2.3.3 Récolte et rendement	36
2.4 Importance de l'Opuntia	37
2.4.1 Importance écologique	37
2.4.2 Importance alimentaire et agro-industriel	38
2.4.3 Importances médicinales	40
2.4.4 Apiculture	41
2.4.5 Importance fourragère	41
CHAPITRE 3 : MATERIEL ET METHODES	44
3.1 Matériel végétal	44
3.2 Présentation des zones d'étude	44
3.3 Etude du milieu physique des zones d'étude	44
3.3.1 Climat	44
3.3.2 Sol	49
3.4. Etude du polymorphisme phénotypique	52
3.4.1 Méthode d'étude	52
3.4.2 Echantillonnage	52
3.4.3 Les paramètres étudiés	55
3.4.4 Analyses statistiques des résultats	60
3.4.4.1 Analyse en Composante Principale (ACP)	61
3.4.4.2. Classification Hiérarchique Ascendante CAH	61
3.5 Etude du polymorphisme moléculaire	62
3.5.1 Technique RAPD	63
3.5.2 Matériel végétal	63
3.5.3 Extraction, purification et quantification de l'ADN génomique	63
3.5.4 Quantification d'ADN par électrophorèse	65
3.5.5 Traitements statistiques des données expérimentales	68

3.6 Essai de régénération <i>in vitro</i>	69
3.6.1 Objectif et matériel végétal	69
3.6.2 Choix et préparation du milieu de culture	69
3.6.3 Préparation des graines et initiation de la culture	73
3.6.4 Paramètres étudiés	74
3.6.5 Transplantation et acclimatation	74
3.6.6 Analyse statistique des résultats	75
CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSIONS	76
4.1 Etude du polymorphisme phénotypique	76
4.1.1 Descripteurs phénologiques	76
4.1.2 Descripteurs qualitatifs	77
4.1.3 Descripteurs quantitatifs	81
4.1.3.1 Cladode	81
4.1.3.2 Fleurs	87
4.1.3.3 Fruits	89
4.1.3.4 Graines	98
4.1.4 Analyse en composantes principale	103
4.1.5 Classification ascendante hiérarchique (C.A.H.)	111
4.1.6 Discussion	112
4.2 Etude du polymorphisme moléculaire	114
4.2.1 Sélection des amorces	114
4.2.2 Polymorphisme génétique liés aux marqueurs RAPD	115
4.2.3 Visualisation de la structuration phylogénétique	118
4.2.4 Analyse Factorielle de Correspondances	119
4.2.4 Classification Hiérarchique	120
4.3 Essai de régénération <i>in vitro</i>	124
4.3.1 Etude des paramètres	124
4.3.2 Phénomène de polyembryonie	129
4.3.2 Transplantation et acclimatation des vitro-plants	130
CONCLUSION	132
RÉFÉRENCES	136
APPENDICES	

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

ILLUSTRATIONS GRAPHIQUES

Figure 1.1: Aspect général d' <i>Opuntia</i> .	26
Figure 1.2 : Coupe longitudinale d'une fleur d' <i>Opuntia ficus indica</i> .	30
Figure 1.3: Fruits de différentes espèces d' <i>opuntia</i> .	30
Figure 1.4: Grains de différentes espèces d' <i>opuntia</i>	31
Figure 2.1: Germination d'une graine d' <i>Opuntia</i> .	33
Figure 3.1 : Différents périmètres expérimentaux.	45
Figure 3.2: Différentes formes du pied chez l' <i>Opuntia</i> .	55
Figure 3.3: Différentes formes des cladodes d' <i>Opuntia</i> .	56
Figure 3.4: Différents ports d'aiguillon central d' <i>Opuntia</i> .	56
Figure 3.5: Différentes courbures de l'aiguillon central d' <i>Opuntia</i> .	57
Figure 3.6: Torsion d'aiguillon central d' <i>Opuntia</i> .	57
Figure 3.7: Les différentes formes des fruits d' <i>Opuntia</i> .	58
Figure 3.8: Longueur du pédoncule d' <i>Opuntia</i> .	58
Figure 3.9 : Dépression de la cicatrice du réceptacle florale	59
Figure 4.1 : cladodes, fleurs et fruits des différentes espèces d' <i>Opuntia</i> étudiées	80
Figure 4.2 : Variation des descripteurs quantitatifs des cladodes des espèces étudiées	86
Figure 4.3 : Variation des descripteurs quantitatifs des fleurs des espèces étudiées	88
Figure 4.4: Poids en pourcentage de la pulpe, de la peau et des graines par fruit des différentes espèces étudiées	94
Figure 4.5: Corrélation entre le diamètre géométrique et le poids du fruit	96
Figure 4.6: Corrélation entre le poids de Mille graines (PMG) et le diamètre des graines	103

Figure 4.7: Représentation des deux premier axe d'une analyse en composantes principales correspondant aux caractères morphologiques et phénologiques de cinq espèces d' <i>Opuntia</i> (variables de 1 à 49, voir le Tableau 3.2)	106
Figure 4.8: Représentation de cinq espèces d' <i>Opuntia</i> sur le plan (1-2) d'une analyse en composantes principales	107
Figure 4.9: Distribution des variables et des espèces d' <i>Opuntia</i> dans le plan 1-2 révélée à partir de l'ACP	109
Figure 4.10: Classification hiérarchique des différents génotypes (CAH)	112
Figure 4.11 : Sélection des amorces RAPD à partir de 2 génotypes d' <i>Opuntia</i> (I0 : <i>O. ficus indica</i> , E0 : <i>O. engelmannii</i>)	114
Figure 4.12: Fragments d'amplification générés par les amorces UBC-226, UBC-231, UBC-241 chez 5 espèces d' <i>Opuntia</i> , M : marqueur de taille 100 pb	117
Figure 4.13: AFC réalisée sur les données de génotypes à l'aide de 45 marqueurs RAPD chez 5 génotypes d' <i>Opuntia</i> en fonction des axes 1 e 2	120
Figure 4.14: Dendrogramme illustrant les relations phylogénétiques entre 5 génotypes d' <i>Opuntia</i> établies sur la base de 45 marqueurs RAPD	121
Figure 4.15: Représentation radiée montrant la singularité d' <i>Opuntia engelmannii</i> détectée sur la base de 45 marqueurs RAPD	122
Figure 4.16: Les différentes étapes de la germination d'une graine d' <i>Opuntia</i>	125
Figure 4.17: Aspect général des <i>vitro-plants</i> après 60 jours de culture	128
Figure 4.18 : Paramètres de croissance <i>in vitro</i> des cinq espèces d' <i>Opuntia</i> étudiées	128
Figure 4.19: Phénomène de polyembryonie chez l' <i>Opuntia</i>	130
Figure 4.20: Transplantation et acclimatation des <i>vitro-plants</i> d' <i>Opuntia ficus indica</i>	131

TABLEAUX

Tableau 1.1: Nombre de chromosomes de quelques espèces d' <i>Opuntia</i> sauvages et cultivées.	25
Tableau 2.1: Composition chimique de la pulpe et de graine du fruit d' <i>Opuntia ficus indica</i> par 100 g de fruit.	40
Tableau 2.2: variation de la composition chimique des raquettes d' <i>Opuntia ficus</i>	

<i>indica</i> (100 g de MF).	43
Tableau 3.1: Liste des cinq espèces d' <i>Opuntia</i> évaluées dans cette étude avec leurs caractéristiques agro-écologiques.	46
Tableau 3.2: Type d'effervescence en fonction de la teneur en CaCO ₃ .	51
Tableau 3.3: Descripteurs morphologiques et phénologiques utilisés pour la caractérisation des espèces d' <i>Opuntia</i> en Algérie (UPOV 2006).	53
Tableau 3.4 : Composition de la solution TAE (x50)	65
Tableau 3.5 : Composition du tampon de charge	66
Tableau 3.6 : Liste des amorces utilisées dans les réactions RAPD	67
Tableau 3.7: Composition des milieux de culture utilisés (MS) (Macro-éléments et micro-éléments). (Solution mère A et B).	70
Tableau 3.8 : Solution stock du fer EDTA. (Solution mère C).	71
Tableau 3.9 : Solution vitaminique de MOREL (1951). (Solution mère D).	71
Tableau 4.1 : Descripteurs qualitatifs des différentes espèces étudiées.	79
Tableau 4.2: Descripteurs quantitatifs des cladodes et des fleurs des différentes espèces étudiées.	82
Tableau 4.3: Descripteurs quantitatifs des fruits des différentes espèces étudiées.	90
Tableau 4.4 : Caractères quantitatifs des graines des différentes espèces étudiées.	99
Tableau 4.5: Valeurs propres avec le pourcentage de variabilité et le pourcentage cumulé porté sur chaque axe et détermination des axes de l'ACP basé sur 49 descripteurs morphologiques chez cinq espèces d' <i>Opuntia</i> de l'Algérie	105
Tableau 4.6: Liste des amorces RAPD utilisées et la qualité de leurs produits d'amplification	115
Tableau 4.7: Polymorphisme génétique généré à l'aide de 3 amorces RAPD chez les espèces d' <i>Opuntia</i>	117
Tableau 4.8: Distances génétiques calculées par paires de génotypes d' <i>Opuntia</i> en utilisant 45 marqueurs RAPD	118
Tableau 4.9: paramètres de croissance <i>in vitro</i> des cinq espèces d' <i>Opuntia</i> étudiées	127

INTRODUCTION

En Algérie, comme dans la méditerranée, les écosystèmes steppiques sont très fragiles. Actuellement, ils subissent des dégradations intenses, la végétation steppique méditerranéenne est réduite de 2 % par an (Le Houérou, 1996). Cette dégradation est due aux conditions climatiques particulières (précipitation rare ou irrégulière et de longues périodes estivales sèches). Ces contraintes climatiques sont associées à des pressions anthropiques multiformes : croissance démographique, déboisement, défrichage des parcours et réduction des espaces réservés au pâturage. Par conséquent, la désertification s'installe, conduisant généralement à une perturbation du couvert végétal couplé avec une érosion rapide du sol. Cette dernière constitue une véritable menace pour toute la région aride et semi-aride. La régénération de ces dernières repose sur une stratégie d'utilisation dans les programmes de plantation des espèces disposant de grandes capacités d'adaptation aux différents environnements difficiles, ce qui pourrait améliorer le taux de réussite des opérations de réhabilitation. La plantation et l'utilisation de l'*Opuntia* est une alternative de premier rang. En effet, cette dernière possède une très grande adaptation aux conditions de milieu les plus critiques (aridité du climat, chaleur, terrains pauvres...) et possède, en outre ces qualités technologiques, une production en biomasse très efficace et une valeur fourragère acceptable.

Vu le nombre considérable des espèces, écotypes, formes et clones, le genre *Opuntia* existe dans les zones steppiques et dans le but de valoriser ces ressources génétiques dans le cadre de l'amélioration végétale. De plus, l'utilisation de cette biodiversité dans la préservation des écosystèmes fragiles, est devenue nécessaire de les identifier, caractériser et classer de façon plus pratique, afin de contribuer à enrichir les informations sur ce genre en Algérie. Nous allons donc inventorier les différentes espèces et étudier les traits de distinction phénotypiques, phénologiques et moléculaires entre eux et ce dans les zones steppiques algériennes. Par la suite, nous avons opté à un essai de régénération *in vitro* à partir des graines de ces génotypes.

Les thématiques de nos travaux est l'étude du polymorphisme phénotypique et moléculaire et l'essai de régénération *in vitro* de quelques espèces d'*Opuntia* (sous genre *platyopuntia*) existantes dans les steppes algériennes.

Etant donné que la conjugaison des descripteurs phénotypiques, phénologiques et moléculaires et des savoirs locaux ; recenser et caractériser doit être le socle de tous programmes d'amélioration et de sélection génétique débouchant sur la généralisation de l'utilisation et la valorisation de toutes ces géotypes dans les différents domaines en relation avec le développement de secteur agro-écologique. Donc notre contribution consiste en une approche phénotypique et moléculaire pouvant représenter un complément d'informations aux questions d'ordre taxonomique relatif à ce genre.

A ce titre, nous essayerons de cibler les objectifs suivants:

- Recenser puis caractériser les espèces d'*Opuntia* qui se trouvent dans les zones d'étude ayant but de déterminer leur richesse phylogénétique dans notre pays,
- Déterminer les descripteurs les plus discriminants parmi les 49 descripteurs utilisés, puis déterminer les caractères de sélection chez les espèces étudiées,
- Repérer les corrélations existantes entre les différents caractères de distinction,
- Analyser la diversité génétique par différentes approches, phénotypiques et moléculaires, afin de rechercher les liens phylogénétiques existants entre les différents géotypes d'*Opuntia* recensés,
- Etudier les potentialités agro-écologiques des espèces identifiées et caractérisées dans le but d'exploiter ces ressources génétiques dans les programmes d'amélioration des plantes,
- Constituer une collection de germplasmes renferment toutes les espèces des opuntias dans le but de la conservation de notre patrimoine génétique et souligner des programmes de multiplication de ces espèces,
- Rechercher d'autres méthodes de multiplication adéquates par l'utilisation de la culture *in vitro*,
- Reconnaître le comportement de germination et de croissance *in vitro* des graines des espèces d'opuntias.

CHAPITRE 1

ORIGINE HISTORIQUE ET PRESENTATION DE L'*OPUNTIA*

1.1 Introduction

Le genre *Opuntia* est le plus intéressant de toutes les Cactaceae ; ce genre est originaire du Mexique. Il a été introduit en Andalousie à la fin du 15^{ème} siècle, en Afrique du Nord vers le 16^{ème} siècle et en 17^{ème} siècle vers les autres régions du Bassin Méditerranéen. Actuellement, les espèces de ce genre sont présentes dans tous les continents.

1.2 Origine et historique

Le nom *Opuntia* ou *Oponce* est dérivé du mot latin *Opuntius* de la ville grecque d'Oponthe [1]. Selon les botanistes, toutes les cactacées seraient originaires d'Amérique (Mexique et Sud des Etats-Unis) [2]. Elles ont été introduites en Andalousie à la fin du 15^{ème} siècle par Christophe Colomb après sa première expédition [3]. Le genre *Opuntia* est introduit au 16^{ème} siècle au Nord et au Sud de l'Afrique et tout au long du bassin méditerranéen [4, 5].

Les musulmans d'Espagne reprirent sa culture et l'appellent « figue de chrétiens » ; ils adoptèrent ensuite la dénomination « figuier des Indes » ou « Hendi » [6].

C'est au 16^{ème} et 17^{ème} siècle, qu'il fut introduit dans les autres régions du bassin méditerranéen. L'Italie, la Dalmatie, la Grèce, les archipels méditerranéens et avait pris une extension considérable en Sicile au 18^{ème} siècle [7].

Au 19^{ème} siècle, aux îles Canaries, on faisait d'importantes plantations de l'*Opuntia*, non pas pour ses fruits mais pour son parasite ; la cochenille, avec laquelle nous obtenons le colorant rouge carmin. Ces cultures ont été abandonnées vers 1870, avec l'arrivée sur le marché des colorants chimiques [5].

Puisque l'arrivée de l'homme au Mexique dans les déserts et les zones semi désertiques, il y a environ 20000 ans, des *Opuntias* ont été importés comme sources de nourriture, aussi bien que pour la boisson que pour la médecine [8].

Au Mexique, plusieurs espèces du genre *Opuntia* de la famille de Cactacées s'appellent le "figuier de Barbarie". Tous sont endémiques à l'Amérique et des 377 espèces identifiées, 104 sont retrouvées sauvages au Mexique et 60 autres de ces derniers sont endémiques au Mexique [8].

C'est seulement au début des années 1920-1930, que cette culture a été établie pour la production du fourrage, essentiellement basée sur l'*O. ficus indica f. inermis* [9]. On pense que cette pratique a contribué considérablement à la gamme naturalisée actuelle de l'*Opuntia ficus indica* dans tous les habitats arides et semi-arides du monde [10,11].

1.2 Encadrement géographique de l'Opuntia

L'*Opuntia* se trouve actuellement dans tous les continents. Il existe, généralement, dans les régions à climat tropicale et sub-tropicale, à faible pluviométrie.

1.3.1 En Amérique

Dans son pays d'origine, l'*Opuntia* est répandu sur la plus grande partie du sol américain [3]. Au Mexique, le cactus est connu de tout temps et semble avoir joué un grand rôle dans le développement de la civilisation mexicaine. La culture de l'*Opuntia* est pratiquée à des fins fruitières et fourragères depuis les époques précolombiennes [4]. Actuellement, sa culture s'étend sur une superficie de plus de 5 millions ha [12].

Aux Etats-Unis (Texas et Arizona et même en Californie du sud), les *Opuntia* sont surtout cultivés à des fins fourragères et les formes cultivés sont inermes [13]. Au Brésil, les *Opuntia* occupent environ 300 000 hectares [13].

1.3.2 En Asie

L'introduction du figuier de barbarie en Asie, date de la fin du 17^{ème} et le début de 18^{ème} siècle. En 1695, il a été signalé aux Philippines et aussitôt en Chine en 1700 et en Inde vers 1780 [14].

En Palestine occupée, la culture de l'*Opuntia* est pratiquée de façon intensive et moderne avec des programmes de recherche et de développement pour la production fruitière et fourragère, ainsi que pour l'usage industriel [5].

L'utilisation d'*Opuntia* comme fourrage en Jordanie a commencé vers les années 1999 ; de même, au Pakistan, l'*Opuntia* a récemment été introduit avec succès dans les zones les plus arides [15].

1.3.3 En Europe

La culture de l'*Opuntia* s'est développée dans toute la partie occidentale de la Mer Méditerranée, notamment de l'Espagne, au Sud du Portugal, en Sicile et au Calabre [13]. En Sicile, la culture d'*Opuntia* occupe environ 100 000 hectares et plus de 20 000 hectares en Calabre et 6000 hectares en Sardaigne (Italie). Cette culture est destinée à la production fourragère, plus que la production fruitière car les récoltes fourragères empêchent la floraison, la production fourragère est estimée entre 50 à 60 tonnes de raquettes / hectare en culture semi intensive [13].

1.3.4 En Afrique

1.3.4.1 En Afrique du Sud

En Afrique du Sud, l'*Opuntia* épineux couvrait en 1942 une superficie importante avec près de 860.000 ha. Il a été éliminé par l'introduction délibérée de cochenilles *Cactoblatis cactorum* et *Dactylopus opuntias* alors que l'*Opuntia* inerme résistant aux cochenilles, était sélectionné et multiplié dans les zones arides à des fins fourragères [4]. Actuellement la superficie occupée en Afrique du Sud est de 1000 ha seulement [16].

1.3.4.2 En Ethiopie

L'*Opuntia*, présent en Ethiopie à la fin du 19^{ème} siècle, est largement distribué dans les régions arides et semi-arides nordiques de l'Ethiopie [17]. La culture du cactus (*Opuntia ficus indica*) est très répandu dans le Tigré (Ethiopie du Nord) [18].

1.3.4.3 En Afrique du Nord

En Afrique du nord, l'*Opuntia amyaclea* et l'*O. ficus indica*, sont plantés depuis des siècles par le secteur traditionnel [13]. La plantation de l'*Opuntia ficus indica* couvre dans son ensemble approximativement 300 000 ha en Afrique du Nord [12].

1.3.4.3.1 En Tunisie

Les tunisiens semblent avoir connu le Cactus au 17^{ème} siècle [6]. En Tunisie depuis une vingtaine d'années, la plantation de la variété inerme est en pleine extension. On le trouve un peu partout, depuis les régions d'Extrême Nord jusqu'à l'Extrême Sud ; il se trouve aussi dans presque tous les jardins [9]. En 1960, plus de 10 000 ha ont été plantés avec l'aide de diverses organisations internationales dont la FAO (Food and Agriculture Organisation). Cependant la forme épineuse occupe environ 80 % de la surface totale. La Tunisie dispose de 60 000 à 80 000 ha de cactus dont environ 35.000 ha sont plantés en zone steppique [13]. Entre les années 1970 et 1975, une superficie de 50.000 ha est plantée en Tunisie centrale, avec le concours de W.F.P (World Food Programme) et de la F.A.O. Au cours du temps, cette superficie a évolué et atteint environ 300.000 ha en 1996 [9].

1.3.4.3.2 Au Maroc

L'*Opuntia* a été introduit au Maroc vers le 16^{ème} siècle par les Espagnols. Sa culture s'est alors propagée sur différentes aires écologiques du royaume, allant des rives de la méditerranée jusqu'à la vallée de Draa [19]. La majorité de la culture d'*Opuntia ficus indica* soit 85% se trouve localisée au niveau de cinq grandes zones : Taounate (22230 ha) ; Chefchaouen (7050 ha) ; Al Hoceima (5000 ha) ; Ouzzane (3150 ha) ; Tétouan (2000 ha). Les autres plantations sont réparties entre Taza, Nador, Eljadida, Safi et d'autres régions [19].

1.3.4.3.3 En Libye

La Libye a commencé d'utiliser l'*Opuntia* dès 1999. Son utilisation a eu une très forte impulsion et actuellement la superficie occupée par cette culture est très vaste [15].

1.3.4.3.4 En Algérie

En Algérie, outre les collections pratiques de certains spécialistes, aucun effort sérieux n'a été fait par les services publics jusqu'en 1940, date à laquelle ont commencé les premières réalisations dans les périmètres de DRS (Défense et Restauration des Sols) dans la région de Nedroma (Tlemcen) [6].

En 1961, des collections intéressantes ont été réalisées par les services de forêt dans la région rurale de Zerbia (Grande Kabylie), une autre a été installée à Chebli (Blida) ainsi qu'à El Mergueb (M'sila). D'autres essais ont été installés à Benhar kef Lafaa (Djelfa) à une altitude de 720 mètres, sur un versant à pente faible et dont le sol à carapace calcaire, la pluviométrie est de 250 mm/an dans la steppe à alfa, à armoise et à pistachier de l'Atlas [13].

L'*Opuntia* a été introduit à titre expérimental en zones steppiques vers 1940 et surtout utilisé dans la collections de Taâdmit et de M'sila, créés par la FAO en 1969 [6]. Un important programme a été lancé par l'INRF (Institut National de la Recherche Forestière) vers les années 1960 - 1970 sur un périmètre d'expérimentation au lieu-dit « El-Mesrane » dans les environs de Djelfa. Ce programme qui touche près de 400.000 ha vise la mise en œuvre des méthodes de fixation des dunes et la reconstitution des zones de parcours [20].

Quelques années plus tard, dans le but de la restauration de la steppe et de la lutte contre la désertification, des plantations de plusieurs espèces d'*Opuntia* ont été réalisées dans différentes régions du pays. Les observations qui ont été faites en 1974 à Djelfa, montrent :

- La supériorité des espèces suivantes : *O. Mesacanta*, *O. Scheerii*, *O.Tomentosa*, *O. Robusta* ;

- La résistance des espèces suivantes: *O. ficus indica* F. *Tunzana*, *O. Streptacantha* ;
- Les espèces qui souffrent notablement sont : *O. Koddem*, *O. Maxima*, *O. Mojavensis* [6].

Les études menées en septembre 1967 à la station de recherche de Taâdmit (Djelfa) montre que certaines espèces que l'*Opuntia compressa*, l'*Opuntia lendheimri*, l'*Opuntia linguiformis*, l'*Opuntia robusta* et l'*Opuntia winteriana* ont montré une très grande résistance au froid [9].

Durant les dernières décennies, plusieurs études ont été réalisées sur les écosystèmes steppiques et sahariens (écosystèmes fragiles) en vue de la fixation et de la régénération du couvert végétal. L'introduction de ces espèces dans les steppes Algériennes, par le biais des grands travaux en 1994 par le Haut Commissariat au Développement de la Steppe (H.C.D.S), a permis la valorisation de l'intérêt porté à cette culture dans la région Est et son introduction très encourageante au niveau des wilayates du Centre et de l'Ouest [21]. De plus, des grandes plantations ont été récemment établies dans la région de Souk-Ahras (commune de Sidi Fredj) proche de la région de Tébessa, dans le but d'améliorer et de réhabiliter la steppe et les zones dégradées [22].

En vue de l'extension de l'*Opuntia* dans les zones steppiques, le HCDS a mis en oeuvre un programme qui consiste à :

- Encourager les plantations individuelles dans les régions où la plantation des *Opuntia* est une tradition pour les populations,
- Introduire l'*Opuntia* dans les périmètres communaux au niveau des régions où l'espèce est ignorée par les populations,
- Etablir des campagnes de vulgarisation et de sensibilisation, pour que les populations prennent conscience de l'importance de la protection nécessaire, protection des espaces pastoraux par les plantations d'*Opuntia* [21].

Le HCDS a entamé également une coopération avec les pays méditerranéens (Italie, Espagne) où cette espèce connaît un développement grâce à l'application des techniques modernes : conduites culturales, système de plantation, conservation, conditionnement et transformation.

En 2004, des pertes très importants ont été enregistrées (5810.77 ha au Médéa et 1825.35 ha à M'sila) et ce est dû à la période de neige suivie par une période inhabituelle de gelée débutant en novembre 2004 et qui s'est prolongée jusqu' à février 2005 [23].

1.4 Classification botanique

Les Cactaceae ont été par le passé classées près de la famille de carotte (*Apiaceae*), mais maintenant et après la découverte de bétalaine dans les cactacées aident les taxonomistes à placer cette famille dans l'ordre de Caryophyllales, avec d'autres familles d'Angiospermes productrices de bétalaine [24]. Sur la base de la morphologie florale, quatre sous familles principales sont décrites dans la famille de Cactaceae : *Perskioideae*, *Cactoideae*, *Maihuenioideae*, *Opuntioideae* [25]. Les sous familles des *Opuntioideae* comprennent la tribu d'*Opuntieae* et qui comprend à son tour le genre *Opuntia* [13].

A partir des premières classifications morphologiques élaborées par les populations indigènes du Mexique, essentiellement basées sur l'attribution de dénominations différenciées mais avec une racine étymologique commune à différents types d'*Opuntia* [26], de nombreux auteurs ont élaboré des classifications de genre *Opuntia*.

La classification considérée comme la plus valable à ce jour est sans doute celle que rapportent Britton et Rose (1963). Le genre *Opuntia* y est intégré à la famille des Cactaceae, ordre caryophyllales, sous classe caryophyllidae. Aux cactaceae appartiennent des espèces succulentes caulinaires subdivisées dans les tribus des Perskieae, Opuntieae et Cereae. La tribu des Opuntiaeeae comprend le genre *Opuntia*, subdivisé à son tour en quatre sous-genres : *Platyopuntia*, *Cylindropuntia*, *Tephrocactus* et *Brasilopuntia*. Le sous genre *Platyopuntia* comprend 150 à 300 espèces décrites, dont la série des *Ficus indiceae* qui comprend l'*Opuntia ficus indica* Mill. [3].

1.4.1 Systématique de genre *Opuntia*

Embranchement	: Phanérogames [28]
Sous embranchement	: Angiospermes [28]
Classe	: Dicotylédones [28]
Sous classe	: Polypétales [2]

Ordre	: Caryophyllales [29]
Famille	: Cactaceae [3]
Sous famille	: Opuntioideae [3]
Tribu	: Opuntieae [28]
Genre	: <i>Opuntia</i> [28]
Sous genre	: Consolea, Austrocylindropuntia, Brasiliopuntia, Coryopuntia, Grusonia, Cylindropuntia, Mareopuntia, Nopalea, Stenopuntia, Tephrocactus, Platyopuntia [30]
Espèces de sous genre du platyopuntia	: <i>O. puberula</i> , <i>O. depressa</i> , <i>O. tuna</i> , <i>O. basilaris</i> , <i>O. microdesys</i> , <i>O. vulgaris</i> , <i>O. helvetica</i> , <i>O. tortispina</i> , <i>O. compressa</i> , <i>O. Engelmannii</i> , <i>O. phacantha</i> , <i>O. rostra</i> , <i>O. occidentalis</i> , <i>O. mojavensis</i> , <i>O. camauchica</i> , <i>O. bergeriana</i> , <i>O. élatior</i> , <i>O. schemani</i> , <i>O. vulgaris</i> , <i>O. Banaerensis</i> , <i>O. cardiosperma</i> , <i>O. elata</i> , <i>O. monacantha</i> , <i>O. scheerii</i> , <i>O. flavescens</i> , <i>O. lindheimeri</i> , <i>O. linguiformis</i> , <i>O. laevis</i> , <i>O. strictis</i> , <i>O. cantabrigiensis</i> , <i>O. Dellenii</i> , <i>O. Tomentosa</i> , <i>O. Tomentella</i> , <i>O. leucotricha</i> , <i>O. ficus indica</i> , <i>Opuntia maxima</i> , <i>O. lanceola</i> , <i>O. undulata</i> , <i>O. decumana</i> , <i>O. elongata</i> , <i>O. amyclea</i> , <i>O. Topona</i> , <i>O. streptacantha</i> , <i>O. robusta</i> , <i>O. demissa</i> , <i>O. camusea</i> [13].

1.5 Ressources génétiques d'*Opuntia* disponibles

La diversité génétique est essentielle, aussi bien pour le rendement de la récolte actuelle que pour l'amélioration des récoltes futures. Les collections de semences conservées dans les banques de gènes évoluent différemment de celles qui continuent d'être cultivées dans les champs des agricultures. La conservation souligne donc la nécessité de conserver les matériels génétiques *in situ*. Dans le cas d'espèces cultivées, il est facile de souligner l'importance de la conservation dynamique des ressources phylogénétiques assurées par les agriculteurs [17].

1.5.1 Les variétés fruitières

Les espèces les plus importantes qui produisent des fruits comestibles dans les populations cultivées et même sauvages sont : *Opuntia ficus indica*, *O. albicarpa*, *O.*

streptacantha et *Opuntia robusta* et les hybrides naturels entre *O. ficus indica* et *Opuntia streptacantha*. *Opuntia ficus indica* et *Opuntia robusta* [31].

1.5.2 Cultivars fourragers

Plusieurs espèces d'*Opuntia* sont utilisées comme fourrage dans le Nord du Mexique. On compte 10 à 18 espèces dont 15 espèces sont des *Platyopuntia* (*Opuntia streptacantha*, *O. megacantha*, *O. leucotricha*, *O. robusta*, *O. rastrera*, *O. lindhemeri*, *O. engelmannii*, *O. cantabrigiensis*, *O. macrocentra* et *O. phaeacantha*. Ces espèces sont les plus importantes du point de vue abondance, distribution et leur préférence par les paysans. Les plus fréquemment utilisées sont *O. engelmannii* et l'*O. lindhemeri* [32].

Malgré l'homogénéité des ressources génétiques en Europe, il y a des diversités dans les caractéristiques botaniques. Des études récentes sur ces ressources représentent la variabilité génétique dans le gène détecté à l'intérieur de la population européenne en faisant des prélèvements des deux environnements : cultivés et naturels [33]. L'évolution d'*Opuntia* dans les environnements arides et semi-arides a mené au développement des traits anatomiques, morphologiques et physiologiques adaptatifs et des structures des espèces particulières [34]. Leur phénotype, qui change considérablement selon des conditions écologiques, leur polyploïdie avec un grand nombre de populations qui se reproduisent végétativement et sexuellement et l'existence de nombreux hybrides, en tant que presque toutes les espèces fleurissant pendant la même période de l'année [30]. La variabilité des populations sauvages et domestiques des cactacées augmente à travers l'hybridation naturelle associée avec la polyploïdie et l'isolation géographique [31]. La réduction des populations d'*Opuntia* a obligé le ministère de l'agriculture au Mexique à installer un programme pour l'amélioration génétique de la figue de barbarie en 1961 à l'université graduée de l'Ecole Nationale de l'Agriculture. Le but était d'augmenter la production de fruit et d'améliorer l'alimentation des bétails dans les zones semi-arides du pays qui dépendent en grande partie de l'*Opuntia* pendant les sécheresses. L'objectif principal était d'obtenir les variétés améliorées, qui, sans compter que produire des fruits de haute qualité, être inerme afin d'utiliser les raquettes pour alimenter leur bétail [2].

La multiplication de l'*Opuntia* a commencé au Brésil en 1985 avec 85 copies obtenues à partir des graines dérivées de la pollinisation ouverte de cultivar Palma

Redonda (cultivar Brésilien), plus 17 autres copies de plusieurs endroits Brésiliens. L'introduction continue du matériel génétique d'Algérie, du Mexique d'Afrique du Sud et des Etats-Unis a augmenté le nombre d'entrées à 1400 copies au niveau de l'Instituto Pernambucano Font Pesquisa Agropecuaria (Mexique). Une productivité plus élevée et une meilleure valeur nutritive, aussi bien que l'adaptation à des environnements plus humides et plus chauds, sont les buts de ce programme [35]. La sélection des cultivars à haute productivité a été mise en œuvre dans plusieurs pays, après des études ethnobotaniques, au Mexique. Les espèces les plus utilisées sont: *Opuntia amarilla*, *Opuntia albicarpao*, *Opuntia ficus indica*, *Opuntia hypthiacantha*, *Opuntia lasiacantha*, *Opuntia robusta* et *Opuntia streptacantha* [36]. Plusieurs cultivars ont été développés, généralement ils sont nommés d'après la coloration des fruits à maturité [37].

1.5.3 Amélioration des ressources génétiques

La conservation des ressources génétiques existantes et leur amélioration en fonction des moyens disponibles apparaissent indispensables. A cet effet, l'amélioration peut se situer à deux niveaux:

L'évaluation et l'exploitation de la variabilité naturelle ;

La création d'une variabilité par les recombinaisons génétiques [38].

Des réflexions critiques concernant les stratégies habituelles de l'amélioration génétique de l'adaptation et des rendements des espèces dans les milieux défavorables, ont abouti à la proposition d'une stratégie globale associant des études conduites à différents niveaux d'intégration (génome, plante, population) et intégrant divers outils morphologiques, physiologiques, Biochimiques, génétiques et moléculaires [39].

1.5.4 Polymorphisme des espèces

Le polymorphisme est une caractéristique souvent étudiée en biologie. Que ce soit pour distinguer les génotypes disponibles, cibler des populations naturelles pour en apprécier les relations et donc les distances génétiques ou déterminer l'écotype [40]. Les critères utilisés peuvent être phénotypiques, biochimiques et moléculaires.

1.5.4.1 Polymorphisme phénotypique

Les caractéristiques phénotypiques constituent un outil incontournable dans la classification et la taxonomie des micro et macro organismes et continue, à nos jours, d'être utilisée [41].

Les caractères morphologiques sont très importants et révèlent de la caractérisation. Ils sont un déterminisme mono et polygénique. Toutefois, ils peuvent être influencés par des facteurs environnementaux et comprennent d'une part mesures biométriques portant sur la plante (taille et forme des gousses, des feuilles, longueur d'inflorescence, nombre de fleurs, etc.) et d'autre part des données qualitatives comme la couleur des gousses, le taux de graines [42].

1.5.4.2 Polymorphisme biochimique

Les protéines, enzymes en occurrence, restent très informatives du fait qu'elles constituent des produits de l'information génétique portée par l'ADN d'un individu. L'ADN, bien qu'il code pour un même produit, peut porter des variations (mutations) significatives d'un individu à un autre. L'ensemble des enzymes synthétisées dans l'organisme peut être caractéristique pour un individu donné. L'utilisation de ces marqueurs est fréquente dans la recherche des géotypes notamment résistants à des conditions de stress. Ainsi, différentes méthodes sont utilisées selon les produits recherchés.

1.5.4.3 Polymorphisme moléculaire

L'amélioration des plantes est basée sur une large utilisation de la variabilité génétique naturelle et sur des méthodes d'exploitation rapides et fiables de cette diversité dans les programmes de sélection. Les marqueurs moléculaires permettent à la fois un diagnostic extrêmement fin de cette variabilité [43]. Ces marqueurs constitués des acides nucléiques sont utilisés il y a plusieurs d'années dans le domaine de la connaissance des génomes végétaux et leur application à l'amélioration des plantes [44]. Ils présentent également différents avantages comparés aux marqueurs phénotypiques et biochimiques. Il existe plusieurs types de marqueurs moléculaires, tel que: RAPD (Random Amplified Polymorphic ADN), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), RFLP

(Restriction Fragment Length Polymorphism), ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) et SSR (Simple Sequence Repeats).

1.5.4.3.1 RAPD: Polymorphisme d'AND Amplifié au Hasard

Le polymorphisme d'AND amplifié au hasard (RAPD) est produit par la technique Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR, Polymerase Chain Reaction), utilisant d'ADN génomique, d'une amorce aléatoire courte d'environ 10 nucléotides et d'enzyme Taq polymérase [45]. Les fragments générés en nombre quasiment illimité, sont répartis dans tout le génome, non spécifiques de locus et dominants qui ne peuvent donc mettre en évidence l'état hétérozygote. Le polymorphisme observé se traduit par la présence ou l'absence de bande chez les différents génotypes. Les marqueurs RAPD ont été utilisés dans l'élaboration des cartes génétiques de plusieurs plantes [46], Arabidopsis [47], ajoutant que cette technique est utilisée pour l'étude du polymorphisme génétique de plusieurs espèces à savoir : Cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) [48] ; Caféier (*Coffea spp.*) [49] ; Figuier (*Ficus carica* L.) [50]; Olivier (*Olea europaea*) [51].

1.5.5 Caryologie

Dans la famille des Cactaceae, les nombres chromosomiques de base sont $x=11$, tandis que le nombre de chromosomes somatiques est principalement égal à 22. Pour ce qui concerne l'*O.ficus indica*, de nombreuses sources indiquent que tant la forme épineuse que la forme inerme à $2n=88$, c'est-à-dire qu'elles sont toutes deux octoploïdes. D'autres auteurs considèrent en revanche cette espèce comme une diploïde, $2n = 22$ (Tableau 1.2) [52, 53].

Tableau 1.1: Nombre chromosomiques de quelques espèces d'*Opuntia* sauvages et cultivées [54].

Espèces	Nombre de chromosome
<i>Opuntia microdasis</i>	$2n = 2x = 22$ (sauvage diploïde)
<i>Opuntia robusta</i>	$2n = 2x = 22$ (sauvage diploïde) $2n = 4x = 44$ (sauvage tétraploïde)
<i>Opuntia polyacantha</i>	$2n = 2x = 22$ (sauvage diploïde) $2n = 4x = 44$ (sauvage tétraploïde) $2n = 6x = 66$ (sauvage hexaploïde)
<i>Opuntia streptacantha</i>	$2n = 2x = 22$ (sauvage diploïde) $2n = 4x = 44$ (sauvage tétraploïde) $2n = 8x = 88$ (sauvage octoploïde)
<i>Opuntia lindheimeri</i>	$2n = 4x = 44$ (sauvage tétraploïde)
<i>Opuntia phaeacantha</i>	$2n = 4x = 44$ (sauvage tétraploïde) $2n = 6x = 66$ (sauvage hexaploïde)
<i>Opuntia dillenii</i>	$2n = 6x = 66$ (sauvage hexaploïde)
<i>Opuntia amyycleae</i>	$2n = 8x = 88$ (cultivée octoploïde)
<i>Opuntia megacantha</i>	$2n = 8x = 88$ (cultivée octoploïde)
<i>Opuntia ficus indica</i>	$2n = 8x = 88$ (cultivée octoploïde)

1.6 Présentation de l'*Opuntia*

Les Cactacées se distinguent par la présence des aréoles qui sont considérées comme des bourgeons axillaires. Ces aréoles produisent des feuilles modifiées en épines de deux sortes ; les unes permanentes, se détachant difficilement et les autres petites, barbelées, et facilement détachables; ce sont les glochides [55]. Les *Opuntias* sont des espèces qui ont des formes très variées depuis le plus petit arbuste jusqu'à l'arbre et même peut atteindre 15 mètres de hauteur [13]. Le figuier de Barbarie est une plante grasse succulente caractérisée par l'absence de feuilles, un épais épiderme, un revêtement cireux et poilu, une tige riche en tissus aquifères permettant d'emmagasiner l'eau et de se préserver dans les conditions des régions désertiques [56].

1.6.1 Aspect général

La tige de l'*Opuntia* est formée d'articles ovales, charnus et aplatis, de couleurs vertes, communément appelées "cladodes ou raquettes" dont la surface est parsemée d'aréoles. Protégées par des poils barbelés regroupés en touffes et armés de redoutables épines (sétules), elles constituent chacune un "point végétatif dormant et polyvalent". C'est dans ces aréoles que naissent, sur les articles en formation, les feuilles fragiles, éphémères, caduques. Les bourgeons apparaissent également au creux de ces "cryptes" au sommet des

raquettes. L'*Opuntia* porte des fleurs et des fruits en abondance. C'est sur le dessus des cladodes qu'apparaissent de belles et grandes corolles latérales jaunes, orange ou rouges, aux nombreux pétales soudés à leur base. Ces fleurs donnent naissance au fruit, une grosse baie ovoïde et charnue, elle aussi ornée de piquants selon l'espèce (Figure 1.1) [2].

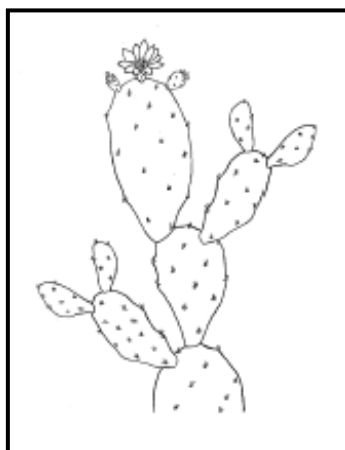


Figure 1.1: Aspect général d'*Opuntia* [2].

1.6.2 Système racinaire

L'*Opuntia* est caractérisé par des racines superficielles, en expansion horizontale, latérale et fasciculées. Dans les milieux fortement arides, à partir des racines principales, se développent des racines secondaires charnues en mesure d'atteindre les couches de sol les plus profondes, où elles trouvent plus d'humidité [57]. Les racines se trouvent sur une profondeur de 30 cm et avec rayon de développement horizontal qui peut atteindre 8 m [34]. Une étude a montré que le système racinaire chez l'*Opuntia ficus indica* représente seulement 11% de leur biomasse totale [58].

Des études au Mexique ont montré que les racines de plusieurs espèces d'*Opuntia* sont colonisées par des mycorhizes [59]. Des associations mycorhiziennes ont été trouvées chez les cactacées des forêts tropicales, qui comprennent *Opuntia excelsa* et *Opuntia Puberula*. Pour les bactéries fixatrices de l'azote, il a été trouvé que l'espèce *Azospirillum lipoferum* s'associe généralement avec les racines de plusieurs espèces d'*Opuntia* en Inde. Une autre espèce se développe dans la rhizosphère de l'*Opuntia ficus indica* c'est *Azospirillum brasilens* [60]. La symbiose avec mycorhize contribue à l'optimisation de la recherche d'eau de la part des racines et à sa conservation dans les tissus de réserves [61].

1.6.3 Cladodes

Les cladodes sont des articulations charnues de formes et de couleurs variables [62]. Les cladodes ayant une longueur de 30 à 50 cm et une largeur de 15 à 30 cm, les cladodes ne sont que des tiges aplaties [63] (Figure 3.3 et 4.1). Le même auteur ajoute que les cladodes ont une grande capacité d'emmagasiner l'eau surtout aux niveaux des tissus parenchymateux, qui peuvent accumuler à eux seuls 82 % de l'eau retenue par la plante.

Anatomiquement, la cladode dans une section transversale est formée par : une peau un cortex, un réseau de tissus vasculaires, séparé par un tissu du parenchyme et une moelle qui est le tissu succulent majeur.

1.6.3.1 Epiderme

L'épiderme constitue la couche la plus extérieure de cellules du corps du cactus ; il est constitué par une couche continue de cellules protectrices qui montre des stomates [34].

L'épiderme des cladodes contient des stomates en nombre réduit et enfoncés dans ces tissus [6].

Le suc cellulaire du cladode concentré et mucilagineux permet à la plante de limiter la transpiration et donc résister à la sécheresse [13].

L'épiderme a trois fonctions majeures:

1. Régler le mouvement de l'entrée du dioxyde de carbone et de sortie de l'oxygène,
2. Retenir l'eau dans la plante,
3. Protéger la plante contre les attaques fongiques, les attaques d'insectes et la lumière intense [34].

1.6.3.2 Stomates

Les cactus, en général, ont peu de stomates par unité de superficie que la plupart des autres espèces ; les stomates sont distribués également sur les deux côtés de la surface des cladodes. Ils sont distribués aléatoirement avec une densité faible. L'*Opuntia ficus indica* présente habituellement 15 à 35 stomates/mm² [34]. Pendant la déficience grave de l'eau, le stomate de cactus peut rester fermé tout au long de jour et de nuit. La fermeture de stomate élimine non seulement la perte d'eau mais également l'échange de CO₂ [55, 56].

1.6.4 Aréoles

Les bourgeons axillaires du cactus sont représentés par les aréoles, situés à 2 mm au-dessous de la peau. Ils sont disposés régulièrement sur toute la surface de la raquette et qui porte des épines et des glochides [29].

Beaucoup d'études ont été réalisées sur les aréoles et toutes les structures qui peuvent résulter de ce méristème. L'aréole est une dérive du bourgeon formé dans l'axial de la feuille, ou au-dessus de la position normale d'une feuille sur une tige [66]. Ce bourgeon axillaire modifié peut produire n'importe quoi, une fleur, une racine, une nouvelle cladode, selon les facteurs affectant le méristème [67]. Elles développent plutôt des épines que des feuilles [34].

1.6.5 Epines et glochides

La présence des épines est la caractéristique spéciale de l'aréole. Leur morphologie a une signification taxonomique potentielle [68]. Le même auteur distinguer deux types : les épines et les glochides. Les glochides et les épines sont morphologiquement comparables aux feuilles et les différences entre eux sont quantitatives (Figure 3.4 ; 3.5 et 3.6).

1.6.5.1 Epines

Les épines sont attachées à la base par le liège, qui rend leur enlèvement très difficile. Ce liège empêche les épines d'être enfoncées aisément dans le parenchyme sous-jacent, quand un objet solide entre en contact avec elles [68].

Les épines sont présentes dans la première phase de croissance des cladodes et la plupart d'entre-elles tombent avec l'augmentation de l'âge et de la température [34].

1.6.5.2 Glochides

Elles sont caduques et s'enlèvent facilement quand elles sont touchées ou soufflées par le vent. Alors que les glochides présentent une surface lisse et sont arrangées en groupe de 7 à 12 dans les cavités des aréoles [34]. Il est possible de trouver des formes de transition entre les glochides et les épines, sur le côté dorsale de l'apex de l'aréole. Cette

forme de transition ; glochide-épines sont plus larges que les glochides typiques et peuvent paraître comme de petites épines mais elles se détachent facilement comme les glochides [34].

1.6.6 Fleurs

On peut distinguer entre les bourgeons végétatifs et reproducteurs selon son volume spatial. Le bourgeon reproducteur est plus sphérique, alors que le végétatif est plus plat. Les fleurs des cactus sont tout à fait variables mais il y a quelques dispositifs généraux qui sont partagés par la famille entière [55].

Dans les zones arides et chaudes, certaines plantes du genre *Opuntia* fleurissent et portent des fruits deux fois dans l'année [2]. Les fleurs de l'*Opuntia* sont hermaphrodites et actinomorphes (Figure 1.2); elles se développent sur une cladode âgée, d'un ou deux ans et parfois sur une cladode de trois ans [34]. Généralement grandes et belles, avec un style unique à stigmate digité entouré d'un nombre défini de sépales et indéfini de pétales de couleur brillantes, le plus souvent jaunes, oranges ou rougeâtres [4], et parfois roses [69]. Ces fleurs sont disposées en spirales sur les côtés dorsaux et ventraux et en périphérie de la cladode, donnent naissance à de gros fruits ovoïdes [69]. Elles s'ouvrent au maximum la nuit, lorsque la température est clémente. Elles ont cependant une vie très courte [56]. Les fleurs de couleur jaunes changent à orange ou au rose après la fécondation.

Les différenciations florales se produisent sur une période courte, de 50 à 60 jours après que le méristème commence à être actif jusqu'à la floraison [34]. Les anthères produisent une grande quantité de grains de pollen sec, qui mûrit avant la maturité des ovules « protandrie ». L'ovaire est uniloculaire (une loge), forme de cinq carpelles et a une placentation pariétale [34]. L'ovaire est infère et inclus profondément à l'intérieur de réceptacle, à une seule loge renfermant de nombreux ovules. Après la fécondation, le périanthe et l'androcée se fanent et se détachent [70].

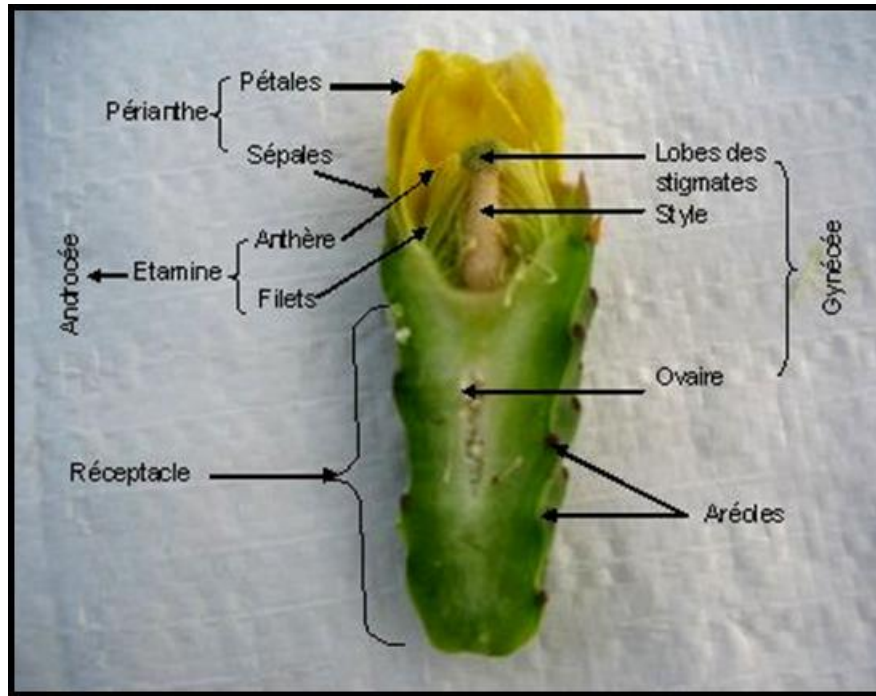


Figure 1.2 : Coupe longitudinale d'une fleur d'*Opuntia ficus indica* (personnel).

1.6.7 Fruits

Le fruit est une baie charnue simple [34,37]. Les mêmes auteurs précisent qu'il devrait être considéré comme une fausse baie, puisque le fruit est formé par un ovaire infère coulé sur le tissu du réceptacle.

Le fruit est une baie de forme variable, sphérique, ovoïde, pyriforme, juteuse jusqu'à maturité, la couleur de la pulpe peut être verdâtre, jaune orange et même rouge [13]. La taille des fruits est très variable, leur poids varie de 30 à 60 gramme et peut atteindre 250 g (Figure 1.3) [71].

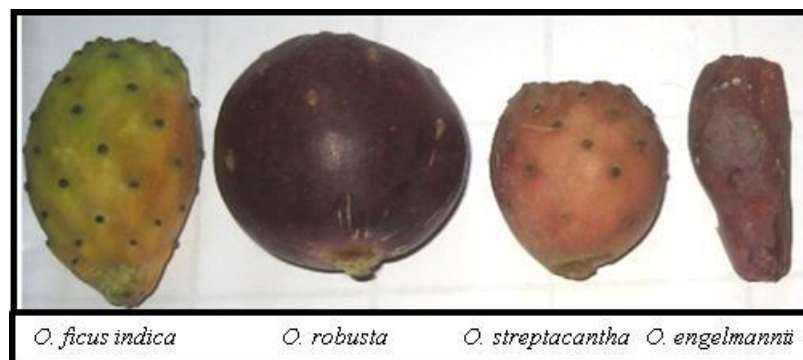


Figure 1.3: Fruits de différentes espèces d'opuntia (personnel).

Le poids de fruit chez l'*Opuntia ficus indica* est affecté par l'ordre de la production du bourgeon floral et du nombre de fruits sur le cladode. Ainsi, les bourgeons floraux qui poussent plutôt deviennent habituellement des fruits plus lourds. En outre, les fruits les plus lourds sont obtenus à partir des cladodes avec seulement six fruits [72]. Chez l'*Opuntia ficus indica*, les fruits se développent vigoureusement en termes de longueur, largeur, poids et volume, pendant les 20 à 30 premiers jours après l'anthèse et arrêtent la croissance approximativement 59 à 90 jours après l'anthèse [73, 74]. La croissance du fruit en dimensions et poids nous a permis d'obtenir trois phases consécutives : (1) croissance initiale rapide ; (2) croissance intermédiaire lente ; et (3) croissance finale rapide [72]. La peau se développe à la vitesse la plus rapide pendant la première phase, la graine montre que la croissance maximum et dans la deuxième phase et la croissance maximum de pulpe se produit pendant les phases 2 et 3 [73].

La maturité des fruits est généralement estivale ou automnale. Il peut y avoir deux saisons de floraison, séparées par la saison sèche. Certaines variétés sont très précoces d'autres très tardives [13].

1.6.8 Graines

Les graines sont nombreuses, dures, osseuses et plates plus ou moins réniformes ou lenticulaires [13]. Elles sont libres ou adhérentes à la pulpe, les graines de cactées sont de forme et de taille variables : plate discoïdales, arrondies ou bombées sur les côtés [21]. Les cultivars de l'*O ficus indica* italiens présentent un moyen de 273 graines par fruit, duquel 146 sont normaux et 127 stériles [75] ; Les cultivars de l'*O ficus indica* Palestiniens ont un moyen de 268 graines normales par fruit [76] ; Les cultivars de l'*O. ficus indica* mexicains ont un moyenne de 203 graines normales par fruit [76] ; Le nombre moyen de graines par fruit est de 157 chez l'*Opuntia engelmannii* [77].

La graine constitue la forme la plus commune de reproduction chez les cactacées, elle ne peut pas germer dans les fruits à cause de la présence des inhibiteurs de germination, [68]. Les graines d'*Opuntia* peuvent garder leur aptitude à la germination pendant environ 20 ans [3, 68].

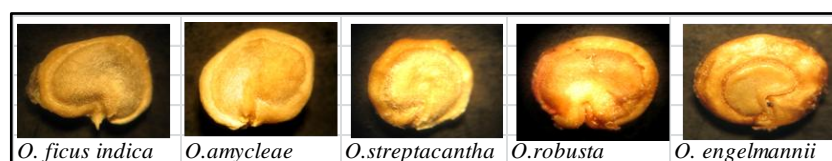


Figure 1.4: Grains de différentes espèces d'opuntia (personnel).

CHAPITRE 2

CONCEPTION DE MULTIPLICATION, CULTURE ET IMPORTANCE DE L'*OPUNTIA*

2.1 Introduction

La multiplication de l'opuntia est basée essentiellement sur la plantation des cladodes simple ou multiple, par contre sa culture reste très limitée par les populations rurales.

2.2 Conception de multiplications de l'*Opuntia*

2.2.1 Multiplication par graine (voie sexuée)

La propagation à partir de graine demeure cependant un outil spécialisé pour multiplier les graines et la propagation de l'espèce ornementale en danger, particulièrement dans ces pays qui imposent des restrictions fortes de quarantaine [78].

La technique passe par les étapes suivantes :

2.2.1.1 Ramassage

Les graines doivent être obtenues à partir des fruits entiers, sains, mûrs, qui sont bien lavés et tamisés. Les graines sont ensuite séchées afin de réduire l'humidité extérieure. On élimine alors à la main des résidus additionnels de la chair attachée à la graine [72].

2.2.1.2 Traitement

Il est souhaitable de traiter les graines contre les organismes surtout les organismes responsables de la micro putréfaction des racines par l'application des insecticides et des fongicides [72].

2.2.1.3 Scarification

Plusieurs méthodes ont été employées pour éliminer la couche externe de la graine qui empêche leur germination [79, 80] : scarification mécanique ; scarification chimique.

2.2.1.4 Stockage

Les graines sont stockées dans des sacs en papier ou dans des récipients en plastique, dans des conditions fraîches et sèches [79].

L'entreposage à long terme réduit lentement le taux de germination [80].

2.2.1.5 Germination

La température optimum pour la germination est généralement comprise entre 25 et 35 °C. La radicule peut percer l'enveloppe de la graine en trois à quatre jours (Figure 2.1) [81].

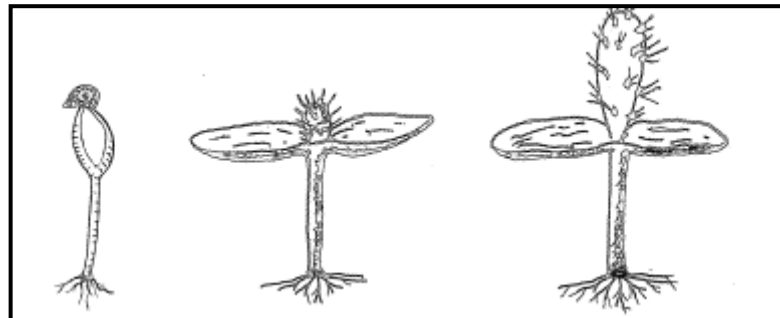


Figure 2.1: Germination d'une graine d'*Opuntia* [2].

Les études de germination des graines, effectuées aux Texas montrent que les graines, ayant traversé les tubes digestifs des bétails, ont montré des pourcentages de germination de 1,5 fois plus grands que celui des graines enlevées des fruits [2].

2.2.2 Multiplication végétative (voie asexuée)

La multiplication asexuée pour le figuier de barbarie est assurée par les aréoles qui sont des tissus méristématiques capables de produire de nouvelles pousses, fleurs ou racines, dépendant de leur position. Les cladodes, les fleurs et même les jeunes fruits sont capables de se différencier. Cependant, les cladodes sont les éléments typiques de

propagation [82]. Les cladodes qui tombent de la plante mère, constituent le mécanisme principal de la dispersion dans les populations sauvages [83].

2.2.2.1 Bouturage

Les boutures les plus communes sont : une cladode simple et une propagule multiple de cladode [72]. Une fois les cladodes collectées, elles devraient être stockées pendant quatre à six semaines dans un endroit sec et ombragé, afin de favoriser la cicatrisation de la partie blessée où la coupe a été faite. Généralement les cladodes employées sont les cladodes de deux ans [14] ou bien une raquette de deux ans avec deux ou trois raquettes d'un an [84].

2.2.2.2 Micro-propagation

A cause des problèmes pratiques présentés par la propagation traditionnelle, telle que l'exigence de grand matériel végétal et pour ces raisons, les techniques de culture de tissus sont pratiquées. La micro propagation permet d'obtenir un taux élevé de multiplication, une uniformité génétique et un volume et un poids réduits [85].

Escobar et al, (1986), ont développé une méthode très efficace de micro propagation pour une variété d'*Opuntia amyycleae*, par laquelle une moyenne de 25000 plants pourrait être obtenue en 100 jours, à partir d'une cladode simple d'environ 5 cm. Pour obtenir ce taux élevé de multiplication, l'analyse de différentes concentrations d'adénine benzylique (BA) dans des explants de cladode contenant les bourgeons différenciés. La «BA» a permis le développement des pousses, d'avoir lieu approximativement 25 jours après la mise en culture. Des sections longitudinales dans les pousses nouvellement formées, ont été exposées à des concentrations plus élevées de (BA), permettant, ainsi le développement des pousses et des bourgeons axillaires.

2.3 Culture de l'*Opuntia*

2.3.1 Choix de l'espèce et du cultivar

Le choix de la variété prend une certaine importance :

- Ou cas où l'implantation serait destinée à la production de fruits, les espèces ou les variétés sélectionnées sur celles ayant de gros fruits, contiennent moins de grains et de bonne qualité gustative.
- Mais si le but de l'implantation est l'utilisation fourragère, on choisit des variétés inermes [84].

2.3.2 Plantation

2.3.2.1 Préparation du sol

Il faut labourer le sol (60 à 80 cm de profondeur) en automne et apporter des fertilisants (N P K) au sol tout en veillant d'avoir un sol ameubli pour assurer un bon drainage. La profondeur des trous de plantation est de 10 à 20 cm et de 50 cm de diamètre, il est préconisé d'épierrer le sol avant la plantation [87]. Le labour se fait sur la totalité de la surface, ou bien sur la ligne de plantation avec scarification sur l'interligne [88].

2.3.2.2 Epoque de plantation

L'époque de plantation varie d'une région à une autre. Dans les conditions du Sud de l'Italie, l'automne est considéré comme la meilleure saison de plantation [5]. Au Maroc, les plantations sont effectuées à partir de Février - Mars dans le Sud et en fin de printemps dans les autres régions [63]. En Algérie, particulièrement dans la région de Tébessa, les plantations sont effectuées à partir du fin Février dans le Sud de la région et à la fin de Mars, dans les régions du Nord [23].

2.3.2.3 Densité et modes de plantation

Les plantions peuvent être réalisées suivant la nature et l'inclinaison du terrain et aussi en fonction de l'objectif principal. Les modes de plantation sont en quinconce dans la plaine et en lignes (rangs) dans les montagnes. L'orientation Nord-Sud des lignes est importante pour assurer l'ensoleillement des plantes [84].

Les méthodes les plus utilisées sont les suivantes :

- Plantation en trous : Raquette unique, raquette double, trois raquettes (en bouquet).

- Plantation en rangs [23].

L'espacement et la densité de peuplement dépendent des conditions pédo-climatiques et les conditions de la culture. Les écartements varient de $0,55 \times 2$ m à 4×4 m [59]. Au Brésil, les densités de plantation sont de l'ordre de 5000 à 10 000 pieds / ha [13]. En Algérie, la densité dans les zones arides et semi-arides varie de 1000 à 4000 plants par ha et arrive jusqu'à 5500 plants par ha [23]. Si le but de plantation est la production de fourrage, on recommande d'intensifier la densité de plantation (40×80 cm) [84].

2.3.2.4 Entretien de la culture

Les pratiques culturales chez l'*Opuntia* sont donc limitées à des apports complémentaires en irrigation, à des rares traitements phytosanitaires et à des techniques d'entretien classiques (travaux superficiels du sol, taille...) [5].

2.3.3 Récolte et rendement

2.3.3.1 Cas des cladodes

On peut effectuer une première récolte en moyenne 3 ans après plantation [89]. Il ajoute qu'on peut récolter tous les ans, en se limitant, à cueillir les raquettes de l'année. De nombreux travaux ont été consacrés à l'étude de la production fourragère d'*Opuntia* inerme, le rendement varie selon les régions, pays et notamment la pluviométrie [4].

Italie : 60 tonnes de raquettes par hectare par an,

Afrique du sud : 100 à 300 tonnes de raquettes par hectare par an,

Brésil : 140 tonnes en moyenne par hectare par an dans les zones à 300 mm de pluviométrie moyenne annuelle,

Algérie :

Relizane : 200 tonnes de raquettes par hectare par an (325 mm) ;

Bouira : 50 tonnes de raquettes par hectare par an (400 mm) [4]. Le rendement à la zone de Zeriba est de 50 T/ha/an (pluviométrie de 400 mm) et 120 T/ha/an (pluviométrie de 800 mm) [6].

2.3.3.2 Cas des fruits

La différenciation de bourgeon de fleur est faisable, durant la première ou la deuxième année. Cependant, le premier rendement est bas, vu la présence de quelques cladodes seulement, capables de produire ces bourgeons [72]. La cueillette s'effectue en automne. Au Mexique, elle commence en juin pour les variétés précoces jusqu'au mois de décembre pour les variétés tardives, la croissance et le développement du fruit durent de 70 à 150 jours en fonction des variétés et des conditions de production [71]. On se base souvent sur la couleur de la peau ou sur les concentrations en sucres totaux solubles (STS), pour commencer la cueillette quand la peau du fruit présente une couleur tournante. Le taux de sucres est de 12 à 15%.

Les rendements dépendent de la variété, du climat, de la richesse du sol et des conduites culturales. Au Maroc, il varie de 12 à 30 T/ha, dans les exploitations spécialisées dans la culture d'*Opuntia* [63].

2.4 Importance de l'*Opuntia*

Les cactacées jouent un rôle notable dans le développement de la civilisation mexicaine. Ces plantes fournissent des produits alimentaires, des clôtures impénétrables et défensives, des fibres lamineuses, du bois tant de construction que de chauffage, des fourrages permanents, le matériel nécessaire pour l'élevage de la cochenille, des produits pharmaceutiques [3].

2.4.1 Importance écologique

L'*Opuntia* a le pouvoir d'arrêter l'avancement du désert et protéger la faune [90]. La culture d'*Opuntia* offre aux terres qu'elle colonise un couvert puissant, ombrageant la surface du sol [4]. Le figuier de barbarie est très souvent utilisé comme haies défensives dans sa région d'origine et même à usage ornemental dans les jardins d'ornement [91].

Le cactus inerme *Opuntia ficus indica*, qui tolère la sécheresse et protège les sols contre l'érosion, est encore utilisé en Tunisie, en Algérie et au Maroc pour ralentir et

diriger le mouvement des sables, augmenter le couvert végétal et éviter la destruction des terrasses construites pour réduire l'effet de ruissellement [92].

En Algérie, la culture d'*Opuntia* dans les zones arides et semis arides, a permis de préserver les écosystèmes steppiques fragiles [23].

L'intérêt accordé par le HCDS à cette culture s'explique par les avantages que parcourt cette plante :

- Les racines mortes de l'*Opuntia* et celles de l'année, produisent d'importantes quantités de la matière organique pour améliorer les sols, par l'augmentation de leur aération, leur perméabilité et leur capacité de rétention en eau.
- En constituant, des peuplements vivaces et durables,
- Permet une augmentation de la matière organique, [23].

Au Maghreb, les vieilles raquettes d'*Opuntia* desséchées utilisées comme fumure des vergers et la dispersion d'articulation d'*Opuntia* broyés autour du pied de certaines plantes, éloigne les parasites et empêche la prolifération des mauvaises herbes [93]. L'*Opuntia* résiste au feu et peut être utilisé comme obstacle à la propagation des incendies [5].

2.4.2 Importance alimentaire et agro-industriel

2.4.2.1 Cladodes

2.4.2.1.1 Production de Nopals

Les jeunes raquettes de 10 à 15 cm de longueur et surtout chez les cultivars inermes sont consommées, en tant que légumes appelés "Nopals". D'autres espèces sont utilisées pour la même fin comme: *O. robusta*, *O. streptacantha* et *O. leucotricha*, *O. huphiacanta*, et *O. chavena*. La production annuelle de nopals en Mexique est de l'ordre de 230 000 tonnes dont 2000 à 3000 tonnes sont exportées vers le Sud des Etat-Unis, où vit une large population Mexicaine [5]. La valeur nutritive des Nopals est similaire à celle de la laitue et des épinards [16]. En Algérie, dans la région de Tébessa, l'*Opuntia* fait l'objet d'une utilisation maraîchère appréciée par les populations rurales [23].

2.4.2.1.2 Production de confitures et autres produits alimentaires

Badillo (1987), a obtenu une confiture à base de cladodes de bonne qualité, en ajoutant le sucre et l'acide citrique dans les proportions suivantes : 1 - 0,6 - 0,01. Cette confiture ne présente pas de différence avec les confitures des fruits, de figes et d'oranges et se caractérise par une bonne qualité sensorielle et une stabilité microbiologique pendant 40 jours de stockage et l'adjonction de jus de cladodes dans le lait utilisés en Algérie [95]. Les comprimés, les biscuits et d'autres formes de fibres dérivées des cladodes de cactus sont actuellement lancés sur le marché dans plusieurs pays américains [96]. On peut utiliser les raquettes comme matière première pour la production de biogaz, par fermentation naturelle [63].

Au Mexique les Nopalitos sont utilisés comme additif dans la fabrication de shampoing, savon humectant, anti-transpirant, assouplissant de cheveux...etc. [14]. Les Nopalitos sont utilisées aussi pour la fabrication des crèmes et de laits hydratants pour le visage [26].

2.4.2.2 Fruits

Les fruits de l'*Opuntia* peuvent être consommés en frais ou bouillis dans l'eau ou séchés pour être conservés et consommés durant la période hivernale [97]. Les fruits sont consommés sous formes : congelés, confits ou transformés en jus concentré, en boisson alcoolisée, en confiture [5]. Les fruits d'*Opuntia* considérés comme une bonne source de vitamine C, avec un apport énergétique important, la teneur en sucre de la plupart des variétés est relativement élevée (12 à 17 %), les fruits contiennent 161 mg par 100 g de K (Tableau 2.1) [5]. Ils favorisent et activent grâce à leurs effets galactogènes et fortifiants la production de lait chez les femmes allaitantes [2]. Ils sont aussi nutritifs, 25 à 30 fruits suffisent à l'alimentation journalière d'un homme [98].

L'intensification et l'industrialisation du figuier de barbarie représente un grand défi technologique et les sous-produits de figuier de barbarie peuvent constituer une matière première pour sa valorisation dans l'agro-industrie [7].

2.4.2.3 Graines

En Amérique, on extrait une farine blanche des graines, qui une fois bouillie, est façonnée en une sorte de pain [99]. Les graines obtenues à partir des fruits frais ou secs sont lavées, séchées, et rôties pour préparer les sauces traditionnelles [97, 84]. Les graines et la pulpe du fruit contiennent un pourcentage considérable d'huile, dont on trouve 87 % chez les graines (Tableau 2.1). Les acides gras contenus dans la pulpe et la graine sont; l'acide linoléique (dominant), suivi, par l'acide palmitique et l'acide oléique. Cette propriété sert à valoriser le fruit et les graines en même temps, dans le domaine industriel [97]. Les graines contiennent 49.6 % des fibres (Tableau 2.1), en outre les graines sont riches en K et P (163 mg et 152 mg par 100 g respectivement (Tableau 2.1).

Tableau 2.1: Composition chimique de la pulpe et de graine du fruit d'*Opuntia ficus indica* par 100 g de fruit [100].

Constituants	Pulpe	Graine
Eau %	85,60	5,3
Protéine (%)	0,21	16,6
Matière grasse (%)	0,12	17,2
Fibres (%)	0,02	49,6
Vitamine C (mg/100 g)	26,0	/
Matière minérale (cendre) (%)	0,44	3,0
Ca (mg/100 g)	20,0	16,2
Mg (mg/100 g)	28,0	74,8
K (mg/100 g)	161	163
Na (mg/100 g)	0,8	67,6
P (mg/100 g)	15,4	152
Fe (mg/100 g)	1,5	9,45

2.4.3 Importances médicinales

Les parties à utiliser sont : les fleurs, les fruits et le suc des cladodes. La récolte se fait en fin printemps pour les cladodes, en été pour les fleurs et enfin d'été pour les fruits.

Selon des études cliniques récentes, le Nopal élimine l'excès d'ammoniac accumulé dans certains organes, combat avec succès les radicaux libres, neutralise les toxines qui affaiblissent notre système immunitaire suite à une surconsommation d'alcool ou de tabac.

L'*Opuntia vulgaris* est utilisé à des fins thérapeutiques essentiellement grâce à sa teneur en mucilage et ce surtout en Afrique du nord. On les préconise pour soigner les abcès, cors, durillons [101]. Au Yémen, les raquettes coupées longitudinalement sont appliquées en cataplasme pour soigner les blessures [102].

Les fruits possèdent des propriétés anti-hémorroïdaires, anti-diarrhéiques et augmentent aussi la fonction rénale [21].

En Sicile, le thé préparé par les fleurs d'*Opuntia ficus indica* est utilisé comme traitement contre les maux des reins [14]. En Palestine occupée, les capsules des corolles des fleurs séchées sont utilisées comme remède au dysfonctionnement de prostate [63].

2.4.4 Apiculture

Les fleurs du cactus constituent une source nutritive très appréciée par les abeilles, d'où la possibilité de développer l'apiculture en parallèle. Au Maroc, l'activité des abeilles en transhumance a lieu sur les fleurs de l'*Opuntia ficus indica* pendant 3 mois (Avril à Juin) [63].

2.4.5 Importance fourragère

L'utilisation de l'*Opuntia*, comme plante fourragère, est très connue depuis l'antiquité dans les pays du Maghreb (Tunisie, Algérie, Maroc) [4]. En général, on peut affirmer que l'*Opuntia* est très appétible. Le mouton nourri avec des raquettes d'*Opuntia*, pouvaient ingérer jusqu'à 9 Kg/jour de ce fourrage [4].

La consommation d'*Opuntia* mène à une augmentation de l'ingestion de paille, un effet très positif, si l'on considère le fait que, dans les zones arides de WANA (Ouest Asiatique et Afrique du Nord), la paille représente la principale source de nutrition du

bétail [103]. On peut expliquer cet effet positif en supposant que l'ingestion d'*Opuntia* améliore les conditions de fermentation du rumen [104].

Au Brésil, les pèles (écorce des cladodes) de l'*Opuntia* sont, avec le tourteau de coton, la base de l'alimentation du cheptel bovin, notamment les vaches laitières [13]. Dans le Nord Est de Brésil, les éleveurs préfèrent que les animaux broutent directement le figuier de barbarie [105]. Les lapins sont des prédateurs de l'*Opuntia*, donc il est fort possible d'établir des régimes alimentaires en utilisant le cactus inerme pour cette dernière et d'autres rongeurs [106].

L'*Opuntia* peut être utile dans la résolution des problèmes de l'abreuvement dans les zones arides du WANA [84]. Dans ces conditions, le contenu élevé de l'eau présente dans les tissus de l'*Opuntia* représente une source valable de liquides pour les animaux. Chez les moutons nourris sous un régime qui contient environ 300 g de Ms d'*Opuntia* la consommation en eau est pratiquement nulle de la part des animaux [104].

Les raquettes d'*Opuntia sp.* présentent un taux élevé en eau (90 %), en cendres (20 % de la Ms), en Ca (1,4 % de la Ms), en hydrate de carbone solubles et en vitamines A, en revanche, elle possèdent un faible taux de protéines brutes (4 % de la Ms), des fibres brutes (10 % de la Ms) et de phosphore (0,2 % de la Ms) (Tableau 2.2) [107].

Tableau 2.2: variation de la composition chimique des raquettes d'*Opuntia ficus indica* (100 g de MF) [14].

Composition chimique	Quantité
Eau %	85-90
Protéines brutes %	5-12
Digestibilité de MS in vitro %	75
Digestibilité des Protéines in vivo %	72
Matière sèche %	62
Fibres brutes %	43
Matière organique %	67
Calcium %	4,2
Magnésium %	1,4
Phosphore %	0,08-0,18
Potassium %	2,3
Energie (M cal/kg)	2,61
Caroténoïdes (µg/100 g)	29
Acide ascorbique (vitamine C, mg/100 g)	13

2.4.7 Importance économique

Le revenu moyen annuel par hectare est de 2000 à 3000 \$ en Italie, 2000 \$ en Palestine occupée [16]. Au Maroc, le revenu moyen annuel est de 3000 \$ [28]. Au Mexique, le revenu est de 27 millions de \$ /an, pour l'usage alimentaire et 20 millions de \$ /an pendant la période de 1990 à 1998. Et en fin, l'usage fourrager constitue 1 million \$ au Mexique [108].

CHAPITRE 3

MATERIELS ET METHODES

3.1 Matériel végétal

Notre étude porte sur un genre de la famille de Cactaceae à savoir l'*Opuntia* sous genre de *Platyopuntia* (Engelm.) Kreuz. Cinq (05) espèces font l'objet de notre étude à savoir : l'*Opuntia ficus-indica*, l'*Opuntia amycleae* Ten., l'*Opuntia engelmannii* Salm-Dyck ex Engelm., l'*Opuntia streptacantha* Lem. et l'*Opuntia robusta* H.L.Wendl. (Tableau 3.1).

3.2 Présentation des zones d'étude

Dans ce travail, nos zones d'étude se trouvent dans les steppes Sud algérois et Sud constantinois. Après les prospections réalisées sur terrain, nous avons choisi quatre périmètres aux quatre zones différentes (Figure 3.1 et Tableau 3.1), il s'agit des périmètres suivants: Doukkara (Tébessa), Belaiba (M'sila), El Mesrane (Djelfa) et Choucha (Laghouat).

3.3 Etude du milieu physique des zones d'étude

3.3.1 Climat

Le climat est l'ensemble des actions de l'atmosphère, l'humidité, la pluie, la température, le vent, etc. C'est l'élément naturel sur lequel l'homme n'a aucune influence directe à l'exception de cas particuliers tels que les irrigations par exemple. C'est un facteur déterminant pour le développement des plantes, de la formation et de l'évolution des sols [109].

Les zones d'étude se caractérisent sur le plan climatique à partir de série des données météorologiques fournies par l'O.N.M (Office National de la Météorologie) des différentes stations météorologiques de référence : Tébessa, M'sila et Djelfa. L'absence

d'obstacles géomorphologiques nous a permis de procéder à des corrections climatiques selon le gradient pluviométrique de DJEBAILI (1984), pour les steppes Sud Algérois. Le gradient pluviométrique est 20 mm / 100 m d'élévation concernant la moyenne annuelle, et le gradient thermique de DJELLOULI (1981), la température varie de 0,3 °C pour la température minima du mois le plus froid (m), et de 0,8 °C pour la température maxima du mois le plus chaud (M) par 100 m d'altitude.



Périmètre de Doukkara (Tébessa) (Mars, 2010)



Périmètre de Choucha (Laghouat) (Stade de floraison, Mai, 2010)



Périmètre de Belaiba (M'sila) (Stade de floraison, Mai, 2010)



Périmètre d'El Mesrane (Djelfa) (Stade de floraison, Mai, 2010)

Figure 3.1 : Périmètres expérimentaux de plantation d'*Opuntia*.

Tableau 3. 1: Liste des cinq espèces d'*Opuntia* étudiées avec leurs caractéristiques agro-écologiques.

Espèces	<i>O. ficus indica</i>	<i>O. amycleae</i>	<i>O. streptacanth</i>	<i>O. robusta</i>	<i>O. engelmannii</i>
Code	OFI	OA	OS	OR	OE
Utilisation	Fruit et fourrage	Fruit et fourrage	Fruit et fourrage	Fruit et fourrage	Fourrage
Importance commerciale	Très élevé	Très élevé	Très élevé	moyen	faible
Localité	Belaiba (M'sila)	Doukkara (Tébessa)	Choucha (Laghouat)	El Mesrane (Djelfa)	El Mesrane (Djelfa)
Latitude	35° 36'	35° 58'	34° 8'	34°, 36'	34°, 36'
Longitude	05° 17'	8° 14'	3° 01'	3° 03'	3° 03'
Altitude (m)	585	878	916	879	879
Temp. min (°C)	12.92	9.60	9.95	10.07	10.07
Temp. Max (°C)	24.44	22.78	22.89	23.19	23.19
Precipitation (mm)	222.8	407.38	252.03	244.63	244.63
Texture du sol	Limono-sableux	Limoneuse	Sableuse	Sableuse	Sableuse
pH du sol	7.69	7.52	7.53	8.55	8.55
Étage bioclimatique	Aride frais	semi-aride frais	Aride frais	aride frais	aride frais

3.3.1.1 Pluviométrie

La pluviométrie constitue la principale forme des précipitations et la plus importante. C'est le premier facteur du climat influençant la croissance des végétaux. Ainsi la quantité d'eau reçue annuellement est un élément essentiel pour la vie végétale [111]. Le minimum nécessaire pour le développement de l'*Opuntia* est de 200 mm/an, avec une bonne répartition sur l'année à condition que les sols soient sablonneux et profonds, et de 300 à 400 mm /an pour les sols argileux et limoneux [9].

L'examen du cumul annuel moyen de la précipitation durant la période 2001-2010, nous a permis de classer les différentes zones d'étude par ordre décroissant : Doukkara (407.38 mm), Choucha (252.03 mm) et El Mesrane (244.63 mm), Belaiba (222.80 mm). La répartition des précipitations mensuelles moyennes montre que le mois la plus pluvieux est le mois de Décembre pour la zone de Doukkara (47.54 mm) et le mois d'Octobre pour les zones de : Belaiba, Choucha et El Mesrane avec les valeurs de : 34.76 mm, 35.19 mm, 34.19 mm respectivement. Alors que le mois le plus sec est le mois de Juillet pour toutes les zones d'étude (Tableau 1 ; Appendice C).

3.3.1.2 Régimes saisonniers

Pour la végétation, la répartition des pluies est plus importante que la quantité annuelle des précipitations. L'eau utile est celle qui est disponible durant le cycle de développement de la plante [112]. L'étude du régime saisonnier donne une indication sur la répartition des pluies suivant les quatre saisons de l'année. Ceci est en rapport direct avec la croissance de la végétation [111].

L'analyse de la période de 2001 - 2010, montre que la répartition saisonnière des pluies est marquée par la prédominance des pluies de printemps pour la zone de Doukkara. Par contre, nous remarquons une prédominance des pluies d'automne pour les zones de Belaiba, El Mesrane et Choucha. En outre, nous observons une baisse nette des pluies estivales pour les zones de Belaiba, El Mesrane et Choucha. Le régime saisonnier de la précipitation de la zone de Doukkara est du type : PAHE (Printemps, Automne, Hiver, Eté). Au niveau des zones de Belaiba, El Mesrane et Choucha le régime saisonnier est du type : APHE (Automne, Printemps, Hiver, Eté). (Tableau 2 ; Appendice C).

3.3.1.3 Températures

La température, second facteur constitutif du climat, influe sur le développement de la végétation. Ce sont les températures extrêmes plus que les moyennes qui ont une influence sur la végétation, sauf si elles sont exceptionnelles et de courte durée [109]. Seules les valeurs ayant une signification biologique sont prises en considération : Températures moyennes mensuelles, moyennes des maxima du mois le plus chaud (M), moyennes des minima du mois le plus froid (m).

L'analyse des valeurs de la température sur la période 2001 - 2010, montre que les températures maxima sont enregistrées durant le mois le plus chaud (Juillet) avec les valeurs de : 35.87 °C (Doukkara), 38.65 °C (Belaiba), 36.55 °C (Choucha), 36.85 °C (El Mesrane). Les températures minima pour le mois le plus froid (Janvier) avec les valeurs : 1.55 °C (Doukkara), 3.25 °C (Belaiba), 1.28 °C (Choucha), 1.40 °C , (El Mesrane), (Tableau 3 ; Appendice C).

3.3.1.4 Indice écologique et climatogramme

Pour mieux caractériser le climat dans lequel se situent nos zones d'étude, nous nous aiderons de quelques indices et climagrammes. Les indices les plus utilisés utilisent la température et la pluviosité qui sont les facteurs les plus importants et les mieux connus.

3.3.1.4.1 Climatogramme d'Emberger

Celui-ci permet de situer la zone d'étude dans son étage bioclimatique en fonction de son « m » et de son « Q₂ ».

3.3.1.4.2 Quotient pluviothermique d'Emberger (Q₂)

$$Q_2 = 2000 P / (M^2 - m^2).$$

Où :

P= pluviosité moyenne annuelle.

M= moyenne des maximum du mois le plus chaud.

m= moyenne des minimum du mois le plus froid.

M et m sont exprimés en degrés Kelvin (Kelvin = Celsius+273).

Cette formule plus élaborée, est utilisée pour les climats méditerranéens, elle tient compte de la variation annuelle de la température. En reportant les valeurs de Q_2 et de m sur le climagramme d'Emberger pour classer les zones d'études.

Nos zones d'étude sont localisées dans l'étage bioclimatique semi-aride frais pour la zone de Doukkara et aride frais pour les zones de Belaiba, El Mesrane et Choucha (Tableau 3.1, Figure 1, Appendice C).

3.3.1.4.3 Diagramme ombrothermiques de BAGNOULS et GAUSSEN

Les diagrammes ombrothermiques de Bagnouls et Gaussen permettent de comparer l'évolution des températures et des précipitations [113]. La saison sèche (durée et intensité) joue un rôle capital dans la distribution de la végétation [114]. Pour définir la période sèche, Bagnouls et Gaussen (1953), considèrent qu'un mois est sec, quand le total mensuel des précipitations est égal ou inférieur au double de la température moyenne mensuelle.

$$P \leq 2T \rightarrow P/T \leq 2.$$

P : précipitation totale mensuelle.

T : température moyenne mensuelle.

A partir de cette hypothèse, il est possible de tracer les diagrammes ombrothermiques, en portant les mois en abscisse et en ordonnée les températures moyennes et la pluviosité avec une échelle double pour la température.

L'examen des diagrammes ombrothermiques, fait apparaître clairement la période sèche pour toutes les zones d'étude. Pratiquement, le climat est mono-xérique pour la zone de: Doukkara avec une période sèche étalée sur presque 4 mois (Figures : 2, Appendice C). Alors que les zones de Belaiba, El Mesrane et Choucha se caractérisent par un, climat bi-xérique, avec presque 9 mois de période sèche (Figures : 3, 4, 5, Appendice C).

3.3.2 Sol

Le sol constitue le facteur qui intervient directement de manière prépondérante sur le développement et la croissance des plantes. Le sol joue un rôle essentiel sur le rendement, en particulier par sa réserve en eau utile qui est en fonction de sa texture, sa structure et de la profondeur explorée par les racines. Afin de préciser les caractéristiques du sol de nos zones d'étude, nous avons effectué quelques analyses physico-chimiques.

L'analyse a porté sur 3 échantillons pour chaque zone d'étude. Les prélèvements des échantillons du sol ont été effectués sur les zones d'étude et réalisés à l'aide d'une tarière. La profondeur de prélèvement est de 20 à 45 cm en fonction de la profondeur du profil pédologique du sol.

3.3.2.1 Caractéristiques physiques

Il est essentiel de connaître le type de sol de nos périmètres expérimentaux. D'abord, il convient de savoir qu'il existe trois grandes tendances de sol (argileux, limoneux, sableux). Tous les sols ne sont pas qu'argileux ou limoneux mais plutôt un mélange d'argile, de limon et de sable. Seule une analyse granulométrique peut donner les pourcentages exacts de ce mélange. Ensuite, grâce à ces pourcentages, il est possible d'en déduire la désignation du sol grâce au triangle de textures de [115].

L'analyse granulométrique a montré une certaine prédominance des limons et des sables dans les sols de nos périmètres expérimentaux. La référence au triangle textural nous indique qu'il s'agit d'un sol à texture :

- Limono-sableuse pour le périmètre de Belaiba,
- Limoneuse pour le périmètre de Doukkara,
- Sableuse pour les périmètres d'El Mesrane et Choucha, (Tableau 3.1).

L'*Opuntia* préfère les sols légers, sablonneux et limoneux. Donc d'après nos résultats ce type de sol pourrait convenir à cette culture [63].

3.3.2.2 Caractéristiques chimiques

Le pourcentage des différentes fractions constituantes, le sol des zones d'étude, comparé avec les proportions mentionnées au Soltner (1988), sont mentionnées dans le Tableau 4; Appendice C.

3.3.2.2.1 Potentiel hydrogène (pH)

L'analyse chimique montre que la réaction du sol est presque neutre, avec une tendance légèrement basique, pour les périmètres de Doukkara, Choucha et Belaiba avec les valeurs de 7.52 ; 7.53 ; 7.69 respectivement. Alors que le sol du périmètre d'El

Mesrane, présente une réaction basique ($\text{pH} = 8.55$) (Tableau 3.1, Tableau 4, Appendice C).

3.3.2.2 Matière organique (MO)

Le sol est moyennement pourvu en matière organique pour tous les périmètres d'étude (Tableau 4, Appendice C).

Le figuier de barbarie peut se développer dans les sols pauvres en matières organiques [63]. Les cactus améliorent considérablement la fertilité organique du sol ($\text{M.O} = 4,8 \%$; $\text{T} = 0,1 \%$) et la richesse minérale du complexe absorbant ($\text{C.E.C} = 70 \text{ meq}/100 \text{ g}$; $\text{T} = 11 \text{ meq}/100 \text{ g}$). Ils fabriquent, relativement assez vite, un horizon humifère qui, crée un complexe organo-minéral suffisamment épais pour donner naissance à un sol dynamique [116].

3.3.2.3 Calcaire total (CaCO_3)

Un sol calcaire est un sol contenant du CaCO_3 libre en quantité suffisante pour présenter une effervescence visible sous l'action d' HCl dilué à froid. Le CaCO_3 est souvent accompagné de MgCO_3 [117] (Tableau 3.2).

Tableau 3.2: Type d'effervescence en fonction de la teneur en CaCO_3 adapté par [117].

Teneur	Réaction à l'HCl	CaCO_3 %
Faible	Moyenne	2-10
Forte	Vive	25-50

L'analyse nous a permis de tirer deux classes de sol au niveau des zones d'étude:

Classe 1 : Sol faiblement calcaire avec un taux de CaCO_3 pour les périmètres d'El Mesrane (2.34 %) et Choucha (3.77 %).

Classe 2 : Sol fortement calcaire avec un taux de CaCO_3 de 38.73 % et 32.91 % pour les périmètres de Doukkara et Belaiba respectivement (Tableau 4, Appendice C).

Le figuier de barbarie peut se rencontrer sur des sols calcaires [63].

3.3.2.2.4 Conductivité électrique (CE)

L'examen des valeurs de la CE montre que le sol de nos périmètres expérimentaux n'est pas salé car leur CE est inférieure à 4 mmhos/cm² : El Mesrane (0,346 mmhos/cm²), Choucha (0,322 mmhos/cm²), Doukkara (0,710 mmhos/cm²), Belaiba (0,598 mmhos/cm²) (Tableau 4, Appendice C).

3.4. Etude du polymorphisme phénotypique

3.4.1 Méthode d'étude

Les caractères qui font l'objet de notre étude sont ceux trouvés dans les principaux directeurs pour la conduite de l'examen de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité des caractères d'*Opuntia*, groupes 1 et 2 (figuier de barbarie et xoconostles) et admis par l'UPOV 2006 (Union internationale pour la Protection des Obtentions Végétales). Dans cette partie, nous avons étudié les caractères qualitatifs et quantitatifs liés à la plante : cladode, fleur, fruit et graine. Ils sont choisis dans le but de refléter la variabilité entre les espèces étudiées.

3.4.2 Echantillonnage

Le matériel végétal qui fait l'objet de notre étude, doit être manifestement sain, indemne de tout parasite ou maladies importantes et ne doit pas avoir subi de traitement susceptible d'influer l'expression des caractères de l'espèce.

Toutes les observations et mesures se font sur les dix (10) pieds repérés lors de la prospection des sites. Les dix (10) sujets sont choisis d'une manière aléatoire dans une superficie d'un hectare. Pour chaque pied, nous avons choisi trois (03) cladodes, trois (03) fleurs, trois (03) fruits, soit trente (30) cladodes, trente (30) fleurs et trente (30) fruits au total et trente (30) graines.

Tableau 3. 3: Descripteurs morphologiques et phénologiques utilisés pour la caractérisation des espèces d'*Opuntia* en Algérie (UPOV 2006).

Code	Descripteurs	Abbrev.	Catégorie	Note				
				OFI	OA	OS	OR	OE
1	Plante: Port	PGH	1: dressé	1	1	1	1	1
2	Plante: Hauteur	PH	7: haute; 3: basse; 5: moyenne	7	7	7	3	5
3	Cladode: Longueur du cladode	CL	5: moyenne; 3: courte; 7: longue	5	5	3	3	7
4	Cladode: Largeur du cladode	CW	5: moyenne; 7: large; 3: étroite	5	5	5	7	3
5	Cladode: Rapport Long / large du cladode	CLW	5: moyen; 3: petit; 7: grand	5	5	3	3	7
6	Cladode: Epaisseur du cladode	CT	5: moyenne; 3: fine; 7: épaisse	5	5	3	7	3
7	Cladode: Forme du cladode	CS	3: elliptique large; 7: obovale large; 4: circulaire; 5: losangique	3	3	7	4	5
8	Cladode: Couleur du cladode	CC	3: vert moyen; 2: vert clair; 5: vert bleuâtre; 1: vert jaunâtre	3	3	2	5	1
9	Cladode: Couleur des aréoles du cladode	CCA	3: marron; 1: grises; 4: noires	3	3	1	4	1
10	Cladode: Nombre d'épines par aréole	CNSA	1: aucune ou très rare; 7: nombreuses; 5: moyennes	1	7	7	5	7
11	Cladode: Longueur de l'épine la plus longue	CLLS	5: moyenne; 3: courte; 7: longue	/	5	3	5	7
12	Epine: couleur principale d'épine	SMC	2: blanche; 3: jaune	/	2	2	2	3
13	Epine: Nombre de couleurs d'épine	SNC	2: deux; 1: une	/	2	2	2	1
14	Epine: Port de l'aiguillon central	CSA	1: érigé; 5: horizontal	/	1	5	1	1
15	Epine: Courbure de l'aiguillon central	CSC	1: absente; 9: présente	1	1	9	1	1
16	Epine: Aiguillon central torsion	CST	1: absente; 9: présente	1	9	1	1	1
17	Cladode: Nombre des glochides	CPG	1: aucune ou très rare; 3: nombreuses; 2: rares	1	3	3	2	3
18	Cladode: Couleur des glochides	CCG	2: marron; 1: jaunes	2	2	1	1	1
19	Fleur: Nombre des fleurs	CNF	7: élevé; 5: moyen; 3: faible	7	5	7	3	5
20	Fleur: Longueur des fleurs	FL	5: moyenne; 7: longue	5	5	5	5	7
21	Fleur: Couleur du périanthe	FCP	2: jaune; 4: orange; 1: jaune verdâtre	2	2	4	1	2
22	Fleur: Couleur du style	FCS	4: rose; 5: rouge; 2: blanc; 1: vert	4	4	5	2	1
23	Fleur: Nombre des lobes du stigmate	FNSL	5: moyen; 7: élevé; 3: faible	5	5	7	7	3
24	Fleur: Couleur du lobe du stigmate	FCSL	2: vert; 1: jaune	2	2	2	1	1
25	Fruit: Longueur du fruit	FRL	5: moyenne; 3: courte	5	5	3	3	3
26	Fruit: Diamètre maximum du fruit	FMD	5: moyen; 3: étroit	5	5	3	5	3

27	Fruit: Longueur / diamètre maximum	FLD	5: moyen; 3: petit	5	5	3	3	5
28	Fruit: Forme du fruit	FS	3: elliptique moyen; 4: circulaire; 5: aplati; 2: elliptique étroit	3	3	4	5	2
29	Fruit: Densité d'aréole du fruit	FDA	7: dense; 5: moyenne; 3: lâche	7	7	5	3	3
30	Fruit: Nombre des glochides du fruit	FNG	3: faible; 7: élevé; 5: moyen	3	7	7	5	5
31	Fruit: Couleur des glochides du fruit	FCG	2: marron; 1: jaunes	2	2	1	1	1
32	Fruit: Longueur du pédoncule	FLS	5: moyen; 3: court; 7: long	5	5	3	3	7
33	Fruit: Dépression de la cicatrice du réceptacle	FDRS	5: modérément déprimée; 3: nulle ou légèrement déprimée; 7: fortement déprimée	5	5	5	3	7
34	Fruit: Diamètre de la cicatrice du réceptacle	FDIR	5: moyen; 3: petit	5	5	5	5	3
35	Fruit: Epaisseur de la peau	FTP	5: moyenne; 3: fine; 7: épaisse	5	5	3	7	7
36	Fruit: Poids de la peau	FWP	3: léger; 5: moyen	3	3	3	5	3
37	Fruit: Poids de la chair	FWF	5: moyen; 7: lourd; 3: léger; 9: très lourd; 1: très léger	5	7	3	9	1
38	Fruit: Poids de la chair / Poids de la peau	FWFP	5: moyen; 7: grand; 3: small	5	7	3	5	3
39	Fruit: Uniformité de la couleur de la surface	FECS	2: irrégulière; 1: uniforme	2	2	2	1	1
40	Fruit: Couleur principale de la surface	FMCS	4: vert foncé; 8: rouge moyen	4	4	4	8	8
41	Fruit: Couleur de la chair	FCF	3: jaune; 6: rouge	3	3	3	6	6
42	Fruit: Fermeté de la chair	FFF	5: moyenne; 7: ferme	5	5	5	7	7
43	Fruit: Nombre des graines développées	FNFD	7: élevé; 5: moyen; 3: faible	7	5	3	7	3
44	Fruit: Nombre des graines avortées	FPAS	9: très nombreuses; 7: nombreuses; 5: moyennes 3: rares; 1: aucune ou très rares	9	7	5	3	1
45	Graine: Taille des graines	SS	5: moyenne; 3: petite; 7: grande	5	5	3	7	7
46	Epoque du début de la floraison	TBF	3: précoce; 5: moyen; 7: tardive	3	3	5	5	7
47	Floraison	FH	2: fleurit deux fois; 1: fleurit une fois	2	2	1	1	1
48	Epoque de maturité de récolte	THM	3: précoce; 5: moyenne; 7: tardive	3	3	5	5	7
49	Durée de la période de récolte du fruit	DHPF	5: moyenne; 3: courte; 7: longue	5	5	5	3	7

OFI: *Opuntia ficus indica*, OA : *Opuntia amycleae*, OS: *Opuntia streptacantha*, OR: *Opuntia robusta*, OE: *Opuntia engelmannii*

3.4.3 Les paramètres étudiés

3.4.3.1 Descripteurs phénologiques

- Epoque du début floraison.
- Epoque du début maturation des fruits.

Le début floraison est remarqué lorsque 10 % des fleurs sont épanouies et le début de la maturation des fruits est noté lorsque 10 % des fruits sont mûrs [119].

3.4.3.2 Descripteurs phénotypiques

3.4.3.2.1 Pied

- Forme:

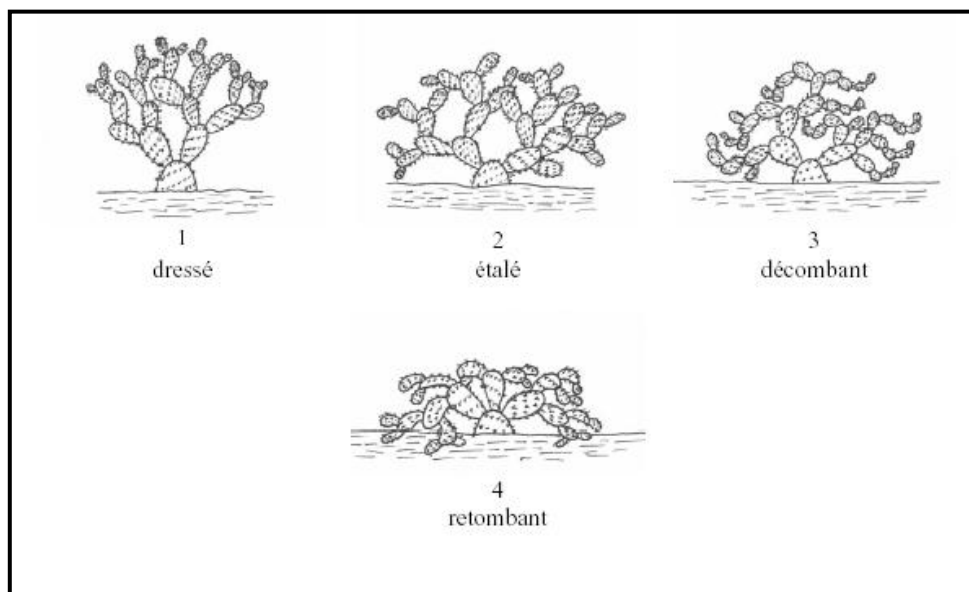


Figure 3.2: Différentes formes du pied chez l'*Opuntia* [118].

3.4.3.2.2 Cladodes

Toutes les observations portant sur la cladode doivent être effectuées sur des cladodes arrivées à maturité et âgées d'un à deux ans [118].

- Forme :
- Couleur.
- Longueur ; largeur : Mesurées en cm directement sur le pied avec une règle ordinaire.
- Epaisseur : Mesuré en cm directement sur le pied avec un pied à coulisse.
- Rapport longueur / largeur : Calculé pour déterminer la forme de la cladode.

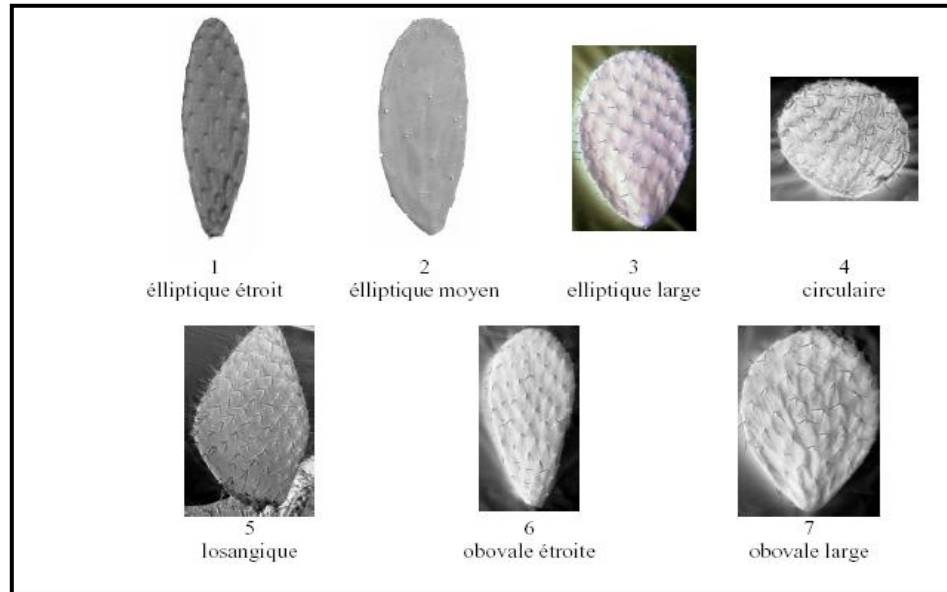


Figure 3.3: Différentes formes des cladodes d'*Opuntia* [118].

3.4.3.2.2.1 Aréoles

Toutes les observations sur l'aréole doivent être effectuées selon les caractères sur des cladodes ou des fruits intacts [118].

- Couleur des aréoles.
- Nombre des séries d'hélices d'aréole.
- Nombre d'épines par aréole.

3.4.3.2.2.2 Epines et glochides

Toutes les observations sur les épines et les glochides doivent être effectuées selon les caractères sur des cladodes ou des fruits intacts.

- Couleur des glochides sur cladode.
- Couleur principale des épines ; port de l'aiguillon central :



Figure 3.4: Différents ports d'aiguillon central d'*Opuntia* [118].

- Courbure de l'aiguillon central (sauf la base) :

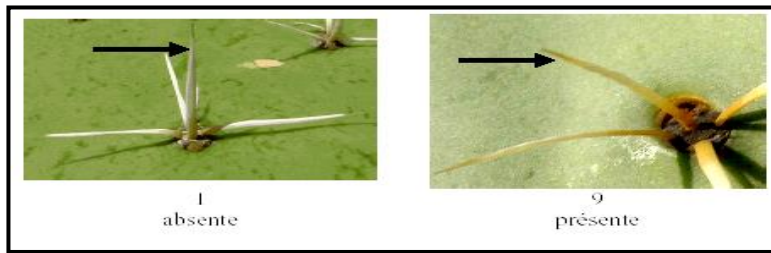


Figure 3.5: Différentes courbures de l'aiguillon central d'*Opuntia* [118].

- Aiguillon central torsion :

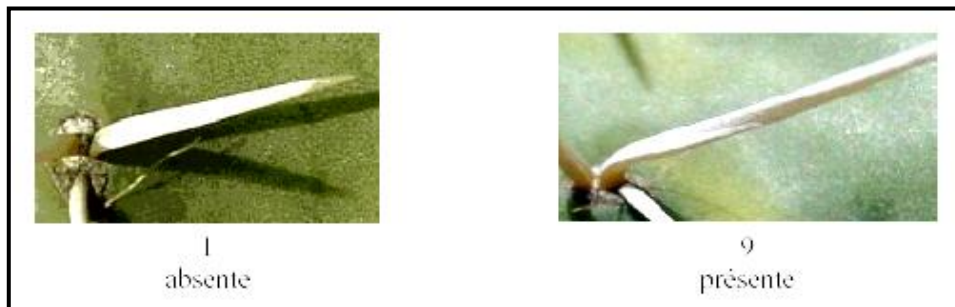


Figure 3.6: Torsion d'aiguillon central d'*Opuntia* [118].

- Nombre de couleurs des épines.

- Longueur de l'épine la plus longue : Mesurée en cm directement sur la cladode avec une règle ordinaire.

3.4.3.2.3 Fleurs

Toutes les observations et mensurations portant sur la fleur doivent être effectuées le premier jour de l'éclosion [118].

- Couleur du périanthe.

- Couleur du style.

- Couleur du lobe du stigmate.

- Nombre de fleurs par cladode: Nous avons compté même les boutons floraux non épanouis qu'on peut les distinguer aux bourgeons végétatifs facilement par leur forme arrondie. Par contre, les bourgeons végétatifs a une forme plus ou moins aplatie [34].

- Longueur des fleurs: Mesurée en cm de début du réceptacle jusqu'à la fin du périanthe.

- Nombre de lobes du stigmate.

3.4.3.2.4 Fruits

Toutes les observations des caractères qualitatifs portant sur le fruit doivent être effectuées sur des fruits intacts arrivés à pleine maturité [118]. Les autres paramètres de mesure se font au laboratoire.

- Forme :

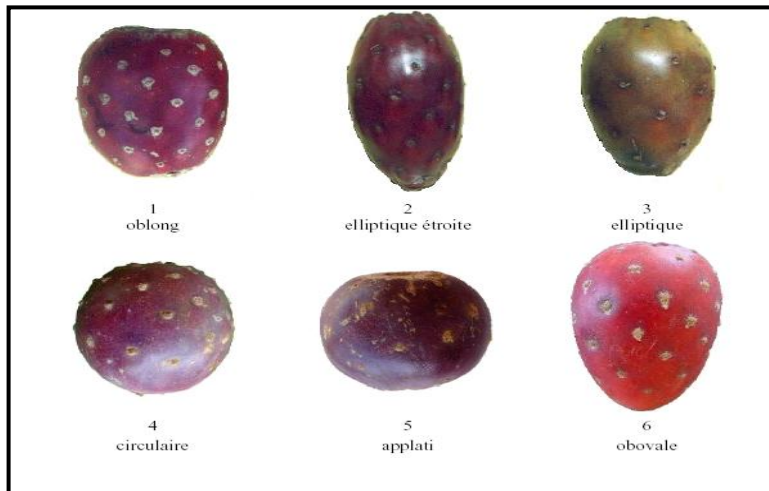


Figure 3.7: Les différentes formes des fruits d'*Opuntia* [118].

- Couleur des glochides sur fruit

Longueur du pédoncule (Figure 3.8).

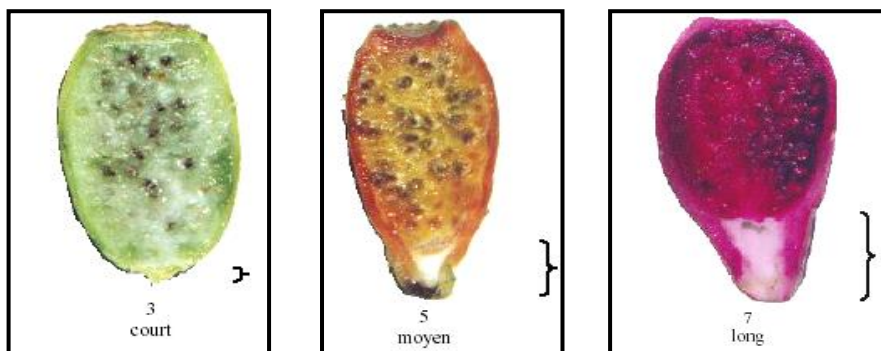


Figure 3.8: Longueur du pédoncule d'*Opuntia* [118].

- Dépression de cicatrice du réceptacle (Figure 3.9)

- Couleur principale de la surface.

- Uniformité de la couleur de la surface.

- Couleur de la chair.

- Longueur (L), largeur (l), épaisseur (E) : Mesurées en cm avec un pied à coulisse.

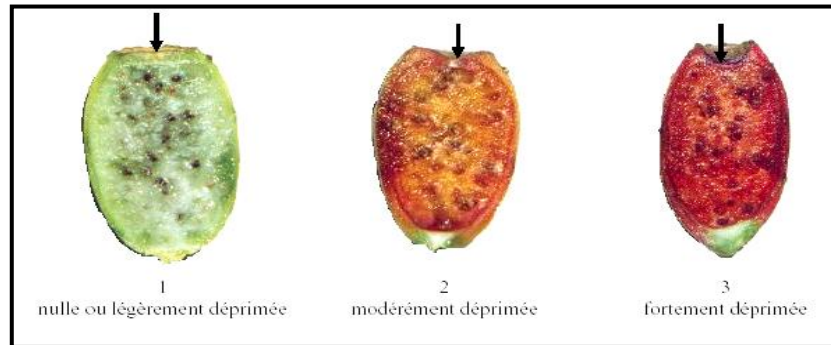


Figure 3.9 : Dépression de la cicatrice du réceptacle florale d'*Opuntia* [118].

- Diamètre maximum (D_g) : Calculée et exprimée en cm en utilisant l'équation suivante :
 $D_g = (L \times l \times E)^{1/3}$; avec L: longueur, l: largeur, E: épaisseur.
- Sphéricité (\emptyset): calculée et exprimée en cm^2 en utilisant l'équation suivante :
 $\emptyset = D_g/L$; avec L: longueur, l: largeur, E: épaisseur.
- Surface de la peau (S) : Calculée et exprimée en cm^2 en utilise l'équation suivant :
 $S = \delta \times D^2 g$; avec L: longueur, l: largeur, E: épaisseur.

Ces équations ont été utilisées pour calculer : le diamètre géométrique, la sphéricité et la surface de la peau du fruit. En effet, le diamètre géométrique, la sphéricité, nous permettent de confirmer la forme observée des fruits, par le biais des calculs.

- Poids du fruit : Le fruit est pesé avec une balance de précision avec une sensibilité de 0.01 g.
- Poids de la pulpe : Nous avons pesé la chaire (pulpe et graines) après l'enlèvement de la peau à l'aide d'un couteau. Par la suite, on calcule le poids de la pulpe qui est égal au poids de la chaire moins le poids des graines.
- Poids de la peau.
- Poids de la pulpe par fruit en % : Calculé en utilisant l'équation suivante :
Poids de la pulpe en % = (poids pulpe/poids fruit total) $\times 100$.
- Poids de la peau par fruit en % : Calculé en utilisant l'équation suivante :
Poids de la peau en % = (poids peau/poids fruit total) $\times 100$.
- Epaisseur de la peau : Mesurée à l'aide d'un pied à coulisse et exprimée en mm.
- Nombre d'aréoles par fruit.

3.4.3.2.5 Graine

L'extraction des graines se fait au laboratoire après séchage du fruit à l'air libre. Des travaux récents montrent que la comparaison des variétés par le biais du nombre de graines par gramme de pulpe et non pas par gramme du fruit entier risque d'éliminer certains détails du fruit; par exemple le pourcentage des graines par rapport au poids de la pulpe et de la pelure du fruit [106].

- Nombre de graines par fruit.

- Nombre de graines complètement développées et nombre des graines avortées par fruit : Pour la distinction entre les graines normales et les graines avortées, on se base sur l'observation visuelle, les graines normales présentent un léger renflement à cause de la présence d'embryon, par contre les graines avortées sont plus ou moins aplaties. Les graines normales ont des dimensions supérieures à 1,7 mm, alors que les graines avortées présentent des dimensions de 1 à 1,7 mm au maximum.

- Poids des graines par fruit : Pesé avec une balance de précision avec une sensibilité de 0.01 g.

- Poids des graines par fruit en % : Calculé en utilisant l'équation suivante :

Poids des graines en % = (poids des graines/poids fruit total) × 100.

- Diamètre : Le diamètre des graines exprimées en mm est mesuré en utilisant le pied à coulisse sur 50 graines.

- Poids de mille graines (PMG): Pesé par une balance de précision avec une sensibilité de 0.01g.

3.4.4 Analyses statistiques des résultats

Les résultats obtenus pour les paramètres phénotypiques sur les cinq (05) espèces d'*Opuntia* ont été traitées par deux analyses indépendantes. La première analyse permet de déterminer par la méthode de l'ANOVA les paramètres dont la différence d'expression est significative ce qui a facilité la comparaison des espèces entre elles selon chaque caractère. Le logiciel utilisé est le Statbox v. 6. La seconde est une analyse en composante principale ACP. En vue de mettre en évidence les liens entre deux ou plusieurs espèces nous avons traité nos données par la méthode de classification hiérarchique ascendante (CAH). Le logiciel utilisé est le Xlstat.

3.4.4.1 Analyse en Composante Principale (ACP)

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) est une méthode exploratoire et descriptive [120].

Elle est utilisée pour interpréter une matrice de données sans structure particulière ne comportant, à priori, aucune distinction, ni entre les variables, ni entre les individus. Elle a pour but de remplacer les (p) variables initiales fortement corrélées entre elles en (p) variables appelées composantes principales ou axes principaux synthétiques non corrélés entre eux et de variance progressivement décroissante. Les premières composantes peuvent éventuellement faire l'objet d'une interprétation particulière et les dernières peuvent généralement être négligées [120].

Dagnelie (1986), propose deux tests statistiques pour déterminer le nombre de composantes significatives à prendre en considération. Cependant, dans la pratique, l'expérience montre que ces tests conduisent souvent à considérer comme distincts, un nombre relativement élevé de composantes, dont certaines ne possèdent en fait aucun intérêt.

Comme d'autre part, ces tests ne sont applicables que dans des conditions relativement strictes de normalité notamment. Certains auteurs préfèrent utiliser d'autres règles, les unes plus sommaires que les autres. Parmi celles-ci, citons l'idée de négliger a priori, pour toute la matrice de corrélations, les valeurs propres inférieures à l'unité, c'est-à-dire inférieures à la contribution moyenne des différentes variables [120].

Aussi, en ce qui nous concerne, nous ne prendrons en considération que les composantes principales ayant une valeur propre, égale ou supérieure à l'unité. Cette méthode (ACP) est appliquée à la matrice des données. Les calculs ont été réalisés à l'aide du logiciel XLSTAT.

3.4.4.2. Classification Hiérarchique Ascendante CAH

La méthode de classification hiérarchique ascendante CAH choisie pour notre cas est celle de Ward (1963), une méthode reposant sur un critère d'optimisation assez naturel [122]. Elle constitue la meilleure méthode de classification hiérarchique sur données

euclidiennes. Elle consiste à classer («n» variables, «p» observations); telle que chaque observation comporte n variables mesurables. Les éléments à classer sont des vecteurs, et l'ensemble qu'ils constituent est muni d'une distance euclidienne. On peut alors construire une matrice des distances entre les variables et les observations. On définit, ensuite, un critère d'affectation ou d'«inertie» de regroupement de ces vecteurs, c'est-à-dire une règle de calculs des distances (d'agrégation) entre les groupements disjoints de variables ou observations. Les deux groupements dont la distance est la plus faible (selon ce critère) se réussissent alors, et on itère le processus jusqu'à ce groupement complet de classes. On peut représenter la classification ascendante hiérarchique par un arbre, appelé dendrogramme ou arbre de classification. La classification est réalisée à l'aide du logiciel d'analyse statistique des données Xlstat.

3.5 Etude du polymorphisme moléculaire

Certes, le premier arrangement d'une collection donnée par le biais des marqueurs phénotypiques est indispensable. Cependant, ces derniers ne suffisent pas pour accomplir une identification ou une classification bien définitive et crédible. D'autant plus que les caractères phénotypiques sont souvent biaisés par les facteurs environnementaux. En conséquence, l'usage de nouvelles approches et techniques d'ordre moléculaire, s'est avéré incontournable pour identifier des espèces, étudier leur diversité et établir leurs relations phylogénétiques. En plus de leur aisance à exécuter au laboratoire et de leur efficacité dans l'étude du polymorphisme et l'élaboration de carte génétique, les marqueurs moléculaires sont dotés d'un pouvoir leur permettant de caractériser des gènes spécifiques à une plante donnée, des gènes étrangers, des gènes liés à certaines maladies, des gènes liés à la productivité. Actuellement, il existe plusieurs types de marqueurs moléculaires et l'utilisation de deux ou plus d'entre eux, amplifie considérablement le degré de la viabilité de l'étude menée. Raison pour laquelle nous avons opté, dans cette étude, pour le marqueur RAPD. Il est très important de signaler que l'étude de la variabilité moléculaire de l'*Opuntia* est absente en Algérie, jusqu'à nos jours. C'est la raison pour laquelle nous avons conçu à l'analyse moléculaire de différentes espèces d'*Opuntia* existante en Algérie.

3.5.1 Technique RAPD

Elle consiste en l'amplification par PCR de fragments de l'ADN génomique en utilisant des amorces arbitraires de taille courte (10 nucléotides). Une amorce RAPD permet généralement l'amplification d'une dizaine de fragments correspondant à des locus dominants. Les produits d'amplification sont généralement visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose. Le polymorphisme décelé est dû à des mutations soit dans les régions amplifiées soit au niveau des sites de fixation des amorces. Le polymorphisme révélé est un polymorphisme de sites d'hybridation d'amorce. Les amorces constituent donc les marqueurs. Cette technique est simple, rapide et ne nécessite ni un marquage radioactif ni une connaissance préalable de la séquence nucléotidique. Néanmoins, la RAPD manque de reproductibilité puisqu'elle est très sensible à la concentration de l'ADN et aux conditions d'amplification.

3.5.2 Matériel végétal

Cinq espèces d'*Opuntia* ont été analysées, il s'agit des mêmes espèces déjà évaluées dans la caractérisation phénotypique.

3.5.3 Extraction, purification et quantification de l'ADN génomique

3.5.3.1 Echantillonnage

Les échantillons des espèces d'*Opuntia* étudiées ont été collectés, le jour du 23/11/2014. Nous avons prélevé, au hasard, des cladodes jeunes. En effet, nous avons prélevé aléatoirement 3 échantillons pour chaque espèce. Les échantillons ont été conservés à une température de 4°C et analysés dans le laboratoire de physiologie moléculaire des plantes de Centre de Biotechnologie de Tunisie de Bordj Cedria (CBBC).

3.5.3.2 Broyage

C'est une technique manuelle qui consiste à broyer rapidement en présence d'azote liquide une quantité du matériel végétal (> 1g) à l'aide d'un mortier et d'un pilon, qui ont subi préalablement un trempage dans de l'azote liquide, afin de minimiser le temps

d'exposition du matériel végétal à la température ambiante et par conséquent, éviter la dégradation de l'ADN.

Il est à noter que le matériel de travail doit être stérilisé avec l'éthanol (70 %) pour chacun des échantillons. Le broyat de chaque échantillon est mis dans des tubes eppendorf de 2 ml puis conservés au congélateur à -80 °C.

3.5.3.3 Description du protocole d'extraction de l'ADN

La description est faite suivant la méthode de Doyle et Doyle (1987), l'extraction de l'ADN génomique est réalisée à partir de 1 g de matériel végétal additionné de 1 ml du tampon d'extraction CTAB préalablement chauffé à 65 °C (CTAB 2 %, EDTA 20 mM, NaCl 1.4 M, PVP 0.1 M).

Dans un tube Falcon (50 ml), le mélange est ensuite vortexé pendant 20 secondes puis mis à incuber dans un Bain-marie à 65° C durant une heure, avec agitation toutes les dix minutes par retournement des tubes.

Afin d'éliminer les protéines, nous avons effectué deux extractions à l'aide d'un volume égal de chloroforme - alcool iso amylique (25: 1V/V).

Après centrifugation pendant 10 minutes à 12000 rpm à 4° C, le surnageant renfermant les acides nucléiques est transféré dans un nouveau tube Falcon de 2 ml. La précipitation est réalisée à l'aide d'un volume égal d'isopropanol. En cas d'absence de formation de précipité, le mélange est placé à -20 °C pendant au moins une heure.

Les pelotes d'ADN sont ensuite récupérées par une centrifugation pendant 20 secondes à 12000 rpm à 4 °C. Suite à l'élimination de l'isopropanol, l'ADN est repris dans 1 ml d'éthanol à 75 %, puis transféré dans un tube eppendorf de 1.5 ml afin d'être centrifugé pendant 20 secondes à 4 °C et à 12000 rpm. Une fois que l'alcool est éliminé, le culot d'ADN obtenu est resuspendu dans un volume de 500 µl de tampon TE (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 7.4). La dissolution du culot doit être totale.

Jusqu'ici les étapes de purification décrites ci-dessus ont servi pour se débarrasser des déchets protéiques et ribonucléiques, mais non complètement. Le reste d'ARN est digéré par l'ajout de 5 µl de RNase. L'ensemble est mis à incuber à 37 °C pendant une durée de 25 minutes. Après incubation, un volume de 600 µl d'isopropanol est ajouté dans chaque tube. Le mélange est vortexé pendant 15 secondes puis centrifugé pendant 10 minutes à 12000 rpm à 4 °C.

Après centrifugation, le surnageant récupéré est extrait de nouveau par un volume de 500µl d'éthanol 70 %, afin d'éliminer les protéines des préparations des acides nucléiques, par une centrifugation pendant 15 minutes, à 4 °C et à 12000 rpm, le culot adhérent au fond du tube est égoutté puis mis à sécher à l'air libre et enfin sous vide pendant 10 minutes. La dissolution de l'ADN est faite par l'addition de 50 µl d'eau distillée stérile filtrée. Les extraits d'ADN sont finalement conservés à -20° C jusqu'à leur utilisation.

3.5.4 Quantification d'ADN par électrophorèse

Les extraits d'ADN obtenus sont mis à migrer en présence d'un ADN de référence (marqueur de taille 100 pb (Promega)) dans un gel d'agarose 1 % pendant une heure à 60 Volts. L'ADN est visualisé sous les rayonnements ultraviolets grâce à la fluorescence du bromure d'éthidium (0.5 µg/ml).

3.5.4.1 Préparation du gel de migration

Dans un Erlen-meyer, 100 ml de tampon d'électrophorèse TAE 1X (0.04 M Tris-Acétate et 0.001 M EDTA) sont préalablement préparés à partir d'une solution stock TAE (50X) (Tableau 3.4) et additionnés de 1 g d'agarose. L'ensemble est mis dans un four à micro-ondes pendant deux à cinq minutes.

Tableau 3.4 : Composition de la solution TAE (x50)

Tris-Base	242 g
Acide acétique glacial 100%	57,1 mL
EDTA 0,5M, pH 8	100 mL

Après avoir refroidi la solution d'agarose, 3 μ l de bromure d'éthidium (BET) sont rajoutés. L'ensemble est coulé dans le moule du gel avec un peigne déposé en-dessus. Une fois séché, le gel est transféré dans la cuve à électrophorèse préalablement remplie par du tampon TAE X1.

3.5.4.2 Migration électrophorétique

Les puits du gel sont chargés par les échantillons de l'ADN à quantifier. Ainsi, 5 μ l d'ADN additionnés de 1 μ l de tampon de charge (Tableau 3.5) sont mis à migrer simultanément avec le marqueur de taille 100 pb.

Les gels sont photographiés à l'aide d'un système d'imagerie Bio métra (Bio Doc II TM) équipé d'une caméra vidéo CCD.

Outre les informations concernant la quantité d'ADN, la quantification de ce dernier par électrophorèse nous renseigne aussi sur sa qualité (polymérisation, dégradation...).

Tableau 3.5 : Composition du tampon de charge

Bleu de Bromophénol 1%	1 g
EDTA 0.25 M pH 8	4 ml
Glycérol	50 ml

3.5.4.3 Optimisation des conditions de l'amplification PCR

Dans notre cas, la diversité génétique chez les 5 espèces soumise aux différents niveaux du stress est conduite à l'aide de un type de marqueur, qui est un marqueur dominant type RAPD.

Dans ce chapitre, nous avons :

- Analysé le polymorphisme génétique lié aux marqueurs RAPD;
- Analysé la structuration phylogénétique des différentes espèces d'*Opuntia*.

3.5.4.4 Sélection des amorces

Un lot de 11 amorces UBC (University of British Columbia) (Tableau 3.6) est testé sur les génotypes : (*O. ficus indica* , *O. engelmannii*). Seules les amorces générant des bandes stables et reproductibles et un degré de polymorphisme élevé sont retenues.

3.5.4.5 Conditions de l'amplification

Toutes les réactions sont réalisées dans un thermocycleur GeneAmp PCR-system 9700 en suivant le programme suivant : un cycle de dénaturation à 94° C pendant 30 secondes, suivi de 45 cycles de dénaturation à 94 °C pendant 5 secondes, une dénaturation surnuméraire à 92 °C pendant 20 secondes, une hybridation de l'amorce à l'ADN à 37 °C pendant 2 minutes, une phase d'élongation à 72 °C pendant une minute et une phase d'extension finale pendant 7 minutes à 72 °C.

Tableau 3.6 : Liste des amorces utilisées dans les réactions RAPD

N°	Amorce	Séquence de 5' à 3'	N°	Amorce	Séquence de 5' à 3'
1	UBC-226	GGGCCTCTAT	7	UBC-227	CTAGAGGTCC
2	UBC-241	GCCCGACGCG	8	UBC -261	CTGGCGTGAC
3	UBC-231	AGGGAGTTCC	9	UBC-246	TATGGTCCGG
4	UBC-232	CGGTGACATC	10	UBC-248	GAGTAAGCGC
5	UBC-212	GCTGCGTGAC	11	UBC-243	GGGTGAACCG
6	UBC-238	CTGTCCAGCA			

3.5.4.6 Visualisation des produits d'amplification

Les produits des différentes amplifications sont séparés par électrophorèse dans un gel d'agarose 1.6 % dans un tampon TAE 1 fois concentré (Tris- Acétate- EDTA) à raison de 3 V.cm⁻¹ et ce pendant deux heures.

Les bandes RAPD sont visualisées grâce à la présence du bromure d'éthidium dans le gel et sous les rayonnements ultraviolets émis par un transilluminateur. Les photos des gels sont prises par le système d'imagerie Biometra (Bio DOC II).

3.5.5 Traitements statistiques des données expérimentales

3.5.5.1 Discrétisation des données du génotypage

Les bandes amplifiées sont désignées en utilisant le code de l'amorce suivi en indice de sa taille en paires de bases. Seules les bandes polymorphes, intenses et stables sont comptabilisées en leur attribuant 1 pour leur présence et 0 pour leur absence.

L'ensemble des données est répertorié sur Excel en matrice rectangulaire sous forme de tableau : génotype / présence-absence du marqueur (1/0).

3.5.5.2 Paramètres statistiques liés au polymorphisme génétique

Afin de s'appréhender du degré du polymorphisme généré par les marqueurs RAPD, nous avons calculé le nombre total de bandes générées pour chaque amorce, le nombre de bandes polymorphes, le nombre de profils électrophorétiques, le degré de polymorphisme (DP) ainsi que le pouvoir de résolution des amorces (Rp).

Le degré de polymorphisme (DP) est calculé comme suit :

$$DP = \text{nombre de bandes polymorphes} / \text{nombre total de bandes} \times 100$$

Le pouvoir de résolution des amorces est estimé comme décrit par Prevost et Wilkinson (1999), en suivant la formule de Gilbert et al (1999) :

$$R_p = \sum I_b$$

$$\text{Avec : } I_b = 1 - (2 \times |0.5 - p|)$$

p : proportion des accessions contenant la bande polymorphe I.

3.5.5.3 Visualisation de la structuration phylogénétique des espèces d'*Opuntia*

A partir des données du génotypage RAPD réalisé sur les 5 espèces d'*Opuntia* soumises aux différents niveaux du stress salin, nous avons recherché une éventuelle structuration phylogénétique en fonction de leur proximité génétique en utilisant le logiciel Darwin (5.0 version) (<http://darwin.cirad.fr/darwin>).

Pour ce faire, nous avons effectué :

- ✓ Une clustérisation arborée sous forme de dendrogramme ;
- ✓ Une analyse multi-variée type AFC.

3.5.5.4 Classification hiérarchique

Les distances génétiques sont utilisées pour le calcul d'arbre en suivant la méthode UPGMA [126]. Le dendrogramme est ensuite construit par le logiciel DARWIN.

3.5.5.5 Analyse Factorielle de Correspondances

A partir des distances génétiques calculées, la structuration phylogénétique est visualisée par la projection des données individuelles des génotypes selon les axes 1 et 2 de l'AFC, présentant les pourcentages les plus élevés de la variation génétique, ce qui a permis l'éclatement des nuages de points et éventuellement la définition de la structuration de la diversité.

3.6 Essai de régénération *in vitro*

3.6.1 Objectif et matériel végétal

L'objectif de cette partie de travail est de traiter la capacité de germination *in vitro* et la capacité de régénération des graines de cinq espèces d'*Opuntia* (*O. ficus indica*, *O. amyoclea*, *O. streptacantha*, *O. robusta* et *O. engelmannii*) et d'étudier les comportements morphologiques et physiologiques des vitro-plants.

3.6.2 Choix et préparation du milieu de culture

Le milieu de culture que nous avons utilisé est celui de Murashige et Skoog (1962) (milieu MS) [127].

3.6.2.1 Les solutions mères des milieux de culture

Pour chaque produit entrant dans la composition du milieu nous avons utilisé des solutions concentrées (solution mères) de ces produits que l'on dilue de manière adéquate.

3.6.2.1.1 Préparation de la solution mère de macro-éléments et micro-éléments

Elle consiste à :

- Verser 600 ml d'eau distillée dans un bécher de 1L,
- Peser et dissoudre chacun des sels indiqués (A) en chauffant légèrement au besoin ,
- Transférer la solution dans un flacon de 1litre et compléter à 1litre avec l'eau distillée stérile,
- Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur (Tableau 3.7).

Tableau 3.7: Composition des milieux de culture utilisés (MS) (Macro-éléments et micro-éléments). (Solution mère A et B).

Eléments	mg/l	Prélèvement	Solution mère
Macro-éléments mg/l			
NH ₄ NO ₃	1650		
KNO ₃	1900		
Ca Cl ₂ , 2H ₂ O	440	50 ml	A
KH ₂ PO ₄	170		
MgSO ₄ , 7H ₂ O	370		
Micro-éléments mg/l			
Mn SO ₄ , H ₂ O	16.90		
H ₃ Bo ₃	6.20		
ZnSO ₄ , 7H ₂ O	8.60		
KI	0.83	20 ml	B
Na ₂ Mo ₄ , H ₂ O	0.25		
CuSO ₄ , 5H ₂ O	0.025		
CoCl ₂ , 6H ₂ O	0.025		

3.6.2.1.2 Préparation de la solution mère de Fe-EDTA

Elle consiste à

- Verser 600 ml d'eau distillée dans un bécher de 1L ;
- Ajouter quelques gouttes de NaOH et chauffer jusqu' à ébullition ;
- Couper la source de chaleur ;
- Ajouter le Na₂ EDTA (C) et mélanger jusqu'à dissolution ;
- Ajouter FeSO₄-7H₂O (C) ;

- Transférer la solution dans un flacon de 1 litre et compléter à 1 litre avec l'eau distillée ;
- Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur.

La présence du fer est nécessaire pour la croissance des plantes. Il est ajouté sous une forme chélate (Tableau 3.8).

Tableau 3.8 : Solution stock du fer EDTA. (Solution mère C).

Eléments	Mg/l	Prélèvement	Solution mère
Na ₂ EDTA	37.25 mg/l	10 ml	C
FesO ₄ , 7H ₂ O	27.85 mg/l		

3.6.2.1.3 Préparation de la solution mère des vitamines

Les vitamines sont des substances nécessaires à la croissance des explants. Il existe plusieurs solutions des vitamines élaborées par différents auteurs tels que les vitamines de MOREL (1951), utilisées au cours de notre expérimentation.

Elle consiste à :

- Peser 0.1 g de la solution vitaminique et les dissoudre dans quelques gouttes de solvant approprié (Tableau 3.9),
- Étendre avec un peu d'eau, vérifier l'état de solution et ajouter un peu de solvant au besoin,

Transférer la solution dans un flacon de 100 ml et compléter à 100 ml avec l'eau distillée puis le ranger au réfrigérateur et l'identifier.

Tableau 3.9 : Solution vitaminique de MOREL (1951). (Solution mère D).

Eléments	mg/100 ml	Prélèvement	Solution mère
Acide Glycine	0.2	10 ml	D
Acide Nicotinique	0.5		
Pyridoxine HCl	0.5		
Thiamine HCl	0.1		
Myo-inositol	100		

3.6.2.1.4 Source de carbone

La faible assimilation chlorophyllienne ou son absence en culture *in vitro* nécessite l'apport de carbone sous forme organique. C'est pourquoi il faut ajouter au milieu de culture les glucides nécessaires. La source de carbone est ajoutée sous forme de saccharose $C_{12}H_{22}O_{11}$ à une concentration de 30 g/l pour les étapes de micro-propagation fragmentation et l'enracinement.

3.6.2.1.5 La gélose

Pour la solidification des milieux de culture nous avons utilisé l'Agar-agar à raison de 8 g/l.

3.6.2.2 Préparation et stérilisation du milieu de culture

A partir de solutions mères préparées, on a pu préparer la solution finale, avec les concentrations exigées, selon le protocole suivant :

- Verser approximativement 600 ml d'eau distillée dans un bécher de 1l.
- Peser (30 g) et dissoudre le saccharose en chauffant légèrement au besoin.
- Ajouter le volume nécessaire de macroéléments, micro-éléments, FE-EDTA, les vitamines, les acides aminés et les hormones puis mélanger les différents éléments par agitation.
- Compléter à 1litre avec l'eau distillée.
- Ajuster le pH à 5.7 à 5.8 avec HCl (1N) ou NaOH (1N).
- Verser le milieu dans le bécher de 2 litres recouvert d'un papier d'aluminium.
- Ajouter l'Agar puis chauffer jusqu'à l'ébullition et que le milieu devienne clair (Le déposer sur une plaque chauffante : Chauffer et agiter).
- Verser dans des flacons ou des tubes de culture pour faire la stérilisation.

La stérilisation de milieu de culture, est assurée par l'autoclave à une température de 120° C, pendant 20 minutes. La technique de la culture *in vitro* exige cette température, afin de s'assurer de la destruction des spores endogènes des bactéries.

3.6.3 Préparation des graines et initiation de la culture

Avant la mise en culture, les graines subissent deux traitements différents : la stratification et la scarification.

3.6.3.1. Stratification

La stratification s'est fait autour des 4°C pendant 40 jours, ce qui permet d'éliminer la dormance des embryons [129]. Par la suite, les graines vides sont éliminées par un test densimétrique.

3.6.3.2. Scarification

Dans cette expérience on a réalisé deux types de scarifications :

3.6.3.2.1. Scarification mécanique

Après la stratification, les graines sont trempées dans de l'eau distillée, changée régulièrement pendant 24 heures, afin de ramollir l'épicarpe. Le mésocarpe dur est fissuré à l'aide des lames de scalpels.

3.6.3.2.2. Scarification chimique

- Trempage dans un bain d'acide sulfurique (H_2SO_4 95 %) pendant 1 heure à la température ambiante. Elles sont ensuite rincées à l'eau distillée 5 fois. Au dernier rinçage, les graines sont laissées en trempage dans l'eau distillée stérile pendant 30 minutes [130].
- Trempage dans un bain d'acide sulfurique (H_2SO_4 95 %) durant 30 minutes à la température ambiante. Elles sont ensuite rincées à l'eau distillée 5 fois. Au dernier rinçage, les graines sont laissées en trempage dans l'eau distillée stérile pendant 30 minutes [130].

3.6.3.3 Mise en culture

- Après la stérilisation des graines, des instruments et du milieu de culture, placer les graines stérilisées sur le papier filtre dans une boîte de Pétri stérile.
- Ouvrir un tube contenant 25 ml de milieu de culture à côté du bec Bunsen.
- À l'aide d'une pince stérile, on pose délicatement la graine dans le tube, en contact avec le milieu de culture.
- On flamme l'extrémité du tube et on ferme rapidement en prenant soin de ne pas toucher le bouchon du tube avec les mains.
- Afin d'éviter toute forme de contamination, les ouvertures des tubes sont flambées avant et après l'introduction du matériel végétal.
- Les tubes sont fermés bien avec des bouchons, pour éviter tout contact avec l'air (micro-organismes, spores, poussières...).

Tous les tubes sont placés dans une chambre de culture en condition contrôlée, photopériode (16 h de lumière), température (25 ± 1 °C).

3.6.4 Paramètres étudiés

3.6.4.1 Temps de latence (jours) : Qui représente le moment où la première graine germe, Il est exprimé par jours.

3.6.4.2 Taux de germination (%) : Il est exprimé par le rapport du nombre de graines germées sur le nombre total.

3.6.4.3 Nombre de racines : On comptera seulement le nombre de vraies racines.

3.6.4.4 Longueur de racine: Elle s'effectue sur la racine la plus longue.

3.6.4.5 Longueur des cladodes: Elle s'effectue avec un pied à coulisse.

3.6.4.6 Largeur des cladodes: Elle s'effectue avec un pied à coulisse.

3.6.4.7 Epaisseur des cladodes: Elle s'effectue avec un pied à coulisse.

3.6.5 Transplantation et acclimatation

Après l'apparition des jeunes cladodes, les différentes plantules sont transplantées dans des pots remplies de tourbe. Par la suite, elles sont entreposées dans la chambre de

culture où la température et la photopériode sont maintenues au seuil optimum de croissance selon les phases végétatives (16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité à 25 °C).

3.6.6 Analyse statistique des résultats

Une analyse de la variance au seuil 5 % est utilisée pour le traitement des résultats. La signification des résultats est exprimée en fonction de la probabilité. Le logiciel utilisé est le Stat Box v. 6.

CHAPITRE 4

RESULTATS ET DISCUSSIONS

4.1 Etude du polymorphisme phénotypique

4.1.1 Descripteurs phénologiques

L'examen des résultats montre une différence au niveau de l'époque du début floraison chez toutes les espèces étudiées. Le début floraison pour l'*Opuntia ficus indica* et l'*Opuntia amyacleae* a au lieu le 08 Mai, l'*Opuntia robusta* le 14 Mai, l'*Opuntia streptacantha* le 22 Mai et enfin l'*Opuntia engelmannii* le 01 Juin. Cette différence peut être expliquée par l'effet de l'interaction génotype environnement.

L'intervalle entre l'espèce la plus précoce et la plus tardive est de 14 jours. Cette différence est jugée importante par rapport aux conséquences attendues notamment les conditions environnementaux.

Le début de maturation des fruits varie du 26 Juillet chez l'*Opuntia ficus indica* et l'*Opuntia amyacleae* au 05 Août pour l'*Opuntia streptacantha*, le 10 Août chez l'*Opuntia robusta* et le 25 Septembre pour l'*Opuntia engelmannii*.

D'après les résultats obtenus au cours de cette étude, nous remarquons une variabilité au niveau de l'époque du début floraison et au début de maturation des fruits chez les différentes espèces. Cette variabilité est probablement d'origine génétique et environnemental. Les résultats concordent avec ceux obtenus par Wallali (1998), dans la région de Tiznit (Maroc). Ainsi, la floraison de la variété Aissa commence au mois de Mars alors que pour la variété Moussa, au mois de Mai. La variété Aissa est précoce, cela est dû au caractère variétal de ce cultivar [131]. Concernant le début de maturation des fruits, Khouri (1970), note que la maturité est généralement estivale ou automnale. Certaines variétés sont très précoces alors que d'autres très tardives.

En effet, les stades phénologiques (début floraison, début de maturation des fruits), varient en fonction de l'espèce, des conditions pédoclimatiques et l'exposition au soleil, donc ils varient d'une région à l'autre sous l'effet l'interaction génotype environnement.

Les bourgeons floraux se développent rapidement sur la surface la plus éclairée de la cladode. L'intervalle entre les espèces précoces et tardives est de l'ordre de 2 mois [34]. Cette longue différence pourrait ouvrir de large possibilité pour une meilleure gestion de ces variétés quant à l'extension et à la commercialisation [34].

4.1.2 Descripteurs qualitatifs

Le port de toutes les espèces étudiées est dressé, ce qui explique que la forme de port est liée à un caractère génétique de l'espèce (Tableau 4.1).

La forme du cladode varie d'une espèce à l'autre, elle est elliptique large pour l'*Opuntia ficus indica* et l'*Opuntia amyacleae* large pour l'*Opuntia streptacantha*, losangique pour l'*Opuntia engelmannii* et circulaire pour l'*Opuntia robusta* (Tableau 4.1, Figure 4.1).

La couleur de la cladode varie du vert bleuâtre chez l'*Opuntia robusta* à vert jaunâtre pour l'*Opuntia engelmannii* (Tableau 4.1, Figure 4.1). Les cladodes sont des articulations charnues de formes et de couleurs variables [62].

Les glochides sont marrons chez l'*Opuntia amyacleae* et jaune pour les autres espèces (Tableau 4.1).

Pour les aréoles la couleur des est marron chez l'*Opuntia ficus indica* et l'*Opuntia amyacleae*, noire chez l'*Opuntia robusta* et grise chez les autres espèces (Tableau 4.1).

Pour les épines, la couleur principale est jaune chez l'*Opuntia engelmannii* et blanche pour l'*Opuntia amyacleae*, l'*Opuntia streptacantha* et l'*Opuntia robusta* (Tableau 4.1).

Le port de l'aiguillon central est horizontal et présente une courbure mais pas de torsion chez l'*Opuntia streptacantha*. Il est érigé et ne présente ni courbure ni torsion chez les autres espèces (Tableau 4.1).

La variété inerme peut devenir épineuse lorsqu'elle est transportée brusquement dans un autre environnement, comme ce fut le cas en 1964, lorsque l'*Opuntia* est transféré de la Tunisie au Togo [59]. Il est observé le même phénomène dans les zones désertiques; la variété inerme qui se comporte bien dans ces zones devient épineuse dès la deuxième année [59].

Ces résultats mettent en évidence l'influence de génotype. La couleur des cladodes peut être influencée par des conditions externes telles que: la fertilité du sol, la température, la pluviométrie et le facteur temps, puisque nous avons remarqué que la couleur des cladodes change d'une saison à l'autre et devient très claire chez toutes les espèces pendant l'été. La persistance de la couleur claire au moment de la maturation des fruits, est due au manque de pluviométrie et à l'épuisement des réserves des cladodes vers les fruits.

Le phénotype, change considérablement selon les conditions écologiques et l'origine génétique de l'espèce [132].

Nous pouvons conclure que l'interaction génotype-environnement joue un rôle fondamental dans la détermination des caractères morphologiques de chaque espèce.

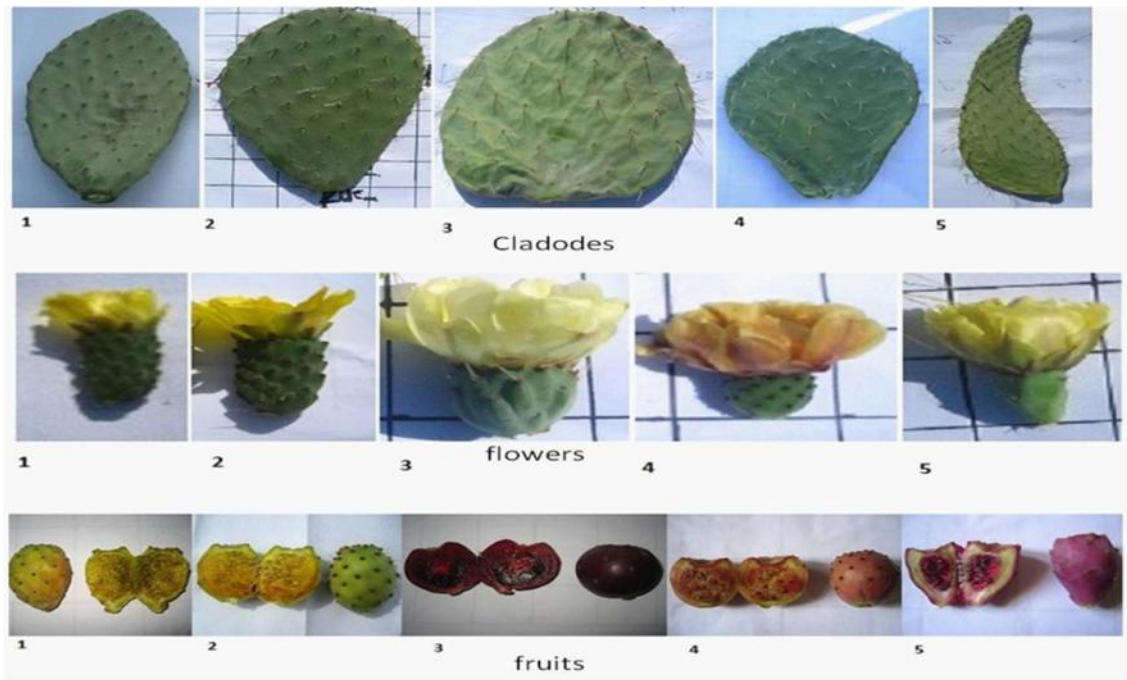
De plus, l'examen des résultats nous montre que la couleur du périanthe des espèces étudiées varie de l'orange chez l'*Opuntia streptacantha* au jaune pour les autres espèces (Tableau 4.1, Figure 4.1).

La couleur du style est une couleur rose blanchâtre pour l'*Opuntia ficus indica*, rose pour l'*Opuntia amyckae*. Elle est rouge chez l'*Opuntia streptacantha*, verte chez l'*Opuntia engelmannii* et blanche pour l'*Opuntia robusta* (Tableau 4.1).

La couleur du lobe de stigmates varie de blanche chez l'*Opuntia engelmannii*, à jaune pour l'*Opuntia robusta* et verte pour les autres espèces (Tableau 4.1).

Tableau 4.1 : Descripteurs qualitatifs des différentes espèces étudiées.

Descripteurs	<i>O. ficus indica</i>	<i>O. amycleae</i>	<i>O. streptacantha</i>	<i>O. robusta</i>	<i>O. engelmannii</i>
Port	Dressé	Dressé	Dressé	Dressé	Dressé
Forme	Elliptique large	Elliptique large	Obovale large	Circulaire	Losangique
Couleur	Verte moyen	Verte glauque	Verte claire	Verte bleuâtre	Verte jaunâtre
Couleur des glochides sur cladode	Absente	Marron	Jaune	Jaune	Jaune
Couleur des aréoles	Marron	Marron	Grise	Noire	Grise
Couleur principale des épines	Absente	Blanche	Blanche	Blanche	Jaune
Port de l'aiguillon central	Absente	Erigé	Horizontal	Erigé	Erigé
Courbure de l'aiguillon central (sauf la base)	Absente	Absente	Présente	Absente	Absente
Aiguillon central torsion	Absente	Présente	Absente	Absente	Absente
Couleur du périanthe	Jaune	Jaune	Orange	Jaune claire	Jaune-verdâtre
Couleur du style	Rose-blanchâtre	Rose	Rouge	Blanche	Jaune
Couleur du lobe du stigmaté	Verte-claire	Verte-claire	Verte-claire	Jaune	Verte
Couleur des glochides sur fruit	Jaune	Jaune	Marron	Jaune	Jaune
Forme	Elliptique	Elliptique	Circulaire	Aplati	Elliptique étroite
Longueur du pédoncule	Courte	Courte	Courte	Courte	Longue
Dépression de cicatrice du réceptacle	Modérément déprimée	Modérément déprimée	Fortement déprimée	Fortement déprimée	Nulle ou légèrement déprimée
Couleur principale de la surface	Jaune à orange	Jaune à orange	Rouge	Rouge	Rouge
Uniformité de la couleur de la surface	Irrégulière	Irrégulière	Irrégulière	Uniforme	Uniforme
Couleur de la chair	Jaune	Jaune	Rouge jaunâtre	Violette	Rouge foncé



1: *Opuntia ficus indica*, 2: *Opuntia amycleae*, 3: *Opuntia robusta*,
4: *Opuntia streptacantha*, 5: *Opuntia engelmannii*

Figure 4.1 : cladodes, fleurs et fruits des différentes espèces d'*Opuntia* étudiées (personnel)

En effet, la variation des caractères morphologiques de la fleur est liée au caractère génétique. Les fleurs des cactus sont tout à fait variables et qu'il a quelques dispositifs généraux qui sont partagés par la famille entière [4]. Les fleurs sont généralement de couleurs brillantes, le plus souvent jaunes, orange ou rougeâtres [4]. Wessels et Swart (1989), ajoutent que parfois la couleur est rose.

Durant cette étude, nous avons remarqué que la couleur du périanthe change vers l'orange après la fécondation chez toutes les espèces étudiées. Ces résultats sont conformes avec ceux de Kartez (1996) et qui note que les fleurs de couleur jaunes changent à l'orange ou au rose après la fécondation.

La couleur des glochides sur fruit est marron chez l'*Opuntia streptacantha* et jaune chez les autres espèces (Tableau 4.1).

La forme des fruits est elliptique pour l'*Opuntia ficus indica* l'*Opuntia amycleae*, de forme circulaire pour l'*Opuntia streptacantha*, elliptique étroite pour l'*Opuntia engelmannii* et aplati pour l'*Opuntia robusta* (Tableau 4.1, Figure 4.1). Ces résultats sont conformes à ceux celle rapportés par Khouri (1970) ; les fruits présentent des formes variables, sphériques, ovoïde, pyriforme.

La longueur du pédoncule est courte chez toutes les espèces sauf chez l'*Opuntia engelmannii* qui est longue (Tableau 4.1, Figure 4.1).

La couleur de la surface varie du jaune à orange irrégulière pour l'*Opuntia ficus indica*, de couleur rouge irrégulière chez l'*Opuntia streptacantha* et de couleur rouge uniforme chez l'*Opuntia robusta* et l'*Opuntia engelmannii* (Tableau 4.1, Figure 4.1).

La couleur de la chair est jaune chez l'*Opuntia ficus indica* et l'*Opuntia amycleae*, rouge jaunâtre chez l'*Opuntia streptacantha*, rouge foncé chez l'*Opuntia engelmannii* et de couleur violette chez l'*Opuntia robusta* (Tableau 4.1, Figure 4.1). La couleur de la chair peut être verdâtre, jaune orange et même rouge [13].

D'après les résultats obtenus, nous constatons qu'il y a une différence entre les espèces au niveau de quelques caractères morphologiques alors que certaines espèces montrent une ressemblance au niveau des autres caractères (longueur du pédoncule).

4.1.3 Descripteurs quantitatifs

4.1.3.1 Cladode

Les résultats relatifs aux descripteurs du cladode sont montrés dans le tableau 4.2.

4.1.3.1.1 Longueur du cladodes (cm)

L'analyse de la variance montre une différence très hautement significative concernant la longueur des cladodes des espèces expérimentées (Tableau 1, appendice B).

Tableau 4.2: Descripteurs quantitatifs des cladodes et des fleurs des différentes espèces étudiées.

Descripteurs	<i>O. ficus indica</i>	<i>O. amycleae</i>	<i>O. streptacantha</i>	<i>O. robusta</i>	<i>O. engelmannii</i>	Proba.	Signi.
Longueur du cladode (cm)	37.15 ± 0.25 B	37.25 ± 0.25 B	27.07 ± 0.14 D	29.07 ± 0.16 C	43.71 ± 1.28 A	0.00	***
Largeur du cladode (cm)	20.0 ± 0.62 D	21.84 ± 0.62 B	20.43 ± 0.41 C	28.97 ± 0.16 A	13.48 ± 0.33 E	0.00	***
Epaisseur du cladode (cm)	1.24 ± 0.04 C	1.27 ± 0.04 B	1.01 ± 0.06 D	1.39 ± 0.02 A	0.93 ± 0.05 E	0.00	***
Long / Larg du cladode	1.86 ± 0.02 B	1.71 ± 0.05 C	1.33 ± 0.03 D	1 ± 0.01 E	3.24 ± 0.12 A	0.00	***
Nombre des spirales d'aréole	10.07 ± 0.25 B	10.2 ± 0.41 B	9 ± 0 C	6 ± 0 D	14.9 ± 1.73 A	0.00	***
Nombre d'épines par areole	0.10 ± 0.31 D	2.50 ± 0.63 B	2 ± 0.64 C	1.8 ± 0.61 C	3 ± 0.74 A	0.00	***
Longueur de l'épine la plus longue (cm)	0.06 ± 0.21 E	2.57 ± 0.18 C	1.7 ± 0.22 D	2.7 ± 0.26 B	4.69 ± 0.32 A	0.00	***
Nombre de couleurs d'épine	1 ± 0.0 B	1.0 ± 0.0 B	2.0 ± 0.0 A	2.0 ± 0.0 A	1.0 ± 0.0 B	0.00	***
Nombre de fleurs par cladode	11.0 ± 0.83 B	9.5 ± 1.04 C	11.5 ± 0.97 A	3.1 ± 0.61 E	6.3 ± 0.7 D	0	***
Longueur des fleurs (cm)	8.48 ± 0.16 B	8.5 ± 0.16 B	8.1 ± 0.27 C	7.5 ± 0.17 D	9.39 ± 0.26 A	0	***
Nombre des lobes du stigmate	7.97 ± 0.18 C	7.93 ± 0.25 C	9.93 ± 0.25 A	8.9 ± 0.31 B	6 ± 0.0 D	0	***

Proba. >0.05 ne sont pas significatifs (ns); Proba ≤ 0.05 significatif (*); Proba ≤ 0.01 hautement significatif (**); Proba ≤ 0.001 très hautement significatif (***). Pour chaque descripteur les valeurs portant les mêmes lettres sont statistiquement égales

Le test de NEWMEN-KEULS nous permet de distinguer les groupes homogènes suivants (Tableau 4.2, Figure 4.2):

Groupe A : *O. engelmannii* avec une longueur moyenne de 43.71 cm;

Groupe B : *O. amycleae* (37.25 cm) et l'*O. ficus indica* (37.15 cm);

Groupe C : *O. robusta* avec une longueur de 29.07 cm;

Groupe D : *O. streptacantha*, avec une longueur moyenne de 27.07 cm;

D'après nos résultats, nous avons enregistré une gamme de longueur des cladodes pour les différentes espèces étudiées (27.07 cm, pour l'*O. streptacantha* à 43.71 cm, chez l'*O. engelmannii*) qui est plus importante comparativement aux données rapportées par Khouri (1970). Ce dernier note que la longueur des raquettes chez l'*Opuntia polyacantha* varie de 5 à 10 cm de long, alors que les raquettes de l'*Opuntia humifosa*, ont une longueur variant de 5 à 12 cm.

4.1.3.1.2 Largeur des cladodes (cm)

D'après l'analyse de la variance des résultats trouvés (Tableau 1, appendice B), nous enregistrons une différence très hautement significative concernant la longueur des cladodes des espèces expérimentées.

Le test de NEWMEN-KEULS classe les espèces en 5 groupes homogènes; la plus grande valeur est enregistrée chez l'*O. robusta* (28,97 cm), alors que l'*O. engelmannii* montre la valeur la plus faible (13,48 cm) (Tableau 4.2, Figure 4.2).

4.1.3.1.3 Epaisseur des cladodes (cm)

Selon l'analyse de la variance, il existe une différence très hautement significative entre les espèces (Tableau 1, appendice B). Le test de NEWMEN-KEULS classe les espèces en ordre décroissant en 5 groupes homogènes (Tableau 4.2, Figure 4.2):

Groupe A : *Opuntia robusta* (1.39 cm).

Groupe B : *Opuntia amycleae* (1.27 cm)

Groupe C : *O. ficus indica* (1.24 cm)

Groupe D : *Opuntia streptacantha* (1.01 cm).

Groupe E : *Opuntia engelmannii* (0.93 cm).

4.1.3.1.4 Rapport longueur / largeur des cladodes

Il ressort de l'analyse du rapport longueur/largeur des cladodes une différence très hautement significative entre les différentes espèces étudiées (Tableau 1 ; Appendice B).

Le plus grand rapport est enregistré chez l'*O. engelmannii* (3,24), et le rapport le plus faible est enregistré chez l'*O. robusta* avec une valeur moyenne est égale 1 (Tableau 4.2).

4.1.3.1.5 Nombre des séries d'aréoles dans la cladode

L'analyse de la variance fait ressortir une différence très hautement significative entre les espèces expérimentées (Tableau 1, appendice B). Les espèces sont classées individuellement sauf celles qui se trouvent dans le même groupe, où quatre groupes ont été établis :

Groupe A : *O. engelmannii*;

Groupe B : *O. ficus indica* et l'*O.amycleae*;

Groupe C : *O. streptacantha*;

Groupe D : *O. robusta* (Tableau 4.2).

4.1.3.1.6 Nombre d'épines par aréole

L'analyse de la variance révèle une différence très hautement significative concernant le nombre d'épines par aréole des espèces étudiées (Tableau 1, appendice B). Les espèces se différencient significativement et le test de NEWMEN-KEULS permet de classer les espèces en quatre groupes homogènes (Tableau 4.2, Figure 4.2):

Groupe A : *O. engelmannii* ;

Groupe B : *O.amycleae* ;

Groupe C : *O. streptacantha* et l'*O. robusta* ;

Groupe D : *O. ficus indica*.

La variété marocaine Achfri est caractérisée par des épines longues et une densité de 3 épines par aréole [59]. Ces résultats sont en conformité avec nos résultats chez l'*Opuntia engelmannii* qui présentent une moyenne de trois épines par aréole.

4.1.3.1.7 Longueur de l'épine la plus longue (cm)

L'analyse de la variance montre une très grande différence significative entre les espèces étudiées (Tableau 1, appendice B). Le test de NEWMEN-KEULS donne cinq groupes homogènes (Tableau 4.2, Figure 4.2):

Groupe A : *O. engelmannii* avec une valeur de 4.69 cm ;

Groupe B : *O. robusta* (2.7 cm) ;

Groupe C *O.amycteleae* avec une longueur est égale 2.57 cm ;

Groupe D : *O. streptacantha* avec une longueur moyenne de 1.7 cm ;

Groupe E : *O. ficus indica* (0.06 cm).

Ces résultats confirment ceux de Kenny (1998), qui note que chez l'*Opuntia humifosa*, les épines mesurent de 2 à 3 cm de long. Comparativement à l'*Opuntia polyacantha* où les épines sont de longueurs variables et atteignent jusqu'à 5,5 cm.

4.1.3.1.8 Nombre des couleurs d'épine

L'analyse de la variance montre une différence très hautement significative concernant le nombre des couleurs des épines des espèces expérimentées (Tableau 1, appendice B).

Les résultats trouvés montrent que l'*O. streptacantha* et l'*O. robusta* se caractérisent par deux couleurs sur l'épine, à l'inverse des autres espèces qui présentent une seule couleur (Tableau 4.2).

Pour l'*Opuntia ficus indica*, les épines ont une surface rude, la couleur des épines est différente. Pour les cactacées en général, la couleur des épines jeunes, varie du blanc ou presque translucide à jaune, brun, rose, orange, gris ou presque noire. Après, la couleur passe habituellement vers une nuance sombre. Les épines individuellement peuvent être multicolores [68].

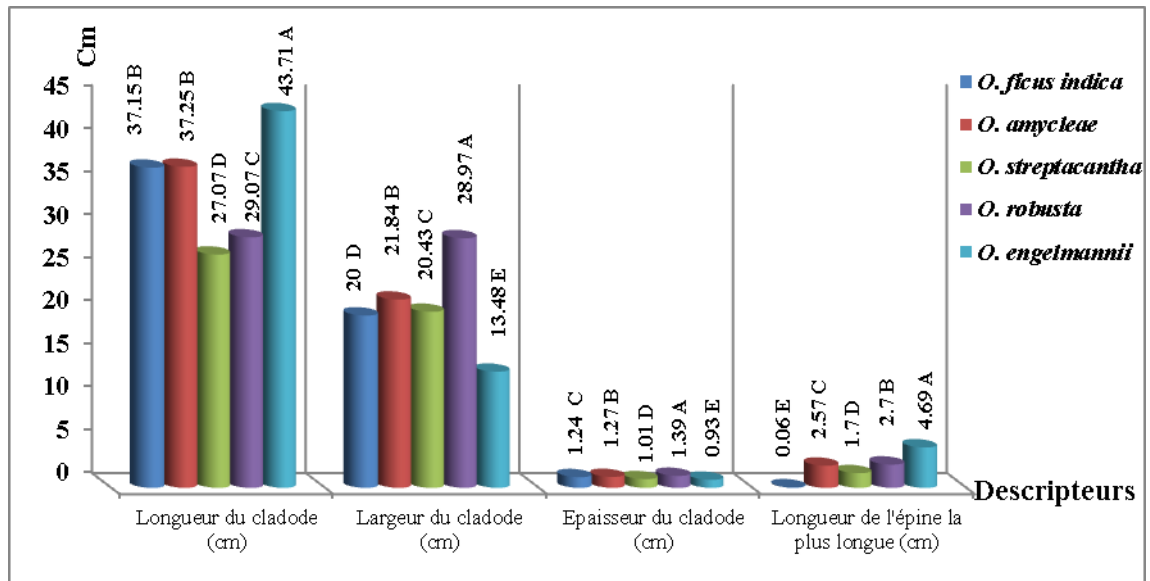


Figure 4.2 : Résultats des descripteurs quantitatifs des cladodes des espèces étudiées.

Les descripteurs quantitatifs biométriques des cladodes varient d'une espèce à une autre, cette variabilité serait due à l'interaction de génotype-environnement.

La longueur des cladodes des différentes espèces étudiées varie de 27.07 cm à 43.71 cm et une variation de 13.48 cm à 28.97 cm pour la largeur avec un rapport de longueur sur largeur variant de 1 à 3.24. Ces cladodes sont soit absolument inermes, à aiguillons plus ou moins rares, épineuses ou très épineuses dont le nombre d'aréoles dans la rangée centrale du cladode. Le nombre des épines/aréole et la longueur des épines varient respectivement de 0.1 à 3 et de 0.06 cm à 4.69 cm. Ces épines ont un nombre de couleur variant de 1 à 2 couleurs par épine.

D'après l'exploitation de nos résultats, nous enregistrons que chez toutes les espèces examinées, les paramètres des cladodes sont influencés par le génotype de chaque espèce

et les conditions de l'environnement. Ce qui nous laisse supposer que les paramètres des cladodes examinés sont affectés par l'interaction génotype-environnement.

4.1.3.2 Fleurs

Les résultats relatifs aux descripteurs de la fleur sont présentés dans le tableau 4.2.

4.1.3.2.1 Nombre des fleurs par cladode

Le nombre des fleurs par cladode le plus élevé est enregistré au niveau de l'*O. streptacantha* avec une moyenne de 11.5 fleurs par cladode, suivi par l'*O. ficus indica* (11 fleurs par cladode), l'*O. amycleae* (9.5 fleurs par cladode). Alors que l'*Opuntia robusta* présente le nombre le plus faible des fleurs par cladode avec une moyenne de 3.1 fleurs par cladode (Tableau 4.2, Figure 4.3).

L'analyse de la variance du nombre des fleurs par cladode révèle une différence très hautement significative entre les espèces expérimentées (Tableau 1, appendice B).

4.1.3.2.2 Longueur de la fleur (cm)

D'après l'analyse de la variance, les espèces sont significativement très différentes concernant la longueur de la fleur (Tableau 1, appendice B). Les longueurs des fleurs sont classées d'après le test de NEWMEN-KEULS dans un ordre décroissant en quatre groupes (Tableau 4.2, Figure 4.3):

Groupe A : *O. engelmannii* avec une longueur de 9.39 cm ;

Groupe B : *O. amycleae* et l'*O. ficus indica* avec des longueurs de 8.50 cm et 8.48 respectivement;

Groupe C : *O. streptacantha* avec une longueur moyenne de 8.1 cm ;

Groupe D : *O. robusta* avec une longueur moyenne de 7.5 cm.

4.1.3.2.3 Nombre des lobes du stigmate

L'analyse de la variance du nombre des lobes du stigmate montre qu'il y a une différence très hautement significative entre les espèces étudiées (Tableau 1, appendice B). Le test de NEWMEN-KEULS nous a permis de classer les espèces étudiées en quatre groupes homogènes différents (Tableau 4.2, Figure 4.3):

Groupe A : *O. streptacantha* ;

Groupe B : *O. robusta* ;

Groupe C : *O. ficus indica* et l'*Opuntia amycleae*;

Groupe D : *O. engelmannii*;

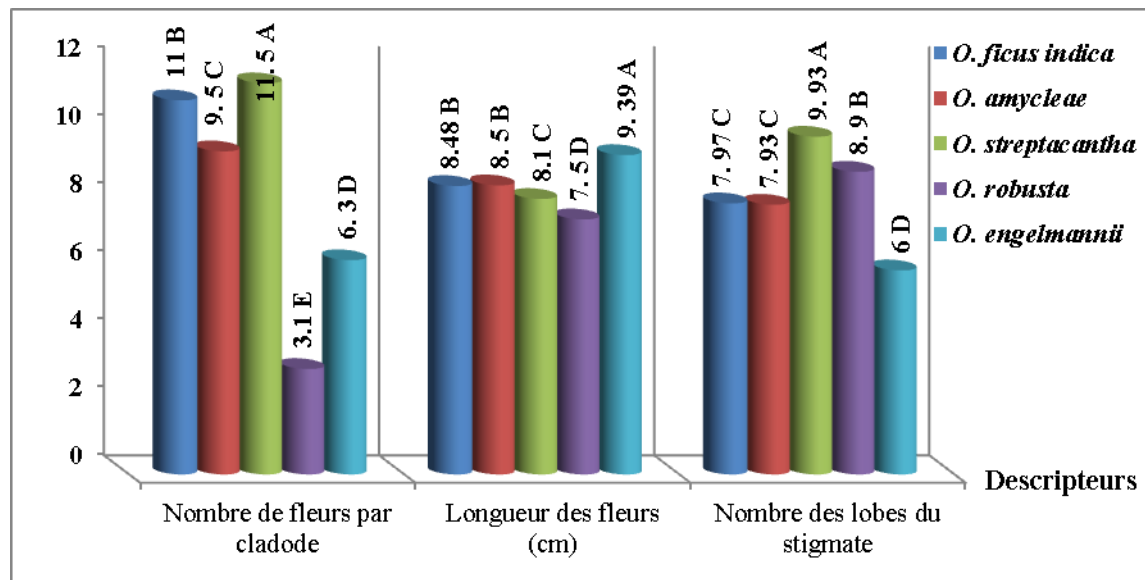


Figure 4.3 : Variation des descripteurs quantitatifs des fleurs des espèces étudiées.

4.1.3.2.4 Discussion

Les résultats obtenus mettent en évidence la variabilité nettement visible entre les espèces inventoriées. Cette variabilité est à l'origine de l'interaction des facteurs génotype environnement.

En effet, le nombre des fleurs par cladode varie selon l'aptitude génétique de l'espèce à la floraison. Aussi, leur fertilité est influencée par l'âge de la plante. La plupart

des espèces d'*Opuntia* produisent des fleurs que des nouvelles cladodes après les dix premières années de plantation [133].

Concernant la longueur de la fleur et le nombre des lobes du stigmate, la variabilité est due probablement au facteur génétique.

4.1.3.3 Fruits

Les résultats relatifs aux descripteurs des fruits sont présentés dans le tableau 4.3.

4.1.3.3.1 Longueur du fruit (cm)

L'analyse de la variance révèle une différence très hautement significative entre les espèces (Tableau 2, appendice B) concernant la longueur du fruit. Les espèces étudiées sont individualisées dans cinq groupes homogènes différents selon le test de NEWMEN-KEULS (Tableau 4.2):

Groupe A: *O. amycleae* (6.76 cm);

Groupe B: *O. ficus indica* (6.19 cm) ;

Groupe C: *O. robusta* (5.17 cm);

Groupe D: *O. engelmannii* (4.96 cm);

Groupe E: *O. streptacantha* (4.5 cm).

4.1.3.3.2 Largeur du fruit (cm)

L'analyse de la variance de la largeur du fruit faire ressortir, une différence très hautement significative (Tableau 2, appendice B). D'après le test de NEWME-KEULS, la largeur la plus élevée est enregistrée chez l'*O. robusta* avec une valeur moyenne de 6.34 cm, alors que la largeur la plus faible est observée au niveau de l'*O. engelmannii* avec une valeur de 2.5 cm (Tableau 4.3).

Tableau 4.3: Descripteurs quantitatifs des fruits des différentes espèces étudiées.

Descripteurs	<i>O. ficus indica</i>	<i>O. amyclae</i>	<i>O. streptacantha</i>	<i>O. robusta</i>	<i>O. engelmannii</i>	Proba.	Signi.
Longueur (cm)	6.19 ± 0.11 B	6.76 ± 0.18 A	4.5 ± 0.12 E	5.17 ± 0.04 C	4.96 ± 0.13 D	0	***
Largeur (cm)	3.93 ± 0.12 C	4.4 ± 0.16 B	3.82 ± 0.1 D	6.34 ± 0.13 A	2.5 ± 0.14 E	0	***
Epaisseur (cm)	3.66 ± 0.11 C	4.04 ± 0.1 B	3.61 ± 0.18 C	5.41 ± 0.14 A	2.44 ± 0.11 D	0	***
Diamètre géométrique (cm)	4.46 ± 0.07 C	4.93 ± 0.04 B	3.96 ± 0.08 D	5.62 ± 0.06 A	3.11 ± 0.06 E	0	***
Sphéricité des fruits (cm ²)	0.72 ± 0.02 D	0.73 ± 0.02 C	0.88 ± 0.02 B	1.09 ± 0.02 A	0.63 ± 0.02 E	0	***
Surface de la peau (cm ²)	62.63 ± 2.09 C	76.42 ± 1.09 B	49.27 ± 1.94 D	99.18 ± 2.04 A	30.42 ± 1.1 E	0	***
Poids du fruit (g)	76.41 ± 2.54 C	92.47 ± 1.32 B	59.13 ± 2.33 D	123.98 ± 2.55 A	36.81 ± 1.34 E	0	***
Poids de la pulpe (g)	49.36 ± 1.83 C	58.59 ± 0.77 B	28.69 ± 1.03 D	63.64 ± 1.26 A	9.2 ± 0.33 E	0	***
Poids de la peau (g)	23.69 ± 0.79 E	29.59 ± 0.42 B	27.79 ± 1.09 C	53.93 ± 1.11 A	25.29 ± 0.95 D	0	***
Poids de la pulpe (%)	64.6 ± 0.81 A	63.37 ± 0.81 B	48.53 ± 0.51 D	51.33 ± 0.65 C	25 ± 0.0 E	0	***
Poids de la peau (%)	31 ± 0.0 E	32 ± 0.0 D	47 ± 0.0 B	43.5 ± 0.0 C	68.7 ± 0.04 A	0	***
Epaisseur de la peau (cm)	0.54 ± 0.02 C	0.6 ± 0.01 B	0.49 ± 0.02 D	0.64 ± 0.01 A	0.6 ± 0.02 B	0	***

Proba. >0.05 ne sont pas significatifs (ns); Proba ≤ 0.05 significatif (*); Proba ≤ 0.01 hautement significatif (**); Proba ≤ 0.001 très hautement significatif (***). Pour chaque descripteur les valeurs portant les mêmes lettres sont statistiquement égales.

4.1.3.3.3 Epaisseur du fruit (cm)

L'analyse de la variance fait ressortir une différence très hautement significative entre les espèces étudiées (Tableau 2, appendice B). Le test de NEWMEN-KEULS met en évidence quatre groupes homogènes :

Groupe A : représenté par l'*Opuntia robusta* qui montre la plus grande épaisseur du fruit avec une épaisseur de 5.41 cm ;

Groupe B : *Opuntia amycleae* (4.04 cm) ;

Groupe C : *Opuntia ficus indica* (3.66 cm) et l'*Opuntia streptacantha* (3.61 cm) ;

Groupe D : *Opuntia engelmannii* qui présente une faible épaisseur avec une moyenne de 2.44 cm (Tableau 4.3).

4.1.3.3.4 Diamètre géométrique (cm)

L'analyse de la variance révèle une différence très hautement significative entre les espèces étudiées (Tableau 2, appendice B). Le test de NEWMEN-KEULS nous a permis de distinguer cinq groupes homogènes différents (Tableau 4.3):

Groupe A: *Opuntia robusta* (5.62 cm) ;

Groupe B : *Opuntia* (4.93 cm) ;

Groupe C : *Opuntia ficus indica* (4.46 cm) ;

Groupe D: *Opuntia streptacantha* (3.96 cm) ;

Groupe E : *Opuntia engelmannii* (3.11 cm).

4.1.3.3.5 Sphéricité des fruits (cm²)

Il existe une différence très hautement significative entre les espèces selon l'analyse de la variance (Tableau 2, appendice B). Le test de NEWMEN-KEULS nous a permis de classer les espèces en cinq groupes homogènes. En effet, l'*O. robusta* présente la valeur la plus élevée avec une moyenne de 1.09 cm², suivie par l'*Opuntia streptacantha* (0.88 cm²), l'*O. amycleae* (0.73 cm²), l'*O. ficus indica* (0.72 cm²) et en fin l'*O. engelmannii* avec une moyenne de 0.63 cm² (Tableau 4.3).

4.1.3.3.6 Surface de la peau (cm²)

D'après l'analyse de la variance, les espèces étudiées sont significativement très différentes concernant la surface de la peau (Tableau 2, appendice B). La surface de la peau des espèces étudiées est classée d'après le test de NEWMEN-KEULS dans un ordre décroissant en cinq groupes homogènes différents (Tableau 4.3) :

- Groupe A : *O. robusta* avec une valeur de 99.18 cm² ;
- Groupe B : *O. amycteleae* avec une surface moyenne de 76.42 cm² ;
- Groupe C : *O. ficus indica* avec une moyenne de 62.63 cm² ;
- Groupe D : *O. streptacantha* avec une moyenne de 49.27 cm² ;
- Groupe E : *O. engelmannii* avec une surface moyenne de 30.42 cm².

4.1.3.3.7 Poids du fruit (g)

L'analyse de la variance nous montre que les résultats sont significativement très différents (Tableau 2, appendice B). D'après le test de NEWMEN-KEULS, les espèces étudiées sont classées individuellement en cinq groupes homogènes :

- Groupe A : *O. robusta* (123.98 g) ;
- Groupe B : *O. amycteleae* (92.47 g) ;
- Groupe C : *O. ficus indica* (76.41 g) ;
- Groupe D : *O. streptacantha* (59.13 g) ;
- Groupe E : *O. engelmannii* (36.81 g) (Tableau 4.3).

4.1.3.3.8 Poids de la pulpe (g)

L'analyse de la variance du poids de la pulpe nous permet de constater une différence très hautement significative entre les espèces (Tableau 2, appendice B).

Selon le test de NEWMEN-KEULS, le poids de la pulpe le plus élevé est enregistré chez l'*O. robusta* avec un poids moyen de 63.64 g, suivi par l'*O. amycteleae* (58.59 g), l'*O.*

ficus indica (49.36 g), l'*O. streptacantha* (28.69 g). Alors que l'*Opuntia engelmannii* présente le poids de la pulpe le plus faible avec une moyenne de 9.2 g (Tableau 4.3).

4.1.3.3.9 Poids de la peau (g)

L'analyse de la variance relative au poids de la peau nous révèle des résultats très hautement significatifs (Tableau 2, appendice B). Le test de NEWMEN-KEULS nous a permis de distinguer cinq groupes homogènes différents (Tableau 4.3):

- Groupe A: *Opuntia robusta* (53.93 g) ;
- Groupe B : *Opuntia* (29.59 g) ;
- Groupe C : *Opuntia streptacantha* (27.79) ;
- Groupe D: *Opuntia engelmannii* (25.29) ;
- Groupe E : *Opuntia ficus indica* (23.69 g).

4.1.3.3.10 Poids de la pulpe en %

Il ressort de l'analyse de la variance sur le poids de la pulpe qu'il y'a une différence très hautement significative (Tableau 2, appendice B).

Selon le test NEWMEN-KEULS, le pourcentage du poids de la pulpe le plus élevé est enregistré au niveau du groupe homogène A, représenté par l'*O. ficus indica* avec un pourcentage moyen est égal à 64.6 %, suivi de l'*O. amycleae* (63.37 %) puis l'*O. robusta* (51.33 %), l'*O. streptacantha* (48.53 %). Par contre, l'*O. engelmannii* présente la valeur la plus faible (25 %) représenté par le groupe homogène E (Tableau 4.3, Figure 4.4).

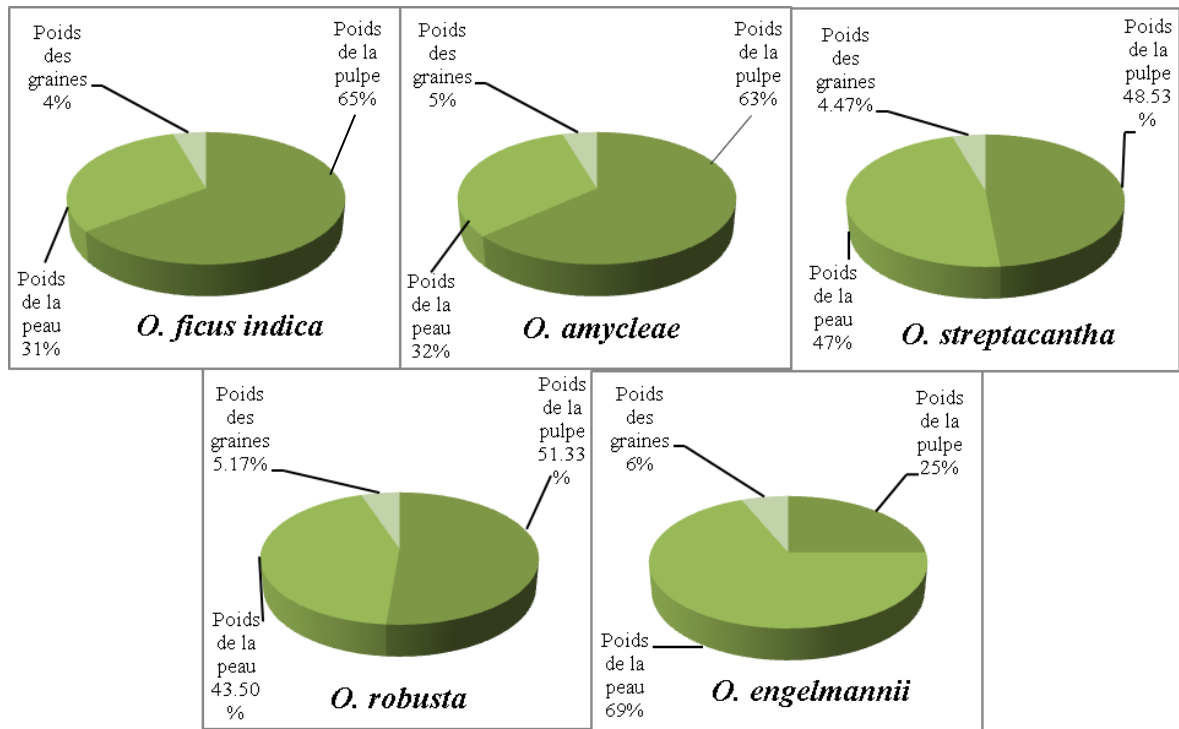


Figure 4.4: Poids en pourcentage de la pulpe, de la peau et des graines par fruit des différentes espèces étudiées.

4.1.3.3.11 Poids de la peau en %

D'après l'analyse de la variance du pourcentage du poids de la peau, nous constatons qu'il existe une différence très hautement significative entre les différentes espèces étudiées (Tableau 2, appendice B). D'après le test de NEWMEN-KEULS, les espèces étudiées sont classées individuellement en cinq groupes homogènes (Tableau 4.3, Figure 4.4):

Groupe A : *O. engelmannii* (68.7 %) ;

Groupe B : *O. streptacantha* (47 %) ;

Groupe C : *O. robusta* (43.5 %) ;

Groupe D : *O. amycleae* (32 %) ;

Groupe E : *O. ficus indica* (31 %)

4.1.3.3.12 Epaisseur de la peau (cm)

L'analyse de la variance relative à l'épaisseur de la peau montre une différence très hautement significatives entre les espèces expérimentées (Tableau 2, appendice B).

Le test de NEWMEN-KEULS nous a permis de classer les espèces en trois groupes homogènes différents. En effet, l'*O. robusta* présente la valeur la plus élevée avec une moyenne de 0.6 cm, suivi par l'*Opuntia amycleae* et l'*Opuntia engelmannii* (0.6 cm), l'*O. ficus indica* (0.54 cm) et enfin l'*O. streptacantha* avec épaisseur moyenne de 0.49 cm (Tableau 4.3).

4.1.3.3.13 Discussion

L'examen des différentes mesures et poids des fruits nous montre une très grande variabilité entre les espèces étudiées. Cette variabilité est liée au facteur génétique.

Le poids de fruit de figuier de barbarie dépend du nombre de graines [75]. La taille des fruits de cactus est influencée par la charge de la raquette en fruits [69], du temps d'émergence des bourgeons floraux [17] et aussi par les facteurs environnementaux [11]. Ainsi, les bourgeons floraux qui poussent plutôt deviennent habituellement des fruits plus lourds [72]. En outre, les fruits les plus lourds sont obtenus à partir des cladodes avec seulement six fruits [72].

A travers ces résultats, nous remarquons qu'il existe une corrélation entre la largeur, l'épaisseur des fruits et leur diamètre géométrique, en observant qu'une augmentation en largeur ou bien en épaisseur impliquant une augmentation en diamètre, ce dernier influe directement sur le poids du fruit (Figure 4.5).

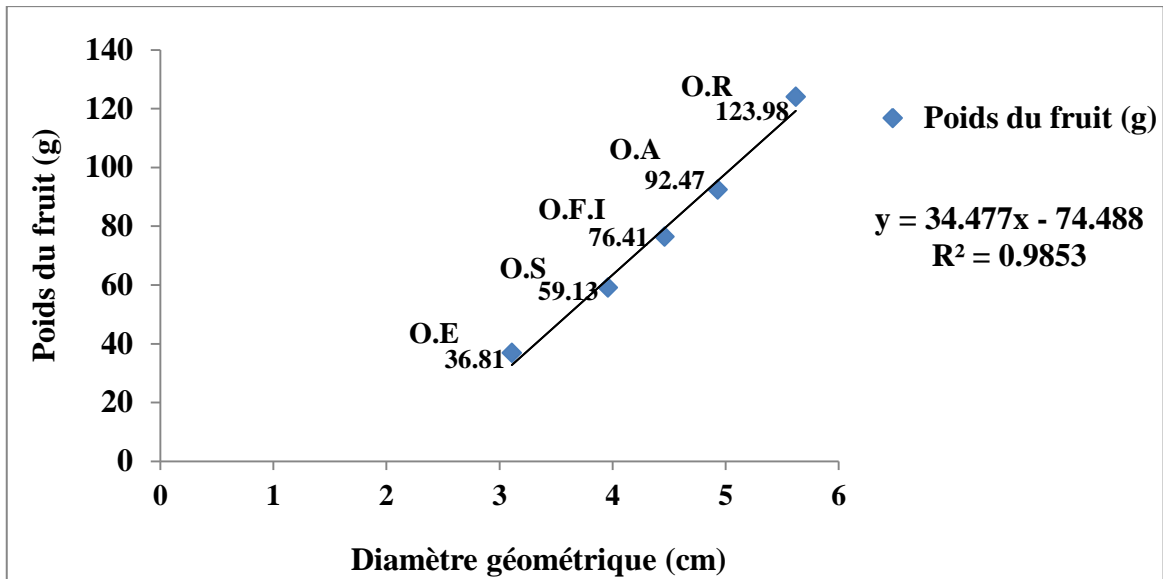


Figure 4.5: Corrélation entre le diamètre géométrique et le poids du fruit.

La longueur du fruit des différentes espèces étudiées varie de 4,5 cm à 6,76 cm et la largeur de 2,5 cm à 6,34 cm.

Ces résultats sont concordants avec ceux donnés par Mondragón et Perez (1996), chez des cultivars mexicains et dans des conditions édapho-climatiques et les conduites culturales différentes. Ils ont obtenu une gamme de longueur et de largeur respectivement de 5,5 cm à 9,5 cm et de 4,4 cm à 6,5 cm.

La gamme du poids moyen des fruits des espèces examinées est de 28.20 à 138 g. En Afrique du Sud, les fruits destinés pour le marché d'exportation doivent excéder 120 g pour être admis selon le cahier de charge [69].

D'après les observations sur terrain, les précipitations plus élevées, en particulier aux deux derniers mois de maturation des fruits, causent une augmentation de la dimension des fruits [135]. Le poids de fruit était considérablement plus petit pour une année de sécheresse (109 g) que pour une année de forte précipitation [136]. Potgieter et Mkhari (2002), rapportent que l'apport de l'azote augmente le poids du fruit du cactus mais ne précise pas le stade d'apport.

De même, les chercheurs de Cactaceae rapportent que la dimension de fruit n'est pas exclusivement déterminée par des facteurs environnementaux ou édaphiques et les facteurs génétiques sont les causes déterminantes et importantes de la dimension de fruit [135]. Ce qui explique brièvement la variabilité entre les deux espèces d'*Opuntia* : *O. engelmannii* (28 g) et *Opuntia robusta* (138 g) qui se localise dans un même environnement (climat et sol).

La dimension réelle de fruit est généralement déterminée par l'interaction génotype-environnement [134].

Concernant l'épaisseur de la peau, Gibson et Nobel (1986b), rapportent que la peau du fruit de l'*Opuntia* se développe à partir du réceptacle qui entoure l'ovaire.

Toutes les espèces évaluées ont une épaisseur de peau moins de 6 millimètres. Ces résultats sont en conformité avec les données rapportées par Mondragón et Perez (1996), où le cultivar mexicain *Cristalina* a une épaisseur de peau de 6 millimètres. Potgieter et Mkhari (2002), ont recommandé une épaisseur de peau de moins de 6 millimètres pour le fruit de figuier de barbarie.

Les basses températures pendant la période de développement du fruit favoriseraient l'augmentation de l'épaisseur de la peau [138].

Pratiquement, les espèces d'*Opuntia*: l'*O. amyacleae* et l'*Opuntia ficus indica* étaient les espèces dont l'enlèvement de la peau est difficile. Alors que les espèces qui ont permis le déplacement facile de la peau sont (l'*O. robusta*, l'*O. engelmannii*, l'*O. streptacantha*).

Ces résultats sont en accord avec les données rapportées par Barbara (2007), qui note que les variétés Zastron (1,85 mm) et Nudosal (1,55 mm) sont les variétés dans l'enlèvement de la peau est difficile comparativement aux variétés Roedtan (4,85 mm) et Van As (4,65 mm) dont l'enlèvement de la peau est facile) [138].

D'après ces résultats, on peut dire que plus l'épaisseur de la peau est importante plus son enlèvement est facile.

Concernant le pourcentage de la pulpe, ne devrait pas être inférieure à 55 % par fruit destiné au marché d'exportation [87].

Parmi les espèces examinées qui ont un pourcentage de la pulpe supérieur à 55 % sont : l'*O. ficus indica* et l'*O. amycteleae* avec (64,6 % et 63,67 %) respectivement, alors que nous avons enregistré des valeurs inférieures à 55 % pour les autres espèces. La gamme de pourcentage de la pulpe chez toutes les espèces étudiées est de 25 % à 64,6 % qui sont relativement élevées que celles rapportées précédemment par [69], chez les variétés Sud-africaines (30 à 60 %). Les basses températures diminuent le pourcentage de la pulpe [87]. D'après Barbara (2007), rapporte des résultats semblables en Afrique du sud et ajoute que chez les *Opuntias*, le pourcentage de la pulpe augmente quand les espèces sont irriguées (Figure 4.4).

En conclusion, on peut dire que les paramètres des fruits étudiés des différentes espèces examinées sont influencés par l'interaction de génotype environnement.

4.1.3.4 Graines

Les résultats relatifs aux descripteurs des graines sont présentés dans le tableau 4.4.

4.1.3.4.1 Nombre des graines par fruit

L'analyse de la variance du nombre des graines par fruit révèle une différence très hautement significative entre les espèces étudiées (Tableau 3, appendice B).

D'après le test de NEWMEN-KEULS, le nombre des graines par fruit le plus élevé est enregistré chez l'*O. robusta* avec un nombre moyen de 380.4 graines, suivi par l'*O. ficus indica* (325.27 graines par fruit), l'*O. amycteleae* (315.5 graines par fruit), l'*O. streptacantha* (158.07 graines par fruit). Alors que l'*O. engelmannii* présente un nombre des graines très faible avec une moyenne de 90.67 graine par fruit (Tableau 4.4).

Tableau 4.4 : Caractères quantitatifs des graines des différentes espèces étudiées.

Descripteurs	<i>O. ficus indica</i>	<i>O. amycleae</i>	<i>O. streptacantha</i>	<i>O. robusta</i>	<i>O. engelmannii</i>	Proba.	Signi.
Nombre des graines par fruit	325.27 ± 2.43 B	315.5 ± 3.43 C	158.07 ± 4.67 D	380.4 ± 5.69 A	90.67 ± 2.28 E	0	***
Nombre des graines viable	250.33 ± 1.85 B	239.78 ± 2.61 C	115.25 ± 6.53 D	326.15 ± 6.98 A	86.55 ± 2.07 E	0	***
Nombre des graines avortées	74.93 ± 3.21 A	75.72 ± 0.82 A	42.82 ± 3.14 C	54.25 ± 2.43 B	4.12 ± 0.86 D	0	***
Poids des graines par fruit (g)	3.36 ± 0.61 C	4.29 ± 0.79 B	2.65 ± 0.36 D	6.41 ± 0.85 A	2.32 ± 0.18 E	0	***
Poids des graines (%)	4.4 ± 0.81 C	4.63 ± 0.81 C	4.47 ± 0.51 C	5.17 ± 0.65 B	6.3 ± 0.47 A	0	***
Diamètre des grains (mm)	4.18 ± 0.06 C	4.13 ± 0.11 C	3.61 ± 0.52 D	4.42 ± 0.13 B	4.76 ± 0.06 A	0	***
PMG (g)	13.67 ± 0.69 C	13.92 ± 0.69 C	10.32 ± 1.4 D	17.56 ± 1.06 B	20.41 ± 1.05 A	0	***

Proba. >0.05 ne sont pas significatifs (ns); Proba ≤ 0.05 significatif (*); Proba ≤ 0.01 hautement significatif (**); Proba ≤ 0.001 très hautement significatif (***). Pour chaque descripteur les valeurs portant les mêmes lettres sont statistiquement égales.

4.1.3.4.2 Nombre de graines viables

Les résultats de l'analyse de la variance font ressortir une différence très hautement significative entre les espèces (Tableau 3 ; Appendice B).

Le test de NEWMEN-KEULS montre que le nombre de graines viables par fruit est plus élevé chez l'*O. robusta* avec 326.15 graines par fruit, inversement l'*O. engelmannii* qui présente un nombre de graines viables très faible soit 86.55 graines par fruit (Tableau 4.4).

4.1.3.4.3 Nombre des graines avortées par fruit

L'analyse de la variance révèle une différence très hautement significative concernant le nombre des graines avortées par fruit des différentes espèces étudiées (**Tableau 3, appendice B**). Les espèces se différencient significativement et le test de NEWMEN-KEULS permet de classer les espèces en quatre groupes homogènes (Tableau 4.4):

Groupe A : Regroupe l'*O. amycleae* (75.72) et l'*O. ficus indica* (74.93);

Groupe B : Comprend l'*O. robusta* (54.25 graines);

Groupe C : Représenté par l'*O. streptacantha* (42.82 graines);

Groupe D : Représenté par l'*O. engelmannii* (4.12 graines).

4.1.3.4.4 Poids des graines par fruit (g)

L'analyse de la variance relative au poids des graines par fruit montre une différence très hautement significative entre les espèces étudiées (Tableau 3 ; Appendice B).

D'après le test de NEWMEN-KEULS, le poids le plus élevé est enregistré chez l'*Opuntia robusta* (6.41 g), suivi par l'*O. amycleae* (4.29 g), l'*O. ficus indica* (3.36 g) puis l'*O. streptacantha* (2.65 g) et enfin, le faible poids est enregistré chez l'*Opuntia engelmannii* (2.32 g) (Tableau 4.4).

4.1.3.4.5 Poids des graines par fruit en %

L'analyse de la variance du pourcentage du poids des graines par fruits révèle une différence très hautement significative entre les espèces expérimentées (**Tableau 3, appendice B**). Le test de NEWMEN-KEULS nous a permis de distinguer trois groupes homogènes différents (Tableau 4.3 , Figure 4.4):

Groupe A: *Opuntia engelmannii*;

Groupe B : *Opuntia robusta*;

Groupe C : *O.amycleae*, l'*O. streptacantha* et l'*O. ficus indica*.

4.1.3.4.6 Diamètre des graines

L'analyse de la variance du diamètre des graines révèle une différence très hautement significative entre les espèces étudiées (Tableau 3 ; Appendice B). Le test de NEWMEN-KEULS nous a permis de classer les espèces individuellement dans quatre groupes :

Groupe A : *O. engelmannii* (4.76 mm)

Groupe B : *O. robusta* (4.42 mm).

Groupe C : *O. ficus indica* et l'*O. amycleae* (4.18 mm, 4.13 mm)

Groupe D : *O. streptacantha* (3.61 mm) (Tableau 4.4).

4.1.3.4.7 Poids de Mille graines (g)

Les résultats du poids de mille graines obtenus sont significativement très différents (Tableau 3 ; Appendice B). Le test de NEWMEN-KEULS, nous a permis de distinguer quatre groupes homogènes différents (Tableau 4.4):

Groupe A : *Opuntia engelmannii* (20.41 g);

Groupe B : *Opuntia robusta* (17.56 g);

Groupe C : *O. amycleae* (13.92 g) et l'*O. ficus indica* (13.67 g);

Groupe C : *Opuntia streptacantha* (10.32 g).

4.1.3.4.8 Discussion

L'examen des résultats relatifs à la graine, met en évidence la variabilité entre les différentes espèces étudiées. Nous avons enregistré une variabilité interspécifique pour tous les paramètres. En outre, la grande différence entre les espèces est due probablement à la variabilité génétique des espèces. Mondragón et Perez (1996); Barbara (2007), suggèrent que la teneur de fruits de cactus en graine change selon le cultivar et la taille. Alors que, le poids de graines chez l'*Opuntia ficus indica* augmente quand les espèces sont irriguées [139].

Concernant le nombre de graines avortées par fruit, nous avons enregistré une variabilité uniquement interspécifique. Ces résultats sont en conformité avec ceux obtenus par Mondragón et Perez (1996), qui trouvent que le cultivar mexicain *Amarilla Montesa* présente un pourcentage de 21.7 % de graines avortées par fruit, alors que le cultivar *Roja Pelona* présente un pourcentage inférieur qui est proche de 2,1% de graines avortées par fruit [134].

En effet, il existe une relation étroite entre le diamètre de graines et leur PMG : lorsque le diamètre des graines augmente automatiquement le PMG augmente (Figure 4.6). Mondragón et Perez (1996), trouvent que le contenu élevé de graines est corrélé avec la dimension de fruit. Il suggèrent donc qu'un fruit de taille idéale devrait avoir un rapport élevé entre les graines normales/ graines avortées.

Le poids des graines en % des différentes espèces étudiées varie de 2,86 à 5,53 % (Figure 6.2). Ces résultats sont en conformité avec ceux rapportés par Barbara (2007), et les graines de fruits de cactus contribuent de 5 à 10 % du poids de pulpe. Le pourcentage des graines change de 2.19 en 5.59 par fruit entier et de 4.32 à 10.51g par pulpe pour différentes copies de l'*Opuntia* développés en Argentine et aux Etats-Unis [135].

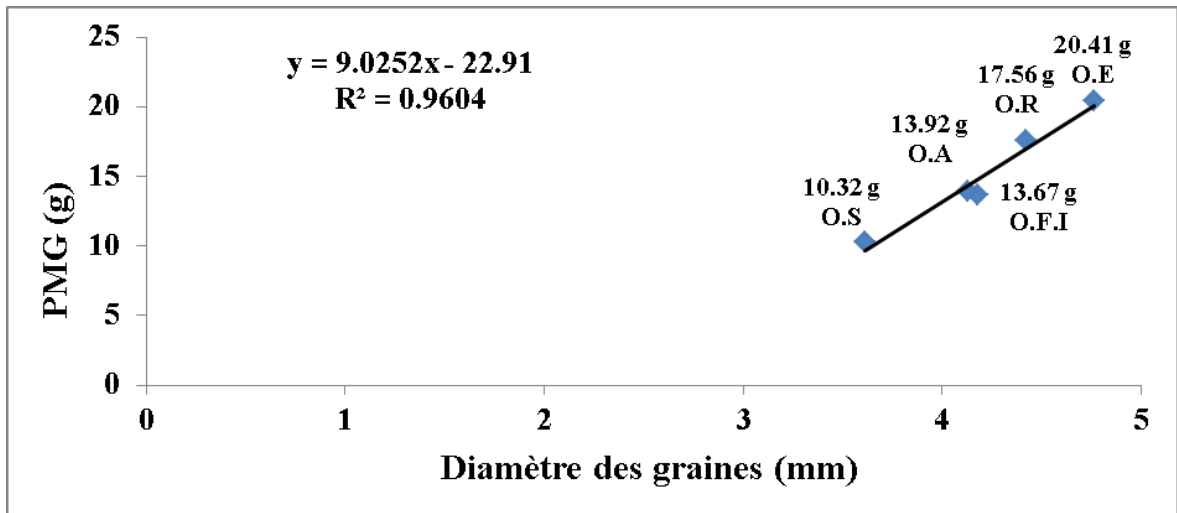


Figure 4.6: Corrélation entre le poids de Mille graines (PMG) et le diamètre des graines.

4.1.4 Analyse en Composantes Principale

4.1.4.1 Etude des variables

L'Analyse en Composante Principale (ACP) sur les variables morphologiques et phénologiques a pour objectif l'identification des caractères les plus pertinents (les plus descriptifs). La connaissance de ces caractères permettra de les utiliser comme base dans la sélection des espèces performantes.

Les composantes donnent une estimation du pourcentage de la variabilité observée. Les deux premières composantes axe 1 et axe 2 regroupent 67.22 % de la variabilité totale (Figure 4.7). Cela nous amène à retenir ces deux premiers axes (Tableau 4.5).

Les deux premiers axes de l'analyse en composantes principales (ACP) absorbent (67.217 %) de la variation totale (Tableau 4.5, Figure 4.7) avec 38.239 % pour l'axe 1 et 28.978 % pour l'axe 2 de l'inertie totale.

L'axe 1 est corrélée positivement et négativement aux cladodes (longueur, rapport longueur / largeur, forme du cladode, nombre d'épines par aréole, longueur de l'épine la

plus longue, couleur principale d'épine, nombre des glochides), à la longueur de fleur, dépression de la cicatrice du réceptacle, longueur du pédoncule, couleur principale de la surface, nombre des glochides par fruit, couleur de la chair, fermeté de la chair), à l'époque du début de la floraison, à l'époque de maturité de récolte, à la durée de la période de récolte du fruit, port de l'aiguillon central, floraison, nombre des graines avortées, uniformité de la couleur de la surface, poids de la chair/poids de la peau, diamètre de la cicatrice du réceptacle, couleur des glochides du fruit, densité d'aréole du fruit, longueur du fruit, couleur du lobe du stigmate, couleur du style, couleur des glochides, aiguillon central torsion. Le pourcentage d'explication se rapproche de 40 %. Ces variables sont corrélées entre elles et exercent le même effet.

Sur le cercle de corrélation (Figure 4.7) on trouve que toutes les variables qui contribuent à l'axe 1 sont du côté positif, sauf les variables floraison, nombre des graines avortées, uniformité de la couleur de la surface, poids de la chair/poids de la peau, diamètre de la cicatrice du réceptacle, couleur des glochides du fruit, densité d'aréole du fruit, longueur du fruit, couleur du lobe du stigmate, couleur du style, couleur des glochides, aiguillon central torsion qui ont du côté négatif.

L'axe 2 est corrélée positivement aux cladodes (largeur, épaisseur, couleur, couleur des aréoles), au nombre de couleurs des épines, au nombre de lobes du stigmate, aux fruits (forme, épaisseur de la peau, poids de la peau, poids de la chair, nombre de graines complètement développées). Les variables : taille des graines, hauteur, courbure de l'aiguillon central, nombre des fleurs, couleur du périanthe, longueur / diamètre maximum, se trouvent dans le côté négatif de l'axe.

Tableau 4.5: Valeurs propres avec le pourcentage de variabilité et le pourcentage cumulé porté sur chaque axe et détermination des axes de l'ACP basé sur 49 descripteurs morphologiques chez cinq espèces d'*Opuntia* de l'Algérie.

Axes		PC1	PC2	PC3
Valeur propre		18.354	13.910	11.314
Variabilité (%)		38.239	28.978	23.570
% cumulé		38.239	67.217	90.787
Code	Descripteurs morphologiques	Valeurs propres		
1	Port	0.000	0.000	0.000
2	Hauteur	-0.127	-0.224	0.016
3	Longueur du cladode	0.097	-0.128	-0.229
4	Largeur du cladode	-0.113	0.217	0.100
5	Rapport Long / large du cladode	0.097	-0.128	-0.229
6	Epaisseur du cladode	-0.094	0.239	-0.061
7	Forme du cladode	0.112	-0.083	0.239
8	Couleur du cladode	-0.107	0.238	0.013
9	Couleur des aréoles du cladode	-0.125	0.210	-0.089
10	Nombre d'épines par aréole	0.127	-0.048	0.123
11	Longueur de l'épine la plus longue	0.182	0.043	-0.018
12	couleur principale d'épine	0.191	0.001	0.061
13	Nombre de couleurs d'épine	0.030	0.081	0.191
14	Port de l'aiguillon central	0.027	-0.086	0.279
15	Courbure de l'aiguillon central	-0.003	-0.104	0.271
16	Aiguillon central torsion	-0.093	-0.040	-0.064
17	Nombre des glochides	0.120	-0.091	0.112
18	Couleur des glochides	-0.184	-0.066	-0.161
19	Nombre des fleurs	-0.086	-0.218	0.052
20	Longueur des fleurs	0.203	-0.079	-0.116
21	Couleur du périanthe	-0.013	-0.192	0.204
22	Couleur du style	-0.181	-0.107	0.146
23	Nombre des lobes du stigmate	-0.097	0.128	0.229
24	Couleur du lobe du stigmate	-0.186	-0.151	0.061
25	Longueur du fruit	-0.184	-0.066	-0.161
26	Diamètre maximum du fruit	-0.163	0.149	-0.127
27	Longueur / diamètre maximum	-0.018	-0.131	-0.255
28	Forme du fruit	-0.062	0.197	0.185
29	Densité d'aréole du fruit	-0.203	-0.119	-0.055
30	Nombre des glochides du fruit	0.019	-0.055	0.182
31	Couleur des glochides du fruit	-0.184	-0.066	-0.161
32	Longueur du pédoncule	0.097	-0.128	-0.229
33	Dépression de la cicatrice du réceptacle	0.113	-0.217	-0.100
34	Diamètre de la cicatrice du réceptacle	-0.203	0.079	0.116

35	Epaisseur de la peau	0.124	0.154	-0.185
36	Poids de la peau	0.025	0.264	0.042
37	Poids de la chair	-0.126	0.212	-0.005
38	Poids de la chair / Poids de la peau	-0.157	0.076	-0.117
39	Uniformité de la couleur de la surface	-0.186	-0.151	0.061
40	Couleur principale de la surface	0.186	0.151	-0.061
41	Couleur de la chair	0.186	0.151	-0.061
42	fermeté de la chair	0.186	0.151	-0.061
43	Nombre des graines développées	-0.137	0.181	-0.110
44	Nombre des graines avortées	-0.223	-0.064	-0.039
45	Taille des graines	0.124	0.154	-0.185
46	Epoque du début de la floraison	0.229	0.001	0.043
47	Floraison	-0.184	-0.066	-0.161
48	Epoque de maturité de récolte	0.229	0.001	0.043
49	Durée de la période de récolte du fruit	0.113	-0.217	-0.100

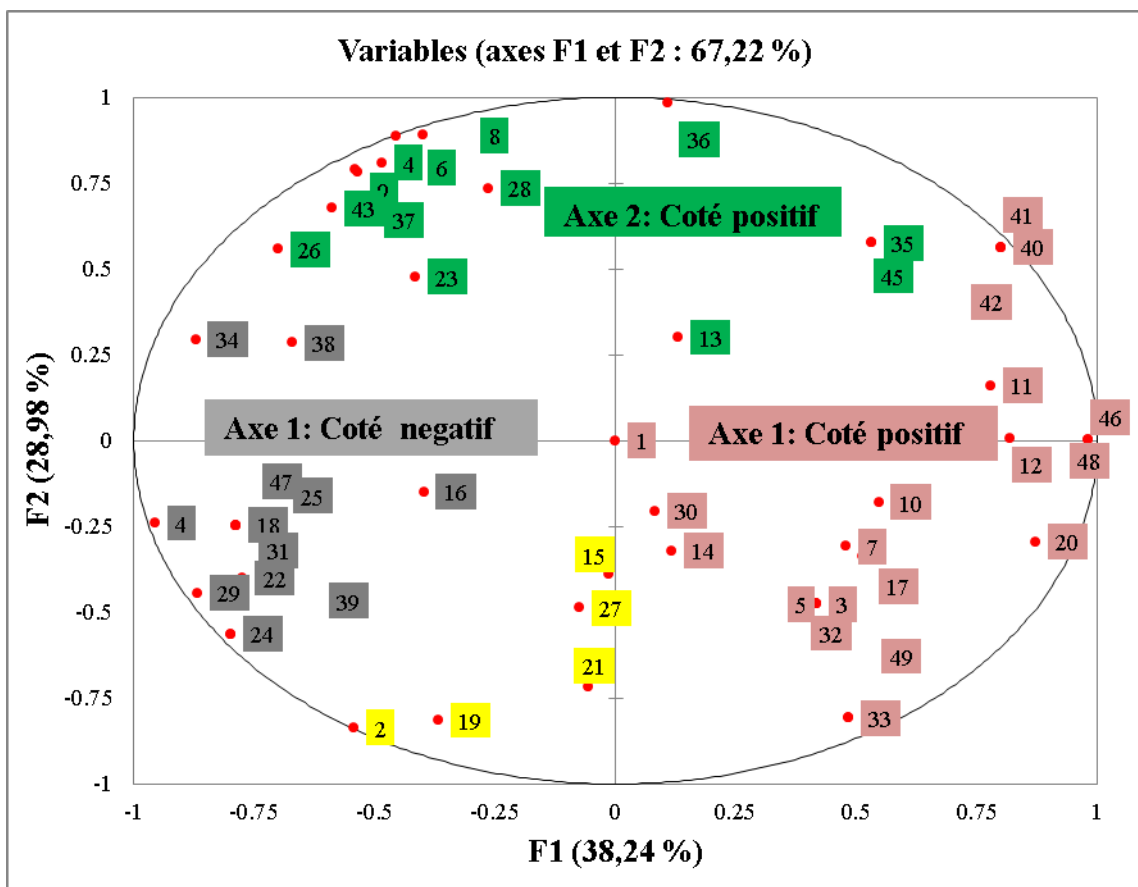


Figure 4.7: Représentation des deux premier axe d'une analyse en composantes principales correspondant aux caractères morphologiques et phénologiques de cinq espèces d'*Opuntia* (variables de 1 à 49, voir le Tableau 3.2)

4.1.4.2 Etude des génotypes

Sur le plan formé par les axes 1 et 2 (Figure. 4.5) les génotypes qui ont le cos 2 le plus élevé sont ceux qui contribuent le plus à la formation des axes dont :

Axe 1 : *O. engelmannii* du côté positif, *O. ficus indica* et *O. amycleae* du côté négatif.

Axe 2 : *O. robusta* se trouve du côté positif alors que l'*O. streptacantha* se trouve du côté négatif.

Le premier groupe est diamétralement opposé au deuxième groupe par rapport à l'axe de la composante principale (ACP1).

Le troisième groupe est diamétralement opposé au quatrième groupe par rapport à l'axe de la composante principale (ACP2).

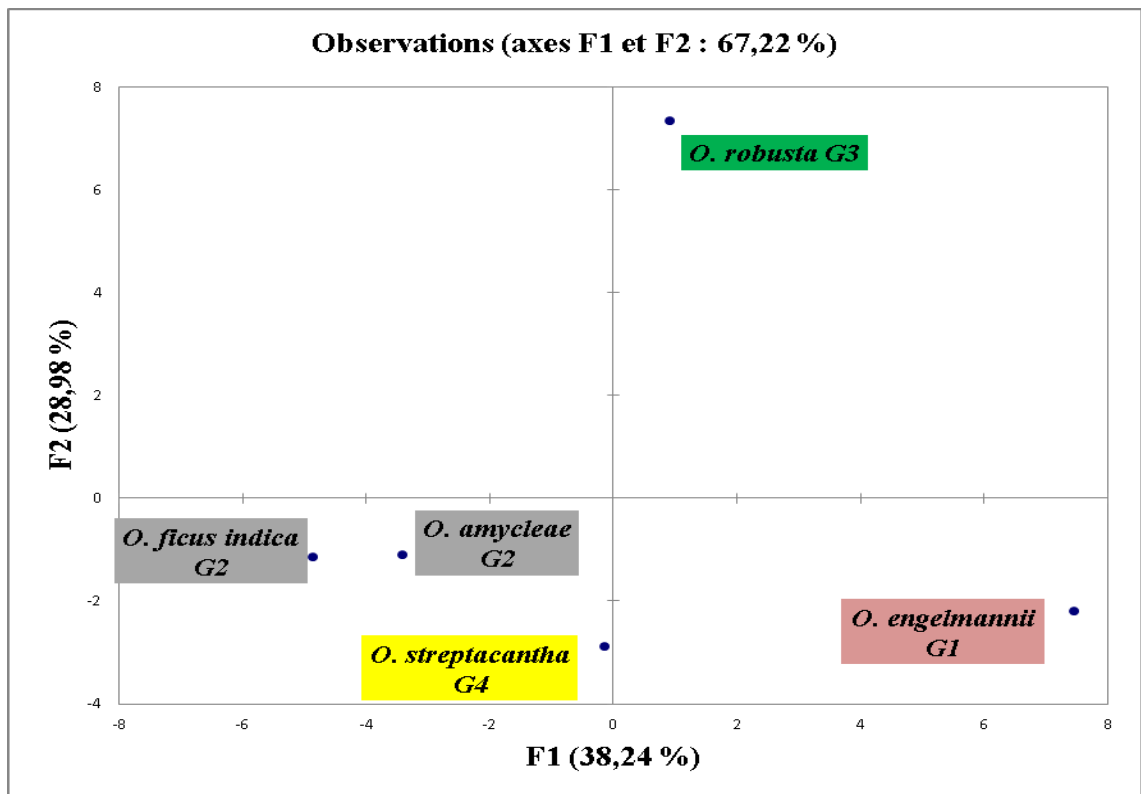


Figure 4.8: Représentation de cinq espèces d'*Opuntia* sur le plan (1-2) d'une analyse en composantes principales.

4.1.4.3 Superposition des variables et des génotypes

La figure 4.8, présente la projection des individus sur le plan formé par les axes 1 et 2 en fonction de leur contribution.

L'examen de la figure 4.8, permet de distinguer 4 groupes d'individus dont la contribution relative à la formation des axes est importante.

L'axe 1 met en évidence une distinction entre le groupe 1 (G1, *O. engelmannii*) est caractérisé par : une longue cladode losangique porte plusieurs épines avec une longue épine de couleur jaune et caractérisée par la présence de nombreuses glochides, de long pédoncule du fruit avec un fruit de couleur rouge de nombreuses glochides par fruit avec une chair ferme de couleur rouge, l'époque du début de la floraison et l'époque de maturité de récolte tardive. Le groupe 2 (G2) constitué des espèces (*O. ficus indica* et *O. amyacleae*) ayant les caractéristiques suivantes : fleurit deux fois par an porte de très nombreuses grains avortées avec une couleur de la surface irrégulière, un rapport moyen du poids de la chair/le poids de la peau : ces deux espèces possédant un moyen diamètre de la cicatrice du réceptacle, couleur des glochides de cladode : absente chez l'*O. ficus indica* et marron chez *O.*, dense densité d'aréole du fruit, des fruits de longueur moyenne, couleur du lobe du stigmate : vert-claire, couleur du style : Rose-blanchâtre chez *O. ficus indica* et rose chez *O. amyacleae*, couleur des glochides du fruit : jaune, aiguillon central torsion : absente chez l'*O. ficus indica* et présente chez l'*O. amyacleae*.

L'axe 2 oppose le groupe 3 (G3) caractérisé par l'espèce *O. robusta* qui est caractérisée par : une large cladode épaisse de couleur vert bleuâtre avec des aréoles noires, ses épines ont deux couleurs, nombre élevé du lobe du stigmate, ses fruits sont aplatis de peau moyenne d'épaisseur et du poids moyen, un poids chaire très lourd des graines développées très élevée et le groupe 4 (G4) composé de l'espèce *O. streptacantha* qui est caractérisées par : petite tailles des graines, grand hauteur, la présence de courbure de l'aiguillon central, nombre des fleurs élevé, un périanthe orange, avec un petit rapport de la longueur / diamètre maximum.

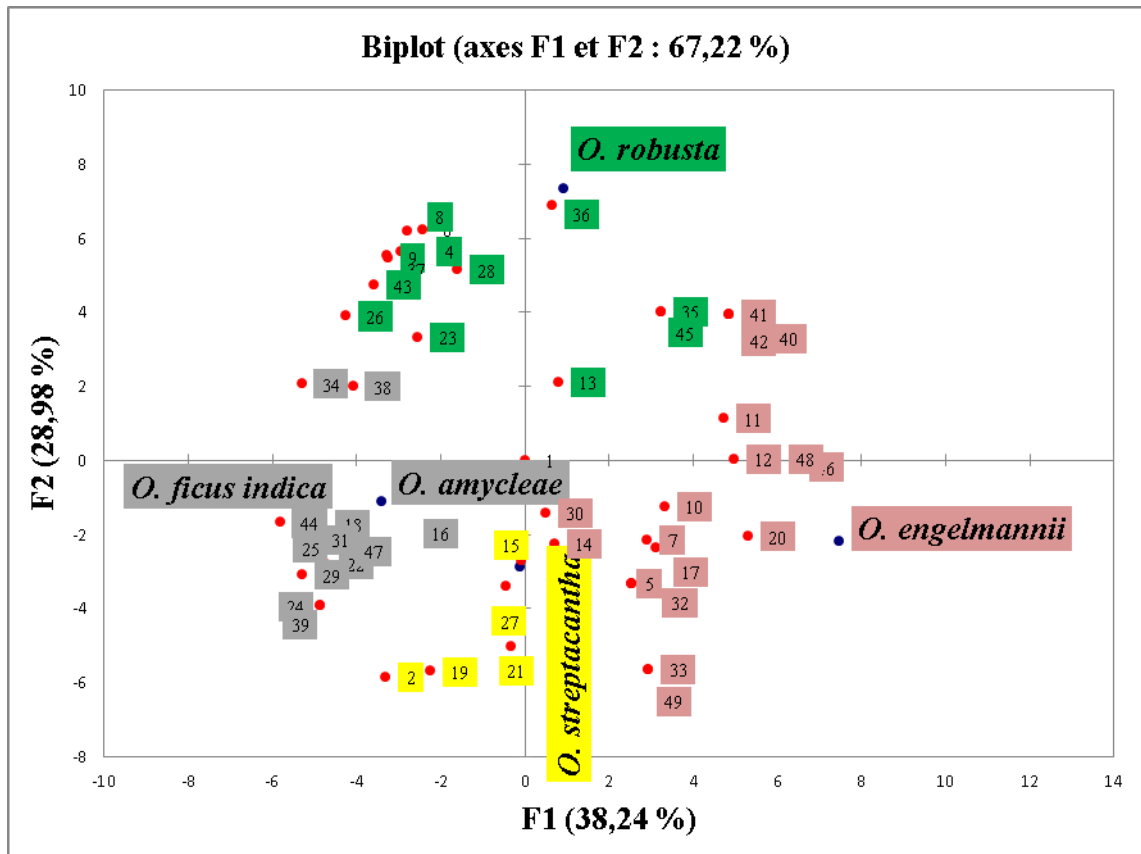


Figure 4.9: Distribution des variables et des espèces d'*Opuntia* dans le plan 1-2 révélée à partir de l'ACP.

La figure 4.9 montre la projection des espèces et des variables dans le plan 1-2. Elle montre une bonne répartition des espèces traduisant ainsi une grande diversité existante au sein des espèces d'*Opuntia* ici étudiés.

Au total, sur les 49 variables analysées, 08 descripteurs ont contribué essentiellement à la révélation de la variabilité totale.

En vue d'avoir une vision globale, nous sommes passés à une autre analyse synthétique pour discerner les différents génotypes pour toutes les variables retenues.

4.1.4.4 Etude de corrélations entre les variables

La corrélation a été étudiée car elle permet de retrouver et de quantifier des liens de dépendance entre les variables. Les valeurs de corrélations entre les différents variables observées sont présentées dans le tableau 4.5. Les corrélations positives les plus fortes entre les principaux variables évalués apparaissent comme suit:

Couleur de cladode corrélée avec largeur (0.953) et épaisseur (0.967)

Couleur des aréoles de cladode corrélée avec l'épaisseur (0.980) et couleur de cladode (0.930);

Couleur principale des épines corrélée avec longueur de l'épine la plus longue (0.949) et le nombre d'épines par aréole (0.910).

- Port et courbure (sauf la base) de l'aiguillon central corrélés avec la forme de cladode (0.904);

Présence de glochides sur cladode corrélée avec nombre d'épines par aréole de cladode (0.986);

Nombre de fleurs sur cladode corrélée avec la hauteur de la plante (0.869),

Couleur du Périanthe des fleurs corrélée avec le port et la courbure (sauf la base) de l'aiguillon central (0.919),

Couleur du lobe du stigmate de fleur corrélée avec la hauteur de la plante (0.919),

Longueur du fruit corrélée avec couleur des glochides de cladode (1.0);

Diamètre maximum du fruit corrélé avec l'épaisseur (0.873) et couleur des aréoles de cladode (0.953);

Rapport longueur / diamètre maximum du fruit corrélée avec longueur et rapport longueur/largeur de cladode (0.873);

Forme du fruit corrélée avec largeur de cladode (0.930) et le nombre de lobes du stigmate des fleurs (0.943);

Densité des aréoles du fruit corrélée avec la couleur des glochides de cladode, couleur du lobe du stigmate de fleur et longueur du fruit (0.913);

Nombre de glochides du fruit corrélé avec le nombre d'épines par aréole de cladode (0.871) la présence de glochides de cladode (0.869);

Couleur des glochides du fruit corrélée avec la couleur des glochides de cladode et la longueur du fruit (1.0);

La corrélation la plus forte pour la longueur du pédoncule du fruit a été avec la longueur et le rapport longueur/largeur (1.0) de cladode (1.0)

Poids de la peau du fruit corrélé avec la couleur des aréoles de cladode (0.829);

La corrélation la plus forte pour le poids de la chair du fruit a été avec l'épaisseur (0.945) couleur (0.959) et couleur des aréoles de cladode (0.943);

Rapport poids de la chair/poids de la peau corrélé avec le diamètre maximum du fruit (0.873);

La corrélation la plus forte pour l'uniformité de la couleur de la surface du fruit a été avec la couleur du style (0.944) et la couleur du lobe du stigmate (1.0);

Couleur principale de la surface du fruit corrélée avec l'épaisseur de la peau du fruit (0.873);

Couleur de la chair du fruit corrélé fortement avec la couleur principale de la surface du fruit (1.0);

Fermeté de la chair du fruit corrélé avec l'épaisseur de la peau (0.873) couleur principale de la surface et couleur de la chair du fruit (1.0);

Nombre de graines complètement développées corrélé avec l'épaisseur de cladode (0.896) couleur des aréoles (0.932) et diamètre maximum du fruit (0.913);

Présence de graines avortées corrélé avec couleur des glochides couleur du lobe du stigmate et longueur du fruit (0.866) et densité des aréoles du fruit (0.949);

Graine: taille de graine corrélé avec l'épaisseur de la peau (1.0) couleur principale de la surface du fruit couleur de la chair et fermeté de la chair (0.873);

La corrélation la plus forte pour la floraison a été avec la couleur des glochides de cladode, longueur et couleur des glochides de fruit (1.0).

4.1.5 Classification ascendante hiérarchique (C.A.H.)

L'analyse de cette classification permet de distinguer trois classes distinctes.

La première classe regroupe 3 espèces (*Opuntia robusta*, l'*Opuntia ficus indica* et *Opuntia amyocleae*) et qui n'ont que 0.156 et 0.1558 % de similitude entre l'*Opuntia* et l'*Opuntia ficus indica* et entre l'*Opuntia robusta* et l'*Opuntia*. L'*Opuntia ficus indica* et l'*Opuntia* corrélées entre elles à 0.1257 % de ressemblance (Figure 4.10).

La seconde classe comprend un seule génotype (*Opuntia streptacantha*) (Figure 4.10);

La dernière classe contient un seul génotype (*Opuntia engelmannii*) (Figure 4.10).

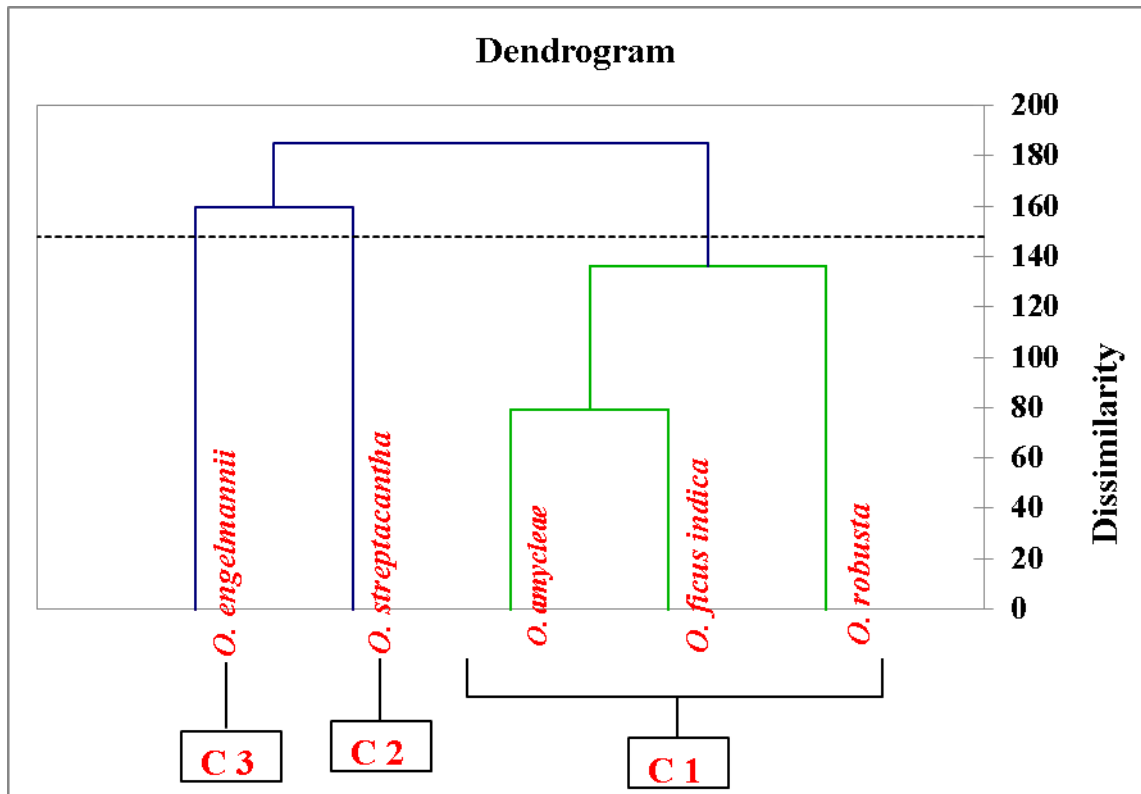


Figure 4.10: Classification hiérarchique des différents génotypes (CAH)

4.1.6 Discussion

La connaissance de la variabilité génétique est essentielle en sélection végétale. La mise en évidence de cette variabilité génétique pour certains caractères morphologiques constitue la première étape indispensable dans la description et la classification du germplasma des plantes cultivées [140, 141, 142, 143]. En effet, tout programme d'amélioration s'appuie nécessairement sur la variabilité morpho-phénologique [144]. Elle permet de mettre à la disposition des améliorateurs des informations capitales et nécessaires pour leurs travaux [145]. Dans ce contexte, une collection locale de 5 espèces d'*Opuntia* collectés dans les zones arides et semi-arides algériennes a été étudiée en utilisant les paramètres morpho-phénologiques.

L'analyse de la diversité génétique des génotypes d'*Opuntia* à l'aide de paramètres morphologiques et phénologiques rapportant aux cladodes, fleur, fruit et graine sa permis d'apprécier la variabilité génétique interspécifique, d'estimer les distances phénotypiques et de dresser un dendrogramme des relations phylogéniques révélées entre ces génotypes.

Cette diversité morphologique a été structurée en trois groupes qui se différencient par 8 descripteurs qui sont : la longueur de l'épine la plus longue, la couleur principale d'épine, la longueur des fleurs, la couleur principale de la surface du fruit, la couleur de la chaire, la fermeté de la chaire, l'époque du début de la floraison et l'époque de maturité de récolte. Des résultats similaires ont été obtenus par : Peña-Valdivia et al., 2008 ; Gallegos-Vázquez et al., 2011 ; Gallegos-Vázquez et al., 2012 ; Erre et Chessa, 2013 ; Mejía et al., 2013 ; Chalak et al., 2014 chez les différents espèces de genre opuntia.

Les résultats préliminaires sur la diversité et la structuration morphologique et phénologiques des génotypes d'opuntia existant dans les steppes algériennes montrent clairement que ces génotypes analysés présentent une variation pour l'ensemble des caractères utilisés, en particulier ceux liés à la phénologie, à la forme et aux rendements. Cette variabilité génétique observée entre génotypes constitue un atout pour les travaux de sélection. Les différences observées entre les groupes issues de la classification hiérarchique indiquent que le groupe 1 est constitué d'individu de longue cladode losangique porte plusieurs épines avec une longue épine de couleur jaune et caractérisée par la présence de nombreuses glochides, de long pédoncule du fruit avec un fruit de couleur rouge avec une chaire ferme de couleur rouge, l'époque du début de la floraison et l'époque de maturité de récolte tardive. Ce groupe présente des caractéristiques végétatives importantes. Il peut servir de source de géniteurs. En revanche le groupe G2 et le groupe G3 renferment des génotypes dotés des meilleures caractéristiques des fruits et précoce ceci est ressenti du point de vue commercial puisque ces espèces sont les plus vendue et recherchée au niveau du marché local.

Il est important d'associer aux caractères morphologiques des techniques moléculaires telles que les RAPD qui permettront de mieux caractériser les génotypes à l'intérieur des différents groupes. Ce qui sera confirmé par la caractérisation moléculaire dans la prochaine partie de cette thèse.

4.2 Etude du polymorphisme moléculaire

Dans cette partie, cinq génotypes appartenant au genre *platyopuntia* (Tableau 3.1) ont été discriminés à l'aide de marqueurs moléculaires randomisés de type RAPD dans le but d'analyser les liens phylogénétiques existants entre ces différentes phyto-ressources.

Dans cette partie, nous avons:

- ✓ analysé le polymorphisme génétique lié aux marqueurs RAPD ;
- ✓ analysé la structuration phylogénétique des différentes espèces d'*Opuntia* étudiées

4.2.1 Sélection des amorces

Un lot de 11 amorces est testé sur 2 génotypes appartenant au genre *Opuntia* (*O. ficus indica*, *O. engelmannii*). Seules les amorces dont les profils générés sont reproductibles, stables et présentant un degré de polymorphisme élevé sont retenues.

Comme le montre la figure 4.11, certaines amorces ont généré des bandes intenses et polymorphes (UBC-226, UBC-231, UBC-241). D'autres amorces ont généré des bandes monomorphes (incapables d'expliquer la diversité), tel est le cas des amorces UBC-227 et UBC-248. Celles-ci ne sont pas retenues.

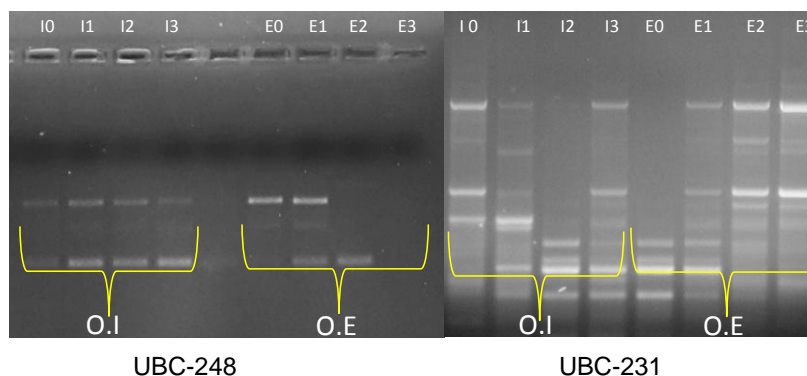


Figure 4.11 : Sélection des amorces RAPD à partir de 2 génotypes d'*Opuntia* (I0 : *O. ficus indica*, E0 : *O. engelmannii*)

Par ailleurs, quelques amorces ne sont pas fonctionnelles. Dans la bibliographie, il est mentionné que certaines amorces sont incapables d'amplifier l'ADN ou de produire des profils exploitables [152].

A la lumière de toutes ces considérations, 3 amorces parmi 11 sont retenues pour leur capacité d'amplification et de polymorphisme (Tableau 4.6).

Tableau 4.6: Liste des amorces RAPD utilisées et la qualité de leurs produits d'amplification

Amorce	Séquence de 5' à 3'	Qualité de l'amplification
UBC-226	GGGCCTCTAT	amplification très bonne et bandes polymorphes (retenue)
UBC-241	GCCCGACGCG	amplification très bonne et bandes polymorphes (retenue)
UBC-231	AGGGAGTTCC	amplification très bonne et bandes polymorphes (retenue)
UBC-232	CGGTGACATC	amplification faible et bandes monomorphes (éliminée)
UBC-212	GCTGCGTGAC	amplification faible et bandes monomorphes (éliminée)
UBC-238	CTGTCCAGCA	amplification faible et bandes monomorphes (éliminée)
UBC-227	CTAGAGGTCC	amplification faible et bandes monomorphes (éliminée)
UBC -261	CTGGCGTGAC	amplification faible et bandes monomorphes (éliminée)
UBC-246	TATGGTCCGG	amplification faible et bandes monomorphes (éliminée)
UBC-248	GAGTAAGCGC	amplification faible et bandes monomorphes (éliminée)
UBC-243	GGGTGAACCG	amplification faible et bandes monomorphes (éliminée)

4.2.2 Polymorphisme génétique liés aux marqueurs RAPD

Un total de 5 plants de 5 espèces est génotypé à l'aide de 3 amorces RAPD qui sont préalablement sélectionnées parmi 11 amorces pour leur capacité d'amplification et de polymorphisme.

La figure 4.12 représente les profils d'amplification générés respectivement par les amorces : UBC-226, UBC-231, UBC-241.

Comme la montre la figure 4.12, les amorces utilisées ont généré des profils multi-bandes chez la totalité des génotypes, avec de nombreux marqueurs polymorphes.

Les amorces sélectionnées ont généré un total de 45 bandes, soit 15 bandes par amorce. Cette moyenne est largement supérieure à celles publiées par Zoghلامي et al., (2007) ; Fontes et al., (2010) ; Bendhifi et al., (2013); Bendhifi et al., (2015), qui ont été de l'ordre de 8.26, 4.6, 9.33 et 7.66 bandes par amorce, respectivement.

Les bandes monomorphes sont exclues et seules les bandes polymorphes sont comptabilisées. Dans notre cas, presque la totalité des bandes générées sont polymorphe, soit en moyenne 14 marqueurs polymorphes par amorce (Tableau 4.7). Cette moyenne est amplement supérieure à celles publiées par Michelmore et al, (1991), Mondragón (2003), Wang et al., (2003), Zoghلامي et al., (2007), Bendhifi et al., (2013), Bhutta et Hanif (2013), El Finti et al., (2013), Bendhifi et al., (2015), dont la moyenne de marqueurs polymorphes par amorce ont été respectivement de l'ordre de 8.3, 6.22, 3.36, 4.87, 6.83, 13.7, 3.84, 5.14.

Le pourcentage de polymorphisme des trois amorces est de 93.59 %, alors que le pourcentage polymorphique de l'amorce UBC-226 est la plus élevée égal à 100 %, suivi de l'amorce UBC-231 avec 94.11 %.

Les différentes amorces produisent un nombre d'amplificats allant de 13 à 17, la taille des fragments amplifiés s'échelonnent entre 100 pb à 4000 pb. Au total 45 fragments sont obtenus avec 17 fragments pour l'amorce UBC-231, 15 pour l'amorce UBC-241 et 13 pour UBC-226. Il apparaît donc que sur les 45 fragments, 42 sont polymorphes. La présence ou l'absence de ces bandes varie selon les génotypes.

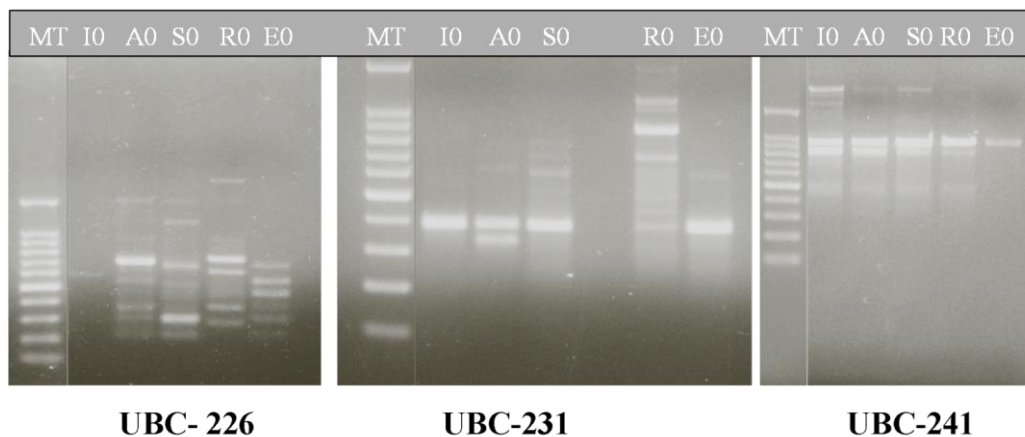


Figure 4.12: Fragments d'amplification générés par les amorces UBC-226, UBC-231, UBC-241 chez 5 espèces d'*Opuntia*, M : marqueur de taille 100 pb.

Tableau 4.7: Polymorphisme génétique généré à l'aide de 3 amorces RAPD chez les espèces d'*Opuntia*.

N°	Amorce	Fenêtre de taille	Total de bande	Bandes polymorphes	Pouvoir de résolution (Rp)	Profil électrophorétique	Degré de polymorphisme (%)
1	UBC-226	180-1400	13	13	8.4	5	100
2	UBC-241	100-4000	15	13	7.2	5	86.66
3	UBC-231	200-1400	17	16	9.2	5	94.11
Total	3		45	42	24.8	15	280.77
Moyenne			15	14	8.26	5	93.59

L'*Opuntia engelmannii* et l'*Opuntia ficus indica* présentent le nombre des bandes le plus élevé de 26 bandes dont 23 sont polymorphes, l'*Opuntia amycleae* révèle seulement 13 bandes dont 10 sont polymorphes. Quant aux autres espèces : l'*O. streptacantha* et l'*O. robusta*, elles présentent un nombre de bandes intermédiaires (Tableau 4.7).

D'autre part, 15 profils électrophorétiques distincts ont été observés, témoignant ainsi d'un haut niveau de variabilité génétique, au niveau des différentes espèces étudiées.

Pour toutes les amorces, les valeurs du pouvoir de résolution (Rp) ont varié de 7.2 pour l'amorce UBC-241 à 9.2 pour l'amorce UBC-231. Ces valeurs témoignent d'une haute résolution des amorces utilisées avec une valeur totale de Rp égale à 24.8 et une moyenne de 8.26 (Tableau 4.7). Cette moyenne est largement supérieure à celle publiées par Zoghalmi et al, (2007), Bendhifi et al, (2013), Bendhifi et al, (2015), qui ont été de 1.94, 4.02 et 2.77 bandes par amorce.

L'amorce UBC-231 a été la plus discriminatoire avec la valeur la plus élevée de Rp (9.2), le nombre de marqueurs polymorphes le plus élevé est un nombre considérable de profils électrophorétiques (5). Cette amorce est d'un grand intérêt dans l'étude du polymorphisme génétique chez les 5 espèces d'*Opuntia*.

Dans l'ordre de leur pouvoir de discrimination, les amorces UBC-231 (Rp= 9.2), UBC-226 (Rp = 8.8) sont les plus discriminatoires.

4.2.3 Visualisation de la structuration phylogénétique

A partir des données du génotypage RAPD, la structuration phylogénétique des différents génotypes est établie en fonction de leurs distances génétiques calculées par paires de génotypes (Tableau 4.8).

Tableau 4.8: Distances génétiques calculées par paires de génotypes d'*Opuntia* en utilisant 45 marqueurs RAPD

Génotypes	<i>O. ficus indica</i>	<i>O. amycleae</i>	<i>O. streptacantha</i>	<i>O. robusta</i>
<i>O. amycleae</i>	0.79	0		
<i>O. streptacantha</i>	0.76	0.84	0	
<i>O. robusta</i>	0.82	0.91	0.56	0
<i>O. engelmannii</i>	0.80	0.88	0.65	0.76

Comme le montre le Tableau 4.8, les distances génétiques ont varié entre 0.56 et 0.91, soit une moyenne de 0.735. A la lumière de ces résultats, nous pouvons conclure que les génotypes étudiés sont différenciés au niveau de l'ADN. La plus faible distance est observée entre les génotypes de l'*Opuntia robusta* et l'*Opuntia streptacantha* (DG = 0.56. Tandis que l'*Opuntia amycleae* est la plus distante de tous les génotypes étudiés (DG = 0.84, 0.88, 0.91). Ces résultats soulignent bien de la puissance des marqueurs RAPD.

Toutes les valeurs de distances génétiques calculées par paires de génotypes, ont été supérieures à 0.55 (Tableau 4.8). En outre, l'emploi de marqueurs RAPD n'a pas masqué l'appartenance de ces génotypes à différentes espèces d'où leur éloignement génétique.

4.2.4 Analyse Factorielle de Correspondances

L'Analyse AFC réalisée sur l'ensemble des données a montré une différenciation nette entre les génotypes d'*Opuntia* (Figure 4.13).

L'examen de l'éclatement du nuage de points sur les axes 1 et 2 de l'AFC montré un niveau de variabilité très important. En effet, tous les individus ont fui le centre du plot qui correspond au niveau de diversification le plus bas. Cette grande variabilité pourrait être attribuée à la nature des génotypes étudiés qui appartiennent à différentes espèces.

L'AFC, ainsi réalisée, fait apparaître 4 groupes (de A à D) (Figure 4.13) :

Groupe A : il est constitué par un seul individu: *Opuntia ficus indica*.

Groupe B : comprend un seul individu: *Opuntia amycleae*.

Groupe C : comprend deux individus: *Opuntia streptacantha* et *Opuntia robusta*. L'utilisation d'autres marqueurs serait utile afin de se prononcer définitivement sur la nature de ces liens phylogénétiques.

Groupe D: comprend un seul individu: *Opuntia engelmannii*

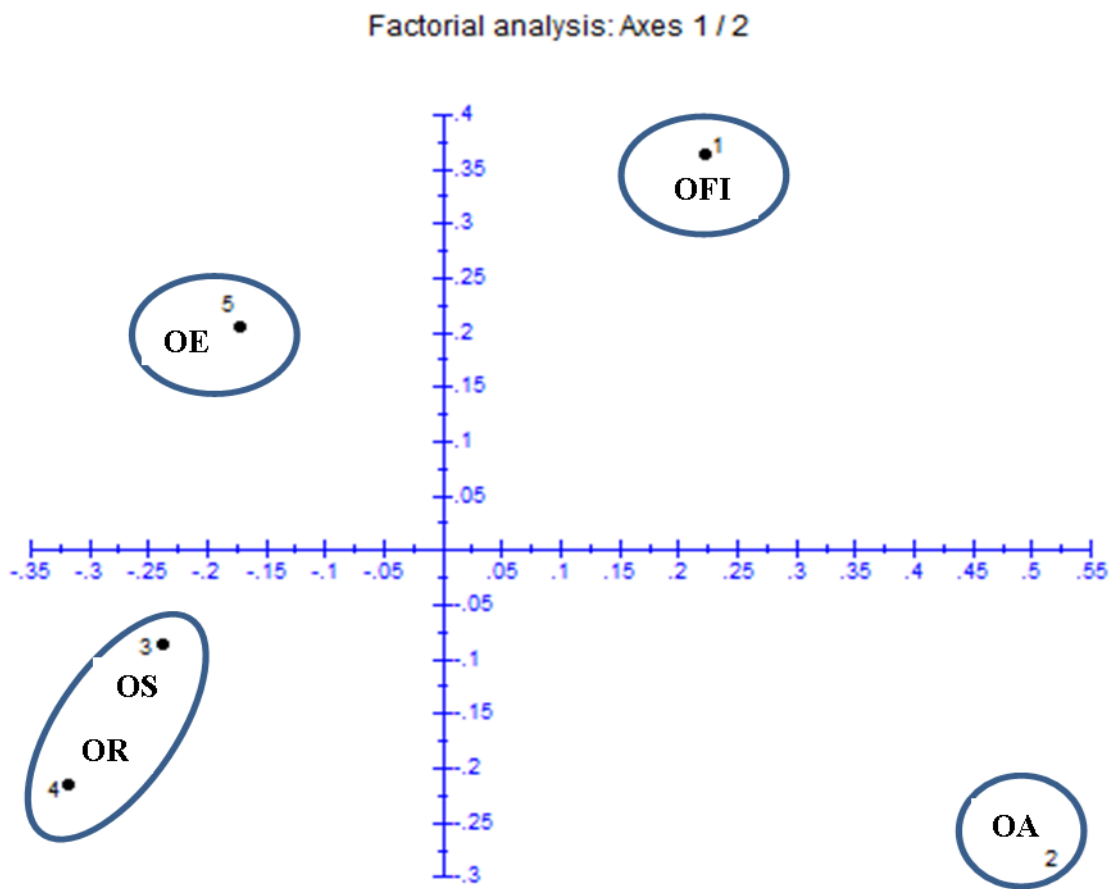


Figure 4.13: AFC réalisée sur les données de génotypes à l'aide de 45 marqueurs RAPD chez 5 génotypes d'*Opuntia* en fonction des axes 1 et 2.

4.2.4 Classification Hiérarchique

Le dendrogramme individualisé fait apparaître presque le même schéma de clustérisation précédemment décrit sur l'AFC (Figure 4.13). En effet, 3 groupes ont été individualisés (Figure 4.14).

Groupe A : comporte deux individus : l'*Opuntia ficus indica* et l'*Opuntia amyacleae* qui sont distants génétiquement (DG=0.79). La proximité génétique entre l'*Opuntia ficus indica* et l'*Opuntia amyacleae* est due au fait que ces deux génotypes sont génétiquement très proches.

Groupe B : comprend un seul individu : *Opuntia engelmannii*.

Groupe C : comprend 2 individus : *Opuntia streptacantha* et *Opuntia robusta* qui sont distants génétiquement (DG=0.56).

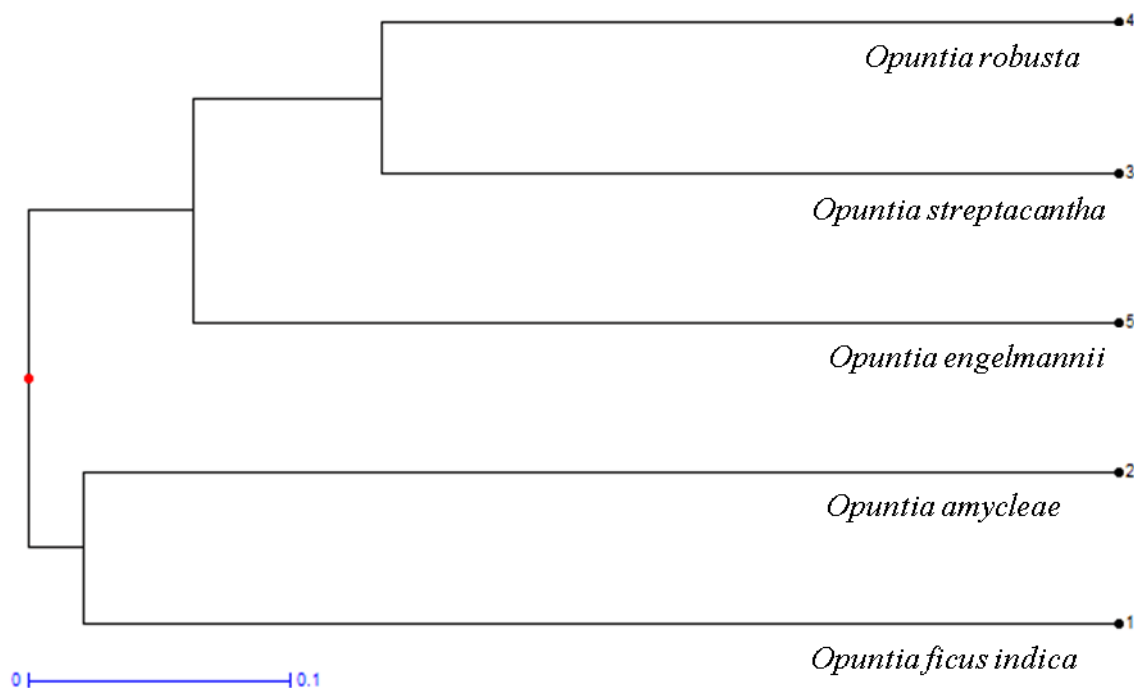


Figure 4.14: Dendrogramme illustrant les relations phylogénétiques entre 5 géotypes d'*Opuntia* établies sur la base de 45 marqueurs RAPD.

Afin de mieux visualiser la structuration génétique des géotypes d'*Opuntia*, une clustérisation radiée a été effectuée en se basant sur la procédure du Neighbour Joining du logiciel Darwin (Figure 4.15).

La représentation ainsi effectuée a montré que l'*Opuntia engelmannii* (n° 5) a été strictement isolé de tous les géotypes étudiés. Cet isolement pourrait être la conséquence d'une spécificité géotypique. L'utilisation d'un nombre plus élevé de marqueurs RAPD ou d'autres amorces spécifiques types SSR pourrait aider à vérifier davantage cette distinction.

Bien que les résultats ont montré que les marqueurs RAPD ont été dotés d'un pouvoir de discrimination élevé, les RAPD ont permis une meilleure structuration phylogénétique des différents géotypes d'*Opuntia*. En effet, les géotypes appartenant à la même espèce ont été mieux regroupés (Figure 4.14 et Figure 4.15). Ce qui signifie que, l'utilisation de cette technique serait suffisante pour l'analyse du polymorphisme génétique et pour la structuration phylogénétique de ces géotypes.

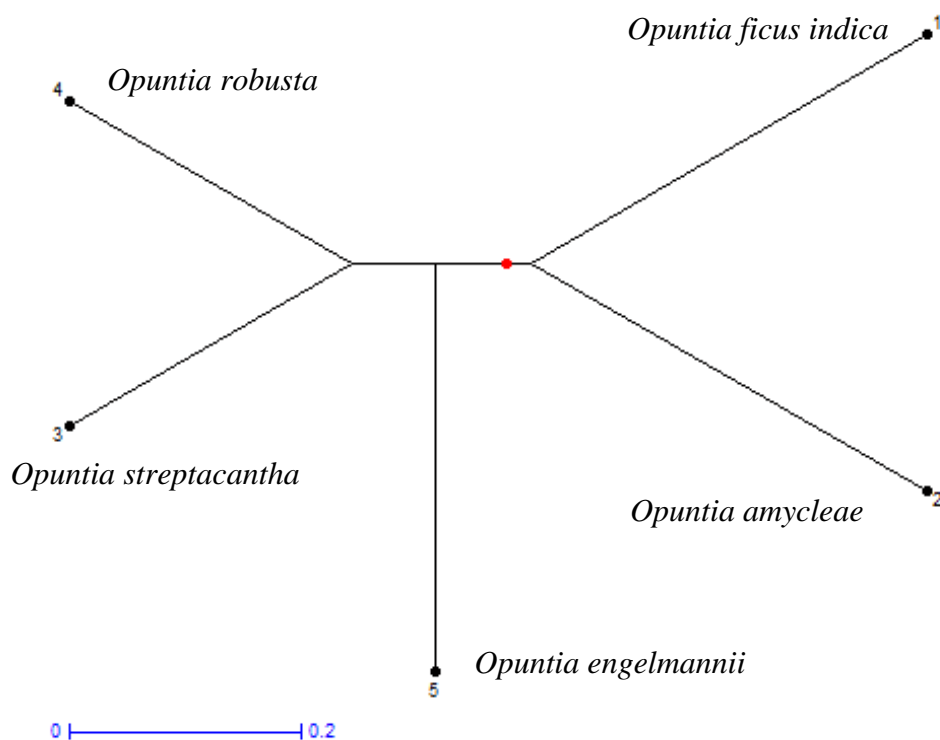


Figure 4.15: Représentation radiée montrant la singularité d'*Opuntia engelmannii* détectée sur la base de 45 marqueurs RAPD

Dans ce modeste travail, 5 géotypes du genre *Opuntia* ont été discriminés à l'aide de marqueurs dominants type RAPD dans le but d'analyser les liens phylogénétiques existant entre ces différentes phyto-ressources.

Ces techniques moléculaires nous ont, en effet, permis de développer les thèmes suivants :

- 1- Analyse de la diversité génétique,
- 2- Recherche des liens phylogénétiques existant entre les différents géotypes d'*Opuntia*;

Dans une première partie, l'analyse de la variabilité génétique a été conduite en utilisant trois amorces RAPD qui ont été préalablement sélectionnées pour leur capacité d'amplification et de polymorphisme. Ainsi 45 bandes ont été générées dont 42 ont été polymorphes.

Par ailleurs, 247 profils électrophorétiques distincts ont été observés, témoignant ainsi d'un haut niveau de variabilité génétique, au niveau de l'ADN.

L'amorce UBC-231 a été la plus discriminatoire avec la valeur la plus élevée de Rp (11.6), le nombre de marqueurs polymorphes le plus élevé et un nombre considérable de profils électrophorétiques (28). Cette amorce est d'un grand intérêt dans l'étude du polymorphisme génétique chez les génotypes d'*Opuntia* existant en Algérie.

A partir des données du génotypage RAPD, la structuration phylogénétique des différents génotypes a été établie en fonction de leurs distances génétiques calculées par paires de génotypes. Ainsi, l'analyse AFC (Figure 4.13) réalisée sur l'ensemble des données a montré la nette discrimination de tous les génotypes. Par ailleurs, l'examen de l'éclatement du nuage de points sur les axes 1 et 2 de l'AFC a montré un niveau de variabilité très important. Cette grande variabilité pourrait être attribuée à la nature des génotypes étudiés qui appartiennent à différentes espèces.

D'autre part, la classification hiérarchique (Figure 4.14) et radiée (Figure 4.15) fait apparaître presque le même schéma de clustérisation précédemment décrit sur l'AFC. En effet, la proximité génétique entre les génotypes partageant le même ancêtre commun a été également retrouvé sur les deux représentations. C'est le cas de l'*Opuntia ficus indica* et *Opuntia amyacleae*. Toutefois, l'*Opuntia engelmannii* a été strictement isolé de tous les génotypes étudiés (Figure 4.15). Cet isolement pourrait être la conséquence d'une spécificité génotypique.

L'ensemble de ces résultats ont permis d'établir une base de données moléculaires pour les différentes espèces du genre *Opuntia* analysés.

Finalement il n'en demeure pas moins que ces recherches devraient être complétées et orientées vers l'évaluation de ces génotypes d'un point de vue agronomique et physiologique afin de mieux sélectionner les génotypes les plus pertinents.

4.3 Essai de régénération *in vitro*

L'objectif de cette partie est d'étudier premièrement le comportement germinatif *in vitro* des cinq génotypes d'*Opuntia*, secondant de déterminer la variabilité morphologique interspécifique entre les différents génotypes étudiés, afin de l'exploiter dans des programmes de sélection et d'amélioration des plantations de ces derniers.

4.3.1 Etude des paramètres

La scarification chimique ne donne aucun résultat positif où aucune germination pour toutes les espèces expérimentées, par rapport à la scarification mécanique. De ce fait le traitement scarification chimique a été éliminé dans l'étude. Contrairement aux travaux de Beltran (1984), montrant que la scarification avec de l'acide sulfurique augmente le taux de germination des graines

La germination des vitro-semis est déclenchée dès le 3^{ème} jour pour les cinq espèces étudiées après l'ensemencement, par un gonflement et verdissement des embryons suivis d'une ouverture des cotylédons et la sortie de la radicule. La cladode épineuse qui sera la tige principale apparaît après environ un mois de culture (Figure 4.16).

La germination commence après une semaine, mais peut continuer jusqu'à deux mois, selon l'état de la graine [163]. La radicule peut percer l'enveloppe de la graine en trois à quatre jours [81].

4.3.1.1 Taux de germination (%)

Les graines, après avoir subi une scarification mécanique et une désinfection, ont été mises à germer sur les milieux de culture MS. L'utilisation d'un milieu MS est largement suffisant pour la germination *in vitro*, des graines des différentes espèces d'*Opuntia* étudiées (Tableau 4.9).

La variabilité de taux de germination est très élevée entre les cinq espèces. En effet, l'analyse de la variance révèle une différence très hautement significative (Tableau 4,

Appendice B). Selon les résultats obtenus (Tableau 4.9 ; Figure 4.18), les taux de germination obtenus sont: 75.1 %, 72.2 %, 72 %, 64.2 %, 62.4 % pour l'*O. robusta*, l'*O.amyaclea*, l'*O. streptacantha*, l'*O. engelmannii* et l'*O. ficus indica* respectivement.

Ces résultats sont en conformité avec ceux trouvés par Beltran (1984). Ce dernier a obtenu des taux de germination de graines de 71 % et de 42 % pour l'*Opuntia streptacantha* et l'*Opuntia Robusta*, respectivement, au moment où elles ont été placées dans des chambres de culture à une température constante du 35 ± 3 °C.

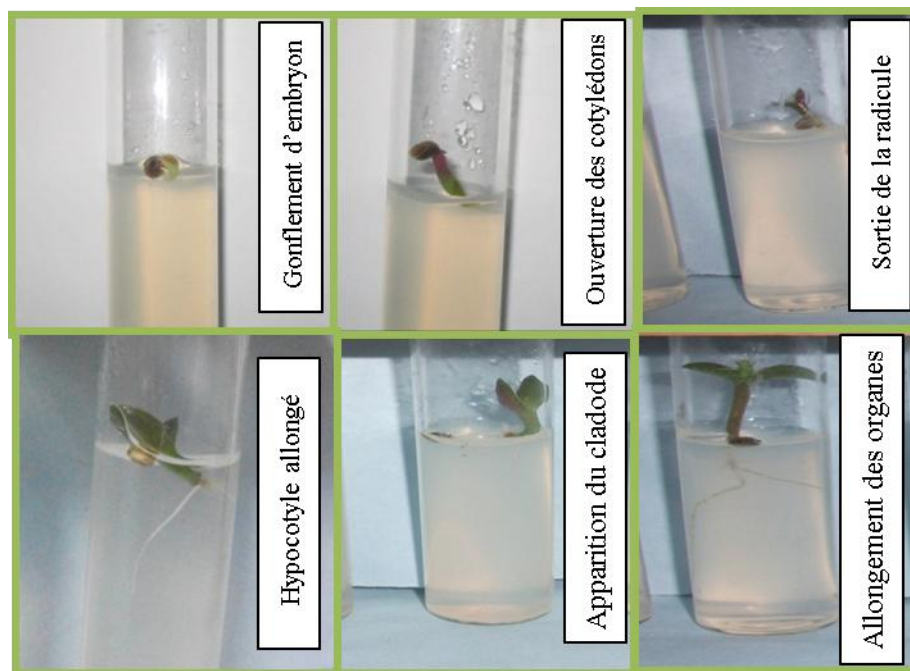


Figure 4.16: Les différentes étapes de la germination d'une graine d'*Opuntia*.

Muller (1992), pense que la germination dépend de l'époque de récolte des graines (graines immatures) mais aussi des conditions de stockage.

Les graines commencent à germer à partir du troisième jour après la mise en culture. Ceci peut être expliqué par un bon état physiologique des graines; obtenu après le traitement au froid d'un mois et l'action de la scarification mécanique. Nouaim et al. 1995, montrent que le faible taux de germination est dû à l'inhibition tégumentaire, celle-ci peut être rompue par simple scarification mécanique sans risque pour la viabilité de l'embryon. Sous l'action de la scarification mécanique, les enveloppes tégumentaires deviennent plus perméables à l'eau ce qui favorise l'imbibition et l'oxygénation de l'embryon, conduisant

ainsi à une élimination de la dormance tégumentaire et au déclenchement du processus physiologique de la germination. En outre, cette méthode représente un autre avantage qui est la stérilisation plus efficace des embryons.

La graine constitue la forme la plus commune de reproduction chez les cactacées, elle ne peut pas germer dans le fruit à cause de la présence des inhibiteurs de germination, comme c'est le cas de la tomate et du melon [68]. Les graines d'*Opuntia* peuvent garder leur aptitude à la germination pendant environ 20 ans [3, 68].

Chez les cactus, les fruits renferment souvent deux types de graines avortées ; le premier type est prédominant, il est caractérisé par le manque de la viabilité, ceci est en relation avec l'échec accidentel de l'ovule ou du jeune embryon adventif. Le deuxième type, est représenté par le nucelle qui montre une croissance continue, même après la formation de l'embryon, en même temps, le funicule se transforme en une enveloppe lignifiée et dure [34].

Au Chili, beaucoup de fruits d'*Opuntia ficus indica* ont révélé un troisième genre, où aucune graine n'est viable. C'est une forme d'anomalie, qui résulte peut être du développement du funicule, dans une enveloppe dure mais avec le développement actif du nucelle. Eventuellement ce dernier émerge à travers le micropyle [34].

4.3.1.2 Nombre de racines des vitro-plants

L'analyse de la variance du nombre de racines révèle une différence très hautement significative entre les espèces expérimentées (Tableau 4, appendice B).

D'après le test de NEWMEN-KEULS, le nombre des racines le plus élevé a été enregistré chez l'*O. engelmannii* avec un nombre moyen de 18.2 racines représenté par le groupe homogène A, suivi par l'*O. ficus indica* avec 16.4 racines et l'*O. amycleae* avec 16.2 racines les deux espèces représentées par le groupe B, enfin le groupe C, regroupe l'*O. robusta* avec 11 racines et l'*O. streptacantha* avec 10.6 racines (Tableau 4.9).

Tableau 4.9: paramètres de croissance in vitro des cinq espèces d'opuntia étudiées.

Paramètres		<i>O. ficus indica</i>	<i>O. amycleae</i>	<i>O. streptacantha</i>	<i>O. robusta</i>	<i>O. engelmannii</i>	Proba.	Signi.
Taux de germination (%)	de	62.4 ± 0.89 D	72.2 ± 0.84 B	72 ± 0.71 B	75.1 ± 1.04 A	64.2 ± 0.84 C	0.00	***
Nombre des racines	des	16.4 ± 0.89 B	16.2 ± 1.3 B	10.6 ± 0.55 C	11 ± 1 C	18.2 ± 0.84 A	0.00	***
Longueur de la racine (mm)	de la	19.67 ± 1.18 C	23.76 ± 1.12 B	30.8 ± 0.83 A	16.48 ± 0.65 D	31.61 ± 1.78 A	0.00	***
Longueur cladode (mm)	du	11.55 ± 1.26 B	11.31 ± 0.71 B	7.62 ± 0.53 D	14.02 ± 0.17 A	9.31 ± 0.65 C	0.00	***
Largeur cladode (mm)	du	1.96 ± 0.29	2.27 ± 0.22	1.84 ± 0.42	2.22 ± 0.19	2.13 ± 0.36	0.19	ns
Épaisseur cladode (mm)	du	1.75 ± 0.38 B	2.21 ± 0.25 A	1.92 ± 0.27 AB	1.12 ± 0.13 C	1.92 ± 0.15 AB	0.00003	***

P>0.05 ne sont pas significatifs (ns); P≤ 0.05 significatif (*); P≤0.01 hautement significatif (**); P≤0.001 très hautement significatif (***). Pour chaque descripteur les valeurs portant les mêmes lettres sont statistiquement égales.

4.3.1.3 Longueur de la racine du vitro-plant (mm)

Quatre semaines après la mise en culture, le début d'apparition des racines se manifeste par des primordiums racinaires d'aspect blanchâtre à la base du vitro-plant (Figure 4.16 et 4.17).

L'analyse de la variance montre une différence très hautement significative chez les cinq espèces expérimentées (Tableau 4, appendice B). La racine la plus longue est observée chez l'*O. engelmannii* avec une longueur de 31.61 mm, suivi par l'*O. streptacantha* (30.8 mm). Par contre, l'*O. robusta* montre la racine la plus courte avec une valeur de 16.48 mm (Tableau 4.9; Figure 4.18).

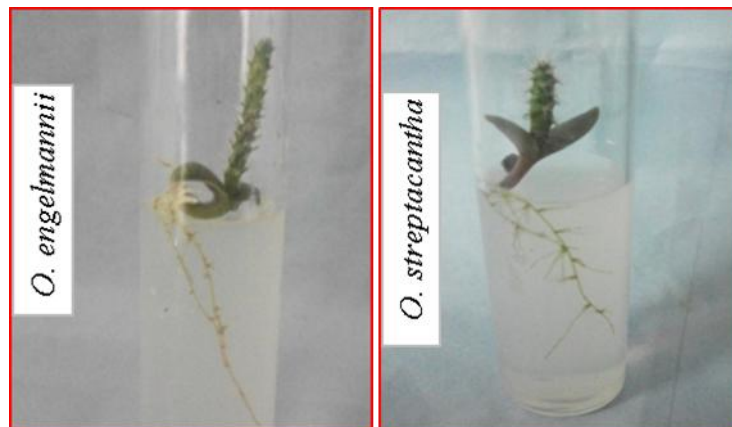


Figure 4.17: Aspect général des vitro-plants après 60 jours de culture.

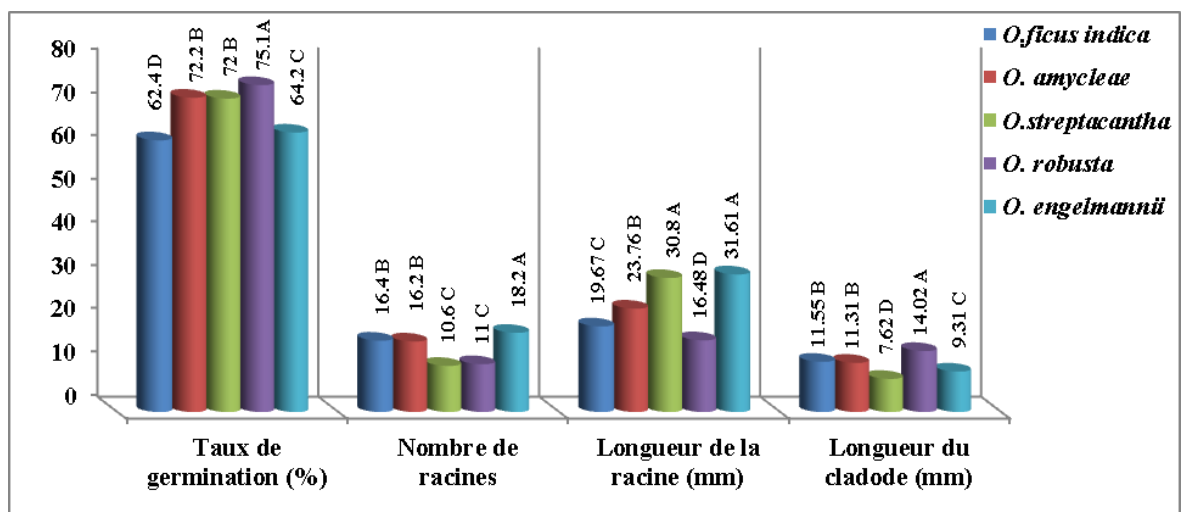


Figure 4.18 : Paramètres de croissance *in vitro* des cinq espèces d'opuntia étudiées.

4.3.1.4 Longueur du cladode des vitro-plants (mm)

La variabilité de la longueur des cladodes est très élevée entre les cinq espèces étudiées. En effet l'analyse de la variance montre une différence très hautement significative tout au long de nos observations (Tableau 4, appendice B). Les moyennes des longueurs des cladodes obtenues après 60 jours de culture sont de l'ordre de : 14.02 mm, 11.55 mm, 11.31 mm, 9.31 mm, 7.62 mm, concernant l'*O. robusta*, l'*O. ficus indica*, l'*O. amyacleae*, l'*O. engelmannii* et l'*O. streptacantha* respectivement (Tableau 4.9; Figure 4.17 et 4.18).

4.3.1.5 Largeur du cladode (mm)

L'analyse de la variance relative à la largeur des cladodes ne montre aucune différence significative entre les espèces étudiées (Tableau 4 ; Appendice B).

4.3.1.6 Epaisseur du cladode (mm)

L'analyse de la variance fait ressortir une différence très hautement significative entre les espèces étudiées concernant l'épaisseur du cladode (Tableau 4, appendice B).

Le test de NEWMEN-KEULS met en évidence quatre groupes homogènes :

Groupe A : *Opuntia amyacleae* qui montre la plus grande épaisseur du cladode avec une épaisseur de 2.21 mm ;

Groupe B : *Opuntia ficus indica* (1.75 mm);

Groupe AB : *Opuntia streptacantha* (1.92 mm) et *Opuntia engelmannii* (1.92 mm) ;

Groupe C : *Opuntia robusta* qui présente une faible épaisseur avec une moyenne de 1.12 mm (Tableau 4.3).

4.3.2 Phénomène de polyembryonie

Au cours de notre expérimentation, nous avons remarqué que certains tubes de culture portent deux ou trois plantules qui sont issues de la même graine c'est le phénomène de la polyembryonie chez le figuier de barbarie (Figure 4.19).

La polyembryonie d'origine nucellaire est commune dans le genre *Opuntia*, cela explique le développement de deux ou trois plantules à partir d'une seule graine. La polyembryonie d'origine nucellaire et le développement d'endosperme sans fécondation, se produisent chez l'*Opuntia vulgaris*, *Opuntia ficus indica* et chez d'autres espèces de cactus, à l'exception d'*Opuntia aurantica*, où il n'a ni la formation de l'endosperme ni la fécondation [34].

L'avantage de la reproduction sexuée chez l'*Opuntia* est la reproduction des individus génétiquement uniques, qui contribuent à maintenir la variabilité génétique de l'espèce, le potentiel d'être dispersée plus facilement. Par ailleurs, les plantes obtenues à partir de graines d'espèce sans épines, peuvent générer des formes épineuses, caractérisées par une grande variabilité. Nous avons observé que toutes les plantules obtenus sont pourvues des épines quel que soit pour la forme inermis ou épineuse. Des résultats similaires ont été obtenus par Mulas (2004).

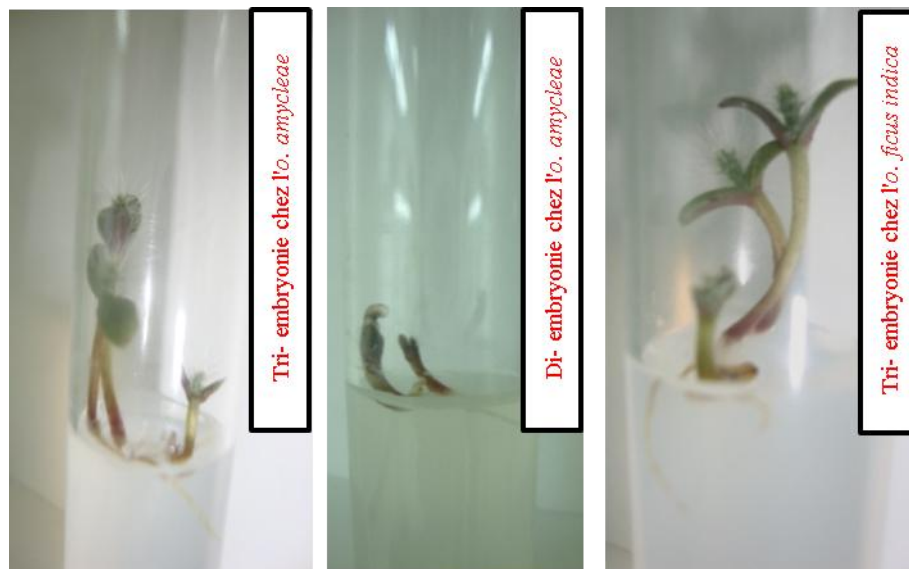


Figure 4.19: Phénomène de polyembryonie chez l'*Opuntia*.

4.3.2 Transplantation et acclimatation des vitro-plants

L'acclimatation est une étape très importante pour le succès de la multiplication végétative *in vitro*.

Seulement les vitro-plants ayant un système racinaire bien développé ont l'objet de la transplantation. En conséquence, nous avons transféré 20 vitro-plants par espèce, sur le substrat constitué de tourbe, soit un total de 100 vitro-plants.

Les résultats obtenus montrent que 90 % des vitro-plants acclimatés montrent une bonne adaptation au substrat. Les cladodes atteignent une longueur moyenne d'environ 06 cm pendant 40 jours en phase d'acclimatation (Figure 4.20).

Suite aux conditions de confinement créées en *in vitro*, les vitro-plants présentent plus ou moins de profondes modifications morphologiques, anatomiques et physiologiques [166, 167].



Figure 4.20: Transplantation et acclimatation des vitro-plants d'*Opuntia ficus indica*

En conclusion, la multiplication à partir des graines n'est pas courante; puisqu'elles présentent une phase juvénile très longue. Par contre, cette méthode de multiplication est très souhaitable dans le domaine de l'horticulture, lorsqu'elle permet la production des formes uniformes du point de vue phénotypique.

CONCLUSION GENERALE

Le figuier de barbarie (*Opuntia*) est un Cactaceae, abondamment reparti en Algérie sous forme de peuplements naturels ou cultivés. Cette essence agro-pastorale, ayant d'énormes intérêts agro-économiques et écologiques, reste encore très peu étudiée et mal exploitée. Le présent travail consiste à inventorier, recenser et caractériser les différentes espèces du genre *Opuntia*, sous genre *Platyopuntia* existant au niveau des steppes algériennes, par le biais des descripteurs morphologiques, phénologiques et moléculaires. L'étude permet de révéler la biodiversité de ce genre dans ces régions, puis valoriser la richesse génétique de ce dernier, dans le domaine d'amélioration des plantes par des programmes de sélection et d'hybridation en vue d'améliorer la potentialité technologique et agronomique de ces espèces. En effet, nous remarquons une très grande variabilité phénotypique et génétique au sein des *Opuntia*.

A travers ces travaux réalisés durant cette thèse, nous avons pu développer les thèmes suivants :

Partie 1 : Etude du polymorphisme phénotypique par l'utilisation de 49 descripteurs quantitatifs et qualitatifs et admis par l'UPOV 2006;

Partie 2 : Etude du polymorphisme moléculaire à l'aide des marqueurs dominants de type RAPD dans le but d'analyser les liens phylogénétiques existants entre ces différentes phyto-ressources ;

Partie 3 : Essai de régénération *in vitro* à partir des graines de ces génotypes.

L'étude du polymorphisme phénotypique par l'utilisation de 49 descripteurs quantitatifs et qualitatifs et admis par l'UPOV (2006), nous ont permis de ressortir les observations suivantes :

Le port du pied est dressé pour toutes les espèces étudiées.

Au niveau des cladodes, nous avons enregistré une grande variabilité, concernant la forme, la couleur, la taille et le nombre des épines.

Concernant les fleurs, nous avons enregistré une variabilité au niveau de la couleur du périanthe, du stigmate et du style d'une part et d'autre part au niveau de la taille et du nombre de lobes de stigmate.

Les fruits montrent une grande variabilité entre les espèces expérimentées au niveau des paramètres phénotypiques telles que : les dimensions, la taille, le pourcentage de la pulpe et le pourcentage de la peau, la forme, la couleur de la surface et la couleur de la chair.

De plus, les résultats obtenus montrent que les graines viables présentent une différence importante au niveau des paramètres quantitatifs.

En se basant sur les analyses en composantes principales (ACP), on conclut que :

Les deux premiers axes de l'analyse en composantes principales (ACP) absorbent (67.217 %) de la variation totale avec 38.239 % pour l'axe 1 et 28.978 % pour l'axe 2 de l'inertie total.

Sur le plan formé par les axes 1 et 2, les génotypes qui ont le cos 2 le plus élevé sont celles qui contribuent le plus à la formation des axes dont :

Axe 1 : *O. engelmannii* du côté positif, *O. ficus indica* et *O. amyacleae* du côté négatif.

Axe 2 : *O. robusta* se trouve du côté positif alors que l'*O. streptacantha* se trouve du côté négatif.

Le premier groupe est diamétralement opposé au deuxième groupe par rapport à l'axe de la composante principale (ACP1).

Le troisième groupe est diamétralement opposé au quatrième groupe par rapport à l'axe de la composante principale (ACP2).

En outre, l'analyse de classification ascendante hiérarchique (CAH) permet de distinguer trois classes distinctes.

La première classe contient 3 espèces : *Opuntia robusta*, *Opuntia ficus indica* et *Opuntia amyacleae* et qui n'ont que 0.156 et 0.1558 % de similitude entre l'*Opuntia robusta* et l'*Opuntia ficus indica* et entre l'*Opuntia robusta* et l'*Opuntia amyacleae*. L'*Opuntia ficus indica* et l'*Opuntia amyacleae* corrélées entre elles à 0.1257 % de ressemblances.

La seconde classe comprend un seul génotype (*Opuntia streptacantha*) ;

La dernière classe contient un seul génotype (*Opuntia engelmannii*).

De plus, l'étude moléculaire nous a, en effet, permis de développer les points suivants :

Dans un premier lieu, l'analyse de la variabilité génétique a été conduite en utilisant trois amorces RAPD qui ont été préalablement sélectionnées pour leur capacité d'amplification et de polymorphisme. Ainsi 45 bandes ont été générées dont 42 ont été polymorphes.

Par ailleurs, 247 profils électrophorétiques distincts ont été observés, témoignant ainsi d'un haut niveau de variabilité génétique, au niveau de l'ADN.

L'amorce UBC-231 a été la plus discriminatoire avec la valeur la plus élevée de Rp (11.6). Le nombre de marqueurs polymorphes le plus élevé et un nombre considérable de profils électrophorétiques (28). Cette amorce est d'un grand intérêt dans l'étude du polymorphisme génétique chez les génotypes d'*Opuntia* existant en Algérie.

Les données du génotypage RAPD, ainsi que, l'Analyse Factorielle de Correspondance AFC réalisée sur l'ensemble des données a montré la nette discrimination de tous les génotypes. Par ailleurs, l'examen de l'éclatement du nuage de points sur les axes 1 et 2 de l'AFC a montré un niveau de variabilité très important. Cette grande variabilité pourrait être attribuée à la nature des génotypes étudiés qui appartiennent à différentes espèces.

D'autre part, la classification hiérarchique et radiée fait apparaître presque le même schéma de clustérisation précédemment décrit sur l'AFC. En effet, la proximité génétique

entre les génotypes partageant le même ancêtre commun a été également retrouvé sur les deux représentations. C'est le cas de l'*Opuntia ficus indica* et l'*Opuntia amyacleae*. Toutefois, l'*Opuntia engelmannii* a été strictement isolé de tous les génotypes étudiés. Cet isolement pourrait être la conséquence d'une distinction génotypique.

L'ensemble de ces résultats ont permis d'établir une base de données moléculaires pour les différentes espèces du genre *Opuntia* analysées. Le résultat actuel représente une étape primordiale vers la sélection rapide d'espèces intéressantes et pour leur meilleure gestion et conservation.

En dernier lieu, les résultats relatifs à l'essai de régénération *in vitro* à partir des graines des génotypes expérimentés nous a permis de tirer les points suivants :

Les vitro-plants présentent un aspect phénotypique semblable pour toutes les espèces mais la différence est observée au niveau de la totalité des paramètres étudiés à savoir : le taux de germination, le nombre des racines, la longueur de la racine, la longueur et l'épaisseur du cladode.

Aussi, selon les résultats obtenues, les taux de germination obtenus sont: 75.1 %, 72.2 %, 72 %, 64.2 %, 62.4 % pour l'*O. robusta*, l'*O.amyaclea*, l'*O. streptacantha*, l'*O. engelmannii* et l'*O. ficus indica* respectivement.

Ainsi, au cours de notre expérimentation nous avons remarqué que certains tubes de culture portent deux ou trois plantules qui sont issues de la même graine c'est le phénomène de la polyembryonie chez le figuier de barbarie.

La multiplication à partir des graines n'est pas courante; puisqu'elle présente une phase juvénile très longue. Par contre, cette méthode de multiplication est très souhaitable dans le domaine de création variétale.

Finalement il n'en demeure pas moins que ces recherches devraient être complétées par le recensement et la caractérisation morphologiques et moléculaire de tous les génotypes d'*Opuntia* existant sur le territoire national. Par la suite, comparer les résultats

d'analyse de ressources génétiques algériennes d'*Opuntia* à celles de certains pays, afin de construire un arbre phylogénétique global pour le positionnement des ressources génétiques algériennes. Ces travaux de recherches devraient être vers l'évaluation de ces génotypes d'un point de vue agronomique et physiologique afin de mieux sélectionner les génotypes les plus pertinents.

REFERENCES

1. Le petit Larousse illustré. Larousse, (2007), 1811
2. Shweizer, M., «Docteur NOPAL le médecin du Bon Dieu», APB, ed.3^e trimestre, France, (1997), 81.
3. Fournier, P., «Les cactées et les plantes grasses», ed. 2^{ème} édition, Paris, P. Lechevalier, (1954), p.113.
4. Monjauze, A et Le Houérou, H.N., «Le rôle de l'Opuntia dans l'économie Agricole Nord-africaine», Extrait du Bultten de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agriculture de Tunisie. (N°8-9 Septembre-December, 1966), 85-164.
5. Araba, A. El Aich, A et Sarti, B., «Valorisation du figuier de Barbarie en élevage», Bultten Mensuelle d'Information et de Liaison du PNTT N° 68, (2000), 1- 4.
6. Kadik, B., «Les plantations semi forestières pastorales», Revue INRA, (Nov. 1974), Alger, 83 - 92.
7. Maataoui Belabbes, S et Hilali, S., «Caractérisation physico-chimique de jus de deux types de fruits de figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*) de la région de la Chaouia», Congrès de Biochimie. Casablanca, N°166, (9, 10 et 11 Mai 2002), 6 - 12.
8. Anaya-Pérez, M.A., «History of the use of *Opuntia* as forage in Mexico», In: Mondragon. J et Perez. G.S, (Eds.), Cactus (*Opuntia spp.*) as storage. Rome Italy, FAO, (2001), 5 -12.
9. Le Houérou, H.N., «The rôle of cacti (*Opuntia Sp.*) in Erosion control, land reclamation, réhabilitation and agricultural development in the Mediterranean Basin», Journal of arid environements, 33, (1996), 135 -159.
10. Anderson, E.F., «The cactus family», Timber Press, Portland, Oregon, USA, (2001), 776
11. Casas, A et Barbera, G., «Mesoamerican domestication and diffusion», In: Nobel, P. S., ed, Cacti: biology and uses, University of California, Berkeley, California, USA, (2002), 143 -162
12. Correale, G., «Arbustes fourragers, leurs rôles pour le développement et la conservation environnementale des zones arides et semis arides méditerranéennes», Rapport 28 Septembre - 9 Octobre IGA, Méditerranéennes des Sarages, 1998.
13. Khouri, M.S., «Opuntias, bilan écologique en Algérie», INRA et CAREF, Janv. (1970), 59

14. Barbera, G., «History, Economic and Agro-ecological importance», In: Barbera, G, inglese, P, Pimienta. B.E, Arias. J.E. de J. (eds.), Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear», F.A.O., plant production and production paper 132, Rome Italy, (1995), 1 - 11.
15. Mirza, S.N., «Fodder shrubs and trees in Pakistan», In: Gintzburger. G, Bounejmate. M et Nefzaoui. A, (eds.). "Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones". Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, Hammamet, Tunisia. ICARDA, Aleppo (Syria). Vol. I: (27 October - 2 November 1996), 153 -177.
16. Boujghagh, M et Chajia, L., «le cactus : outil de gestion de la sécheresse dans le sud marocain», terre et vie, N° :52,44, Rabat Maroc, (Novembre/ Décembre 2001), p.7. [http://www. Terre et vie.ov.h.org](http://www.Terre-et-vie.ov.h.org).
17. Tegegne, F., «In vivo Assesment of the Nutritive Value of Cactus Pear as a Ruminant Feed», 323 - 328. In: Néfzaoui. A et Inglese. P, "Proceedings of the Fourth International Congress on Cactus Pearand Cochineal», Acta Horticulturae, Novembre 581, Hammamet, Tunisia, (22 -28 Octobre 2000), 352
18. Abay, F., «Gestion par les agriculteurs d'une plante cultivée pour lutter contre la faim en Ethiopie du Nord», Conservation et utilisation durable de la biodiversité agricole (Guide de référence). Rome Italie, 14, (2005), 117 - 122.
19. Walali, L., «Bultten de liaison du Programme National de transfert de technologie (PNTTA)», Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, Rabat Maroc, N°35, (1998), 5 -10.
20. Bouhraoua, A., «Contribution à l'étude d'un Halophyte (*Artiplex halimus*) cas du périmètre d'expérimentation d'EL-Mesrane, W. Djelfa Comportement, technologie, écophysioogie», Mémoire d'Ing. Inst. d'Agro. Blida, (1989), 53
21. Yousfi, S., «Les cactées, *Opuntia ficus indica* rapport bibliographique sur les opuntias et Bilan de quelques études en Algérie», INRA, Algérie, (Octobre 2000), 17
22. Neffar, S. Beddiar, A. Redjel, N. Boulkheloua, J., «Effects of the age of prickly pear (*Opuntia ficus indica* f. *inermis*) plantations on soil properties and vegetation at Tebessa (semi-arid area of eastern Algeria)», International Journal of Mediterranean, Ecology 37, (2011), 5-15.
23. HCDS. «La situation actuelle des parcours», Document de l'HCDS de Djelfa, (2005).
24. Arba, M, Cherif. B.M et Mokhtari. M., «The cactus pear (*Opuntia spp.*) in Morocco: Main species and cultivar characterisation», Acta Hort. (ISHS) 581, (2002), 103 - 109.<http://.www.actahort.org>
25. Habibi, Y., «Contribution à l'étude morphologique, ultra structurale et chimique de la figue de barbarie les polysaccharides pariétaux : caractérisation et modification chimique», Thèse de doctorat en chimie organique de l'université Joseph Fourier et

de l'université Cadi Ayyad, (Mai 2004), 237

26. Pimienta, B.E., «El nopal tunero», Edizioni dell'Università di Guadalajara, Mexico: (1990), 246
27. Britton, N.L et Rose, J.N., «The *Cactaceae* », Dover Publications, Inc., New York: (1963), 241
28. Crête, P., «Système des angiospermes», Précis de botanique. Tome II; 2^{ème} édition, (1965), 267 - 270.
29. Langkawi, M., «Convention sur les commerce international des espèces de fausse et de flore sauvages menacées d'extinction», Onzième session du comité pour les plantes, Proposition relatives à des espèces à soumettre à la CdP12, Annexe1. Examen des propositions d'aménagement des annexes I et II de la convention, PC11 Doc.10 1.1, (2001), 22
30. Reynolds, G.S et Arias, E., «Introduction», In : C. Mondragón-Jacobo and S. Pérez-González, pp.1-4. Cactus (*Opuntia spp.*) as forage. FAO Plant production and protection paper 169. (2001), 146
31. Pimienta, B.E et Munoz, U.A., «Domestication of *Opuntia* and cultivated varieties», In: Barbera. G, Inglese. P, Pimienta. B.E, Arias. J.E.De.J, (eds.), «Agro-écologie, cultivation and uses of cactus pear», FAO., plant production and production paper132, Rome Italy, (1995), 58 - 63.
32. Mondragón, J.C et Pérez, G.S., «Germplasm resources and breeding opuntia for fodder production», In : Mondragón. J.C, Pérez. G.S, Arias. E, Reynolds. S.G et Sánchez. M.D, (eds.), "Cactus (*Opuntia spp.*) as forage", F.A.O. plant production and protection paper 169, Rome Italy, (2001), 21 - 28.
33. Nieddu, G. Satta Dm Depau, L. Pala, M et Chessa, I., «Description and identification of cactus pear variety as fruit corps», In: IV International Congress of Cactus and IV thmeeting on cactus net FAO, Hammamet , Tunisie, (Octobre 2000), 2
34. Sudzuki, H.F., «Anatomy and morphology», In: Barbera. G, Inglese. P et Pimienta. B.E, (eds.). Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear. FAO. Rome Italy, (1995), 28 - 35.
35. Aguilar, B.G et Chavez, F.S., «Frutos partenocarpicos de nopal (*Opuntia amyclae* mediante la induccion de esterilidad masculina», In: Pimienta. B.E, Neri. L.C, Munoz. U.A et Huerta. M.F.M, (Eds.), Memoria del VI Congreso Nacional y IV Internacional sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, (1995), 136 - 138.
36. Kerstupp, S.F, Scheinvat, L. Bottler, R. Peter Amador, M.C. Conzalez, C. Migalgomontano, M et Tuarez-Tapia, J., «Ethnobotany of *Opuntia* in three locations of Alto-Mezquital de Hidalgo, Mexico», In: IVth International Congress on Cactus and Cochineal and IVth meeting of cactus net FAO, Octubre 2000 Hammamet, Tunisie, (2000), 23

37. Tous, J et Ferguson, L., «Mediterranean fruits In: Janick J.(ed.) progress in new crops», ASHS press, Arlington VA., (1996), 416-430. <http://www.hort.Purdue>.
38. Batlle, I and Tous, J., «Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops». 17. Institute of Plant Genetic and Crops Plant Research. Gatersleben/International Plant Resources Institute. Rome. Italy, (1997).
39. Monneveux, P and Depigny-This, D., «Intégration des approches physiologiques, génétiques et moléculaires pour l'amélioration de la tolérance à la sécheresse chez céréales». Dans: Quel avenir pour l'amélioration des plantes? Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext, Paris. (1995), 149-163.
40. Bertheau, Y. Darrasse, A. Jouan, B. Kotousky, A and Priou, S., «Amplification enzymatique in vitro d'ADN et ses applications». In: Le progrès génétique passe-t-il par le repérage et l'inventaire des gènes? Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. Paris, (1993), 3-22.
41. Stuessy, T. E., «The systematic evolution of comparative data». Columbia Univ. Press, New York, USA, (1990).
42. Gharnit, N., El Mtili N., Ennabili A. and Sayah F., «Floral characterization of carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) from the province of Chefchaouen (NW of Morocco)». Moroccan J. Biol. 1, (2004), 41-51.
43. Adam, A. F. et Dron M., «Les outils moléculaires et leurs applications à l'amélioration des plantes. Dans: Le progrès génétique passe-t-il par le repérage et l'inventaire et des gènes?», Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext, Paris, (1993), 23-46.
44. De Vienne, D., «L'analyse du déterminisme génétique des caractères quantitatifs chez les végétaux», médecine/sciences: 10(6), (1990), XI-V.
45. Williams, J. G.K. Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A and Tingey, S.V., «DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers». Nucleic Ac. Res. 18, (1990), 6531- 6535.
46. MacRoberts, N., Finch, R.P. Sinclair, W., Meikle, A. Marshall, G. Squire, G and McNicol, J., «Assessing the ecological significance of molecular diversity data in natural plant populations». J. Exp. Bot. 50, 340, (1999), 1635-1645.
47. Reiter, R. S., Williams J. G. K., Feldmann K., Rafalski J. A., Tingey S. V. and Scolnik P.A., «Global and local genome mapping in *Arabidopsis thaliana* by using recombinant inbred lines and random amplified polymorphic DNAs». Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89, (1992), 1477-1481.
48. Wilde, J., Waugh R. and Powell W., «Genetic fingerprinting of *Theobroma* clones using randomly amplified polymorphic DNA markers». Theor. Appl. Genet. 83, (1992), 871-877.
49. Lashermes, P. Cros, J. Marmey, P and Charrier, A., «Use of random amplified

polymorphic DNA markers to analyse genetic variability and relationships of *Coffea* species». *Crop Evol. Gent. Res.* 40, (1993), 91-99.

50. Khadari, B., Lashermes, P and Kjellberg, F., «Identification variétale et ressources génétiques chez le figuier (*Ficus carica* L.): utilisation des marqueurs RAPD». In: «Quel avenir pour l'amélioration des plantes?». Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext, Paris, (1994), 399-412.
51. Khadari, B. Breton, C. Moutier, N. Roger, J.P. Besnard, G. Bervillé, A and Dosba, F., «The use of molecular marker of germplasm management in a French olive collection». *Theor. Appl. Genet.* 106, (2003), 521-529.
52. Spencer, J.L., «A cytological study of the *Cactaceae* of Puerto Rico», *Botanical Gazette*, 117, (1955), 33 - 37.
53. Weedin, J.F et Powell, A.M., «Chromosome numbers in Chihuahuan desert *Cactaceae*», *Trans. Pecos Texas. Amer. Journ. Bot.*, 65, (1978), 531 - 537.
54. Mazzola, P. Romano, S et Fici, S., «Contributo alla conoscenza del genero *Opuntia* Miller. I. Dati cariologicie distributive delle specie spontaneizzate e coltivate in Sicilia», *Naturalista Sicil.* IV, XII 3-4, (1988), 159 - 168.
55. Rebmenm, J.P et Pinkava, D.J., «*Opuntia* cacti of North America – an overview Cactus d'*Opuntia* de l'Amérique du Nord», *Floride Entomologiste* 84 (4), (Décembre-2001), 474 - 483.
56. Kartez, R., «Nature», Le livre de Paris Hachette imprimé en Italie par G. Gana, (1996).
57. Nefzaoui, A et Ben Salem, H., «Cacti: efficient tool for rangeland rehabilitation, drought mitigation and to combat desertification», *Proceedings of the fourth international congress on Cactus pear and Cochineal. Acta Horticulturae*, 581.Hamamet, Tunisia, (22-28 October 2000).
58. Nobel, P.S. et Lee, CH., «Variations on root water potentials, influence of environmental factors for two succulent species», *Annals of botany. London.* 67 6, 1991, 549 - 554.
59. Kenny, L., «Importance et conduite technique», *Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Agadir*, (2002), 6
60. Dubrovsky, G.J et North, B.G., «Root structure and function" In: Nobel. P. S, (ed.), *Cacti biology and uses*», *University of California*, (2002), 41 - 56.
61. Pimienta, B.E. Gonzales del Castillo, A.M.E et Nobel, S.P., «Ecophysiology of wild *platyopuntia* exposed to prolonged drought», *Environmental and Experimental Botany*, 47, (2002), 77 - 86.
62. Bossard, R., «Floriculture», N°3, ed. 4^{ème} édition entièrement revue, *Collection d'Enseignement Horticole.*, Paris, (1978), 269 - 270.

63. Kenny, L., «Le Figuier de barbarie Importance économique et conduite technique», Bulletin réalisé à l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Programme National de Transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA), BTT n°35. Rabat Maroc, (1998).
64. Mauseth, J.D., «Introduction to cactus anatomy part 7, epidermis», Cactus and succulent journal. US 56, (1984), 33 - 37.
65. Gibson, A.C et Nobel, P.S., «Gaz exchange and crassulacean acide metabolism in the Cactus Primer», Harvard Univ. Press. Cambridge, mass, (1986b).
66. Benson, L., «The cacti of the United States and Canada», Stanford Univ. Press. California, (1982), 10 - 44.
67. Gibson, A.C, Nobel, P.S., «Areoles and spines», In: The Cactus Primer. Harvard Univ. Press. Cambridge Mass. (1986a).
68. Evêque, V. D., «Optimisation of tissues cultures for Opuntias», thesis, University of Texas. (Mai, 1995). <http://www.Lawrence.edu>
69. Wessels, A.B. et Swart, E., «Morphogenesis of the productive bud and fruit of the prickly pear (*Opuntia ficus-indica*)», International symposium on culture of subtropical and tropical fruits and crops. Nelspruit. In Acta horticultural technical communication of ISHS, Wageningen. (6 - 9 Nov 1989).
70. Boiteau, P., «Cours de Botanique). La carotte-Ombellifères : Myrtacées, Mélastomacées, Cactacées», (8^{ème} TYPE). In: le Rouge Botanique et Madagascar. Copyright Association le Rouge, (28 Septembre, 2006). <http://www.ilerouge.org>
71. Rebours, H., «Fruits méditerranéens autres que les agrumes», Maison rustique. Paris, (1968), 207
72. Inglese, P. Barbera, G et Carimi, F., «The effect of different amount of cladodes removal on re.owering of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* (L) Miller)», Journal of Horticulture Science 69, (1994), 61 - 65.
73. Barbera, G. Carimi, F et Inglese, P., «Past and present rôle of the Indian-fig prickly-pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, Cactaceae)», In: The agriculture of Sicily. Economic Botany 46, (1992), 10 - 20.
74. Glouib, M. Maataoui-Belabbes, S et Hilali, S., «Evolution de la composition physico-chimique au cours de la maturité des fruits du figuier de Barbarie (*Opuntia ficus-indica*)». Le Premier Congrès National sur l'Amélioration de Production Agricole Recueil des Résumés. Settat (16 - 17 Mars 2006), 73
75. Barbera, G. Carimi, F et Inglese, P., «The reowering of prickly pear *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, influence of removal time and cladode load on yield and fruit ripening», Advances in: Horticulture Science 5, (1991), 77 - 80.
76. Reyes-Aguero, J.A, Aguirre, R.J.R et Carlin-Catelan, F., «Analisis de la variacion morfologica de 38 variantes mexicanas d'*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller», In:

- Esparza. F.G, Valdez. C.R.D et Mendez. G.S.J, (Eds.), El nopal, topics de actualidad. Universidad Autonoma Chapingo, Chapingo, Mexico, (2004), 21 - 47.
77. Bowers, J.E., «The effect of drought on Engelmann prickly pear (Cactaceae: *Opuntia engelmannii* fruit and seed production», *Southwestern Naturalist* 42, (1997), 240 - 242.
 78. Graham, V., «Growing succulent plants, including cacti», Timber. Press. Portland. Oregon; U.S.A, N°16, (1987), 87 - 94.
 79. Muratalla, L.A. Barrientos, P.F et Rodriguez, A.J., «Germinacion y viabilidad de semilla de nopal *Opuntia amyoclaea* t. (V.5) y *O. ficus – indica* (V.1) y (F.1) », In : *Memorias de la IV Reunion nacional y II congreso internacional sobre el conocimiento y aprovechamiento del nopal*. Zacatecas, Mexico, (1990), 169
 80. Perez, R.C., «Viabilidad de semillas y poliembriónia en morfoespecies cultivadas y silvestres de nopal tunero (*Opuntia* spp)», Tesis Profesional Universidad Guadalajara, Mexico, (1993), 255
 81. Potter, R.L. Petersen, J.L et Ueckert, D. N., «Germination responses of *Opuntia* spp, to temperature, scarification, and other seed treatments», *Weed science*, N° 32, (1984), 106 - 110.
 82. Mondragón, J.C et Pimienta, B.E., «Propagation», In : Barbera. G, inglese. P, Pimienta. B.E et Arias. J.E. de J, (eds.), *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*, F.A.O., plant production and production paper 132, Rome Italy, (1995), 64 - 71.
 83. Nava, C.R, Lopez, J.J et Gasto, J., «Dinamica poblacional del ecosistema natural d'*Opuntia streptacantha* Lemaire», *Monografia Tecnico-Cientifica*. Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro, N° 7, (1981), 219 - 271.
 84. Mulas, M et Mulas. G., «Potentialités d'utilisation stratégique des plants des genres *Atriplex* et *Opuntia* dans la lutte contre la désertification», *Short and medium-term priority environmental action programme (SMAP)*, Université des études de Sassari, groupe de la recherche sur la désertification Italie, (Fev 2004), 112
 85. Villalobos, V., «Tissue culture application for *Opuntia* sp. Pl. Micropropagation», In: Barbera. G, inglese. P, Pimienta. B.E, Arias. J.E. de J, (eds.), *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*", F.A.O., plant production and production paper 132, Rome Italy, (1995), 71 - 77.
 86. Escobar, A, Villalobos. V et Villegas. M., «*Opuntia* micropropagation by axillary proliferation plant Cell and Organ Culture», N°7, (1986), 269 - 277.
 87. Inglese, P., «Orchard planting and management», In: Barbera. G.P Inglese et Pimienta. E.B, (eds.). *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*. FAO.Rome Italy, (1995), 78 - 91.
 88. Bourbouze, A., et Donadieu, R., «L'élevage sur parcours en régions méditerranéennes», *CIHEAM/IAM*, Montpellier, (1987), 104.

89. Bonne, M.P., «Grassland and fodder, development in north east Brazil», FAO. EPTA, rapport N° 2000, Rome, (1965), 47
90. Barringer, S, Yassen. M.Y et Split stoessers. W.E., «A note on the uses of *Opuntia* sp», Incentral/ north America ». Journal of aride environnements, (1996), 347 - 353.
91. Chriyaa, A, Mazhar. M et Aria. A., «Cactus pear protects soil and livestock in the Rhamna region», In : IVth International Congress on Cactus and Cochineal and IVth meeting of Cactus Net. FAO. October 2000. Hammamet, Tunisie, (2000), 8
92. I.F.A.D. «*Opuntia* spp. Efficient Tool to Combat Desertification», Agricultural Technologies for Rural Poverty Alleviation. Technical Advisory Notes. Prepared by the Mashreq/Maghreb Project, Rome Italy, (2000), 1 - 3.
93. Beloued, A.B.D., «Plantes médicinales d'Algérie», OPU. Ben-Aknoun Alger, (2001), 277
94. Badillo, J., «Elaboración de una jalea de nopal», Tesis profesional, Universidad Autónoma de Puebla, México, (1987).
95. Hadj Sadok, T. Aid, F. Doumandji, A et Bellal, M., «Effet du jus de cladodes d'*Opuntia ficus indica* sur la fermentation du lait et la croissance des bactéries lactiques et probiotiques». Nature et Technologie 11, (2014), 17-29.
96. Nefzaouie, A., «Utilisation médicinales et cosmétiques des cladodes, des fleurs et des fruits de cactus», Programme régional d' ICARDA Afrique du Nord, Tunisie, SIPAM, (2006).
97. Nobel, P.S., «Environmental biology», In: Barbera. G, inglese. P, Pimienta. B.E et Arias. J.E. de J, (eds.), «Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear», F.A.O., plant production and production paper 132, Rome (Italy), (1995), 36 - 49.
98. Walali, L., «Quelques espèces fruitières d'intérêt secondaire cultivées au Maroc», In: Ayer. G, Aksoy. U et Mars. M, (eds), «culture sous utilisées dans la région méditerranéenne», Zaragoza, CIHEAM-IAMZ (Cahier option mediterraneene, 4. 13), first meeting of the CIHEAM cooperative working group on underutilized fruit crops in the mediterranean region , Zarrogoza Spain, (1995), 47 - 62.
99. Dupard, S., «Zones tempérées et méditerranéennes le figuier de barbarie article édition fruit oublier», France N°3, (2005), 16 - 18.
100. Sawaya, W.N, Khalil. K.L et Al Mohamed. M.M., «Nutritive value of *Opuntia ficus indica*: Qualities, plant arum, plant foods», (1983), Ref 33, 1, 91, 97 et 24.
101. Boulard, B., «Plantes médicinales du monde réalités et croyances», Ed. ESTEM. Paris, (2001), 636
102. Fleurentin, J., «Plantes médicinales». Edition : Tec et Doc, (1990).
103. Ben Salem, H. Nefzaoui, A. Abdouli, H et Orskov, E.R., «Effect of increasing level of spineless cactus (*Opuntia ficus-indica* var. *inermis*) on intake and digestion by

- sheep given straw-based diets», *Animal Science*, 62, (1996), 293 - 299.
104. Nefzaoui, A. Ben Salem, H., «Spineless cactus: a strategic fodder for West Asia and North Africa arid zones», *International Symposium Proceedings: «Cactus pear and nopalitos processing and uses»*. September 24 - 26, Santiago Chile, (1998).
 105. Santana, O.P., «Tunas Forrajeras (*Opuntia ficus-indica* y *Nopalea cochenillifera*) en el Noroeste Brasileño: una revisión», *Actas del II Congreso Internacional de Tuna y Cochinilla 22-25 Sep 1992, Santiago Chile, (1992)*, 126 -142.
 106. Felker, P., «Forage and fodder production and utilisation», In: Barbera. G, Inglese. P, Pimienta. B.E et Arias. J.E. de J, (eds.), *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*, FAO, plant production and production paper 132, Rome Italy, (1995), 144 - 154.
 107. Nefzaoui, A, Ben Salem, H, Ben Salem, L., «Ewe-lambs feeding with cactus-based diets. Effect of the type of nitrogen supplement», *IV International Symposium on the nutrition of Herbivores-Satellite «Ruminant use of fodder resources in warm climate countries» Montpellier France, (7 - 9 Sept. 1995)*.
 108. Soberon, J. Golubov, J et Sarukhán, J., «The importance of *Opuntia* in Mexico and routes of invasion and impact of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae)», *Florida Entomologist* 84 (4), (December 2001), 486 - 492.
 109. Greco, J., «L'érosion, la défense et la restauration des sols, le reboisement en Algérie», *Alger Algérie*, (1966), 393
 110. Djbaïli, S., «Steppe algérienne phytosociologie et écologie», édition O.P.U., Alger, (1984), 177
 111. Djellouli, H.T.Y., «Etude climatique et bioclimatique des hauts plateaux du sud Oranais, wilaya de Saida comportements des espèces vis à vis des éléments du climat», thèse de doctorat de 3ème cycle en science biologique, option écologie végétale, Université des Science et de la Technologie Houari Boumediene, Alger, (1981), 178
 112. Halimi, H., «L'Atlas blidéen, climat et étage de végétation», O.P.U., Alger, (1980), 523
 113. Bagnouls, F et Gaussen, H., «Saison et indice xérothermique», *Doc. Cart. Prod. Vég. Serv. Gén. II, 1, art. VIII, Toulouse*, (1953), 47.
 114. Kaâbeche, M., «Les groupements végétaux de la région de Boussaâda (Algérie), essai de synthèse sur la végétation steppique du Maghreb», Thèse de doctorat en sciences, Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay. Paris, (1990), 104
 115. Soltner, D., «Les bases de la production végétale», Tom 1, le sol 16^{ème} édition. Srau Deau et cie Angers France, (1988), 466
 116. Tijani, M., «Hydromasse et biomasse des *Opuntias*», Dossier : Le Cactus (l'*Opuntia* à fruit Comestible) appelé communément Figuier de Barbarie (Actes de la deuxième journée nationale sur la culture du cactus) El Kelaa des Sraghna Maroc, (30 mai

2000), 22 - 26

117. Lozet, J et Mathieu, C., «Dictionnaire de Science du sol », deuxième édition, (1990), Lavoisier, 166.
118. UPOV, «Figuier de Barbarie et Xoconostles (*Opuntia*, groupe 1 et 2), principes directeurs pour la conduite de l'examen de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité», TG/217/1, Genève, (Mars 2006), 31.
119. Breteudeau, J., «Atlas d'arboriculture fruitière», Ed. Lavoisier, Paris, (1993), 273.
120. Dagnelie, P., «Analyse statistique à plusieurs variables». Gembloux, Presses agronomiques, (1986), 362
121. Ward, J.H.J.R., «Hierarchical grouping to optimize an objective function». *Journals - American Statistical Association*, 58, (1963), 236-244. DOI: 10.2307/2282967
122. Saporta, G., «Simultaneous analysis of qualitative and quantitative data». *Atti XXXV Riunione Scientifica della Societa Italiana di Statistica*, (1990), 63-72.
123. Doyle, J.J and Doyle, J.L., «A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue». *Phytochemical Bulletin*, v.19, (1987), 11-15.
124. Prevost, A and Wilkinson, M.J., «A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars». *Theor Appl Genet* 98, (1999), 107-112.
125. Gilbert, J.E. Lewis, E.V. Wilkinson, M.J and Caligari, P.D.S., «Developping an appropriate strategy to assess genetic variability in plant germplasm collections». *Theor. Appl. Genet.*, 98, (1999), 1125-1131.
126. Sneath, P.H.A and Sokal, R.R., « Numerical taxonomy the principles and practice of numerical classification ». W. H. Freeman: San Francisco. (1973).
127. Murashige, T. Skoog, F., «A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures». *Physiol. Plant.* 15, (1962), 473-497.
128. Morel, G. Wetmore, R.H., «Ferm callus tissue culture» *Am.S.Bot.*,38, (1951), 141-143
129. Rouskas, D., «Conservation strategies of *Pistacia* genetic resources in Greece». Dans : Workshop «Taxonomy, Distribution, Conservation and Uses of *Pistacia* Genetic Resources», Palermo, Italie, 1995, Padulosi, S., Caruso, T. et Barone, E. (éds). IPGRI, Roma, (1996), 37-41.
130. Konate, I., «Diversité Phénotypique et Moléculaire du Caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) et des Bactéries endophytes qui lui sont Associées». Thèse de doctorat, (2007), 196p.
131. Tafasca, A., «Le rôle de la culture du cactus, dans le développement en pays arides : le cas du Sud Ouest marocain», Dossier de presse 31/9. In *Terre et Vie*, Revue Périodique du Monde Rural et de l'Environnement, N°100, Rabat, (Janvier 2007), 6, www.terre.vie.Net

132. Stephen, G. Reynolds, A. and Enrique, A., «Plant Production and Protection Division», FAO international technical cooperation net work on cactus, issue N° 6, (June 2002), 17-19.
133. Bowers, J.E., «More. Owers or new cladodes Environmental correlates and biological consequences of sexual reproduction in a Sonoran Desert prickly pear cactus *O. Engelmannii*», Bulletin of the Torrey Botanical Club, 123, (1996), 34 - 40.
134. Mondragón, J.C et Pérez, G.S., «Native cultivars of cactus pear in Mexico in: Janick J. (ed.), progress in new crops», ASHS press, Arlington, V.A, (1996), 446 - 450.
135. Felker, P. Soulier, C. Leguizamon, G. Ochoa, J., «A comparison of the fruit parameters of 12 *Opuntia* clones grown in Argentina and the United States», Journal of Arid Environments 52, (2002), 361 - 370.
136. Wang, X. Felker, P et Paterson, A., «Environmental influences on cactus pear fruit yield, quality and cold hardiness and development of hybrids with improved cold hardiness», Journal of the Professional Association for Cactus Development 2, (1997), 48 - 59.
137. Potgieter, J.P et Mkhari, J.J., «Evaluation of cactus pear (*Opuntia* spp) germplasm for fruit production purposes», Combined Congress, 15 -17 January 2002, Pietermaritzburg, Kwazulu / Natal.
138. Barbara, K.M., « Characterization of cactus pear germplasm in South Africa», A thesis submitted in fulfilment of the requirements for the degree of Philosophiae Doctor. In the Faculty of Natural and Agricultural Sciences. Department of Plant Sciences (Plant Breeding Division). University of the Free State, May 2007, 194
139. Reyes-Aguiero, J.A. Aguirre, R.J.R et Valiente-Banuetb, A., «Reproductive biology of *Opuntia* A review», In: Journal of Arid Environments 64, (2006), 549 - 585.
140. Manzano, A.R. Nodals, R.A.A. Gutiérrez, R.A.I.M. Mayor, F.Z and Alfonso, C.L., «Morphological and izoensime variability of taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) germplasm in Cuba». Plant Genet. Newslett. 126, (2001), 31-40.
141. Yobi, A. Henchi, B. Neffati, M and Jendoubi, R., « System de reproduction et variabilité morpho-phénologique chez *Allium roseum* ». Plant Genet. Resour. Newslett. 127, (2002), 29-34.
142. Radhouane, L., « Etude de la variabilité morphophénologique chez *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br ». Plant Genet. Resour. Newslett. 138, (2004), 18-22.
143. Muñoz-Urias, C. Palomino-Hasbach, G. Terrazas, T. García-Velázquez, A and Pimienta-Barrios, E., «Variación anatómica y morfológica en especies y entre poblaciones de *Opuntia* en la porción sur del desierto chihuahuense». *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 83, (2008), 1-11.
144. Smith, S.E. Doss, A.A and Warburton, M., «Morphological and agronomic variation in North African and Arabian alfalfas». Crop Sci. 31, (1991), 1159-1163.

145. Fraleigh, B., «Importance des banques de ressources phytogénétiques, In: Amélioration et protection des plantes vivrières tropicales», (Eds) Saint Pierre CA, Demarly Y, AUPELF-UREF, Québec, Canada. (1987), 13-18.
146. Peña-Valdivia, CB, Luna-Cavazos, M. Carranza-Sabas, J.A. Reyes-Agüero, J.A and Flores, A., «Morphological characterization of *Opuntia* spp.: A Multivariate Analysis». *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 10, (2008), 1-21.
147. Gallegos-Vázquez, C. Barrientos-Priego, A.F. Reyes-Agüero, J.A. Núñez-Colín, C.A. Mondragón-Jacobo, C., «Clusters of commercial varieties of cactus pear and xoconostle using UPOV morphological traits». *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 13, (2011), 10-22.
148. Gallegos-Vázquez, C. Scheinvar, L. Núñez-colín, C.A and Mondragón-Jacobo, C., «Morphological diversity of xoconostles (*Opuntia* spp.) or acidic cactus pears: a Mexican contribution to functional foods». *Fruits* 67, (2012), 109-120.
149. Erre, P and Chessa, I., «Discriminant analysis of morphological descriptors to differentiate the *Opuntia* genotypes». *ISHS Acta Horticulturae 995: VII International Congress on Cactus Pear and Cochineal 995*, (2013), 43-50
150. Mejía, H.A. Muriel-Ruiz, SB, Montoya, C.A and Reyes-Sequeda, C., «In situ morphological characterization of *Hylocereus* spp. (fam.: Cactaceae) genotypes from antioquia and córdoba (colombia)». *Revista Facultad Nacional de Agronomía* 66, (2013), 6845- 6854.
151. Chalak, L. Younes, J. Rouphael, S and Hamadeh, B., «Morphological characterization of prickly pears (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill.) cultivated in Lebanon». *International Journal of Science and Research* 3, (2014), 2541-2553.
152. Caetano-Anollés, G. Bassam, B.J. and Gresshoff, P.M., «DNA amplification fingerprinting: A strategy for genome analysis». *Plant. Mol. Biol. Rep.* 9, (1991), 292-305.
153. Zoghalmi, N. Chrita, I. Bouamama, B and Gargouri, M., «Molecular based assessment of genetic diversity within Barbary fig (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill.) in Tunisia». *Sci. Hortic.* 113, (2007), 134-141.
154. Fontes, F.V.H.M and Colombo, C.A. Lourenção, A.L., «Molecular characterization and genetic divergence of *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) on different crops and growing areas». *Neotropical Entomology* 39, (2010), 221-226.
155. Bendhifi, M. Baraket, G. Zourgui, L. Souid, S and Salhi-Hannachi, A., «Assessment of genetic diversity of Tunisian Barbary fig (*Opuntia ficus indica*) cultivars by RAPD markers and morphological traits». *Sci. Hortic.* 158, (2013), 1-7.
156. Bendhifi, M. Baraket, G. Zourgui, L. Souid, S and Salhi Hannachi, A., «Genetic diversity and phylogenetic relationship among Tunisian cactus species (*Opuntia*) as revealed by random amplified microsatellite polymorphism markers». *Genetics and Molecular Research.* (1), (2015), 1423-1433.

157. Michelmore, R.W. Paran, I and Kesseli, R.V., «Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations». Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, (1991), 9828-9832.
158. Mondragón-Jacobo, C., «Molecular characterization using RAPD of a cactus (*Opuntia* spp. Cactaceae) collection from central México as a basis for plant breeding». Revista Chapingo Serie Horticultura 9 (1), (2003), 97-114.
159. Wang, X.P Felker, Burow, D.M and Paterson, H.A., «Comparison of RAPD marker patterns to morphological and physiological data in the classification of *Opuntia* accessions». Journal of the Professional Association for Cactus Development 3, (1998), 3-14.
160. Bhutta, W.M and Hanif, M., «Identification of RAPD markers linked to salinity tolerance in wheat». African Journal of Biotechnology Vol. 12(17), (2013), 2175-2181.
161. El Finti, A. Belayadi, M. El Boullani, R. Msanda, F. ElMousadik, A., «Genetic structure of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) in a Moroccan collection». Atlas Journal of Plant Biology 1(2), (2013), 24-28.
162. Beltran, P.M., «Evaluacion del potencial germinativo en el laboratorio de cinco especies d'*Opuntia* de los estados de San Luis Potosi y Zacatecas», Bachelor thesis. Mexico, Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo, Morelia, (1984), 49
163. Sanchez, V.G., «Germination, Viabilidad y características distintivas la semilla d'*Opuntia joconostle weber* forma cuarosmeno», In : Memoria de resúmenes del 50 Congreso Nacional y 30 Internacional sobre el conocimiento y aprovechamiento, Univ.Auto.Agr.Antonio narro, saltillo, Mexico, N° 10, (1992), 303 - 309.
164. Muller, C., «Conservation des graines et les problèmes de levée de dormance chez les feuilles précieux». N° spécial "les feuilles précieux: Frêne-Merisier et Grand Erable". Rev. For. Fr., 44 sp. (1992), 39-46.
165. Nouaim, R, Mangin, G. Mussillon, P. Chaussod, R., «Multiplication de l'arganier (*Argania spinosa* L. Skeel) par semis de graines, bouturage et culture in vitro». Annales des Sciences Forestières (1995).
166. Boxus, PH., «Multiplication végétative, micropropagation et embryogenèse somatique (Biotechnologie végétale)». Ed. Belgique,(1995), 191
167. Belaizi, M. Blen, M.R et Boxus, P., (1994). «Régénération des plantes». Ed. AUPEL-UREF.J.L. Eurotex Paris, (1994), 227-232.

APPENDICE A

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

ACP	: Analyse en Composantes Principales
AFC	: Analyse Factorielle de Correspondances
AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
CAH	: Classification Hiérarchique Ascendante
CEC	: Capacité d'échange des cations
CE	: Conductivité électrique
DRS	: Défense et Restauration des Sol
Dg	: Diamètre maximum
\$: Dollars U.S
FAO	: Food and Agriculture Organisation
HCDS	: Haut Commissariat au Développement de la Steppes
INRF	: Institut National de la Recherche Forestière
ISSR	: Inter-Simple Sequence Repeat
MO	: Matière organique
OA	: <i>O. amygleae</i>
OE	: <i>O. engelmannii</i>
OFI	: <i>O. ficus indica</i>
ONM	: Office Nationale de Météorologie
OR	: <i>O. robusta</i>
OS	: <i>O. streptacantha</i>
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PMG	: Poids des mille graines
pH	: Potentiel hydrogène
P	: Précipitation totale mensuelle
Q ₂	: Quotient pluviothermique d'Emberger
Ø	: Sphéricité
RAPD	: Random Amplified Polymorphic ADN
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
S	: Surface de la peau
SSR	: Simple Sequence Repeats
M	: Température maxima du mois le plus chaud
m	: Température minima du mois le plus froid
T	: Température moyenne mensuelle
T/ha	: Tonne par hectare
UBC	: University of British Columbia
UPOV	: Union internationale pour la Protection des Obtentions Végétales
UF	: Unité Fourragère
WANA	: Ouest Asiatique et Afrique du Nord
WFP	: World Food Programme

APPENDICE B
ANALYSE DE LA VARIANCE

Tableau 1: Descripteurs quantitatifs du cladode et de la fleur

Paramètres	S. de variabilité	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Longueur cladode	VAR.TOTALE	5557.8	149	37.3				
	VAR.FACTEUR 1	5505.06	4	1376.27	3783.98	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	52.74	145	0.36			0.6	1.73%
Largeur cladode	VAR.TOTALE	3683.11	149	24.72				
	VAR.FACTEUR 1	3662.58	4	915.65	6468.28	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	20.53	145	0.14			0.38	1.80%
Epaisseur cladode	VAR.TOTALE	4.5	149	0.03				
	VAR.FACTEUR 1	4.21	4	1.05	515.8	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	0.3	145	0			0.05	3.87%
Long/Lar cladode	VAR.TOTALE	89.15	149	0.6				
	VAR.FACTEUR 1	88.62	4	22.15	5977.77	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	0.54	145	0			0.06	3.33%
Nombre des spirales d'aréole	VAR.TOTALE	1324.83	149	8.89				
	VAR.FACTEUR 1	1231.47	4	307.87	478.12	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	93.37	145	0.64			0.8	8.00%
Nombre d'épines par aréole	VAR.TOTALE	197.84	149	1.33				
	VAR.FACTEUR 1	144.84	4	36.21	99.07	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	53	145	0.37			0.6	32.16%
Longueur de l'épine la plus longue	VAR.TOTALE	348.12	149	2.34				
	VAR.FACTEUR 1	339.38	4	84.84	1406.66	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	8.75	145	0.06			0.25	10.47%
Nombre de couleurs d'épine	VAR.TOTALE	79.74	149	0.54				
	VAR.FACTEUR 1	77.04	4	19.26	1034.33	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	2.7	145	0.02			0.14	11.19%
Nombre de fleurs par raquette	VAR.TOTALE	1604.24	149	10.77				
	VAR.FACTEUR 1	1500.24	4	375.06	522.92	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	104	145	0.72			0.85	10.23%
Longueur des fleurs	VAR.TOTALE	63.35	149	0.43				
	VAR.FACTEUR 1	57.02	4	14.25	326.57	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	6.33	145	0.04			0.21	2.49%
Nombre des lobes du stigmate	VAR.TOTALE	260.77	149	1.75				
	VAR.FACTEUR 1	253.37	4	63.34	1241.19	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	7.4	145	0.05			0.23	2.77%

Tableau 2: Descripteurs quantitatifs du fruit

Paramètres	S. de variabilité	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Longueur	VAR.TOTALE	105.82	149	0.71				
	VAR.FACTEUR 1	103.58	4	25.9	1675.45	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	2.24	145	0.02			0.12	2.25%
Largeur	VAR.TOTALE	234.85	149	1.58				
	VAR.FACTEUR 1	232.33	4	58.08	3351.33	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	2.51	145	0.02			0.13	3.14%
Epaisseur	VAR.TOTALE	138.94	149	0.93				
	VAR.FACTEUR 1	136.43	4	34.11	1977.09	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	2.5	145	0.02			0.13	3.43%
Diamètre géométrique	VAR.TOTALE	109.3	149	0.73				
	VAR.FACTEUR 1	108.73	4	27.18	7000.96	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	0.56	145	0			0.06	1.41%
Sphéricité des fruits	VAR.TOTALE	3.9	149	0.03				
	VAR.FACTEUR 1	3.86	4	0.96	3121.77	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	0.04	145	0			0.02	2.17%
Surface de la peau	VAR.TOTALE	82539.76	149	553.96				
	VAR.FACTEUR 1	82113.88	4	20528.47	6989.31	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	425.88	145	2.94			1.71	2.70%
Poids du fruit	VAR.TOTALE	131970.1	149	885.71				
	VAR.FACTEUR 1	131334.3	4	32833.57	7487.67	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	635.83	145	4.39			2.09	2.69%
Poids de la pulpe	VAR.TOTALE	61698.7	149	414.09				
	VAR.FACTEUR 1	61504.25	4	15376.06	11465.87	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	194.45	145	1.34			1.16	2.76%
Poids de la peau	VAR.TOTALE	18675.66	149	125.34				
	VAR.FACTEUR 1	18555.95	4	4638.99	5618.8	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	119.71	145	0.83			0.91	2.83%
poids de la pulpe (%)	VAR.TOTALE	30632.38	149	205.59				
	VAR.FACTEUR 1	30574.58	4	7643.65	19174.98	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	57.8	145	0.4			0.63	1.25%
poids de la peau (%)	VAR.TOTALE	27947.42	149	187.57				
	VAR.FACTEUR 1	27941.12	4	6985.28	160752.4	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	6.3	145	0.04			0.21	0.47%
Epaisseur de la peau	VAR.TOTALE	0.47	149	0				
	VAR.FACTEUR 1	0.43	4	0.11	336.99	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	0.05	145	0			0.02	3.10%

Tableau 3: Descripteurs quantitatifs de la graine

Paramètres	S. de variabilité	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Nombre des graines par fruit	VAR.TOTALE	1823809	149	12240.33				
	VAR.FACTEUR 1	1821574	4	455393.5	29542.89	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	2235.13	145	15.41			3.93	1.55%
Nombre des graines viable	VAR.TOTALE	1203638	149	8078.11				
	VAR.FACTEUR 1	1200569	4	300142.3	14181.3	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	3068.88	145	21.16			4.6	2.26%
Nombre des graines avortées	VAR.TOTALE	104521.4	149	701.49				
	VAR.FACTEUR 1	103724.4	4	25931.1	4717.61	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	797.02	145	5.5			2.34	4.65%
Poids graines par fruit	VAR.TOTALE	377.99	149	2.54				
	VAR.FACTEUR 1	323.33	4	80.83	214.43	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	54.66	145	0.38			0.61	16.14%
Poids des graines (%)	VAR.TOTALE	138.99	149	0.93				
	VAR.FACTEUR 1	74.89	4	18.72	42.35	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	64.1	145	0.44			0.66	13.32%
Diamètre des graines	VAR.TOTALE	30.24	149	0.2				
	VAR.FACTEUR 1	21.39	4	5.35	87.56	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	8.86	145	0.06			0.25	5.86%
PMG	VAR.TOTALE	1964.06	149	13.18				
	VAR.FACTEUR 1	1814.2	4	453.55	438.86	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	149.85	145	1.03			1.02	6.70%

Tableau 4: Paramètres quantitatifs morphologique *in vitro*

Paramètres	S. de variabilité	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
Taux de germination	VAR.TOTALE	629.33	24	26.22				
	VAR.FACTEUR 1	614.2	4	153.55	203	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	15.13	20	0.76			0.87	1.26%
Nombre des racines	VAR.TOTALE	256.24	24	10.68				
	VAR.FACTEUR 1	238.24	4	59.56	66.18	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	18	20	0.9			0.95	6.55%
Longueur de la racine	VAR.TOTALE	919.27	24	38.3				
	VAR.FACTEUR 1	891.59	4	222.9	161.04	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	27.68	20	1.38			1.18	4.81%
Longueur du cladode	VAR.TOTALE	128.6	24	5.36				
	VAR.FACTEUR 1	117.3	4	29.33	51.94	0		
	VAR.RESIDUELLE 1	11.29	20	0.56			0.75	6.98%
Largeur du cladode	VAR.TOTALE	2.57	24	0.11				
	VAR.FACTEUR 1	0.65	4	0.16	1.68	0.19		
	VAR.RESIDUELLE 1	1.92	20	0.1			0.31	14.87%
Epaisseur du cladode	VAR.TOTALE	4.56	24	0.19				
	VAR.FACTEUR 1	3.3	4	0.83	13.11	0.0000		
	VAR.RESIDUELLE 1	1.26	20	0.06			0.25	14.06%

APPENDICE C
ETUDE DU MILIEU

Tableau 1: Répartition des précipitations moyennes mensuelles de différentes stations météorologique de référence et les valeurs corrigées des zones d'étude (2001 - 2010).

Mois Zone	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	Cumul
Tébessa	24.85	33.17	51.23	33.30	15.87	25.17	50.97	38.28	26.93	17.40	30.98	45.98	394.14
Doukkara	25.61	34.29	52.86	34.36	16.40	26.01	52.71	39.76	27.85	18.00	31.99	47.54	407.38
Djelfa	41.71	26.09	28.42	23.95	23.39	19.61	27.66	28.68	12.73	13.13	16.48	35.79	297.63
El mesrane	34.19	21.68	23.27	20.09	19.16	16.32	22.65	23.73	10.17	10.53	13.56	29.52	244.63
Choucha	35.19	22.25	23.94	20.54	19.70	16.71	23.28	24.40	10.50	10.87	13.96	30.33	252.03
M'sila	30.78	16.84	16.15	18.88	16.12	9.64	23.68	18.08	7.08	4.26	7.70	25.41	194.61
Belaiba	34.76	19.72	18.60	21.47	18.80	11.11	26.97	20.20	7.98	4.89	8.97	29.33	222.80

O.N.M (2011) stations météorologique de référence

Tableau 2: Régimes saisonniers des stations de référence et des zones d'étude.

Saison Zone	Hiver	Printemps	Eté	Automne	Type
Tébessa	100.4	114.42	75.31	104	PAHE
Doukkara	103.62	118.48	77.84	107.44	PAHE
Djelfa	75.76	75.95	42.34	103.59	APHE
El mesrane	62.52	62.7	34.26	85.39	APHE
Choucha	64.18	64.39	35.33	87.77	APHE
M'sila	51.15	51.4	19.04	73.03	APHE
Belaiba	58.87	58.28	21.84	83.81	APHE

Tableau 3: Répartition des valeurs de température moyennes dans les stations météorologiques de référence et les valeurs corrigées des zones d'étude (2001 - 2010).

Mois Zone		O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	Annuel
Tébessa	m	10.92	6.59	3.01	1.75	2.28	5.14	7.92	11.43	15.86	18.78	18.68	15.19	9.80
	M	22.93	18.08	13.16	12.59	13.84	18.26	20.95	26.33	32.26	36.33	34.91	29.21	23.24
	T	16.64	11.97	7.84	6.82	7.89	11.66	14.44	18.97	24.32	27.79	26.75	21.83	16.41
Doukkara	m	10.72	6.39	2.81	1.55	2.08	4.94	7.72	11.23	15.66	18.58	18.48	14.99	9.60
	M	22.47	17.62	12.70	12.13	13.38	17.80	20.49	25.87	31.80	35.87	34.45	28.75	22.78
	T	16.60	12.01	7.76	6.84	7.73	11.37	14.11	18.55	23.73	27.23	26.47	21.87	16.19
Djelfa	m	10.89	5.21	1.90	0.60	1.49	4.48	6.66	10.75	15.88	19.60	19.16	14.61	9.27
	M	22.23	14.74	10.23	9.94	11.61	15.94	18.80	23.82	30.57	34.73	33.48	26.78	21.07
	T	17.86	10.79	6.66	5.92	7.40	11.50	14.21	19.05	25.55	29.46	28.29	22.02	16.56
El Mesrane	m	11.69	6.01	2.70	1.40	2.29	5.28	7.46	11.55	16.68	20.40	19.96	15.41	10.07
	M	24.35	16.86	12.35	12.06	13.73	18.06	20.92	25.94	32.69	36.85	35.60	28.90	23.19
	T	18.02	11.44	7.53	6.73	8.01	11.67	14.19	18.75	24.69	28.63	27.78	22.16	16.63
Choucha	m	11.57	5.89	2.58	1.28	2.17	5.16	7.34	11.43	16.56	20.28	19.84	15.29	9.95
	M	24.05	16.56	12.05	11.76	13.43	17.76	20.62	25.64	32.39	36.55	35.30	28.60	22.89
	T	17.81	11.23	7.32	6.52	7.80	11.46	13.98	18.54	24.48	28.42	27.57	21.95	16.42
M'sila	m	15.16	8.05	4.52	3.25	4.40	7.95	10.94	16.02	21.43	25.04	24.34	19.07	13.35
	M	26.15	18.85	14.45	14.21	16.03	20.78	23.86	27.18	35.77	39.80	38.46	31.61	25.59
	T	20.66	13.45	9.49	8.73	10.22	14.36	17.40	21.60	28.60	32.42	31.40	25.34	19.47
Belaïba	m	14.73	7.62	4.09	2.82	3.97	7.52	10.51	15.59	21.00	24.61	23.91	18.64	12.92
	M	25.00	17.70	13.30	13.06	14.88	19.63	22.71	26.03	34.62	38.65	37.31	30.46	24.44
	T	19.87	12.66	8.70	7.94	9.43	13.57	16.61	20.81	27.81	31.63	30.61	24.55	18.68

O.N.M (2011) stations météorologique de référence

Tableau 4: Résultats d'analyse chimique du sol des périmètres d'études.

Paramètres	Zone	Tébessa	M'sila	Djelfa	Laghouat
	Doukkara	Belaïba	El Mesrane	Choucha	
pH		7.52	7.69	8.55	7.53
MO %		1.16	0.40	0.31	0.20
CaCO3 total %		38.73	32.91	2.34	3.77
CaCO3 actif %		11	11.25	--	--
CE mmho/cm ²		0.710	0.598	0.346	0.322

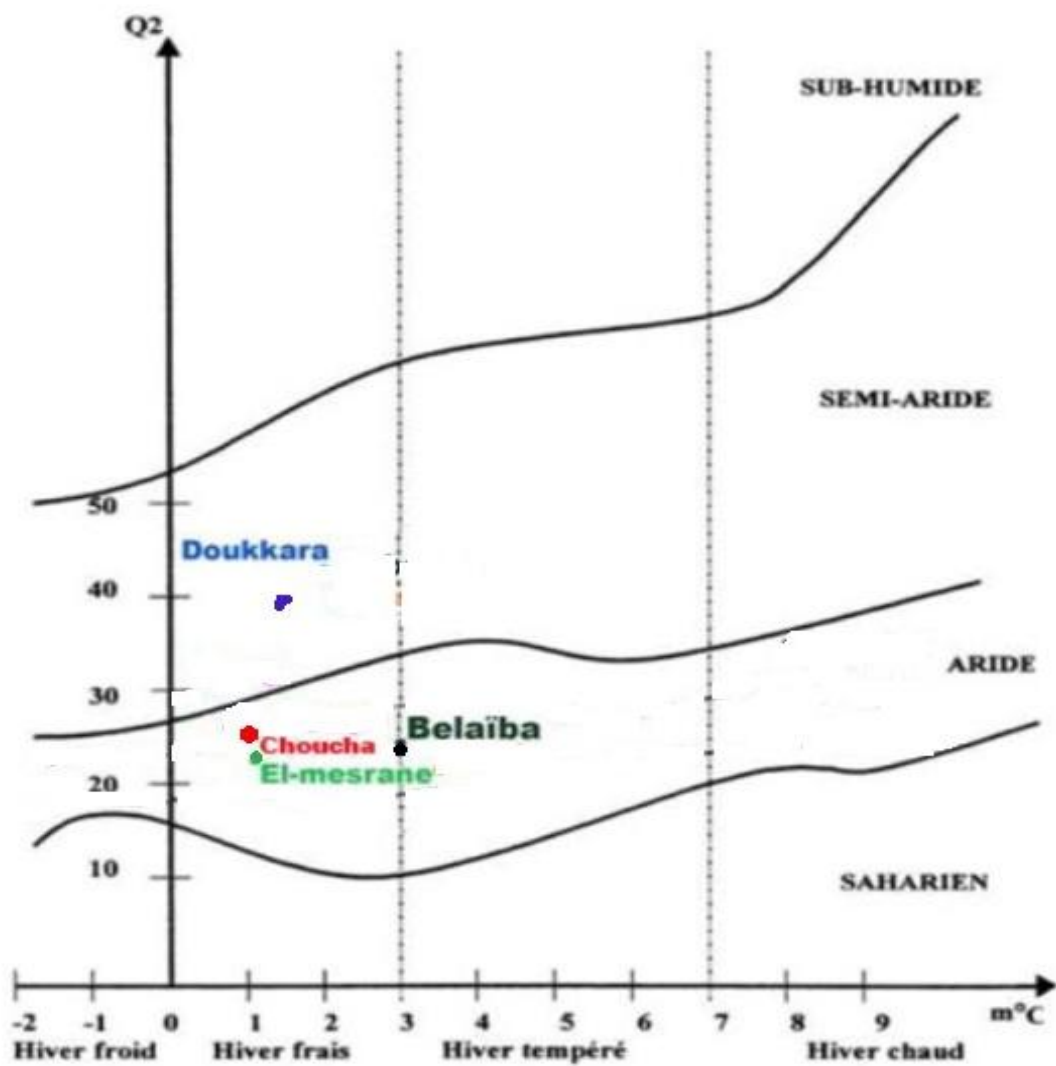


Figure 1 : Climagramme pluviothermique d'Emberger des zones d'étude.

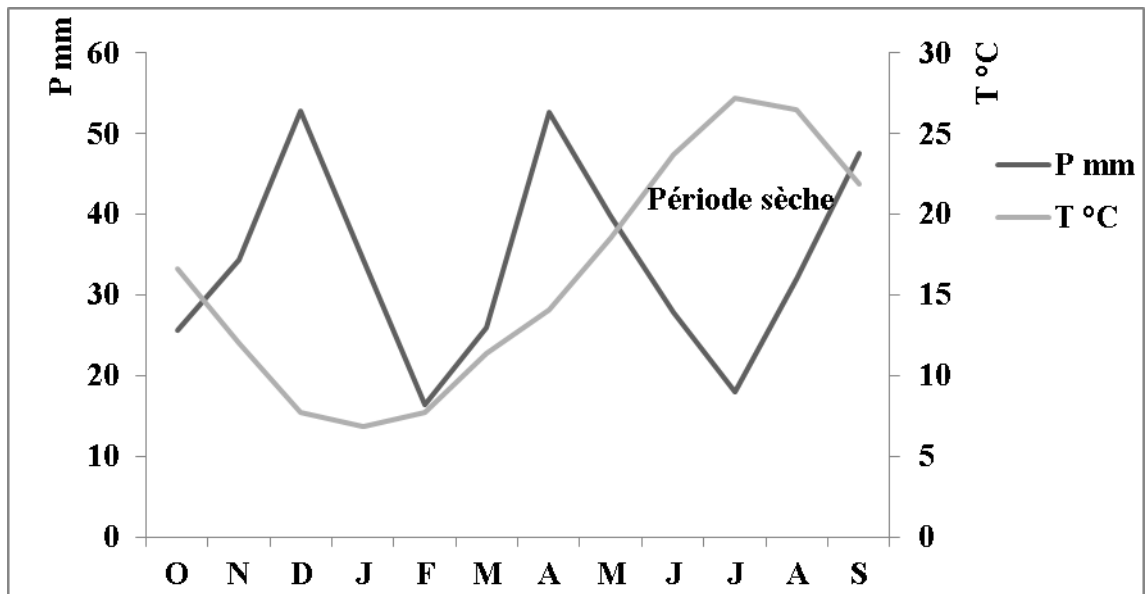


Figure. 2: Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausson de la zone de Doukkara (Tébessa)

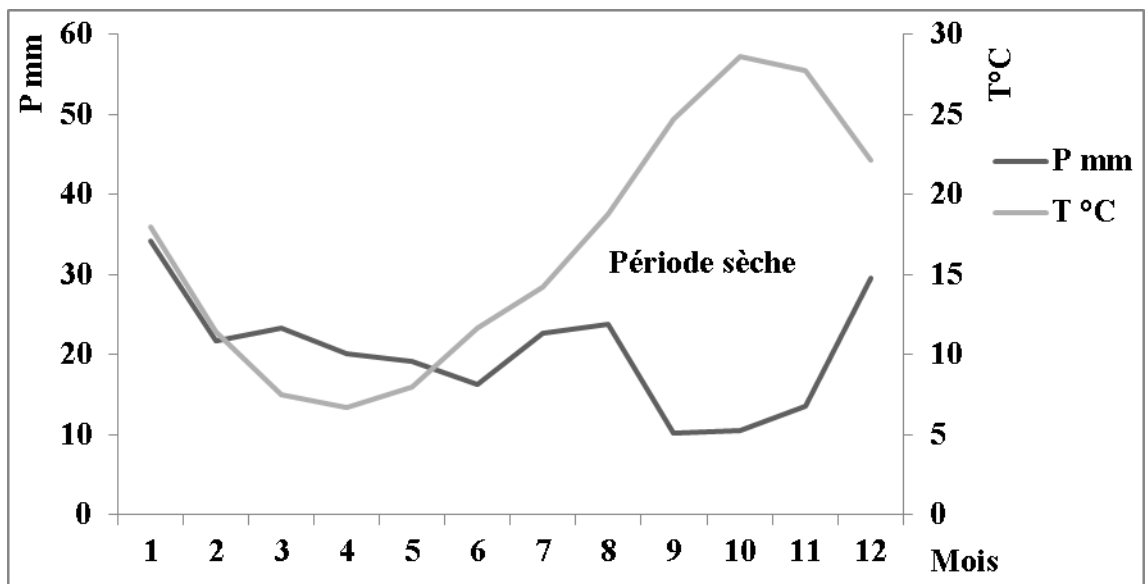


Figure. 3: Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausson de la zone d'El Mesrane (Djelfa)

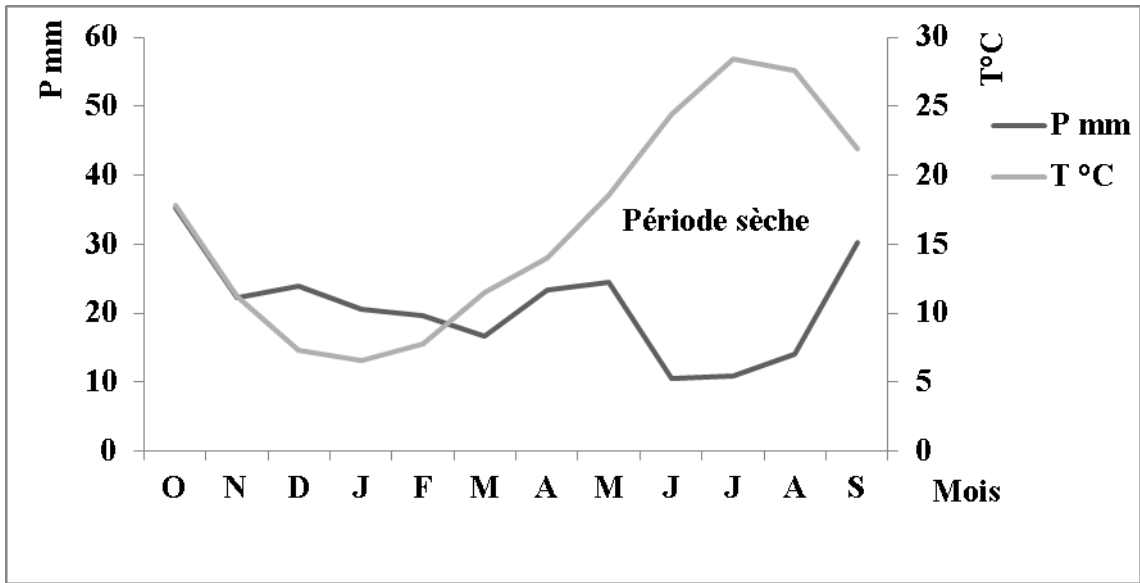


Figure. 4: Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussien de la zone de Choucha (Laghouat)

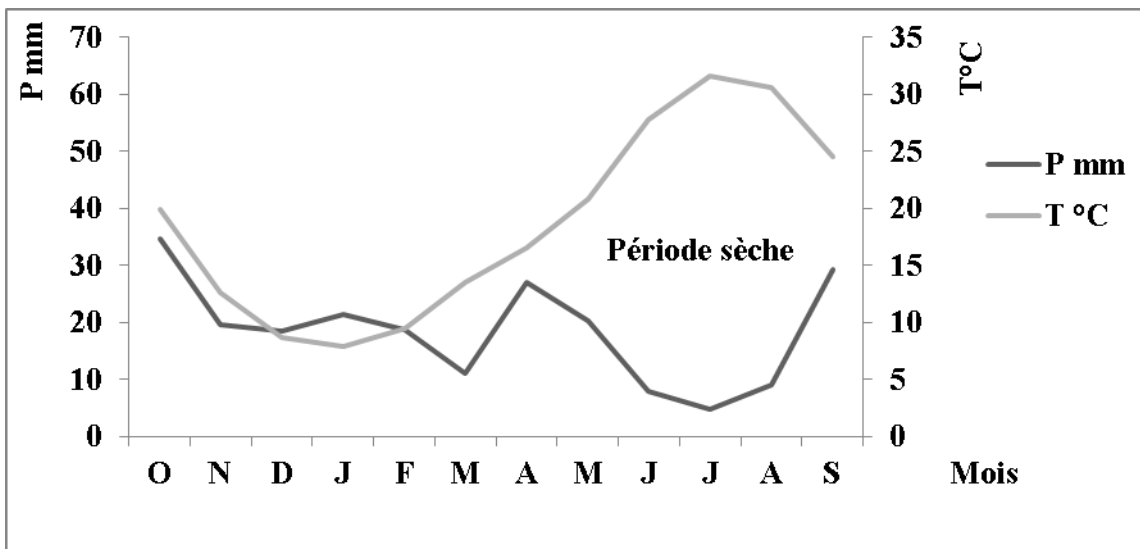


Figure. 5: Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussien de la zone de Belaiba (M'sila)

Polymorphism analysis in some Algerian *Opuntia* species using morphological and phenological UPOV descriptors



BOUBAKR HADJKOUIDER^{1,2*}, AMMAR BOUTEKRAÏT¹, BAHIA LALLOUCHE², SALIM LAMINE^{3,4}, NÉJIA ZOGLAMI⁵

Botanical Sciences
95 (3): 391-400, 2017

DOI: 10.17129/botsci.887

Copyright: © 2017 Hadjkouider *et al.* This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

All authors contributed equally during the preparation of this work.

¹ Department of Agricultural Sciences. Faculty of Nature and Life Sciences. Saad Dahlab University, Blida, Algeria.

² Department of Agricultural Sciences, Faculty of Science, Mohamed Boudiaf University, M'sila, Algeria.

³ Institute of Biological, Environmental and Rural Sciences, Aberystwyth University, Ceredigion, UK.

⁴ Laboratory of Management and Valorization of Natural Resources and Quality Assurance. University of Bouira, Bouira, Algeria

⁵ Laboratory of Plant Molecular Physiology, Biotechnology Centre of Borj-Cédria, Hammam-lif, Tunisia.

* Corresponding author: bhadjkouider@gmail.com

Abstract

Background: In the present study, we have investigated the morphological variation in a set of five *Opuntia* species from the Algerian steppes using 49 UPOV descriptors.

Questions: Which of the 49 descriptors that can be used as powerful estimators of the phenotypic diversity within *Opuntia* species? How is the morphological diversity patterned in Algerian *Opuntia*?

Species study/ Mathematical model: *Opuntia ficus-indica*, *Opuntia amyacleae*, *Opuntia streptacantha*, *Opuntia engelmannii*, *Opuntia robusta*. Principal Components Analysis (PCA) and Hierarchical Cluster Analysis were used.

Study site: Four counties were studied located in the Algerian steppes. The present research was carried out during 2014.

Methods: 49 descriptors adopted by the International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV) were employed in the present research, where cladode, flower and fruit traits were used to determine the overall degree of polymorphism among 5 *Opuntia* species.

Results: Principal Component Analysis and Hierarchical Cluster Analysis indicated a consistent differentiation between all studied species. The relative magnitude of the first two PCA eigenvectors showed that 8 descriptors out of 49 were identified as the most important descriptors for the classification of the species. The dendrogram performed on the calculated Euclidean distances between all species pairs allowed the identification of 3 groups, unlike the PCA that identified 4 groups. The species *Opuntia ficus-indica* and *Opuntia amyacleae* were identified as very close morphologically.

Conclusions: The present outcome represents a paramount step towards the fast selection of interesting species and for their best management and conservation.

Key words: *Opuntia*, diversity, multivariate analyses, clustering, UPOV.

Resumen

Antecedentes: En el presente estudio, hemos investigado la variación morfológica en un conjunto de cinco especies de *Opuntia* de las estepas argelinas utilizando 49 descriptores UPOV.

Preguntas: ¿Cuáles de los 49 descriptores que pueden ser utilizados como estimadores poderosos de la diversidad fenotípica dentro de las especies de *Opuntia*?

¿Cómo se modela la diversidad morfológica en el *Opuntia* Argelina?

Especie en estudio/ Modelo matemático: *Opuntia ficus-indica*, *Opuntia amyacleae*, *Opuntia streptacantha*, *Opuntia engelmannii*, *Opuntia robusta*. Análisis de Componentes Principales (PCA) y un Análisis de Agrupamiento Jerárquico fueron usados

Sitio de estudio y fechas: Se estudiaron cuatro condados situados en la estepa argelina. La presente investigación se realizó durante el año 2014.

Métodos: En la presente investigación se utilizaron 49 descriptores adoptados por la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV), en los que se utilizaron características de cladodio, flor y fruto para determinar el grado global de polimorfismo entre 5 especies de *Opuntia*.

Resultados: Se aplicó un análisis multivariado, constituido por un análisis de componentes principales (PCA) y un análisis de agrupamiento jerárquico, cuyo resultado indicó una diferenciación consistente entre las especies estudiadas. Con base en la magnitud relativa de los dos primeros eigen-vectores del PCA se seleccionaron 8 de los 49 descriptores morfológicos como los más relevantes para la clasificación de las especies siendo los que más contribuyeron a la variación morfológica detectada. Dichos descriptores pertenecen a la lista de descriptores primarios establecida por la UPOV para la caracterización de *Opuntia*. El dendrograma obtenido aplicando el método de Ward (1963) para el cálculo de las distancias euclídeas entre pares de poblaciones permitió identificar tres grupos distintos, mientras que el análisis PCA diferenció cuatro grupos. Por consiguiente, las especies *Opuntia ficus-indica* y *Opuntia amyacleae* fueron identificadas como especies muy cercanas filogenéticamente.

Conclusiones: Estos resultados representan un avance crucial para la selección e identificación rápida de poblaciones de interés y una mejora para las estrategias de gestión y conservación.

Palabras clave: *Opuntia*, la diversidad, análisis multivariado, agrupación, UPOV.



he Cactaceae are dicotyledonous angiosperms, most plentiful in the arid and semi-arid regions between 35°N and 35°S composed of about 2,260 accepted species (Taylor 1997). Among these, the genus *Opuntia* L. Mill. has as many as 215 species.

Opuntia has been exploited since the pre-Columbian times and is mainly present in North and South America, but has also been introduced into the Mediterranean basin, Middle-East, South Africa, India, Thailand and Australia. The species reached the Mediterranean basin during the 16th century (Barbera 1995). Nevertheless, only towards the end of the 20th century have large plantations been established, where only rough estimates of the worldwide plantation area (Zoghلامي *et al.* 2007) are allowed due to the absence of updated statistical data from countries in which this species is cultivated.

During the last decade, cacti (*Opuntia ficus-indica*) They have been used for almost 500 years as a fruit crop, a defensive hedge, and, more recently, as a fodder crop and as a standing buffer feed for drought periods; they can also play a key role in erosion control and land rehabilitation, particularly in arid and semi-arid zones, and as a shelter, refuge and feed resource for wildlife (Le Houérou 1996a).

Generally, the characterization of *Opuntia* genus is incomplete due to few morphological characters taken into account to classify them into the genus (Rebman & Pinkava 2001); also, the inadequate descriptors have led to misclassification (Caruso *et al.* 2010, Majure *et al.* 2012), they usually lack botanical references and other data, which makes it difficult to properly document and register different varieties under the basis of a reliable classification procedure (Gallegos-Vázquez 2012). Several authors have analyzed morphological diversity in several plants (Lamine *et al.* 2014, Arteaga *et al.* 2015). In *Opuntia*, morphological investigations have been carried out in Brazilian (Uchoa *et al.* 1998), Chilean (Wang *et al.* 1998), Mexican (Reyes-Agüero *et al.* 2005, Muñoz-Urias *et al.* 2008, Gallegos-Vázquez *et al.* 2011, Gallegos-Vázquez *et al.* 2012, Martínez-González *et al.* 2015) and Moroccan genetic resources (El Finti *et al.* 2013).

In Algeria, several ha are cultivated with *Opuntia*, where *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., is an important fodder crop, mainly for sheep, during low feed availability periods following drought and dry seasons. Large plantations have recently been established in the region of Souk-Ahras (commune of Sidi Fredj), also near the region of Tebessa, for the objective of improving and rehabilitating the steppe and the marginal areas (Neffar *et al.* 2011). Despite the importance of *Opuntia* in the country, only few studies have been undertaken to characterize the nutritional value of the fruits and cladodes as important food crop and fodder (Hadj Sadok *et al.* 2014), and the effect of the prickly pear plantation age on soil properties and vegetation cover (Neffar *et al.* 2011). Thus, studies that address the amount of morphological variation are still missing for Algerian *Opuntia* species.

Despite its great importance, some *Opuntia* species are threatened with extinction due to traditional agricultural practices unsuitable for their conservation and the negligence of some species. In addition, the morphological and genetic diversity of *Opuntia* have not been well assessed previously. The absence of such studies in Algeria motivated us to study the morphological and phenological polymorphism of these species and to determine the most discriminatory characteristics that allow separating this genetic richness.

In this study, we aim to assess the morphological diversity in five *Opuntia* species with potential agro-ecological values for human consumption present in the Algerian steppes, using 49 traits collected from cladodes, flowers and fruits following the International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV) guidelines. The phenotypic diversity among and within the species has been estimated to identify the traits that contribute most to the morphologic variation and classify the genotypes using PCA and hierarchical cluster analyses.

Materials and Methods

Plant material. Five *Opuntia* species of the subgenus *Platyopuntia* (Engelm.) Kreuz, *Opuntia ficus-indica*, *Opuntia amyacleae* Ten., *Opuntia engelmannii* Salm-Dyck ex Engelm., *Opuntia streptacantha* Lem., and *Opuntia robusta* H.L.Wendl., were prospected from the Algerian steppes in Doukkara (Tébessa), Belaiba (M'sila), Mesrane (Djelfa) and Choucha (Laghouat) districts (Figure 1). In our study, we pre-considered *O. amyacleae* as separate species from *O.*

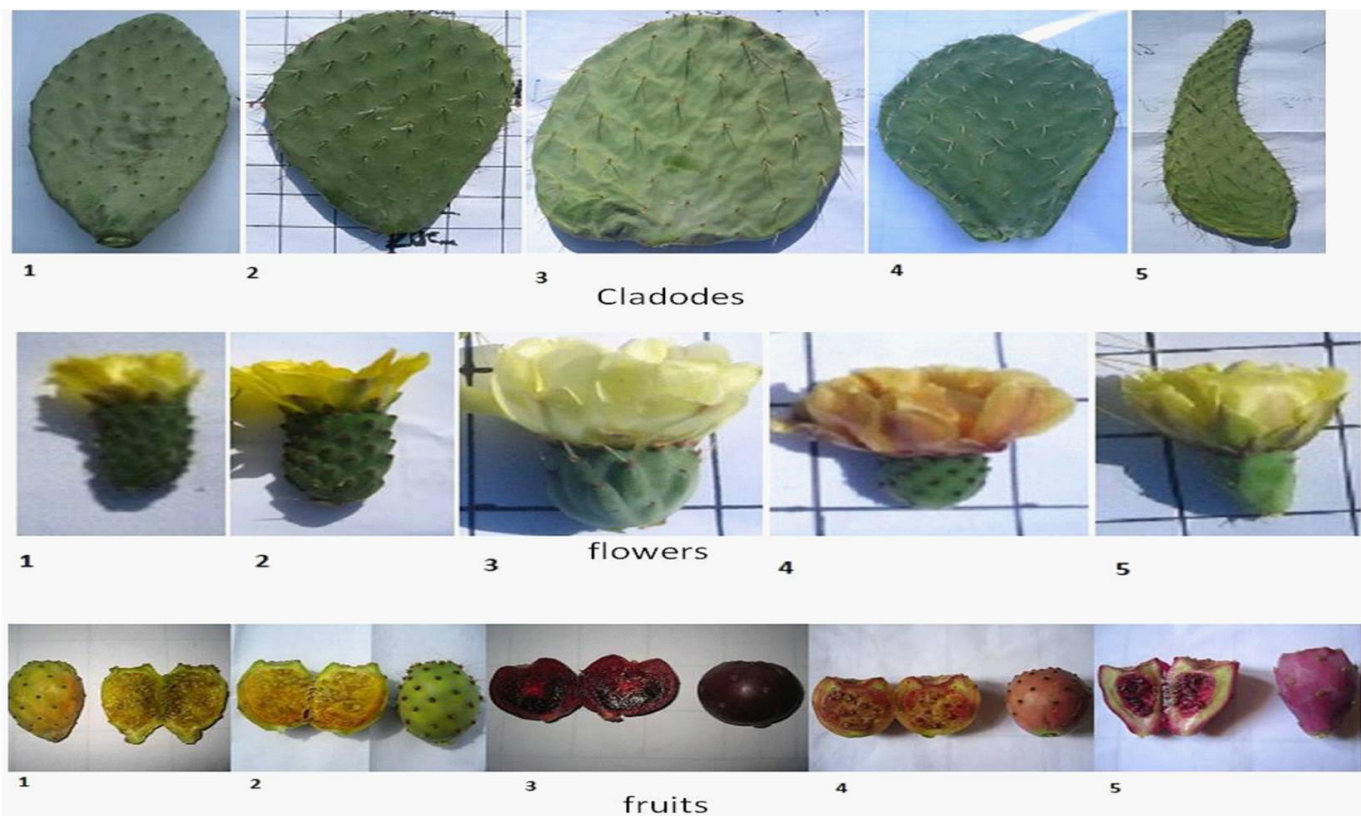


Figure 1. Algerian *Opuntia* species investigated in this study: 1: *Opuntia ficus-indica*; 2: *Opuntia amyclaea*; 3: *Opuntia robusta*; 4: *Opuntia streptacantha*; 5: *Opuntia engelmannii*.

ficus-indica just to check the morphological similarity. However, several authors consider *O. amyclaea* as synonyms of *O. ficus-indica*, and they divided this latter species into two botanical forms: a) *O. ficus-indica* f. *amyclaea* (Ten.) Schelle, with presence of spines and b) *O. ficus-indica* f. *inermis* (Web.) (Kiesling 1999), which is spineless. In the present work we adopted a random sampling method; the sampled species were then kept at the repository of the High Commissariat for Steppes Development (HCSD) and National Institute of Forestry Research (NIFR) in Algeria (Table 1).

Species analysis per species was applied to assess morphological variation, 10 individuals were scored, and from each individual 3 cladodes, 3 flowers and 3 fruits were investigated for their differences according to the 49 UPOV morphological descriptors (Table 2).

Morphological descriptors and data collection. Forty-nine major quantitative and qualitative traits, selected from the UPOV list (UPOV, 2006), comprising cladode, flower and fruit descriptors were measured and used to design a numbered-data matrix (Table 2). Ten individuals per species were evaluated for their morphological diversity across the 49 descriptors. Measurements were performed by the same two persons to avoid errors due to individual variations.

Statistical analysis based on the morphological diversity of cladode, flower and Opuntia fruits. Morphological and phenological data were analyzed by multivariate analyses and clustering using XLSTAT software (Addinsoft, www.xlstat.com). PCA was performed to identify species groups and to determine the axes and the characters significantly contributing to the variation. In this procedure, the similarity matrix was used to generate eigenvalues and scores for the species. The first two principal components, which accounted for the highest variation, were then used to plot two-dimensional scatter plots. Hierarchical cluster analyses (HCA) was carried out using Ward's minimum variance method as a clustering algorithm (Williams 1976) and squared Euclidean distances as a measure of dissimilarity (Ward 1963).

Table 1. List of the five Algerian *Opuntia* species evaluated in this study with their agro-ecological characteristics.

Species	<i>O. ficus-indica</i>	<i>O. amycleae</i>	<i>O. streptacantha</i>	<i>O. robusta</i>	<i>O. engelmannii</i>
Code	OFI	OA	OS	OR	OE
Mains use	Fruit	Fruit	fruit	fruit	fodder
Commercial importance	very high	very high	very high	medium	low
Locality	Belaiba (M'sila)	Doukkara (Tébessa)	Choucha (Laghouat)	Mesrane (Djelfa)	Mesrane (Djelfa)
Latitude	35° 36'	35° 58'	34° 8'	34° 36'	34° 36'
Longitude	05° 17'	8° 14'	3° 01'	3° 03'	3° 03'
Temp. min (C°)	13,0	10,1	9,36	9,47	9,47
Temp. Max (C°)	24,3	22,3	23,0	23,3	23,3
Precipitation (mm)	238,2	406,7	236,4	229	229
Soil type	sandy/muck land	muck land	sandy land	sandy land	sandy land
Soil pH	7.69	7.52	7.53	8.55	8.55
Bioclimatic Floor	semi-arid mild winter	semi-arid cold winter	semi-arid cold winter	semi-arid mild winter	semi-arid mild winter

Results

Principal Component Analysis (PCA). The Principal Component Analysis (PCA) showed a high level of morphological variation between the five studied *Opuntia* species (Table 3). The first 2 axes of the PCA accounted for 67.217 % of the total variation with the first component (PC1) explaining 38.239 % of the total variation, while PC2 accounted for 28.978.

Out of 49 morphological descriptors, 8 were identified as the most discriminating and useful for the classification of the *Opuntia* species. The contribution of all parameters to the definition of the first two PCA axes is given in table 3. The traits that best contributed to the first component variability were the following: time of beginning of flowering (0.229), time of harvest

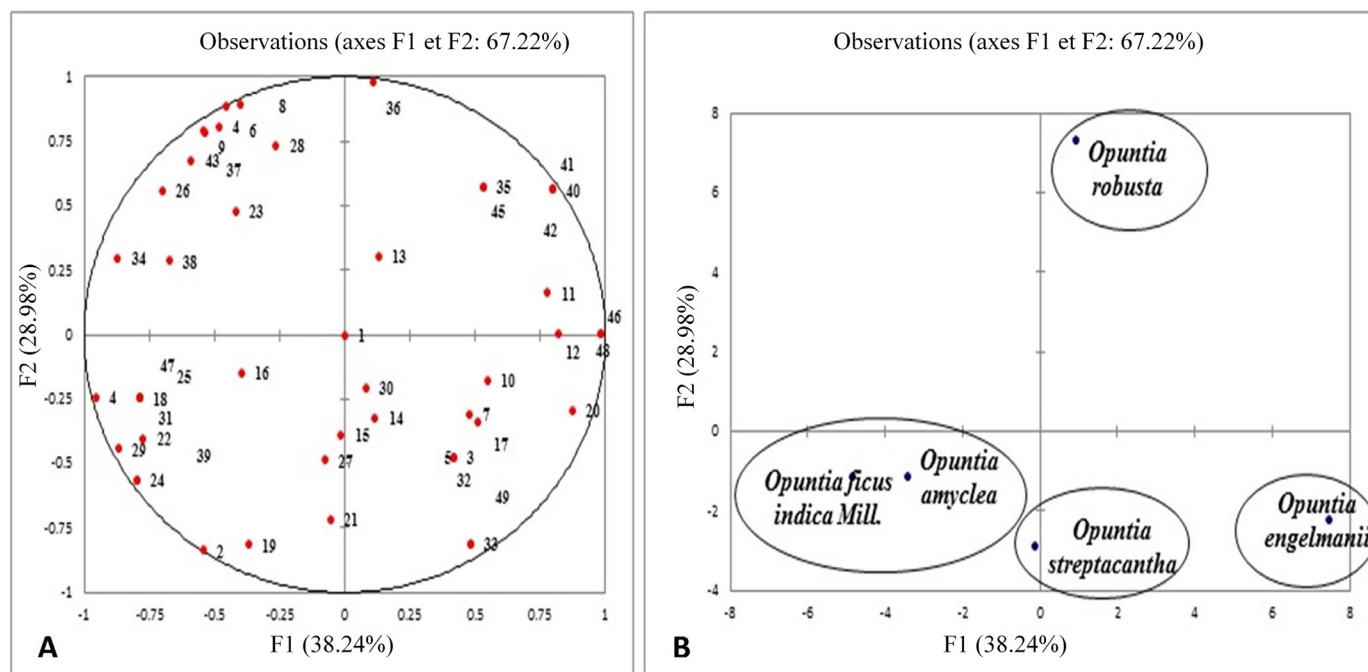


Figure 2. Principal Component Analyses showing: **A)** the contribution of the UPOV descriptors (from 1 to 49, see Table 2) to the obtained morphological variation; **B)** the distinction of all studied *Opuntia* species.

Table 2. Morphological and phonological descriptors used for the characterization of *Opuntia* species from Algeria (UPOV 2006).

Code	Descriptor	Abbrev.	Category	Note				
				OFI	OA	OS	OR	OE
1	Plant: growth habit	PGH	1: upright; 2: spreading; 3: decumbent; 4: drooping	1	1	1	1	1
2	Plant: height	PH	7: tall; 3: short; 5: medium	7	7	7	3	5
3	Cladode: length	CL	5: medium; 3: short; 7: long	5	5	3	3	7
4	Cladode: width	CW	5: medium; 7: broad; 3: narrow	5	5	5	7	3
5	Cladode: length/width ratio	CLW	5: medium; 3: small; 7: large	5	5	3	3	7
6	Cladode: thickness	CT	5: medium; 3: thin; 7: thick	5	5	3	7	3
7	Cladode: shape	CS	3: elliptic; 7: obovate; 4: circular; 5: rhombic	3	3	7	4	5
8	Cladode: color	CC	3: medium green; 2: light green; 5: bluish green; 1: yellow green	3	3	2	5	1
9	Cladode: color of areoles	CCA	3: brown; 1: grey; 4: black	3	3	1	4	1
10	Cladode: number of spines per areole	CNSA	1: none or very few; 7: many; 5: medium	1	7	7	5	7
11	Cladode: length of longest spine	CLLS	5: medium; 3: short; 7: long	3	5	3	5	7
12	Spine: main color	SMC	2: white; 3: yellow	2	2	2	2	3
13	Spine: number of colors	SNC	2: two; 1: one	1	2	2	2	1
14	Central spine: attitude	CSA	1: erect; 5: horizontal	1	1	5	1	1
15	Central spine: Curvature (excluding base)	CSC	1: absent; 9: present	1	1	9	1	1
16	Central spine: twisting	CST	1: absent; 9: present	1	9	1	1	1
17	Cladode: presence of glochides	CPG	1: absent or very few; 3: many; 2: few	1	3	3	2	3
18	Cladode: color of glochides	CCG	2: brown; 1: yellow	2	2	1	1	1
19	Cladode: number of flowers	CNF	7: many; 5: medium; 3: few	7	5	7	3	5
20	Flower: length	FL	5: medium; 7: long	5	5	5	5	7
21	Flower: color of perianth	FCP	2: yellow; 4: orange; 1: greenish yellow	2	2	4	1	2
22	Flower: color of style	FCS	4: pink; 5: red; 2: white; 1: green	4	4	5	2	1
23	Flower: number of stigma lobes	FNSL	5: medium; 7: many; 3: few	5	5	7	7	3
24	Flower: color of stigma lobe	FCSL	2: green; 1: yellow	2	2	2	1	1
25	Fruit: length	FRL	5: medium; 3: short	5	5	3	3	3
26	Fruit: maximum diameter	FMD	5: medium; 3: broad	5	5	3	5	3
27	Fruit: ratio length/maximum diameter	FLD	5: medium; 3: small	5	5	3	3	5
28	Fruit: shape	FS	3: elliptic; 4: circular; 5: obovate; 2: narrow elliptic	3	3	4	5	2
29	Fruit: density of areoles	FDA	7: dense; 5: medium; 3: sparse	7	7	5	3	3
30	Fruit: number of glochides	FNG	3: few; 7: many; 5: medium	3	7	7	5	5
31	Fruit: color of glochides	FCCG	2: brown; 1: yellow	2	2	1	1	1
32	Fruit: length of stalk	FLS	5: medium; 3: short; 7: long	5	5	3	3	7
33	Fruit: depression of receptacle scar	FDRS	5: moderately depressed; 3: absent or slightly depressed; 7: strongly depressed	5	5	5	3	7
34	Fruit: diameter of receptacle scar	FDIR	5: medium; 3: small	5	5	5	5	3
35	Fruit: thickness of peel	FTP	5: medium; 3: thin; 7: thick	5	5	3	7	7
36	Fruit: weight of peel	FWP	3: light; 5: medium	3	3	3	5	3
37	Fruit: weight of flesh	FWF	5: medium; 7: heavy; 3: light; 9: very heavy; 1: very light	5	7	3	9	1
38	Fruit: ratio of weight of flesh/peel	FWFP	5: medium; 7: large; 3: small	5	7	3	5	3
39	Fruit: evenness of color surface	FECS	2: uneven; 1: even	2	2	2	1	1
40	Fruit: main color of surface	FMCS	4: dark green; 8: medium red	4	4	4	8	8
41	Fruit: color of flesh	FCF	3: yellow; 6: red	3	3	3	6	6
42	Fruit: firmness of flesh	FFF	5: medium; 7: firm	5	5	5	7	7
43	Fruit: number of fully developed seeds	FNFD	7: many; 5: medium; 3: few	7	5	3	7	3
44	Fruit: presence of abortive seeds	FPAS	9: very many; 7: many; 5: medium 3: few; 1: absent or very few	9	7	5	3	1
45	Seed: size	SS	5: medium; 3: small; 7: large	5	5	3	7	7
46	Time of beginning of flowering	TBF	3: early; 5: medium; 7: late	3	3	5	5	7
47	Flowering habit	FH	2: twice flowering; 1: once flowering	2	2	1	1	1
48	Time of harvest maturity	THM	3: early; 5: medium; 7: late	3	3	5	5	7
49	Duration of harvesting period of fruit	DHPF	5: medium; 3: short; 7: long	5	5	5	3	7

maturity (0.229), flower length (0.203), main spine color (0.191), main color of fruit surface (0.186), color of fruit flesh (0.186), firmness of fruit flesh (0.186), length of the longest spine per cladode (0.182). On the other hand, in the second PCA component, we obtained highly and positive correlation for the descriptions cladode width (0.217), cladode thickness (0.239), cladode color (0.238), color of areoles per cladode (0.210), fruit shape (0.197), peel weight per fruit (0.264), flesh weight per fruit (0.212), and number of fully developed seeds per fruit (0.181) (Table 3, Figure 2).

Table 3. Definition the first two components of the PCA based on 49 UPOV morphological descriptors in five *Opuntia* species from Algeria.

Principal components	PC1	PC2	PC3
Eigenvalue	18.354	13.910	11.314
Variability (%)	38.239	28.978	23.570
% cumulative	38.239	67.217	90.787
Morphological descriptors*	Eigenvalue		
1	0.000	0.000	0.000
2	-0.127	-0.224	0.016
3	0.097	-0.128	-0.229
4	-0.113	0.217	0.100
5	0.097	-0.128	-0.229
6	-0.094	0.239	-0.061
7	0.112	-0.083	0.239
8	-0.107	0.238	0.013
9	-0.125	0.210	-0.089
10	0.127	-0.048	0.123
11	0.182	0.043	-0.018
12	0.191	0.001	0.061
13	0.030	0.081	0.191
14	0.027	-0.086	0.279
15	-0.003	-0.104	0.271
16	-0.093	-0.040	-0.064
17	0.120	-0.091	0.112
18	-0.184	-0.066	-0.161
19	-0.086	-0.218	0.052
20	0.203	-0.079	-0.116
21	-0.013	-0.192	0.204
22	-0.181	-0.107	0.146
23	-0.097	0.128	0.229
24	-0.186	-0.151	0.061
25	-0.184	-0.066	-0.161
26	-0.163	0.149	-0.127
27	-0.018	-0.131	-0.255
28	-0.062	0.197	0.185
29	-0.203	-0.119	-0.055
30	0.019	-0.055	0.182
31	-0.184	-0.066	-0.161
32	0.097	-0.128	-0.229
33	0.113	-0.217	-0.100
34	-0.203	0.079	0.116
35	0.124	0.154	-0.185
36	0.025	0.264	0.042
37	-0.126	0.212	-0.005
38	-0.157	0.076	-0.117
39	-0.186	-0.151	0.061
40	0.186	0.151	-0.061
41	0.186	0.151	-0.061
42	0.186	0.151	-0.061
43	-0.137	0.181	-0.110
44	-0.223	-0.064	-0.039
45	0.124	0.154	-0.185
46	0.229	0.001	0.043
47	-0.184	-0.066	-0.161
48	0.229	0.001	0.043
49	0.113	-0.217	-0.100

*See table 2.

The projection of the species on the plot delimited by the first two PCA axes, showed the classification of the species into four distinct groups (Figure 2). The first group (a) comprises *Opuntia engelmannii* a second group (b) includes two species, *Opuntia ficus-indica* and *Opuntia amyoclea* situated at the negative side of the plot, *Opuntia robusta* constituted the third group (c) and *Opuntia streptacantha* constituted the fourth group (d).

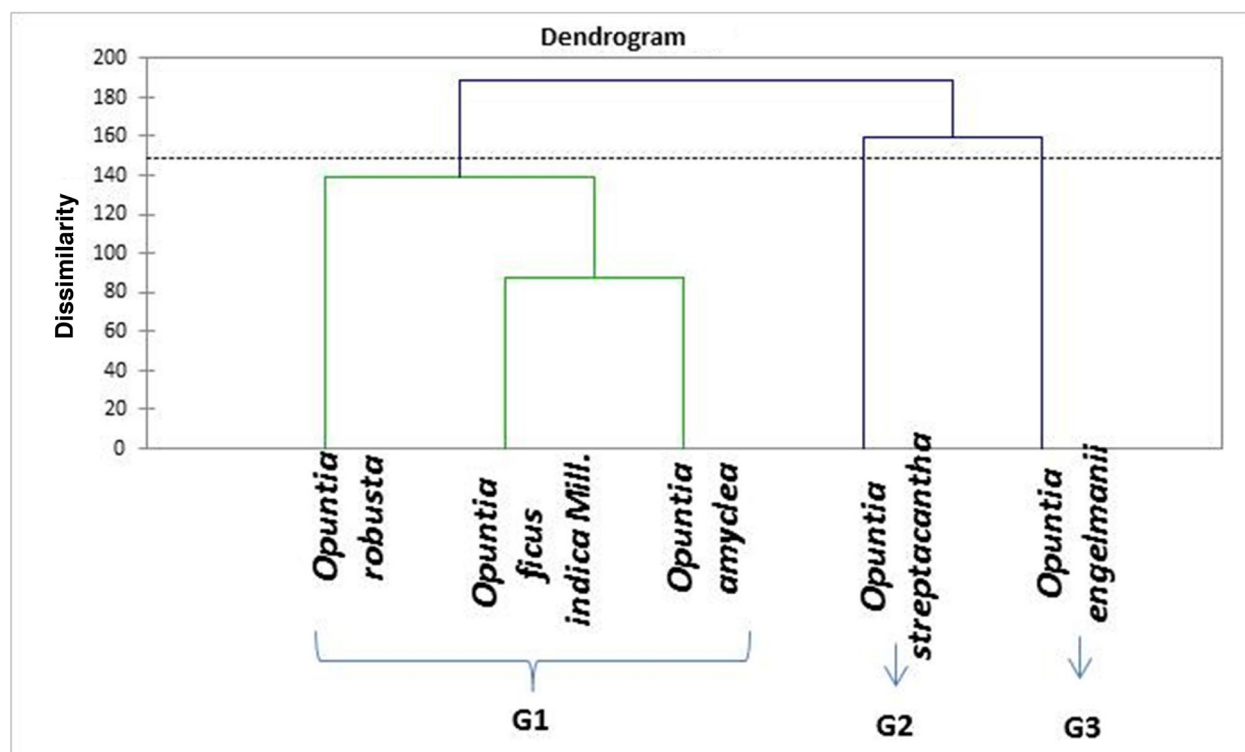


Figure 3. Dendrogram showing relationships between five *Opuntia* species in Algeria using 49 morphological descriptors (G1 and G2 stand for the identified groups).

Cluster Analysis. To understand how the 5 *Opuntia* species are structured a ward-derived dendrogram was constructed based on the data yielded by the 49 morphological descriptors (Figure 3). This allowed the identification of 3 groups, unlike the PCA and phenological that identified 4 groups (Figure 3). The first cluster (C1) was constituted by three species: *Opuntia robusta* (OR), *Opuntia ficus-indica* (OFI) and *Opuntia amyacleae* (OA). Within this group, *Opuntia robusta* was very different and characterized by a high number of fully developed seeds per fruit, broad thick bluish green cladodes, with black areoles, oblate fruit shape, medium peel weight and heavy fruit flesh weight (Figure 3). *Opuntia ficus-indica* and *Opuntia amyacleae* were the closest as both were characterized by brown glochides, medium flower length, pink flower style, green stigma lobes, a medium ratio of length/maximum diameter of fruit, dense areoles, medium diameter of the receptacle scar.

Opuntia streptacantha formed the second cluster (C2) having an obovate cladode shape, two types of color spines, a horizontal attitude of the central spine, orange colored perianth, high number of stigma lobes and glochides.

The third group (C3) was constituted by *Opuntia engelmannii* (OE) that is distinguishable particularly, by late time of beginning of flowering and harvest maturity, long flower length, yellow spine color, medium red fruit surface, red fruit firm flesh, high number of long spines per areole per cladode, and large amount of many glochides (Figure 3).

Discussion

The present study revealed the morphological and phenological diversity in the five dominant species of *Opuntia* grown in Algerian steppes using 49 morphological descriptors.

The set of the UPOV descriptors used here allowed, for the first time, the characterization of the morphological diversity in 5 Algerian *Opuntia* species. The number of the descriptors was high if compared to previous studies in *Cactaceae* with 24 descriptors: seven describing the cladode (length, width, thickness, ratio length/width, number of areoles in the central row, number of spines per areole, length of the longest spine), three for the flower (number of flowers per

cladode, length of the flower, number of stigma lobes) and 14 related to the fruit (length, maximum diameter, ratio length/maximum diameter, density of areoles, peduncle length, depression of receptacle scar, receptacle diameter, peel thickness, peel weight, pulp weight, ratio weight of peel/fruit weight, number of normal seeds, number of abortive seeds, total soluble solids (°Brix) in Gallegos-Vázquez *et al.* (2011), 27 descriptors from cladodes, flowers and fruits were measured in Gallegos-Vázquez *et al.* 2012 and 23 descriptors in Mejía *et al.* (2013).

According to the analysis performed, only few descriptors have shown an effective discriminating capacity. Two quantitative descriptors (length of flower and length of the longest spine per cladode,) and six qualitative descriptors (following: time of beginning of flowering, time of harvest maturity, spine main color, main color of fruit surface, color of fruit flesh, firmness of fruit flesh) have been identified as differential parameters in *Opuntia ficus-indica*, *Opuntia amyclaea*, *Opuntia streptacantha*, *Opuntia robusta* and *Opuntia engelmannii* (Table 3). These descriptors ranked within the primary list established by the UPOV for the characterization of *Opuntia* species (UPOV, 2006).

In comparison with other results, five variables were found to be significant to discriminate forty three accessions (*Opuntia ficus-indica*) fruit weight, peel weight, pulp weight, juice weight and peel thickness were considered as the most discriminative traits (Chalak *et al.* 2014), Three variables were selected as significant to discriminate twenty nine cactus pear varieties and four xoconostle varieties: peel thickness, pulp weight and to a lesser extent the diameter of the receptacle were the most discriminating of the UPOV guidelines traits (Gallegos-Vázquez *et al.* 2011). Moreover, spine number, margin hardness and areole distance were selected the three major variables to discriminate between three populations of *Hylocereus* Britton & Rose spp. (Mejía *et al.* 2013). In addition, ten morphological descriptors including; receptacular scar diameter, seed number, pulp weight, cladodes shape, spines, fruits number, fruits size, receptacular scar position, peel and pulp color were registered to be significant to discriminate *Opuntia ficus-indica* and *Opuntia amyclaea* (Erre & Chessa 2013).

It has been reported that phenotypic differences between populations can be linked to environmental and genetic variables (Muñoz-Urias *et al.* 2008). Additionally, Reyes-Agüero (2005), reported the elements of the syndrome of domestication in *Opuntia* and many traits are of primary interest for human utilization and have had a clear effect on domestication (Gallegos-Vázquez *et al.* 2012). The use of morphological descriptors comprising cladode, flower and fruit traits yielded a high number of morphotypes and allowed the discrimination of all of the studied species. In previous studies, the discrimination level was found to be as high as those reported by other studies using molecular markers for *Opuntia* spp (Labra *et al.* 2003, García-Zambrano *et al.* 2006, Zoghalmi *et al.* 2007, García-Zambrano *et al.* 2009, Caruso *et al.* 2010, Majure *et al.* 2012, El-Banna *et al.* 2013, Valadez-Moctezuma *et al.* 2014, Ganopoulos *et al.* 2015, Samah *et al.* 2016).

Multivariate analyses based on morphological characters are continuously providing valuable information allowing the breeder to improve the species selected from specific geographical regions (Souza & Sorrells 1991). Previously, the multivariate techniques have been applied in *Opuntia* aiming at the morphological and the agronomic descriptions (Reyes-Agüero *et al.* 2005, Peña-Valdivia *et al.* 2008) and the industrial (Hammouch *et al.* 2013).

In our case, multivariate analyses have shown that the highest amount of variation was attained using fruits descriptors (Table 3). These were previously shown as the most important characters for the description of the species (Valdez-Cepeda *et al.* 2003, Reyes-Agüero *et al.* 2005, Gallegos-Vázquez *et al.* 2012).

Morphological descriptors were identified as powerful tools in providing meaningful data on the qualitative and the quantitative aspects in some *Opuntia* species. Morphological characterization is needed to provide the users with valuable information on individual accessions, relationship among traits, and the structure of collections.

In this study, we managed to provide insights on the level of polymorphism and the structuring of the diversity in five *Opuntia* species from the Algerian steppes using 49 UPOV morphological and phenological descriptors.

These results may contribute to the best management of the genetic diversity in *Opuntia* spe-

cies from Algeria throughout the establishment of a core-collection sheltering representatives from interesting species that best exhibit variation, and this would be a benefit for conservation and for future breeding programs.

Literature cited

- Arteaga MC, Bello-Bedoy R, León de la Luz JL, Delgadillo J, Dominguez R. 2015. Phenotypic variation of flowering and vegetative morphological traits along the distribution for the endemic species *yucca capensis* (Agavaceae). *Botanical Sciences* **93**: 765-770. DOI: 10.17129/botsoci.214
- Barbera G. 1995. History, economic and agro-ecological importance. In: Barbera G, Inglese P, Pimienta-Barrios E. eds. *Agro-ecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear*. FAO Plant Production, Protection Paper. Rome: I-II.
- Caruso M, Currò S, Casas GL, Malfa SL, Gentile A. 2010. Microsatellite markers help to assess genetic diversity among *Opuntia ficus indica* cultivated genotypes and their relation with related species. *Plant Systematics and Evolution* **290**: 85-97. DOI: 10.1007/s00606-010-0351-9
- Chalak L, Younes J, Roupheal S, Hamadeh B. 2014. Morphological characterization of prickly pears (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill.) cultivated in Lebanon. *International Journal of Science and Research* **3**: 2541-2553.
- El-Banna A, El-Nady M, Dewir Y, El-Mahrouk M. 2013. Stem fasciation in cacti and succulent species-tissue anatomy, protein pattern and RAPD polymorphisme. *Actabiologica Hungarica* **64**: 305-318. DOI: 10.1556/abiol.64.2013.3.4
- El Finti A, El boullani R, Fallah M, Msanda F, El mousadik A. 2013. Assessment of some agro-technological parameters of cactus pear fruit (*Opuntia ficus-indica* Mill.) in Morocco cultivars. *Journal of Medicinal Plants Research* **7**: 2574-2583. DOI: 10.5897/JMPR12.1236
- Erre P, Chessa I. 2013. Discriminant analysis of morphological descriptors to differentiate the *Opuntia* genotypes. *ISHS Acta Horticulturae* **995**: VII International Congress on Cactus Pear and Cochineal 995: 43-50.
- Gallegos-Vázquez C, Barrientos-Priego AF, Reyes-Agüero JA, Núñez-Colín CA, Mondragón-Jacobo C. 2011. Clusters of commercial varieties of cactus pear and xoconostle using UPOV morphological traits. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* **13**: 10-22.
- Gallegos-Vázquez C, Scheinvar L, Núñez-colín CA, Mondragón-Jacobo C. 2012. Morphological diversity of xoconostles (*Opuntia* spp.) or acidic cactus pears: a Mexican contribution to functional foods. *Fruits* **67**: 109-120.
- Ganopoulos I, Kalivasc A, Kavroulakise N, Xanthopoulou A, Mastrogiannia A, Koubouris G, Panagiotis Madesis P. 2015. Genetic diversity of Barbary fig (*Opuntia ficus-indica*) collection in Greece with ISSR molecular markers. *Plant Gene* **2**: 29-33. DOI: 10.1016/j.plgene.2015.04.001
- García-Zambrano EA, Gutierrez-Diez A, Salinas-García GE, Cárdena-Cerda E, Vázquez-Alvarado RE, Zavala-García F, Martínez de la Cerda J. 2006. Clasificación y estimación de la diversidad genética de Nopal *Opuntia* spp en base a descriptores fenotípicos y marcadores genético moleculares. *Phyton, International Journal of Experimental Botany* **75**: 125-135.
- García-Zambrano EA, Zavala-García F, Gutiérrez-Diez A, Ojeda-Zacarías MC, Cerda-Hurtado I. 2009. Estimation of the genetic diversity of *Opuntia* spp. using molecular markers AFLP. *Phyton, International Journal of Experimental Botany* **78**: 117-120.
- Hadj Sadok T, Aid F, Doumandji A, Bellal M. 2014. Effet du jus de cladodes d'*Opuntia ficus indica* sur la fermentation du lait et la croissance des bactéries lactiques et probiotiques. *Nature et Technologie* **11**: 17-29.
- Hammouch H, Dermaj A, Chebabe D, Decaro P, Hajjaji N, Bettach N, Takenouti H, Srhiri A. 2013. *Opuntia ficus indica* Seed Oil: Characterization and Application in Corrosion Inhibition of Carbon Steel in Acid Medium. *Analytical & Bioanalytical Electrochemistry* **5**: 236-254.
- Kiesling R. 1999. Domesticación y distribución *Opuntia ficus-indica*. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* **3**: 50-59.
- Labra M, Grassi F, Bardini M, Imazio S, Guiggi A, Citterio S, Banfi E, Sgorbati S. 2003. Genetic relationships in *Opuntia* Mill. genus (Cactaceae) detected by molecular marker *Plant. Science* **165**: 1129-1136. DOI: 10.1016/s0168-9452(03)00321-2
- Lamine M, Zemni H, Ziadi S, Chabaaane A, Melki I, Mejri S, Zoghalmi N. 2014. Multivariate analysis and clustering reveal high morphological diversity in tunisian autochthonous grapes (*Vitis vinifera*): insights into characterization, conservation and commercialization. *Journal internationale des sciences de la vigne et du vin* **48**: 1-12. 10.20870/oeno-one.2014.48.2.1565
- Le Houérou, H.N. 1996a. The role of cacti (*Opuntia* spp.) in erosion control, land reclamation, rehabilitation and agricultural development in the Mediterranean Basin. *Journal of Arid Environments* **33**: 135-159. doi.org/10.1006/jare.1996.0053

Received:
August 17th, 2016

Accepted:
March 21st, 2017

- Mejía HA, Muriel-Ruiz SB, Montoya CA, Reyes-Sequeda C. 2013. *In situ* morphological characterization of *Hylocereus* spp. (fam.: Cactaceae) genotypes from antioquia and córdoba (colombia). *Revista Facultad Nacional de Agronomía* **66**: 6845- 6854.
- Majure LC, Judd WS, Soltis PS, Soltis DE. 2012. Cytogeography of the Humifusa clade of *Opuntias*. s. (Cactaceae: Opuntioideae): Correlations with geographic distributions and morphological differentiation of a polyploid complex. *Comparative Cytogenetics* **6**: 53-77. DOI: 10.3897/CompCytogen.v6i1.2523
- Martínez-González CR, Gallegos-Vazquez C, Luna-Vega I, García-Sandoval R. 2015. *Opuntia leiascheinvariana*, una nueva especie de Cactaceae del estado de Hidalgo, México. *Botanical Sciences* **93**: 517-529. DOI: <http://dx.doi.org/10.17129/botsci.247>
- Muñoz-Urias C, Palomino-Hasbach G, Terrazas T, García-Velázquez A, Pimienta-Barrios E. 2008. Variación anatómica y morfológica en especies y entre poblaciones de *Opuntia* en la porción sur del desierto chihuahuense. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **83**: 1-11.
- Neffar S, Beddiar A, Redjel N, Boulkheloua J. 2011. Effects of the age of prickly pear (*Opuntia ficus indica* f. *inermis*) plantations on soil properties and vegetation at Tebessa (semi arid area of eastern Algeria). *International Journal of Mediterranean Ecology* **37**: 5-15.
- Peña-Valdivia CB, Luna-Cavazos M, Carranza-Sabas JA, Reyes-Agüero JA, Flores A. 2008. Morphological characterization of *Opuntia* spp.: A Multivariate Analysis. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* **10**: 1-21.
- Rebman JP, Pinkava DJ. 2001. *Opuntia* cacti of North Americaan overview. *Florida Entomological Society* **84**: 474-483.
- Reyes-Agüero JA, Aguirre-Rivera JR, Flores-Flores JL. 2005. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la Altiplanicie Meridional de México. *Interciencia* **30**: 476-484.
- Samah S, De Teodoro-Pardo CV, Serrato-Cruz MA, Valadez-Moctezuma E. 2016. Genetic Diversity, Genotype Discrimination, and Population Structure of Mexican *Opuntia* sp., Determined by SSR Markers. *Plant Molecular Biology Reporter* **34**:146-159. DOI:10.1007/s11105-015-0908-4
- Souza E, Sorrells ME. 1991. Relationships among 70 North American oat germplasms: I. Cluster analysis using quantitative characters. *Crop Science* **31**: 599-605. DOI: 10.2135/cropsci1991.0011183x003100030010x
- Taylor NP. 1997. Cactaceae. In: Oldfield S. (compiler). *Cactus and Succulent Plants-Status International Union for Conservation of Nature and Natural Resources*. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge UK. 17-20.
- Uchoa AF, Souza PAS, Zarate RML, Gomes-Filho E, Campos FAP. 1998. Isolation and characterization of are serve protein from the seeds of *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **31**: 757-761. 10.1590/S0100-879X1998000600005
- UPOV. 2006. Cactus Pear and Xoconostles (*Opuntia*, Groups 1 & 2), Guidelines for the Conduct of Tests for Distinctness, Uniformity and Stability. TG/217/2. *International Union for the Protection of New Varieties of Plants*. Geneve.
- Valdez-Cepeda RD, Blanco-Macías F, Gallegos-Vázquez C. 2003. Ordering and numerical classification in prickly pear cactus using fruit attributes. *Revista Chapingo Serie Horticultura* **9**: 81-95.
- Valadez-Moctezuma E, Ortiz-Vásquez Q, Samah S. 2014. Molecular based assessment of genetic diversity of xoconostle accessions (*Opuntia* spp.). *African Journal of Biotechnology* **13**: 202-210. DOI: 10.5897/AJB2013.13350
- Wang X, Felker P, Burrow MD, Paterson AH. 1998. Comparison of RAPD marker with morphological and physiological data in the classification of *Opuntia* accessions. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* **3**: 1-5.
- Ward JHJr. 1963. Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journals - American Statistical Association* **58**: 236-244. DOI: 10.2307/2282967
- Williams WT. 1976. *Pattern Analysis in Agricultural Science*. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, The Netherlands.
- Zoghalmi N, Chrita I, Bouamama B, Gargouri M, Zemni H, Ghorbel A, Mliki A. 2007. Molecular based assessment of genetic diversity within Barbary fig (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill.) in Tunisia. *Scientia Horticulturae* **113**: 134-141. DOI: 10.1016/j.scienta.2007.02.009