



HAL
open science

Mise en évidence de la diversité des populations de cactus (*Opuntia* spp.) au Maroc et de la modulation du métabolisme lipidique par des extraits naturels et de phytostérols issues de cactus ou d'huile d'Argan dans les cellules microgliales BV2

Youssef El Kharrassi

► To cite this version:

Youssef El Kharrassi. Mise en évidence de la diversité des populations de cactus (*Opuntia* spp.) au Maroc et de la modulation du métabolisme lipidique par des extraits naturels et de phytostérols issues de cactus ou d'huile d'Argan dans les cellules microgliales BV2. Biochimie, Biologie Moléculaire. Université de Bourgogne, 2015. Français. NNT : 2015DIJOS087 . tel-01466852

HAL Id: tel-01466852

<https://theses.hal.science/tel-01466852>

Submitted on 13 Feb 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE HASSAN I – Settat – Maroc
CENTRE D'ETUDES DOCTORALES BIOLOGIE SANTE ET ENVIRONNEMENT
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
UNIVERSITE DE BOURGOGNE – Dijon – France
ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE
UFR DES SCIENCES DE LA VIE DE LA TERRE ET DE L'ENVIRONNEMENT

THESE
EN COTUTELLE
Pour l'obtention du titre de
Docteur

Discipline : Science de la vie

Spécialité : Biochimie, Biologie Moléculaire et Cellulaire

Mise en évidence de la diversité des populations de cactus (*Opuntia spp.*) au Maroc et de la modulation du métabolisme lipidique par des extraits naturels et de phytostérols issues de cactus ou d'huile d'Argan dans les cellules microgliales BV2

Présentée et soutenue publiquement par

Youssef EL KHARRASSI

Le 21 Décembre 2015

Membres du jury :

M'hammed Said EL KEBBAJ	Université Hassan II de Casablanca, Maroc	Président	
Mohamed BLAGHEN	Université Hassan II de Casablanca, Maroc	Rapporteur	
Abdelkhalid ESSAMADI	Université Hassan I, Settat, Maroc	Rapporteur	
Hamid MORJANI	université de reims champagne-ardenne Reims, France	Rapporteur	
Boubker NASSER	Université Hassan I, Settat, Maroc	Directeur de thèse	
Mustapha CHERKAOUI	Université de Bourgogne, Dijon, France	Directeur de thèse	
MALKI			
El Houssine EL MZOURI	Institut National de la Recherche Agronomique-CRRA, Settat Maroc	Co-Directeur de thèse	de
Pierre ANDREOLETTI	Université de Bourgogne, Dijon, France	Co-directeur de thèse	de

AVANT PROPOS

"Ce travail a été réalisé avec le soutien du Comité Mixte Inter-universitaire Franco-Marocain (CMIFM,) AIMA/14/310, CampusFrance du programme PHC Volubilis/Toubkal ; du Centre National Pour la Recherche Scientifique et Technique (CNRST) RS26 et dans la cadre de la recherche prioritaire du Ministère de l'enseignement Supérieur- Maroc, du Ministère des Affaires Etrangères, du Conseil Régional de Bourgogne et du Ministère de l'enseignement et de la Recherche."

Le travail présenté dans cette thèse a été réalisé dans les laboratoires suivants :

- Laboratoire de Biochimie et Neurosciences (LBN) à la Faculté des Sciences et Technique, Université Hassan 1er, Settat, Maroc, sous la direction de Monsieur le Professeur **NASSER Boubker**.
- Laboratoire de Biochimie du Peroxysome, Inflammation et Métabolisme Lipidique (Bio-PeroxiL) à la Faculté des Sciences Gabriel, Université de Bourgogne, Dijon, France, sous la direction de Monsieur le Professeur **CHERKAOUI-MALKI Mustapha** et le co-encadrement de Monsieur le Docteur **ANDREOLETTI Pierre**.
- Institut National de la Recherche Agronomique de Settat, Laboratoire d'agronomie & d'écophysiologie, Unité de Recherche « Gestion durable des ressources naturelles », sous le co-encadrement de Monsieur le Docteur **EL MZOURI El Houssine**.
- Institut National de la Recherche Agronomique de Kenitra, Unité de Recherche Amélioration et Conservation des Ressources Phytogénétiques, sous la direction de Monsieur le Docteur **BENYAHIA Hamid**.
- Institut National de la Recherche Agronomique de Marrakech, Laboratoire de Phytopathologie Génétique et Lutte Intégrée, sous la direction de Monsieur le Docteur **SEDRA My Hassan**.
- Laboratoire Officiel d'Analyses et de Recherche Chimique (LOARC), Section matière grasse, Casablanca, sous la direction de Madame **MAATA Nadia**.
- Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hormonologie-Métabolisme-Nutrition-Oncologie (CBP) Centre de Biologie et Pathologie Centre Hospitalier Universitaire de Lille CHU France, sous la direction de Monsieur le Docteur **VAMECQ Joseph**.

DEDICACE

Je dédie ce travail

A mes très chers parents

*En témoignage de mon affection et reconnaissance pour tout ce
qu'ils m'ont donné*

*Sans vous je ne serais jamais arrivé jusque là
Je vous remercie pour votre soutien et votre amour
inconditionnel*

*Vous n'avez jamais hésité à vous sacrifier pour ma réussite et
mon bonheur*

A mon très cher frère Soufiane

A ma très chère sœur Sarah

A mon Oncle Abdel Nasser

A ma tante Soraya

A mon meilleur ami Soufiane Elkamouni

A ma famille

A mes Chers professeurs

A mes amis

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier,

Monsieur le Professeur **NASSER Boubker**, Directeur de thèse au Maroc, pour son soutien, son encadrement, son enthousiasme communicatif et sa confiance. Je suis également reconnaissant de son aide scientifique et administratif, de ses conseils et de la patience qu'il m'a accordé tout au long de ce travail. Je le remercie également pour son amitié et son respect envers les doctorants.

Monsieur le Docteur **El Houssine El Mzouri**, pour son co-encadrement, ses conseils, sa disponibilité, son respect, sa confiance, son aide scientifique et surtout pour son amitié. Un grand merci pour les discussions que nous avons eues tout au long de mon séjour à l'INRA de Settât et pour tous tes conseils que j'apprécie tant et pour m'avoir encouragé tout au long de cette thèse.

Monsieur le Professeur **CHERKAOUI-MALKI Mustapha**, Directeur de thèse en France, pour la confiance qu'il m'a accordé tout au long de ces années. J'ai beaucoup apprécié la liberté qu'il m'avait laissée dans l'orientation de ce travail. Je suis également reconnaissant de son aide scientifique, de ses conseils, de sa rigueur scientifique et de la patience qu'il m'a accordé tout au long de ce travail. Je le remercie également pour les longues heures de travail sur ce manuscrit.

Monsieur le Docteur **ANDREOLETTI Pierre**, pour son co-encadrement, ses conseils, sa disponibilité, son respect, sa confiance, son aide scientifique et surtout pour son amitié.

Monsieur le Docteur **LIZARD Gérard**, Directeur du Laboratoire Biochimie du Peroxysome, Inflammation et Métabolisme Lipidique (Bio-PeroXIL) (EA 7270) à l'université de Bourgogne, Dijon, France, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire. Je suis également reconnaissant de son aide scientifique et de ses conseils.

Je tiens à remercier les membres de jury,

Monsieur le Professeur **EL KEBBAJ M'Hammed Said**, Doyen de la Faculté des Sciences Ben M'sik à l'Université Hassan II Mohammedia, Maroc, d'avoir accepté de bien vouloir examiner ce travail. Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur **BLAGHEN Mohamed**, à la Faculté des Sciences Aïn-chok à l'Université Hassan II Casablanca, Maroc, d'avoir accepté de bien vouloir lire et évaluer ce travail. Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur **ESSAMADI Abdelkhalid**, à la Faculté des Sciences et Technique à l'Université Hassan 1^{er} Settât, Maroc, d'avoir accepté de bien vouloir lire et évaluer ce travail. Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur **MORJANI Hamid**, de l'Université de Reims Champagne-Ardenne UFR de Pharmacie, Reims, France, d'avoir accepté de bien vouloir lire et évaluer ce travail. Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

Monsieur le Docteur **EL MZOURI El Houssine**, mon Co-encadrant et Directeur de l'Institut National de la Recherche Agronomique INRA-CRRA, Settat, Maroc, d'avoir accepté de participer au jury.

Monsieur le Docteur **ANDREOLETTI Pierre**, mon Co-encadrant à la Faculté des Sciences Gabriel à l'Université de Bourgogne, Dijon, France, d'avoir accepté de participer au jury.

Madame le Professeur **MOUSTAID Khadija**, pour son aide, son respect, ses conseils et ses encouragements.

Cher ami le Docteur **MAZRI Mouaad Amine**, pour sa disponibilité, son aide scientifique, ça compréhension, ça gentillesse, son amitié et pour les longues heures de travail que nous avons passé ensemble au laboratoire.

Cher ami le Doctorant **El KAMOUNI Soufiane**, pour sa disponibilité, son aide, son amitié et pour les longues heures de travail que nous avons passé ensemble au laboratoire.

Cher ami le Professeur **El KABBAJ Riad**, pour sa disponibilité, son aide, son amitié et pour ces précieux conseils.

Chères amies **MOUSSAFIR Zineb et BADREDINE Asmaa**, pour votre disponibilités, votre aide, votre amitié et pour les longues heures de travail que nous avons passées ensemble au laboratoire, vous étiez pour moi des grandes sœurs.

Cher(es) ami(es) **ABDELBASSAT Chafik, ALLAI Larbi, SABRAOUI Talal, El-MOSTAFA Karym, RAMCHOUN Ikram, SAIH Fatima-Ezzahra**, pour leur disponibilité, leur soutien, leur aide, leur amitié et nos discussions interminables dont je ne me lasserai jamais.

Je remercie de tout mon coeur le Docteur **EL HAJJ Hammam**, qui m'a aidé à maîtriser la culture cellulaire, le thermocycleur, l'immunomarquage et la RTqPCR, la Doctorante **HILLALI Imane**, qui m'a aidé à faire le test MTT et l'adjoint technique Monsieur **NURY Thomas**, qui m'a aidé à apprendre le fonctionnement du cytomètre en flux et surtout pour sa gentillesse et son amitié depuis mon arrivée au laboratoire.

Je tiens également à remercier du fond de mon cœur l'équipe de l'INRA : **Achraf Mabrouk, Basma Okbi, Amal, Kamal, Madame Souad et Monsieur Youssef** pour leur gentillesse et les beaux moments que nous avons passé ensemble.

Mes remerciements vont également à tout le personnel des deux laboratoires d'accueil, pour leur aide, leur sympathie et leurs conseils.

Résumé

L'objectif des travaux de cette thèse concerne la caractérisation du germoplasme marocain du cactus *Opuntia*. Les études réalisées pour atteindre cet objectif ont portées sur le comportement phénologique, les caractéristiques génétiques et la composition physicochimique du cactus, ainsi que sur les molécules à fort potentiel thérapeutique, susceptibles d'avoir des effets bénéfiques pour les cellules du système nerveux central, dans les extraits de cactus (fruit, fleur, graine, huile, raquette et épine) et ceci en comparaison avec l'huile d'Argan. Les travaux ont été réalisés dans quatre laboratoires partenaires partageant des compétences dans les domaines d'analyses agronomique, biochimique et moléculaire. Les résultats de nos travaux sont présentés dans trois volets : (i) la caractérisation agronomique du cactus, (ii) la purification et la caractérisation des extraits et des molécules naturelles et (iii) l'évaluation des effets biologiques de ces molécules sur un modèle cellulaire. L'étude phénologique sur des écotypes âgés de 4 ans, issus du site expérimental de l'INRA d'Ain Nezagh, nous a permis de les classer selon le taux de fructification ou la production de biomasse de manière à mieux orienter leur utilisation en fonction de l'origine géographique et de l'espèce. L'étude de la diversité génétique, basée sur les traits morphologiques et les marqueurs moléculaires, a permis d'identifier sur le site d'Ain Nezagh sept espèces de cactus dont deux n'avait jamais été décrites au Maroc, *O. leucotricha* et *O. inermis*. Les analyses morpho-anatomique et physico-chimique de la fleur, du jus, du fruit et de la raquette d'écotypes âgés de 10 ans provenant du site de l'INRA de Jemâat Riah ont démontré la présence de deux espèces différentes de cactus du genre *Opuntia*, comportant quatre variétés non identifiées auparavant sur ce site. Nos travaux montrent donc l'existence d'une grande diversité génétique intra-espèces (variétés) et inter-espèces chez le cactus au Maroc. Parallèlement à ces études, les compositions chimiques des huiles essentielles de raquette et de graine de cactus ainsi que celle d'huile d'argan ont été déterminées. A partir de ces analyses, nous avons choisi d'étudier les effets de deux stéroïdes, le spinastérol et le schotténol, ainsi que d'extraits de stéroïdes sur l'activation du récepteur nucléaire LXR (Liver X receptor, impliqué dans la régulation du métabolisme du cholestérol) dans les cellules cérébrales de la microglie (lignée murine BV-2). Nos résultats montrent que le spinastérol et le schotténol, sans être cytotoxiques, peuvent moduler les expressions des deux isoformes de LXR, LXR- α et LXR- β , ainsi que de leurs gènes cibles ABCA1 et ABCG1. De plus, le schotténol provoque une activation spécifique de LXR- β . Ces résultats suggèrent que ces deux phytostéroïdes pourraient avoir un rôle protecteur dans la modulation du métabolisme du cholestérol dans la microglie.

Abstract

The objective of this PhD thesis is to characterize the Moroccan germplasm of the cactus *Opuntia* collected from different regions in Morocco, by studying the phenologic behavior, the genetic features and physicochemical composition, along with the molecules of high therapeutic potential which may have beneficial effects on the central nervous system cells from cactus extracts (fruit, flower, seed, oil, cladodes and spine) and compared to Argan oil. This work has been conducted in four different laboratories sharing complementary analyses skills at agronomic, biochemistry, molecular levels. Our results are presented in three parts : (i) cactus agronomic characteristics, (ii) purification and characterization of natural extracts and molecules and (iii) the evaluation of biological effects of these molecules using a cell model. Initially, the first experimental INRA site of cactus culture, located in Ain Nezagh and containing ecotypes older than 4 years, allowed us to achieve a phenological study with the classification of the ecotypes according to fruiting rate and to the biomass production in order to better guide their use according to geographical origin and species. The genetic diversity study based on morphological traits and molecular markers permitted the identification, on the site of Ain Nezagh, of the presence of seven species of cactus among which two have never been described in Morocco: *O. leucotricha* and *O. inermis*. The morpho-anatomical and physicochemical analyses of cactus flower, juice, fruit and cladodes of 10 years old ecotypes issued from the Jemâat Riah INRA site, demonstrated the presence of two different species of the genus *Opuntia* including four varieties not previously identified on this site. Thus, our work indicates the existence of a large intra-species (varieties) and inter-species genetic diversity. Secondly, the chemical compositions of cladode essential oils or cactus seeds as well as argan oil were determined. From these analyzes, we have chosen to study the effects of two sterols, spinasterol and schottenol and also sterol extracts on the activation of the nuclear receptor LXR (Liver X receptor, involved in the regulation of cholesterol metabolism) in microglia brain cells (BV-2 murine cell line). Our results show that spinasterol and schottenol, without being cytotoxic, can modulate the expression of the two isoforms of LXR, LXR- α and LXR- β , as well as of their target genes ABCA1 and ABCG1. In addition, the schottenol causes LXR- β specific activation. These results suggest that these two phytosterols could have a protective role in the modulation of cholesterol metabolism in microglia.

SOMMAIRE

AVANT PROPOS	2
DEDICACE	4
Résumé	9
Abstract	10
LISTE DES TABLEAUX	21
LISTE DES FIGURES	23
ABBREVIATION	27
I. INTRODUCTION	33
II. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	36
A. Plantes médicinales et molécules bioactives	36
1. Plantes Médicinales	36
<i>a) Cactus (Opuntia spp)</i>	36
(1) Description systématique des différentes parties de la plante (raquette, fleur et épine)	36
(2) Répartition géographique et divers utilisations scio- économiques	37
(3) Exigence écologique	38
<i>(a) Température</i>	38
<i>(b) Nature du sol</i>	39
	12

(c)	<i>Précipitations</i>	39
(4)	Métabolisme et physiologie de la plante	40
(5)	Caractéristique chimique et biochimique et différentes molécules bioactives	41
(6)	Rôle et importance des différentes parties de la plante	51
(7)	Activité biologique et utilisation médicale	51
(8)	Relation biodiversité d'Opuntia et molécules d'intérêt thérapeutique/biomédicale	52
b)	<i>L'huile de graine de cactus (Opuntia spp)</i>	55
(1)	Les différentes modes d'extraction de l'huile	55
(2)	Composition chimique	55
(3)	Intérêts pharmacologique	56
c)	<i>L'arganier (Argania spinosa)</i>	57
(1)	Origine et répartition géographique	57
(2)	L'huile d'argan	58
(a)	<i>Rôle socioéconomique</i>	58
(b)	<i>Mode d'extraction</i>	58
(c)	<i>Classification</i>	59
(d)	<i>Mode d'altération</i>	61
(e)	<i>Composition et caractéristique physico-chimique</i>	61
(f)	<i>Intérêts Pharmacologiques</i>	63
2.	Molécules bioactives	64
a)	<i>Les phytostérols</i>	64

(1) Structures	64
(2) Activités biologiques	66
b) Les acides gras	67
c) Les tocophérols	68
d) Les composés phénoliques	69
B. Les récepteurs nucléaires LXR et leur rôle dans la régulation du métabolisme du cholestérol et de l'inflammation	70
1. LXR comme cible thérapeutique	71
2. LXR: facteurs de transcription, mécanisme moléculaire et mode d'action	72
3. Les Oxystérols	73
4. La lignée microgliale	74
a) Description des cellules microgliales	74
b) Facteurs d'activation	75
c) Relations microglies et maladies peroxysomales	75
5. La mitochondrie	76
a) <i>La chaine respiratoire</i>	76
b) <i>Le potentiel membranaire : rôle dans le fonctionnement cellulaire et conséquences de son dysfonctionnement au niveau cérébrale vis-à-vis les maladies neurodégénératives</i>	76
III. MATERIEL ET METHODE	80
A. Caractérisation phénologique, génétique, morpho-anatomique et physico-chimique du germoplasme national cactus genre <i>Opuntia Spp</i>	80
1. Matériel végétal : origine et conduite technique	80

2. Etude phénologique des écotypes de cactus issue de différentes régions du Maroc	81
<i>a) La croissance et le développement de raquettes</i>	82
<i>b) Croissance et Développement du fruit</i>	83
3. Etude de la diversité génétique du cactus marocain par les descripteurs morphologique et les marqueurs moléculaires	84
<i>a) Polymorphisme morphologique</i>	84
<i>b) Polymorphisme moléculaire</i>	84
(1) Extraction de l'ADN	84
(2) Amplification des fragments d'ADN	85
<i>(a) Réalisation de la PCR par les techniques microsatellites- ISSR (inter-simple sequence repeat)</i>	85
<i>(i) Amorces microsatellites utilisées</i>	85
<i>(ii) Les étapes de l'amplification</i>	85
<i>(b) Réalisation de la PCR par la technique RAPD (random amplified polymorphic DNA)</i>	85
<i>(i) Amorces RAPD</i>	85
<i>(ii) Les étapes de l'amplification</i>	85
<i>(c) Electrophorèse en gel d'agarose</i>	87
<i>(d) Détermination de la taille des bandes</i>	88
<i>(i) Analyses statistiques des résultats</i>	88
4. Etude morpho-anatomique de cactus genre (<i>Opuntia spp</i>) marocain	89
(1) Etude Agronomique	92
<i>(a) Mesure de la plante entière exhaustive</i>	92

(b)	<i>Mesure Agronomique sur la raquette</i>	92
(i)	<i>Non destructive exhaustive</i>	92
(ii)	<i>Destructive</i>	92
(c)	<i>Mesure agronomique sur le fruit</i>	93
(i)	<i>Non destructive exhaustive</i>	93
(ii)	<i>Destructive</i>	93
(d)	<i>Saisie et analyses des données</i>	93
5.	Caractérisation physico-chimique des différentes parties de la plante de cactus	94
a)	<i>Teneur en eau</i>	94
b)	<i>Teneur en cendres brutes</i>	94
c)	<i>Dosage de protéines totales</i>	94
d)	<i>Dosage des sucres totaux</i>	95
e)	<i>Dosage des Polyphénols totaux</i>	95
f)	<i>Dosage des Flavonoïdes totaux</i>	96
g)	<i>Dosage du phosphore lipidique</i>	96
(1)	Minéralisation	96
(2)	Dosage du phosphore	96
h)	<i>Dosage des Caroténoïdes</i>	97
i)	<i>Dosage de la Vitamine C (Acide ascorbique)</i>	97
j)	<i>Mesure de l'acidité</i>	97
k)	<i>Mesure du pH</i>	97
l)	<i>Dosage des sucres réducteurs</i>	97

<i>m)</i>	<i>Détermination de la matière sèche soluble</i>	98
B.	Caractérisation physico-chimique des huiles	98
1.	Matériel végétal utilisé	98
<i>a)</i>	<i>Préparation de l'extrait de la raquette</i>	98
2.	Mesures qualitatives et quantitatives	98
<i>a)</i>	<i>Mesures qualitatifs</i>	98
(1)	Mesure de l'acidité	98
(2)	Mesure de l'indice de peroxyde	99
(3)	Détermination du coefficient d'extinction spécifique	99
<i>b)</i>	<i>Mesure quantitatif</i>	99
(1)	Partie saponifiable	99
<i>(a)</i>	<i>Dosage des acides gras</i>	99
(2)	Partie insaponifiable	99
<i>(a)</i>	<i>Dosage des stérols totaux</i>	99
<i>(b)</i>	<i>Dosage des tocophérols</i>	100
<i>(c)</i>	<i>Dosage du spinastérol et schotténol dans les extraits de stérol et des huiles par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-SM)</i>	100
C.	Evaluation de l'activité biologique in vitro des phytostérols issues de l'huile d'argan et de cactus sur le métabolisme du cholestérol au niveau des cellules microgliales BV-2	101
1.	Les stérols	101
<i>a)</i>	<i>Synthèse des stérols</i>	101
<i>b)</i>	<i>Extraction des stérols</i>	101

2.	Culture cellulaire des cellules microgliales BV-2	101
	<i>a) Mesure de la viabilité cellulaire</i>	102
	<i>b) Mesure de la mort cellulaire par coloration à l'iodure de propidium (IP)</i>	102
	<i>c) Mesure du potentiel transmembranaire mitochondrial Dioc 6 (3)</i>	102
	<i>d) Etude de l'effet des phytostérols issues de cactus et de l'huile d'argan sur le métabolisme mitochondrial de la lignée microgliale BV-2</i>	103
	(1) Préparation des cellules de la microglie	103
	(2) Mesure de l'activité mitochondriale	104
	<i>e) Détection des lysosomes à membrane déstabilisée par coloration à l'Acridine Orange (AO)</i>	104
	<i>f) Quantification des ARN messagers par RtgPCR</i>	105
	(1) Extraction des ARN totaux	105
	(2) Dosage des ARN totaux	105
	(3) Transcription inverse (RT)	106
	(4) Amplification génique quantitative ou qPCR (quantitative polymerase chain reaction)	106
	<i>g) Analyse de l'activation du LXR alpha et LXR beta par transfection des cellules HEK293</i>	107
IV.	RESULTATS ET DISCUSSION	109
A.	Identification des espèces de cactus à l'échelle nationale et évaluation de leurs caractères agrochimique	110
1.	Evaluation du comportement phénologique	110
2.	Etude de la diversité génétique : polymorphisme morphologique et nucléaire	116

a)	<i>Evaluation de la variabilité génétique par les caractères morphologiques</i>	116
b)	<i>Évaluation de la diversité génétique par les marqueurs moléculaires</i>	117
c)	<i>Discussion des résultats du polymorphisme morphologique et moléculaire</i>	118
3.	Caractérisation morpho-anatomique de la raquette et du fruit de cactus	130
a)	<i>Les caractéristiques morphologiques de la raquette</i>	130
b)	<i>Les caractéristiques morphologiques du fruit de cactus</i>	131
4.	Caractéristiques physicochimiques de la raquette et du jus de fruits du figuier de Barbarie	132
B.	Etude comparative des molécules bioactives dans les huiles	146
1.	Détermination du taux d'acidité et de l'indice de peroxyde	146
2.	Détermination du coefficient d'extinction spécifique	147
3.	La composition en acides gras	148
4.	Teneur en stérols dans les huiles d'argan, de cactus, et l'huile d'olive et de leurs extraits stéroliques	150
5.	La teneur en Vitamine E (tocophérols)	151
6.	Discussion	152

C.	Evaluation de l'activité biologique des phytostérols et leurs effets sur le métabolisme lipidique au niveau des cellules microgliales BV-2	155
1.	La synthèse chimique du schotténol et spinastérol	155
2.	Effets des phytostérols (PS) sur la fonction mitochondriale dans les cellules microgliales BV2	155
3.	Mesure de la mort cellulaire avec l'iodure de propidium (IP) par cytométrie en flux	157
4.	Effets des phytostérols sur le potentiel de la membrane mitochondriale ($\Delta\Psi_m$) dans les cellules microgliales BV2	157
5.	Etude de l'effet des phytostérols du cactus et de l'huile d'argan sur les activités des complexes respiratoires mitochondriaux dans la lignée microgliale BV2	159
6.	Mesure de l'intégrité de la membrane lysosomale par coloration à l'Acridine Orange	160
7.	Effet des phytostérols sur l'expression de LXR α , de LXR β et de leurs gènes cibles	162
8.	Évaluation de l'activation LXR α et LXR β par les phytostérols	163
V.	CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	165
VI.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	168
VII.	ANNEXES	212
A.	Données supplémentaires	212
B.	Liste des publications et des communications	214

Liste des tableaux

- Tableau 1 :** Distribution et teneur en vitamines des différentes parties de la plante de cactus de l'espèce *O. ficus-indica* (fruit et raquette, l'expression de la teneur en vitamines est en mg/100 g de tissu).
- Tableau 2 :** Distribution et teneur en phytostérols des différentes parties du fruit de l'espèce *O. ficus-indica* (pulpe, graines et peau, les teneurs en stérol sont exprimées en g/kg).
- Tableau 3 :** Répartition et teneur en composés minéraux dans les différentes parties de la plante de l'espèce *O. ficus indica*. Les composés minéraux sont exprimés en mg/100 g.
- Tableau 4 :** Distribution et teneur en acides aminés dans la graine, la raquette et le jus de fruits obtenu à partir d'*O. ficus-indica*. Les teneurs en acides aminés sont exprimés en g/100 g.
- Tableau 5:** Distribution et teneur en composés phénoliques : polyphénols et flavonoïdes dans les différentes parties de la plante de l'espèce *O. ficus-indica*.
- Tableau 6 :** Comparaison de la composition en acides gras dans les différentes parties de la plante de l'espèce *O. ficus-indica* et d'autres huiles comestibles (compositions sont exprimées en g/100 g d'acides gras).
- Tableau 7:** Noms de bétaxanthines et bétacyanines présents dans les espèces *Opuntia spp.*
- Tableau 8 :** Les régions de collecte des écotypes installés dans le cactétum
- Tableau 9 :** Liste et caractéristiques des amorces utilisées pour évaluer la variabilité génétique dans et entre *Opuntia spp* du Maroc
- Tableau 10:** Présentation des amorces utilisées pour la RT-Qpcr
- Tableau 11:** Production des bourgeons végétative et floraux et longueur et le diamètre des fruits des jeunes plantations de sept espèces d'*Opuntia* provenant de différentes régions du Maroc.
- Tableau 12 :** Moyennes (\pm SD) des traits morphologiques des différents accessions d'*Opuntia spp.* au Maroc.
- Tableau 13 :** Mesures de la densité optique et la concentration d'ADN des différents génotypes du cactus.
- Tableau 14:** Caractéristiques physico-chimiques de raquettes de jeunes plantations de sept espèces d'*Opuntia* provenant de différentes régions du Maroc.
- Tableau 15:** Les valeurs moyennes (+ SD) pour les caractéristiques du fruit dans 30 écotypes d'*Opuntia* de différentes régions du Maroc.
- Tableau 16 :** Présentation des valeurs moyennes (+ SD) pour les caractéristiques de jus de fruits dans les 30 adhésions d'*Opuntia* de différentes régions du Maroc.

Tableau 17: Résultats des mesures du taux d'acidité dans les huiles de graines de cactus, d'argan et d'olive, donné en « grammes d'acide libre pour 100 g d'huile » et de l'indice de peroxyde exprimé en « milliéquivalents d'oxygène peroxydique lié par kilogramme » (mEq O₂/kg).

Tableau 18: Résultats des mesures des coefficients d'extinction spécifiques dans les huiles de graines de cactus, d'argan et d'olive. Avec E% : l'extinction spécifique.

Tableau 19: Teneur en acide gras dans les huiles d'olive, d'argan, de graine de cactus et de l'huile essentielle de la raquette de cactus (*Opunia megacantha slam dyck*) par dosage en chromatographie en phase gazeuse (CPG). les valeurs représentent le pourcentage de moles d'AG. ^a représente le rapport entre les pourcentages $\omega 6/\omega 3$.

Tableau 20 : Analyses GC-MS de Stérols des huiles d'Argan, de graines de cactus, d'olive et des extraits stéroliques obtenus à partir des huiles.

Tableau 21: Résultats des différents types des tocophérols des quatre huiles étudiées exprimées en pourcentage.

Liste des figures

Figure 1 : Présentation des différentes parties de la plante de cactus. A : Raquette d'*Opuntia Spp*, B : Aréoles d'*Opuntia ficus indica* (inermes), C: Aréoles d'*Opuntia* munies d'épines D : Glochides d'*Opuntia aciculata*, E : Aiguille d'*Opuntia leucotricha*, F : Fleurs d'*Opuntia ficus indica*, G : Fruits d'*Opuntia spp*.

Figure 2: Cycle photosynthétique des plantes de type CAM

Figure 3: Présentation des différentes structures stéroliques

Figure 4: Les voies de signalisation LXR dans le cerveau. LXR active le gène codant le transporteur ABC 1 (ABCA1) impliqué dans le transport des lipides, ce qui conduit à un enrichissement en lipides de l'apolipoprotéine E (APOE). APOE est associée à l'augmentation de la dégradation de l'amyloïde- β et à la réduction du développement pathologique ressemblant la maladie d'Alzheimer, dans le modèle de souris RXR.

Figure 5: Hétérodimérisation LXR-RXR et activation de gène cibles.

Figure 6: Apparition des bourgeons indéterminés dans la raquette mère

Figure 7: l'évolution des bourgeons indéterminés en bourgeons végétatifs

Figure 8: Croissance de bourgeons fructifères /florale ou nouvelles fruits

Figure 9 : Croissance de bourgeons végétatifs ou nouvelles raquettes chez l'espèce *Opuntia Megacantha*

Figure 10 : Croissance de bourgeons fructifères ou nouvelles fruits de l'espèce *O. Ficus Indica*

Figure 11 : Carte du Maroc montrant l'origine géographique des 124 accessions d'*Opuntia spp*. Utilisées appartenant au cactétum AIN Nezagh (1^{er} site expérimentale comportant des écotypes âgés de 4ans).

Figure 12 : Carte du Maroc montrant les origines géographiques des accessions appartenant à deux espèces *O. ficus indica* et *O. de megacantha* utilisées dans cette étude appartenant au deuxième site expérimentale Jamaât Riah, comportant 33 écotypes âgées de 10 ans.

Figure 13: Mesure biométrique de la raquette, **A**= longueur, **B**= largeur

Figure 14 : Présentation des différentes formes de raquette de cactus genre *Opuntia*

Figure 15: Présentation des différentes distances mesurées entre les aréoles

Figure 16 : Aiguillon central : port Érigé, demi- érigé et horizontal

Figure 17: Aiguillon central : courbure absente ou présente et Torsion absente ou présente

Figure 18: Présentation de quelques étapes lors d'une mesure Destructive

Figure 19: Préparation des cellules de la microglie BV-2 pour l'étude totale de la chaîne respiratoire.

Figure 20: Présentation des exemples de certains stades phénologique d'*Opuntia ficus-indica*. Panneaux A, B, de la phase 4 développement des organes à multiplication végétative. Panneau A, bourgeon végétatif commence à se développer. Panneau B, cladode à 30% de sa taille finale. Panneau C, phase 5 bourgeon floral. Panneau D, Phase 6 : floraison. Les barres d'échelle = 2 cm.

Figure 21: Dendrogramme regroupant 78 accessions d'*Opuntia ficus indica* basé sur 10 caractères morphologiques et la méthode de Ward. Les étoiles rouges indiquent les écotypes utilisés pour l'analyse moléculaire.

Figure 22 : Dendrogramme regroupant 38 adhésions d'*Opuntia megacantha* basé sur 10 caractères morphologiques et la méthode de Ward. Les étoiles rouges indiquent les écotypes utilisés pour l'analyse moléculaire.

Figure 23 : Dendrogramme regroupant 124 adhésions d'*Opuntia spp.* sur la base de 10 caractéristiques morphologiques et la méthode de Ward. Les étoiles rouges indiquent les écotypes utilisés pour l'analyse moléculaire.

Figure 24: Profil électrophorétique sur gel d'agarose 1,8% des produits de ISSR- 34 et ISSR-38 des différents génotypes des du cactus (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) en utilisant deux amorces : à gauche amorce ISSR 34, et à droite amorce ISSR 38.

Figure 25 : Profil électrophorétique sur gel d'agarose 1,8% des produits de ISSR- 8 et ISSR-50 des différents génotypes des du cactus (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) en utilisant deux amorces : à gauche amorce ISSR 8, et à droite amorce ISSR 50.

Figure 26: Dendrogramme regroupant 22 accessions d'*Opuntia spp.* sur la base de 10 ISSR et une marqueurs RAPD. Le trait en rouge représente le seuil de similarité.

Figure 27: Répartition graphique 3D basée sur l'analyse en composantes principales (ACP) montrant la répartition des 22 accessions d'*Opuntia spp.*

Figure 28: Résultats qui résument les paramètres physico-chimiques des espèces de cactus identifiées dans différentes régions du Maroc.

Figure 29: Dendrogramme montrant la relation entre les 30 accessions de *O. ficus indica* et *O. megacantha* du Maroc, sur la base des caractéristiques du fruit et du jus selon la méthode de Ward. Chez le deuxième site expérimental de l'INRA : Jemaat Riah.

Figure 30: Résultats de la teneur en composés phénoliques (mg/100g): Flavonoïdes et Polyphénols dans les extraits de la fleur issues de quatre variétés provenant de deux espèces différentes (*Opuntia ficus indica* (OFI): représenté par trois variétés : issue d'un fruit de couleur rose, rouge/rose et orange et *Opuntia megacantha slam dyck* (OMSD) représenté par une seule variété issue d'un fruit de couleur: jaune/orange) provenant de différentes régions du Maroc.

Figure 31: Résultats de la teneur des phospholipides (en %) dans les extraits de la fleur issues de quatre variétés provenant de deux espèces différentes (*Opuntia ficus indica* (OFI): représenté par trois variétés : issue d'un fruit de couleur rose, rouge/rose et orange et *Opuntia megacantha slam dyck* (OMSD) représenté par une seule variété issue d'un fruit de couleur: jaune/orange) provenant de différentes régions du Maroc.

Figure 32: Résultats de la teneur en composés phénoliques (mg/100g): Flavonoïdes et Polyphénols dans les extraits de la raquette obtenue par spectrophotomètre issues de sept espèces inermes et épineuses (*Opuntia ficus indica* (OFI), *Opuntia megacantha slam dyck* (OMSD), *O. dillenii*, *O. Aquetarolis*, *O. Inermis*, *O. Robusta wedland*, *O. Leucotricha*, provenant de sept régions différentes du Maroc.

Figure 33: Résultats de la teneur en composés phénoliques (mg/100g): Flavonoïdes et Polyphénols dans les extraits des épines obtenue par spectrophotomètre issues de quatre espèces épineuses (*Opuntia megacantha slam dyck* (OMSD), *O. Aquetarolis*, *O. Robusta wedland*, *O. Leucotricha*), provenant de quatre régions différentes du Maroc.

Figure 34: Résultats des dosages des stérols totaux en mg/100g des quatre huiles étudiées par chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Figure 35: (A) Structure chimique du schotténol et du spinastérol. (B-E) Effets des stérols sur la prolifération cellulaire et la viabilité mesurées avec le test MTT sur des cellules microgliale BV2 traitée pendant 24h ou 48 h.

Figure 36 : Evaluation de la mort cellulaire sur les cellules de BV2 après traitement (24h) avec du 4- β cétocholestérol (4 β -KC), du 7- α cétocholestérol (7 α -KC), du spinastérol (spina) ou du schotténol (Schott.) à 1,5, 6,25, 12,5, 25 et 50 μ m. Test de l'iodure de propidium par cytométrie en flux.

Figure 37: Effet des stérols, A: schotténol et spinastérol, ou des extraits de stérols, B: huile d'argan (AOSE) et l'huile de graines de cactus (COSE), sur le potentiel transmembranaire mitochondrial mesuré par la sonde DiOC6(3) par cytométrie de flux, dans les cellules BV2 traités 24H ou 48H. 7-Ketocholesterol (7KC) était utilisé comme témoin positif.

Figure 38: Dosage de l'activité du complexe I isolé de cellules microgliale BV2 traité 24H avec le DMSO à 0.13% (contrôle) ou par mes phytostérols : Schotténol ou Spinastérol à une concentration de 10 μ M. Les valeurs représentent le rapport activité du complexe I à l'activité du citrate synthase (CI/CS).

Figure 39: Dosage de l'activité du complexe II isolé des cellules BV2 traitées pendant 24H avec le DMSO à 0.13% (contrôle) ou des phytostérols : Schotténol ou Spinastérol à une concentration de 10 μ M. Les valeurs représentent le rapport activité du complexe II à l'activité du citrate synthase (CII/CS).

Figure 40: Dosage de l'activité du complexe III isolé des cellules BV2 traitées pendant 24H avec le DMSO à 0.13% (contrôle) ou des phytostérols : Schotténol ou Spinastérol à une concentration de 10 μ M. Les valeurs représentent le rapport activité du complexe III à l'activité du citrate synthase (CIII/CS).

Figure 41: Dosage de l'activité du complexe IV isolé des cellules BV2 traitées pendant 24H avec le DMSO à 0.13% (contrôle) ou des phytostérols : Schotténol ou Spinastérol à une concentration de 10 μ M. Les valeurs représentent le rapport activité du complexe IV à l'activité du citrate synthase (CIV/CS).

Figure 42: Effets de spinastérol, du schotténol, du 7 beta-hydroxycholestérol ou du 7-cétocholesterol sur l'intégrité de la membrane lysosomale dans les cellules BV2.

Figure 43 : Expression génique des ARNm LXR α et LXR β et de leurs gènes cibles ABCA1 et ABCG1 dans les cellules microgliale BV2 : non traité (A et B) ou traitées avec un véhicule (DMSO), par des stérols ou des extraits de stérol pendant 24 h (C-F).

Figure 44 : Evaluation de l'effet de stérols (schotténol et spinastérol) sur l'activation de LXR α et LXR β .

Abréviations

$\Delta\Psi_m$	Potentiel membranaire mitochondriale
7KC	7 céto cholestérol
4bOHC	4 béta hydrox cholestérol
7BOHC	7 béta hydrox cholestérol
24S-OHC	24 (S) hydroxycholestérol
ABCA1	ATP-binding cassette transporter 1
ABCG1	ATP-binding cassette sub-family G member 1
ABCG5	ATP-binding cassette sub-family G member 5
ABC	ATP-binding cassette
AGI	Acides gras insaturés
AGM	Acides gras mono-insaturés
AGPI	Acides gras poly-insaturés
AGS	Acides gras saturés
ACP	Analyse en composantes principales
ADP	Adénosine Di Posphate
ADN	Acide Désoxyribonucléique
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
ATP	Adénosine Tri Posphate
AGTLC	Acides Gras à Très Longue Chaîne
ANOVA	Analyse de la Variance
APOE	Apolipoprotéine E
ASC2	Activating Signal Co-integrator 2
Bp	Paire de Base
HA	Huile d'argan

HO	Huile d'olive
ARN	Acide Ribonucléique
AVC	Accident Vasculaire Cérébrale
BET	Bromide d'Ethidium
Bcl-2 / Bax	Lymphome à cellules B
C16:0	Acide palmitique
C18:1	Acide oléique
C18:2	Acide linoléique
C18:3	Acide linoléique
C22:0	Acide Béhénique
C24:0	Acide Lignocérique
C26:0	Acide Cérotique
C/EBP- α	CCAAT/enhancer binding protein
Caco-2	Cellules humaines épithéliales intestinales cancéreuses
CAM	Crassulacean Acid Metabolism
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CPG	Chromatographie Phase en Gazeuse
CPLH	Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance
CMH-II	Complexe Majeur d'Histocompatibilité de Classe II
COI	Conseil Oléicole International
COSE	Cactus Oil Sterol Extract
CRRA	Centre Régional de la Recherche Agronomique
CTAB	Cetyltrimethylammonium bromide
CYP46A1	Cholestérol 24-hydroxylase
Ch25h	Cholestérol 25-hydroxylase
CYP27A1	Cholestérol 27-hydroxylase

CYP3A4	Cholestérol 4-hydroxylase
D	Diamètre
DHA	Docosahexaenoic acid
DIOC6(3)	3,3'-dihexyloxacarboyanine iodide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
EDTA	Ethylène Diamine Tétra Acétique
EGF	Facteur de croissance épidermique
EPA	Acide EïcosaPentaenoïque
FT3	Triiodothyronine libre
FT4	Tétraiodothyronine
GC-SM	Chromatographie en Phase Gazeuse couplé au Spectro de Masse
GSK3	Glycogen synthase kinase 3
H2O2	Peroxyde d'hydrogène
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
H ₃ BO ₃	Acide borique
IDOL	Inducible Degradar of the LDL Receptor
IL-1 β	Interleukine-1 β
INRA	Institut National de la Recherche Agronomique
IP	Indice de Peroxyde
I κ B- α	Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor alpha
iNOS	Oxyde Nitrique Synthase
ISSR	Intern Simple Sequence Repeat
JO	Jaune Orangé
LDH	Lactate déshydrogénase
LDL	Lipoprotéine de Basse Densité
LPS	Lipopolyssacharides

LOO·	Lipid peroxy radicals
LXR	Liver X Receptor
MM	Marqueur de Poids Moléculaire
MATAB	Mixed Alkyl Trimethyl Ammonium Bromide
MDA	Malondialdéhyde
MgCL2	Chlorure de Magnésium
MIC	Microsatellite
NADPH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NOX-1	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate Oxydase 1
NAFLD	Non-Alcoholic Fatty Liver Disease
NaOH	Hydroxyde de sodium
NCOR1	Nuclear Co-Repressor 1
NCOA1	Nuclear Receptor Co-Activator 1
NF-kB	Nuclear Factor-Kappa B
NH ₃	Ammoniaque
NO	Oxyde Nitrique
NR1H3	Nuclear Receptor Subfamily 1 Group H Member 3
NR1H2	Nuclear Receptor Subfamily 1 Group H Member 2
NTP	Nucléoside triphosphate
OOSE	Extrait de sterol issue de l'huile d'olive
O	Orange
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDK1	Phosphoinositide-Dependent Protein Kinase-1
PEP	Phosphoénolpyruvate
PGE-2	Prostaglandine-E2
PGC	Récepteur Gamma co-activateur

PKB	Protein Kinase B
P-NALD	Pseudo-neonatal adrenoleukodystrophy
PPAR	Récepteur Activé par les Proliférateurs de Peroxysomes
%P	Pourcentage de la chaire
Pf	Taille du fruit
PIC	Teneur de l'information polymorphe
Pol III	ARN polymérase II
RAPD	Random Amplification of Polymorphism DNA
RDD	RNase-free DNA Digest Buffer
ROS	Espèces Réactives de l'oxygène
R	Rose
RR	Rose/Rouge
RXR	Récepteur X des Rétinoïdes
SCHOT	Schotténol
SIDA	Syndrome d'Immunodéficience Acquise
SPIN	Spinastérol
SMRT	Silencing Mediator of Retinoic Acid and Thyroid Hormone Receptor
SOD	Superoxyde Dismutase
SR-BI	Scavenger receptor B1)
SREBP-1c	Sterol regulatory element-binding protein
SSR	Séquence Simple Répété
TBE	Tris Acide Borique Ethylène Diamine Tétra Acétique
TE	Tris Ethylène Diamine Tétra Acétique
TE	Teneur en eaux de la chaire
TGFb	Transforming Growth Factor
TNF- α	Facteur de nécrose tumorale- α

UV	Ultrat Violet
X-ALD	Adrénoleucodystrophie liée à l'X
V	Vert

I. INTRODUCTION

Au Maroc, le cactus est en train de connaître un intérêt grandissant et une extension sans précédent, surtout dans le cadre du Plan Maroc Vert. En effet, son extension est en pleine croissance dans les provinces des Rhamna, Tiznit, Guelmim et bientôt à Settat et Khouribga. Ses rôles socio-économiques et environnementaux dans les zones à faible pluviométrie et à hauts risques climatiques. Cependant le germoplasme national en cette culture reste peu caractérisé de point de vue agronomique, systématique et physico-chimique afin de mieux cibler son exploitation et son utilisation. Malgré la grande importance du cactus au Maroc, sa diversité génétique est à peine étudiée. En effet, dans les dernières années, plusieurs études ont été menées sur la diversité génétique de cactus. Par exemple, [Valadez-Moctezuma et al. \(2014\)](#) ont étudié la diversité génétique au sein et entre les espèces d'*Opuntia* mexicains en utilisant des marqueurs RAPD et ISSR. En Italie, [Labra et al. \(2003\)](#) ont évalué la diversité génétique des espèces *Opuntia* avec des marqueurs cpSSR et AFLP. [Zoghalmi et al. \(2007\)](#) ont évalué la diversité génétique d'*Opuntia ficus indica* L. Plus récemment, [Bendhifi et al. \(2013\)](#) ont publié un autre ouvrage sur la diversité génétique de la même espèce en Tunisie à l'aide des descripteurs morphologiques et marqueurs RAPD.

Cependant, la recherche de nouvelles sources de molécules naturelles a potentiel antioxydant, présente un intérêt grandissant vis-à-vis les industriels. Au Maroc, le cactus nécessite, d'identifier non seulement les espèces de cactus cultivées mais également des biomarqueurs spécifiques permettant d'identifier d'une part, l'origine des huiles de graines et huiles essentielles dans les extraits de cactus en fonction de l'espèce et de la partie de la plante utilisée et d'autre part d'identifier les principales molécules d'intérêts. Par contre l'huile d'argan, est mieux connue que le cactus, en particulier pour la prévention des maladies cardiovasculaires. Cette huile est riche en polyphénols (comme l'acide férulique) et en tocophérols (qui ont un pouvoir antioxydant) et sa composition en acides gras mono- et polyinsaturés est plus équilibrée que les autres huiles alimentaires (huiles d'olive et de tournesol par exemple).

Le but principal de cette thèse est la caractérisation du germoplasme national de cactus à fruits afin de mieux orienter les différents types d'utilisations de cette culture en fonction de ces caractéristiques agronomique et de son profil chimique selon chaque espèce et selon les différentes formes d'exploitations, d'utilisations et de valorisations des produits du cactus, et la recherche de molécules à fort potentiel thérapeutique susceptibles d'avoir des effets bénéfiques pour le système nerveux central.

Dans le cadre de cette étude cinq objectifs ont été fixés à savoir :

- ❖ **Le premier objectif**, est l'étude du comportement phénologique de ces écotypes en fonction de leur appartenance à différentes espèces, en fonction de leur origine géographique et en fonction de l'influence des conditions édapho-climatique, dans le but d'une part de classer et sélectionner les écotypes qui ont un taux de production élevée en raquette (biomasse) et qui vont servir comme source de fourrage pour le bétail, et d'autre

part voir les espèces qui ont un taux de fructifications élevés (production de fruit) et qui vont servir pour la production agro-industriel, cosmétique et pharmaceutique.

- ❖ **Le deuxième objectif** concerne l'évaluation de la diversité génétique au sein et entre les écotypes d'*Opuntia spp.* à partir de différentes régions du Maroc, à l'aide des descripteurs morphologiques ainsi que des marqueurs ISSR et RAPD.
- ❖ **Le troisième objectif** consiste en à la caractérisation physico-chimique des différentes parties de la plante de cactus (jus de fruit, fleur, raquette, épine) afin de cibler les parties riches en molécules bioactives et les orienter selon l'espèce et la partie de la plante pour usage médicinale et pharmaceutique.
- ❖ **Le quatrième objectif**, est d'étudier la composition physico-chimique des huiles d'argan et de graine de cactus en comparaison à l'huile d'olive comme huile référence bien documentée et objet de nombreuses études scientifiques, ainsi cibler des biomarqueurs spécifiques permettant d'identifier l'origine des huiles et huiles essentielles dans les extraits de cactus en fonction de l'espèce et de la partie de la plante utilisée. le résultat de ces travaux sera utile pour établir de nouvelles normes en particulier pour les produits issus du cactus.
- ❖ **Le cinquième objectif** est l'évaluation de l'activité biologique in vitro des phytostérols issue de cactus et de l'huile d'argan, et voir leurs effets sur le métabolisme lipidique au niveau cérébrale chez la souris.

Le travail objet de la présente thèse a été réalisé en trois parties à savoir : la caractérisation agronomique du cactus, la purification et la caractérisation des extraits et des molécules naturelles et l'évaluation des effets biologiques de ces molécules sur des modèles cellulaires bien établis dans les laboratoires partenaires. Les quatre laboratoires associés dans cette étude partagent des compétences dans différents domaines d'analyses agronomique, biochimique et chimique, de biologie moléculaire et de physiopathologie :

- De la bio-analyse, la caractérisation agronomique, la purification et la caractérisation de molécules naturelles et l'évaluation sur des modèles cellulaires (Institut National de la Recherche Agronomique de Settat : INRA, Laboratoire de Biochimie et Neurosciences : LBN, Laboratoire Biochimie du Peroxysome, Inflammation et Métabolisme Lipidique: BioPeroXIL);
- De l'analyse biochimique et chimique de l'huile d'Argan et du cactus et leurs effets biologiques (Laboratoire Biochimie du Peroxysome, Inflammation et Métabolisme Lipidique: BioPeroXIL, Laboratoire Officiel d'Analyse et de Recherche Chimique: LOARC);
- Evaluation des effets biologiques des phytostérols issues de l'huile d'argan et de cactus sur les activités de la chaîne respiratoire, au niveau cérébrale (Laboratoire BioPeroXIL, Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hormonologie-Métabolisme-Nutrition-Oncologie (CBP) Centre de Biologie et Pathologie Centre Hospitalier Universitaire de Lille CHU).

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

II. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

A. Plantes médicinales et molécules bioactives

1. Plantes médicinales

a) *Cactus (Opuntia spp)*

(1) Description systématique des différentes parties de la plante (raquette, fleur et épine)

Opuntia spp communément appelées figuier de Barbarie ou cactus Nopal, appartient à la famille des cactacées. C'est une famille qui comprend environ 1500 espèces de cactus genre *Opuntia*. C'est une plante tropicale et subtropicale, dicotylédone caractérisée par ces feuilles réduites en épines, qui présente une grande capacité d'adaptation aux conditions les plus hostiles et produit une biomasse importante d'une manière très efficace. Le genre *Opuntia* est intégré à la famille des *Cactaceae*, l'ordre des *Caryophyllales* et à la sous-classe des *Caryophyllidae*. Les *Cactaceae* appartiennent à des espèces succulentes caulinaires subdivisées dans les tribus des *Pereskieae*, *Opuntieae* et *Cereae*. La tribu des *Opuntieae* comprend le genre *Opuntia*, subdivisé à son tour en quatre sous-genres: *Platyopuntia*, *Cylindropuntia*, *Tephrocactus* et *Brasiliopuntia*. Les sous genres d'*Opuntia* les plus largement présents au Maroc sont les *Cylindropuntia*, comportant des articles qui sont des portions d'organe qui se séparant d'elle-même, à une certaine époque, du reste de l'organe en un point nommé articulation. Ces derniers sont cylindriques portant des épines (4 espèces au Maroc) et les *Platyopuntia* arborant des articles aplatis en raquettes, feuilles petites et caduques et épines non grainées (au moins 21 espèces au Maroc) ([Arba, 2000](#)).

(a) *La raquette*

Les espèces d'*Opuntia* sont des plantes vivaces. Elles ont une hauteur de quelques centimètres à plus de 6 m, un système racinaire charnu, superficiel et à dispersion horizontale ([Sudzuki, 1995](#)) et une tige charnue ou ligneuse couverte d'un épiderme. Cet épiderme est formé des cellules minces avec une paroi externe imprégnée d'une substance lipidique appelée cutine recouverte de cires. La tige et les rameaux sont divisés en longueur pour donner des raquettes cylindriques ou aplatis ayant une longueur moyenne de 30 à 50 cm et une largeur moyenne de 15 à 30 cm. La couleur des raquettes est verte ([Scheinvar, 1995](#)) (Figure 1).

(b) *La feuille*

Les feuilles des espèces d'*Opuntia* sont réduites en épines et il est parfois difficile de les identifier ou de retrouver leurs cicatrices. Les aréoles qui sont de petite protubérance à la surface des cactées d'où émergent les aiguillons ou les soies, portent des épines et des poils spéciaux appelés les glochides. Ces épines sont blanchâtres, sclérifiées, solidement implantées, avec une longueur de 1 à 2 cm. Il existe des variétés inermes (sans épines) (Figure 1). A partir des tissus méristématiques des aréoles se développent les nouvelles cladodes, racines et fleurs ([Sudzuki, 1995](#)).

(c) La fleur

Les fleurs sont hermaphrodites, solitaires et de différentes couleurs selon les espèces avec des sépales, des pétales et des étamines en nombre indéfini et en disposition spiralée. Leur gynécée est formé par un ovaire inféré constitué de 5 carpelles soudées qui se transforme à maturité en un fruit comestible (Nerd et al., 1991; Sudzuki, 1995) (Figure 1).

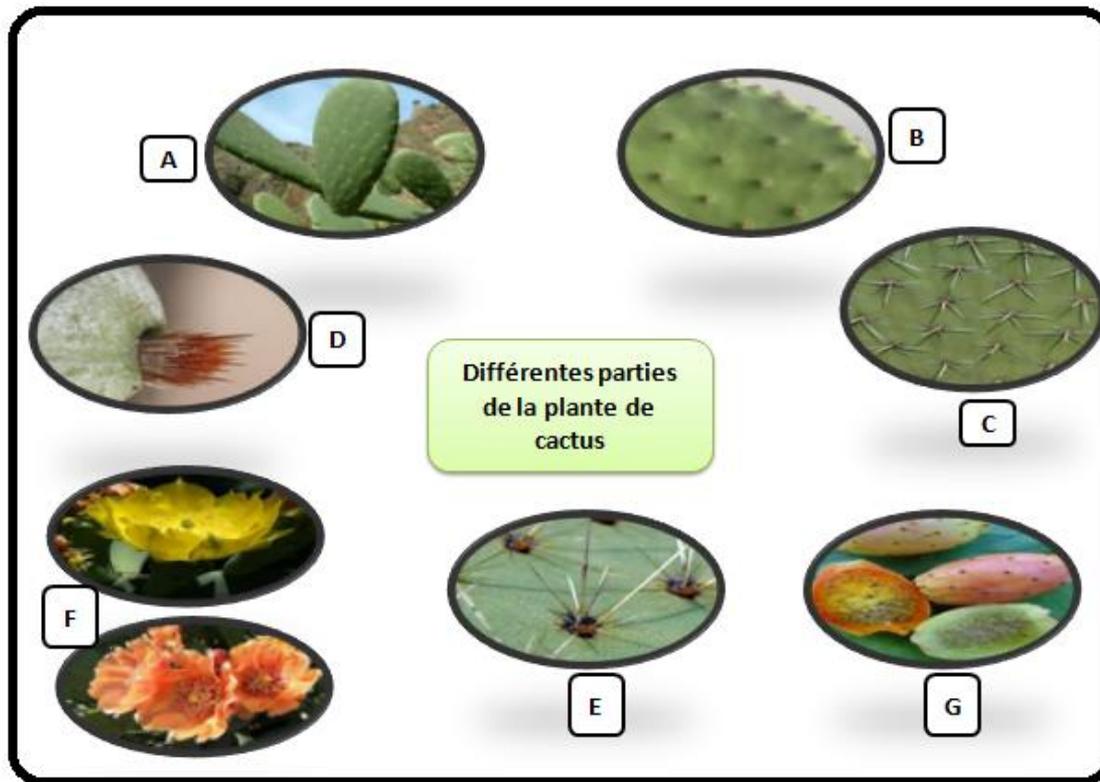


Figure 1 : Présentation des différentes parties de la plante de cactus. A : Raquette d'*Opuntia Spp*, B : Aréoles d'*Opuntia ficus indica* (inermes), C: Aréoles d'*Opuntia* munies d'épines D : Glochides d'*Opuntia aciculata*, E : Aiguille d'*Opuntia leucotricha*, F : Fleurs d'*Opuntia ficus indica*, G : Fruits d'*Opuntia spp*.

(2) Répartition géographique et divers utilisations scio-économiques

Cette plante a été adoptée par l'homme pour différentes fins comme : fruit consommé frais ou conservé, fourrage sur pied (raquette), légumes (jeune raquette = "Nopalitos"), plante pharmaceutique (fleurs, cladodes), plante industrielles (confiture, jus, colorants naturels, boisson alcoolisée, produits cosmétiques), plante apicole, outil de contrôle contre l'érosion en agroforesterie et en amélioration pastorale et plante clôture/haie. Elle peut pousser dans des climats arides et semi-arides avec une répartition géographique englobant le Mexique, l'Amérique latine, l'Afrique du Sud et les pays de la Méditerranée (Valente et al., 2010). Elle a été plantée dans de nombreux périmètre dans le cadre des projets de développement agricole et dans des programmes de lutte contre la sécheresse dans des terrains collectifs ou privés. Le Maroc, qui a connu des années de sécheresses successives, gagnerait à développer la culture de cette plante et à intensifier la vulgarisation de son usage en tant que source de fourrage et même son industrialisation. Au Maroc, il y a une diversité spécifique des espèces d'*Opuntia* les plus répandues dans le Royaume étant *O. ficus indica*, *O.*

dillenii, *O. vulgaris*, *O. compressa* (Walali, 1997 ; Arba et al., 2000). Dans la plupart des régions, surtout dans le sud, les espèces les plus rencontrées sont : *O. ficus indica* et *O. megacantha Slam-Dyck*. Aux alentours de la ville d'Essaouira c'est l'espèce *O. Shumannii weber* qui est rencontrée. Au nord ouest du pays, quatre espèces ont été identifiées : *O. Dillenii*, *O. robusta wendl*, *O. cochenellifera (L.) Mill* et d'*O. microdasys*. *O. cochenellifera (L.) Mill* est une espèce épineuse avec des cladodes très allongées et très épaisses et qui se caractérise par des fruits très allongés par rapport aux fruits des autres espèces. Ses fruits présentent la particularité de se détacher des cladodes mères à maturité mais ce phénomène n'est remarqué que dans les conditions environnementales de Foum El Oued à Laayoune. Il y a aussi la présence d'*O. microdasys*, une espèce qui se caractérise par sa croissance et son développement très rapide. Même si elle ne présente pas un vrai intérêt agronomique pour la production du fruit, elle peut être utilisée dans la lutte contre l'érosion (Boujghagh, 2011). En Algérie, certaines nouvelles espèces ont été citées et identifiées du point de vue phénologique et morphologique, comme les espèces *Opuntia engelmannii* et *Opuntia scheerii* qui sont génétiquement très différents (Hadjkouider et al., 2010). La liste des différentes espèces d'*Opuntia* identifiées au niveau mondial est présentée dans le tableau 2 (voir l'annexe).

(3) Exigence écologique

(a) La température

Le figuier de Barbarie est cultivé dans les zones arides subtropicales avec des hivers doux (température moyenne de l'air > 10°C), des étés chauds, une gamme de précipitations annuelles de 100 à 600 mm et une saison sèche bien définie qui peut durer 2 à 5 mois. Il possède une grande adaptation aux conditions les plus hostiles (aridité du climat, salinité des sols, terrains de faible potentiel agricole). Son extension est surtout limitée par les basses températures hivernales, son seuil de tolérance étant de -10°C. Dans les pays méditerranéens, certaines espèces comme *Opuntia compressa* vr. *Helvetica*, *O. dillenii* et *O. ficus indica* peuvent résister à des températures moindres de 10°C. Par exemple en Italie, l'espèce est cultivée pour la production de fruits en Sicile où le climat est méditerranéen, avec des hivers doux et pluvieux et des étés chauds et secs. La température annuelle moyenne est de 16°C (25°C en Juillet/Août et 15°C en Octobre/Novembre, périodes de développement du fruit). Les précipitations annuelles sont comprises entre 400 et 600 mm, avec une saison sèche de 4 mois (Juin-Septembre). Un autre exemple, en Israël l'espèce est cultivée dans le désert du Néguev, où la température mensuelle moyenne la plus basse est de 13°C au mois de Janvier et les températures les plus élevées (25°C) se produisent de Juin à Octobre. La pluviométrie annuelle varie de 40 à 200 mm. Enfin, en Afrique du Sud, la période des précipitations dépend de la région, en été pour le Cap oriental et la province du Nord et en hiver dans le Cap occidental. La province du Nord et la région Ciskey sont les zones les plus importantes pour les plantations spécialisées tandis que les cultures fruitières premières sont situées dans les zones subtropicales près du tropique du Capricorne au nord du pays. Ces provinces présentent des étés longs et chauds et des hivers doux, avec une pluviométrie extrêmement inégale survenant principalement en hiver avec moins de 500

mm par an (**Brutsch et Zimmermann 1993; Brutsch 1997**). Dans tous les domaines, la température annuelle moyenne est supérieure à 15°C, la moyenne des plages de températures mensuelles s'étend de 10°C en hiver à 26°C en été et de 14°C à 25°C pendant le développement et la maturation des fruits. Au Maroc, la limite thermique du développement du cactus est de moins de 1000 m d'altitude (**Walali, 1997**). La sensibilité aux basses températures varie d'une espèce à une autre et parfois ce facteur peut limiter leur extension. Par contre, l'espèce *O. humifusa* qui est une espèce endémique dans 25 états des Etats Unis et à Ontario au Canada, résiste jusqu'à -24°C (**Nobel et Loik, 1990**). Au Canada, *Opuntia fragilis* peut résister jusqu'à -40°C (**Loik et Nobel, 1993**). Cette résistance est due à la quantité d'eau contenue dans les raquettes, car plus la teneur en eau est faible plus l'espèce est résistante au froid (**Nobel, 1988**). La différenciation des bourgeons et la réduction de la formation des bourgeons de fleurs procèdent des températures élevées (**Nerd et al 1991; Nobel et Castañeda 1998**). En effet, les plantations de cactus à fruit, pour la production de fruits, existent dans les îles Canaries et dans la vallée de Catamarca en au nord-ouest de l'Argentine où moins de 200 heures de refroidissement sont observées pendant l'hiver.

(b) Nature des sols

Le métabolisme de type crassulacéen de la figue de Barbarie autorise son développement dans des zones où les précipitations ne dépassent pas 200 à 300 mm/an. Le cactus s'accommode mal des sols hydromorphes et asphyxiants. Les sols préférés par le cactus sont les sols légers, sablonneux-limoneux et caillouteux ayant des pH moyennement acides (5,1-6,7) et une teneur en argile inférieure à 20%. Il s'agit des sols généralement pauvres en matière organique (0,1-1,8%). Il peut aussi résister à des sols de natures acide et saline avec moins de 70 moles de sel par m³ (**Inglese, 1995**) et au sol gypseux et légèrement salin à condition qu'ils soient drainés (**Walali, 1997**). Pour plusieurs espèces d'*Opuntia* le pH du sol est un facteur limitant, mais l'espèce *Opuntia ficus-indica* est rencontrée même sur des sols calcaires. Afin d'avoir une production de fruit de bonne qualité, il est préférable que le sol contienne des taux élevés en potassium et en calcium (**Wessels, 1988, Inglese, 1995**). L'espèce est présente sur une large gamme de sols. Une profondeur de 60 à 70 cm du sol assure le développement du système racinaire superficiel. Les sols mal drainés, une nappe phréatique élevée, ou une couche imperméable superficielle ou carapace ne devraient pas être utilisés pour la plantation. La teneur en argile ne doit pas dépasser 20% pour éviter la pourriture des racines et le développement de la canopée. Le cactus n'est pas tolérant au sel et 50-70 mM de NaCl devraient être considérés comme le seuil supérieur pour la culture.

(c) Les précipitations

Dans les hautes terres indigènes du Mexique, le cactus est cultivé dans les zones semi-arides, où la pluviométrie annuelle est concentrée dans l'été pendant la période de développement du fruit. Dans le bassin méditerranéen, au Moyen-Orient, Afrique du Nord et de l'Est, Argentine, Californie, et le Chili, la saison sèche coïncide avec un été long et chaud. Par exemple au Chili, le cactus à fruit est cultivé dans la région métropolitaine de Santiago, où la température moyenne mensuelle de l'air est de 22°C en été (Janvier) et de 10°C en hiver (Août). La saison sèche dure

de quatre à cinq mois avec des moyennes annuelles des précipitations de 350 mm (Sudzuki et al., 1993). Des expériences ont montré que les moutons gardés dans des enclos peuvent se passer d'eau pendant plus de 500 jours s'ils ont un accès quotidien à des quantités suffisantes de cactus inerme et plus précisément la raquette (Potgieter, 2004). Au niveau écologique, les figues de Barbarie peuvent être considérées comme des cultures qui pourraient tolérer les changements climatiques et permettent donc de mettre en valeur des terres marginales infertiles et sèches. Ils sont connus par leur tolérance à la sécheresse et leur adaptation aux conditions désertiques. Au Mexique, la région de Milpa Alta connaît de faibles précipitations, ce qui a provoqué d'énorme perte vis-à-vis l'introduction des cultures fourragères comme le maïs. Les *Opuntia spp.*, en association avec d'autres espèces ligneuses, ont été utilisés avec succès dans un programme de fixation des dunes en Somalie et contre l'érosion des sols dans plusieurs autres pays. Dans la région de Sidi-Ifni au Sud du Maroc, les plantations d'*Opuntia* jouent un rôle écologique important, car elles permettent de lutter contre l'érosion et donc à conserver le sol.

(4) Métabolisme et physiologie de la plante

L'*Opuntia* est une plante succulente, qui a la capacité à emmagasiner l'eau dans leurs racines ou tiges et feuilles de manière à limiter la transpiration, cette faculté lui rend bien adapté à la sécheresse. L'unique différence entre le cactus et les autres plantes succulentes, est due à la présence des aréoles. La plante *Opuntia* est une plante de type CAM (Crassulacean Acid Metabolism) capables de diminuer leur transpiration par la fermeture des stomates pendant les heures ensoleillées et chaudes et leur ouverture pendant la nuit (Noble, 1995). Elle présente des adaptations morphologiques et physiologiques lui permettant de résister à la sécheresse, aux chaleurs torrides, aux vents violents et aux tempêtes de sable (Sudzuki, 1995 ; Mulas, 2004). Le métabolisme de photosynthèse CAM peut être 4 à 5 fois plus efficient en matière de fixation de CO₂ par la photosynthèse que les graminées les plus efficientes (Kluge et Ting, 1978; Russel et Felker, 1987). Les *Opuntia* arrivent à produire entre 8 et 12 t/ha/an de fruits frais et entre 20 à 50 t/ha/an de matière végétative fraîche (Russel et Felker, 1987). Les jeunes plantations peuvent entrer en floraison à partir de la deuxième ou la troisième année. La durée et la période du cycle annuel dépendent de l'écotype et de la zone géographique. Le figuier de Barbarie a la particularité de fixer le dioxyde de carbone et de libérer l'oxygène pendant la nuit et de fermer ses stomates pendant le jour. Ce dispositif permet une moindre perte d'eau par évapotranspiration pendant les heures les plus chaudes. La pénétration de l'air par les stomates ouverts s'effectue pendant la nuit et c'est à ce moment-là que le dioxyde de carbone est fixé dans les tissus de chloroplaste par réaction avec le phosphoénolpyruvate (PEP), résultant du métabolisme des sucres via la glycolyse, pour donner l'oxaloacétate. Cet élément est à son tour transformé en malate pour être stocké dans la vacuole. Pendant le jour, le malate se décompose en pyruvate et libère le dioxyde de carbone et l'eau directement au niveau des tissus chlorophylliens qui s'en servent pour la suite de la photosynthèse selon le cycle de Calvin (voir la figure 2).

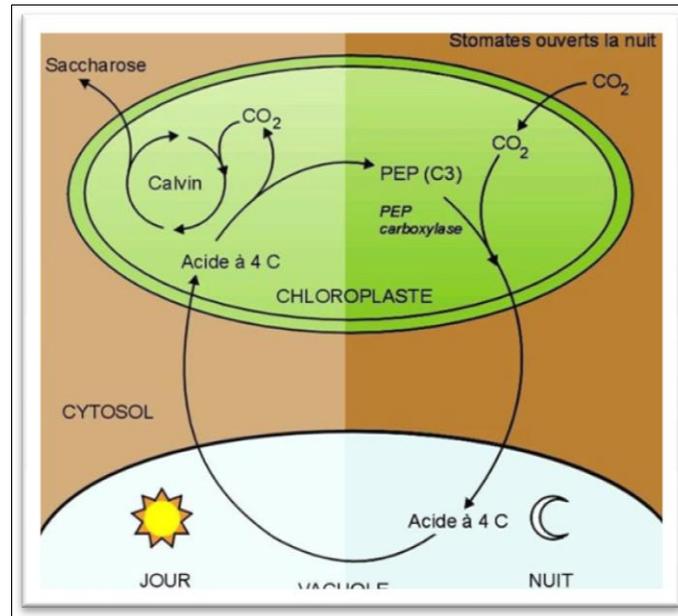


Figure 2: Cycle photosynthétique des plantes de type CAM

C'est une différence fondamentale avec les plantes ordinaires (mésophytes), pour qui la photosynthèse s'effectue le jour à partir du dioxyde de carbone fraîchement importé de l'atmosphère (Leuttge1993 ; Sudzuki, 1995). Du point de vue physiologique, plusieurs travaux de fertilisation phospho-azotée ont montré des réponses considérables des taux de croissance des raquettes et des fruits par rapport au témoin (Esteban-Velasco et Gallardo-Lara, 1994 ; Nobel et al., 1987). Le cactus est multiplié végétativement par bouturage des raquettes en laissant sécher au préalable les sélections pendant 14 à 30 jours durant l'automne ou le printemps, mais cette technique prend beaucoup de temps avant l'installation des racines et présente un risque de pourriture de la plante en cas de pluies excessives (Alberghina, 1984). L'utilisation des régulateurs de croissance pour accélérer l'initiation et la croissance racinaire ainsi que pour faciliter la réussite de l'installation du verger a été testée et a donné des résultats très prometteurs (Mulas et al., 1992; Nieddu et Chessa, 1997).

(5) Caractéristique chimique et biochimique et différentes molécules bioactives

(a) Evaluation de la valeur nutritionnelle

Dans le genre *Opuntia*, l'espèce *O. ficus-indica* est la plus importante du point de vue agronomique pour la production de fruits comestibles et raquettes. Ces derniers peuvent être utilisés comme un légume et comme des ressources fourragères de valeur dans les zones arides et semi-arides pendant les périodes de sécheresse (Khalafalla, 2007). Au Maroc la teneur la plus élevée de la matière minérale a été observée chez l'espèce *O. ficus indica* du Moyen Atlas, tandis que la valeur la plus faible était dans *O. ficus indica* de Rhamna (El Kharrassi et al., 2015). Les travaux de (Malainine et al., 2003) ont montré que la teneur en matière minérale des raquettes des écotypes provenant de l'espèce *O. ficus indica* originaire de Marrakech, était de 19,6 g / 100g, cette teneur est similaire au

résultat rapporté par **Ramirez-Moreno et al. 2013** avec une teneur de 18,23 g / 100g de matière sèche. Pour des raquettes âgées de 2 ans, cette teneur atteint plus de 25% de la matière sèche (**Nefzaoui et Chermiti, 1991**). La teneur en cellulose brute (fibres) peut atteindre 8,55% par rapport à la matière sèche (**Nefzaoui et Ben Salem, 2000**), ces valeurs sont comparables à celles des cladodes de moins d'un an étudiées par **Nefzaoui et Chermiti (1991)**, mais restent supérieures à celle de la laitue et de l'épinard qui en contiennent moins de 3%. Les sucres totaux augmentent de façon significative en fonction du stade de croissance passant de 1,66 au stade 1 à 8,8% au stade 5. Ils sont indicateurs d'une valeur énergétique élevée des cladodes. Quand aux sucres réducteurs, ils varient de façon moins marquée au cours de la croissance. Leur teneur augmente de 1,1% au stade 1 à 4 % au stade 5. Cette faible teneur notamment pour les trois premiers stades limite les risques de brunissement lors des traitements thermiques. La teneur en azote reste faible au niveau des jeunes cladodes, comme dans la plupart des légumes et fruits. Elle varie de 2,4 à 3,7%. D'autres auteurs ont observé que cette teneur diminue après un an et dépend de la nature des sols et de la fumure apportée (**Nefzaoui et Ben Salem, 1995; Lehouerou, 1996**). L'acidité titrable des cladodes qui correspond à un titrage qui est un dosage volumétrique de l'acide citrique dans le jus par le NaOH qui est un réactif standard, varie de 0,21 à 0,52% et qui reste faible aux trois premiers stades (pH<4,7). Elle est proche de celle observée par **Rodriguez-Felix et Cantwell (1988)**. La raquette de cactus est caractérisée par sa forte appétence c'est-à-dire son désir d'usage, et son attrance au tant que produit consommable, et sa digestibilité élevée, avec une teneur élevée en eau, glucides solubles, cendres, Ca, K et vitamine A (**Ben Salem and Nefzaoui, 2003**). La composition chimique des raquettes de cactus en comparaison avec d'autres éléments fourragers est représentée par **Chriyâa (1998)**. En effet les teneurs en protéines et en phosphore sont relativement faibles, mais elles peuvent être augmentées par fertilisation des plants. De ce fait, les raquettes des *Opuntia spp.* ne peuvent donc pas constituer la seule composante de la ration des animaux (**Le Houérou, 2000**). L'âge des cladodes est un facteur important pour la valeur nutritionnelle. Les jeunes cladodes d'*Opuntia ficus-indica* cultivés en Espagne ont un pourcentage de protéines allant de 10,6 à 15,0 %, tandis que les cladodes matures varient de 4,4% et 11,3% (**Retamal et al, 1987**). Cela a été attribué par l'âge et à l'activité métabolique plus hautes chez les jeunes cladodes (**Nobel, 1983**). Les concentrations en protéines (15,3%) et phosphore (0,3%) ont été annoncées dans une publication au sujet de plantations de l'espèce *Opuntia ficus-indica* en Californie (**Nobel, 1983**). Par contre, le chlorenchyme a un contenu en protéines et en phosphore de respectivement 9,6 % et 0,12 % pour des plantations de 5 ans et de 7,8 % et 0,09 % pour des plantations d'*Opuntia* chiliennes âgées de 12 ans. Au contraire, **Gregory et Felker (1992)** ont annoncé qu'*O. ficus-indica* avait un contenu en protéine semblable dans toutes les classes d'âge. Leurs résultats sont inhabituels car généralement les jeunes cladodes ont une meilleure qualité nutritionnelle que les vieux cladodes. Cela est attribué à l'épaississement de la cuticule des cladodes les plus âgés, à l'augmentation de l'épaisseur du parenchyme (qui est très lentement dégradable) en raison de l'expansion du stockage d'eau et à la charge du contenu cellulaire (**Rodríguez-Felix et Cantwell, 1988**). La composition chimique pour 100 g de cladodes a donné comme résultat : 91.7g d'eau, 1.1g de protéines, 0.2g de lipides et 1.3g de cendre (13.3, 2.4, 15.7 % sur une base de Matière Sèche, respectivement). Il a été observé que des

glucides totaux ont augmenté considérablement pendant la croissance des cladodes, tandis que les protéines ont diminué (**Rodríguez-Felix et Cantwell, 1988**).

(b) *Evaluation de la teneur des molécules d'intérêt dans les différentes parties de la plante*

(i) *Les Vitamines*

Chez l'espèce *O. ficus indica* le fruit, en particulier sa peau, est riche en vitamine E avec des quantités allant jusqu'à 17,6 g/kg d' α -tocophérol (tableau 1). En revanche, l'huile extraite de graines du fruit a une faible teneur en vitamine E : 0,403 g/kg et dans la majorité des cas il s'agit d' γ -tocophérol (0,330 g/kg) (**Ramadan et al., 2003**). Une telle quantité est très faible par rapport au contenu huile d'argan (7.6 à 8.6 g/kg) (**Cayueta et al., 2008, Khallouki et al., 2003**). L'huile essentielle extraite à partir de la pulpe du fruit est riche en σ -tocophérol avec 4,220 g/kg (tableau 1). Le fruit de cactus contient 180 à 300 mg/kg de vitamine C. Ce contenu est plus élevé que dans d'autres fruits communs comme la pomme, la banane, ou de raisin (**Piga, 2004**). La vitamine K1 est présente dans toutes les parties du fruit, allant de 0,5 à 1 g/kg (**Ramadan et al., 2003**). La vitamine B est uniquement présente dans la raquette dans laquelle elle se trouve dans l'état de traces (**Feugang et al., 2006**). À notre connaissance, le contenu précis de vitamines dans les fleurs et plus précisément l'espèce *O. ficus indica* reste encore à élucider.

(ii) *Les phytostérols*

Les travaux de Ramadan et Morsel (**2003**), ont montré que le β -sitostérol extrait de différentes parties des huiles de fruits : la pulpe, la peau et les graines, avec une teneur allant de 6,75 à 21,1 g/kg (**Ramadan et al., 2003**). Le campestérol est présent dans la graine et la peau avec une quantité de 1,66 à 8,76 g/kg (Tableau 2). Un contenu similaires en campestérol se retrouve dans d'autres huiles alimentaires telles que l'huile d'argan (4 g/kg) (**Gharby et al., 2011**), tandis que des teneurs plus élevées ont été mesurées dans l'huile de soja (entre 19 et 23 g/kg) (**Gharby et al., 2011**). D'autres stérols se retrouvent en petites quantités, notamment le stigmastérol, le lanostérol, le $\Delta 5$ avenastérol, le $\Delta 7$ avenastérol et l'ergostérol. Jusqu'à présent, la composition en stérols des huiles essentielles de fleurs et cladode et même d'épines, reste à déterminer. En comparaison avec l'huile d'argan, certains phytostérols tels que spinastérol et schottérol ont été identifiés (**Gharby et al., 2011**).

(iii) *Les composés minéraux*

Les graines issues de fruits de cactus sont riches en minéraux avec une prédominance de potassium et de phosphore avec respectivement 163 et 152 mg/100 g. Il y a aussi une présence remarquable de grandes quantités (données en mg/100 g), de magnésium (74,8), de sodium (67,6) et de calcium (16,2) (**El Kossori et al., 1998. Medina et al., 2007**). Dans la raquette, les principaux minéraux sont le calcium et le potassium, avec des quantités allant de 235 à 5520 mg/100 g (**Feugang et al., 2006; Ayadi et al., 2009; Trachtenberg et al., 1982**). Dans la pulpe le potassium est

présent à 161 mg/100 g dépassant la concentration d'autres minéraux comme le calcium et le magnésium (tableau 3) ([Medina et al., 2007](#); [Sawaya et al., 1983](#)).

(iv) Les acides aminés

Au niveau de la raquette, le principal acide aminé détecté est la glutamine, suivie par la leucine, la lysine, la valine, l'arginine, la phénylalanine et l'isoleucine. En revanche, dans la graine l'acide aminé majeur est l'acide glutamique avec un pourcentage variant de 15,73% à 20,27%, suivie par l'arginine, (4,81% à 14,62%) (Voir le Tableau 4) ([Nassar et al., 2008](#); [Uchoa et al., 1998](#)). Le fait intéressant est que dans le fruit, les deux acides aminés prédominants sont la proline et de la taurine, qui représentent respectivement 46% et 15,78% de la teneur totale en acides aminés. Les protéines totaux dans les graines de fruits (13,62%) sont plus élevées que dans la raquette (4% - 10%) (Tableau 4) ([Nassar et al., 2008](#); [Uchoa et al., 1998](#)). Cependant plusieurs études ont rapporté que la pulpe du fruit a une teneur en protéine qui est comprise entre (0,21-1.6) g/100g ([Askar and El-Samahy \(1981\)](#); [Muñoz de Chávez et al. \(1995\)](#); [Sawaya et al. \(1983\)](#); [Sepúlveda and Sáenz \(1990\)](#); [Rodríguez et al. \(1996\)](#)). Les graines et la pulpe de fruits peuvent être considérées comme très bonnes sources d'acides aminés et des protéines ([Nassar et al., 2008](#), [Zito et al., 2013](#)). Cependant sa teneur reste faible par rapport à celui du raisin de corinthe qui a une teneur en protéine totale de 3,07 g/100g et de l'abricot sec qui a une teneur en protéine comprise entre 1,4-3,39 g/100g ([FDA, 1996](#) ; [USDA, 2001](#)).

(v) Les composés phénoliques

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement distribuées dans le règne végétal. Comme leur nom l'indique, leurs structures chimiques sont caractérisées par la présence de plusieurs groupes phénoliques qui peuvent être associés à des groupements chimiques plus ou moins complexes, généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont généralement des sous-produits du métabolisme de la plante. L'intérêt croissant pour les polyphénols porte sur leur potentiel antioxydant, qui est impliqué dans les prestations de santé telle que la prévention contre l'inflammation ([Laughton et al., 1991](#)), la dérégulation cardiovasculaire et les maladies neurodégénératives. Il a été également montré qu'ils ont une activité anticancéreuse ([El-Mostafa et al., 2014](#)). Toutes les parties de la plante de cactus sont riches en différents membres de la famille des composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques.

Dans la fleur, l'acide gallique et le 6-isorhamnétine 3-O-robinobioside sont les principaux composés, avec des teneurs respectives de 4,9 et 4,269 mg/100 g de matière sèche ([De Leo et al., 2010](#), [Ahmed et al., 2005](#), [Clark et al., 1980](#)). D'autres molécules phénoliques sont présentes en petites quantités ne dépassant pas 10 mg/g (tableau 5).

Dans la pulpe de fruits la teneur en phénols totaux est de 218,8 mg/100 g (Fernandez et al., 2010), avec une teneur élevée en glycosides isorhamnétines (50,6 mg / 100 g) par rapport à d'autres flavonoïdes (Galati et al., 2003, Bensadon et al., 2010, Tesoriere et al., 2005).

Les graines de fruits contiennent des quantités élevées de composés phénoliques allant de 48 à 89 mg/100 g et notamment les dérivés de féruloyl, tannins et sinapoyl diglucoside (Chougui et al., 2013) (Tableau 5). Le fait intéressant, et que l'écorces de fruits a une très haute teneur en composés phénolique de 45,7 g/100 g. Plusieurs de ces phénols sont des molécules bioactives, notamment les dérivés de flavonoïdes tels que kaempférol et la quercétine, dont les contenus sont respectivement de 0,22 et 4,32 mg/100 g (Kuti et al., 2004, Moussa et al., 2011, Jorge et al., 2013).

Les fleurs de cactus semblent être la source la plus importante en polyphénols et en flavonoïdes. Certains polyphénols ne sont produits que par les raquettes de certaines variétés de cactus. Cette plante présente de grandes quantités de composés flavonoïdes inhabituels tels que la nicotiflorine (146,5 mg/100 g) et la narcissin (137,1 mg/100 g) (Tableau 5) avec des valeurs de teneur élevée trouvées pour isoquercétine et l'acide férulique, respectivement 39,67 et 34,77 mg/100 g, (Valente et al., 2010, Bensadon et al., 2010, Gallegos et al., 2009, Guevara et al., 2010). L'âge de la raquette, l'environnement, le type sol et le climat pourraient expliquer ces variations dans le contenu en polyphénols dans le cactus. Par exemple, l'acide gallique, en grande partie trouvé dans les fleurs de cactus, a une forte activité antioxydante susceptible de réduire les dommages de l'ADN (Khan et al., 2000). A une concentration de 4,17 mM, il peut neutraliser 44% des radicaux 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl et 60% du peroxyde d'hydrogène dans des conditions expérimentales données. L'acide gallique exerce également une activité cytotoxique contre des cellules tumorales de leucémie origines cancéreuses, du poumon et de la prostate (You et al., 2010). Les raquettes de l'espèce *Opuntia ficus-indica* sont riches en nicotiflorine qui, par des mécanismes anti-inflammatoires et neuroprotecteurs, permis de réduire la taille de l'infarctus cérébral, d'atténuer des déficits neurologiques induits par une ischémie et à réguler à la hausse la synthèse endothéliale d'oxyde nitrique dans les cellules endothéliales vasculaires de cerveau de rat en culture (Li et al., 2006). La nicotiflorine est un neuroprotecteur contre l'hypoxie, le glutamate ou le stress oxydant induit la mort des cellules ganglionnaires de la rétine à des concentrations en nanomolaires (Nakayama et al., 2011). Dans un modèle murin de la démence par infarctus multiple, le nicotiflorine préserve les performances de la mémoire spatiale mesurées dans les tests de labyrinthe d'eau de Morris. En outre, cet effet protecteur sur le dysfonctionnement de la mémoire, le nicotiflorine protège également contre les défaillances du métabolisme énergétique et le stress oxydatif. Dans les cerveaux ischémiques, ces effets bénéfiques ont été associés à une atténuation de hausses de l'acide lactique et le malondialdéhyde (MDA) et à la prévention de gouttes dans le lactate déshydrogénase (LDH), de Na⁺ K⁺ ATPase, Ca²⁺ Mg²⁺ ATPase et les activités du superoxyde dismutase (SOD) (Huang et al., 2007). Comme mentionné ci-dessus, la peau des fruits contient de grandes quantités d'isorhamnétine. L'isorhamnétine (3'-méthoxy-3,4', 5,7-tetrahydroxyflavone) exerce une action anti-cancéreuse par l'inhibition de la

transformation cellulaire néoplasique induite par le facteur de croissance épidermique (EGF). Cette action est due à l'inhibition de la kinase MEK1 (MAP/ ERK kinase 1) et de la phosphoinositol 3-kinase (Kim et al., 2011) par l'isorhamnétine. L'isorhamnétine présente des effets cardioprotecteurs en améliorant la viabilité *in vitro* des myocytes ventriculaires de rat nouveau-nés soumis à une ischémie/reperfusion (I/R) via l'inhibition du lactate déshydrogénase (LDH) et de la prévention de l'apoptose (Zhang et al., 2011). L'isorhamnétine améliore la fonction barrière de la peau parallèlement à l'activation du récepteur activé par les proliférateurs de peroxyosomes alpha (PPAR α) et la suppression de la production de cytokines inflammatoires (Kim et al., 2014). Il inhibe également la différenciation adipocytaire des fibroblastes 3T3 murins par une diminution de l'expression et de la sécrétion d'adiponectine et par la régulation négative des ARNm de PPAR- γ et C/EBP- α , les principaux récepteurs nucléaires adipogènes (Lee et al., 2009). En revanche, l'isorhamnétine augmente significativement l'expression de PPAR- γ dans les tissus tumoraux obtenus à partir de xénotransplante de cellules de cancer gastrique et potentialise l'effet apoptotiques de médicaments chimiothérapeutiques sur les cellules GC (Ramachandran et al., 2012). Ces effets, très différents pour un même ligand de PPAR, s'expliquent par le fait qu'un ligand d'un récepteur nucléaire peut exercer des activités biologiques différentes via le recrutement de co-régulateurs spécifiques lié au contexte du type de cellule étudié.

(vi) Les acides gras

Les analyses chromatographiques des lipides totaux extraits de raquette de cactus (tableau 6) (Abidi et al., 2009) montrent que l'acide palmitique (C16:0), l'acide oléique (C18:1), l'acide linoléique (C18:2) et l'acide linoléique (C18:3) contribuent respectivement à 13,87 ; 11,16 ; 34,87 et 32,83% de la teneur en acides gras totaux (tableau 6). Ces quatre acides gras représentent ainsi plus de 90% des acides gras totaux, les acides linoléiques et linoléique, principaux acides gras polyinsaturés, représentant à eux seuls à 67,7%. La teneur en acide linoléique dans la raquette, 34,87% , est proche de celle de l'huile d'argan (29% à 40,41%) (Charouf et al., 2007). Il est toutefois plus faible que dans les extraits d'orge (51,26%) et de soja (53,0%), respectivement (tableau 6) (Abidi et al., 2009). Plusieurs études ont indiqué que le cactus, et plus particulièrement les fruits, la pulpe, les graines et l'écorce, étaient riches en acides linoléique, oléique et palmitique (Ennouri et al., 2005, Ramadan et al., 2003). Un niveau élevé d'acides gras oméga-6 (acide linoléique) a été rapporté dans l'huile de graines de cactus (53,5% à 70,29%) (Tableau 6), niveau supérieur à celui de l'huile de tournesol (Filip et al., 2011), de l'huile de pépins de raisin ou de l'huile de sésame. En tant que précurseur de l'acide arachidonique, l'acide linoléique a longtemps été considéré comme ayant un effet hypocholestérolémiant avec des propriétés inhibitrices contre le cancer du côlon dans les cellules métastatiques (Soel et al., 2007). L'acide linoléique (oméga-3) est connu pour être bénéfique pour la santé, les maladies cardiovasculaires, les affections inflammatoires, les troubles auto-immunes et le diabète.

Tableau 1 : Distribution et teneur en vitamines des différentes parties de la plante de cactus de l'espèce *O. ficus-indica* (fruit et raquette, l'expression de la teneur en vitamines est en mg/100 g de tissu).

	Pulpe	Graines	Peau	Raquette	Source
Vitamine K1	53.2	52.5	109	----	(Kuti et al., 2004, Ramadan et al., 2003a, Fernandez-Lopez et al., 2010, Salim et al., 2009, Tesoriere et al., 2005, Ramadan et al., 2003b, Sawaya et al., 1982)
Vitamine C	34–40	----	----	7–22	
Vitamine B1	----	----	----	0.14	
Vitamine B2	----	----	----	0.60	
Vitamine B3	----	----	----	0.46	
α -Tocophérol	84.9	56	1760	----	
β -Tocophérol	12.6	12	222	----	
γ -Tocophérol	7.9	33	174	----	
σ -Tocophérol	422	5	26	----	
Vitamine E totale	527.4	106	2182	----	

Tableau 2 : Distribution et teneur en phytostérols des différentes parties du fruit de l'espèce *O. ficus-indica* (pulpe, graines et peau, les teneurs en stérol sont exprimées en g/kg).

Principaux composés identifiés	Pulpe	graines	Peau	Références
Campesterol	8.74	1.66	8.76	(Ramadan, et al., 2003a, Ramadan, et al., 2003b)
Stigmasterol	0.73	0.30	2.12	
Lanosterol	0.76	0.28	1.66	
β -Sitosterol	11.2	6.75	21.1	
Δ^5 -Avenasterol, Δ^7 -Avenasterol	1.43	0.29	2.71	
Δ^7 -Avenasterol	----	0.05	----	
Ergosterol	----	----	0.68	

Tableau 3 : Répartition et teneur en composés minéraux dans les différentes parties de la plante de l'espèce *O. ficus indica*. Les composés minéraux sont exprimés en mg/100 g.

Principaux composés identifiés	Pulpe	Graines	Raquette	Références
Calcium	27.6	16.2	5.64–17.95	(Feugang et al., 2006, Sawaya et al., 1982, Medina et al., 2007, Trachtenberg et al., 1982, Contreras-Padilla et al., 2011)
Calcium oxalate	----	----	11.5 to 4.3	
Magnésium	27.7	74.8	8.80	
Sodium	0.8	67.6	0.3–0.4	
Potassium	161	163	2.35–55.20	
Fer	1.5	9.45	0.09	
Phosphore	----	152	0.15–2.59	
Zinc	----	1.45	0.08	
Cuivre	----	0.32	----	
Manganèse	----	Trace	0.19–0.29	

Tableau 4 : Distribution et teneur en acides aminés dans la graine, la raquette et le jus de fruits obtenu à partir d'*O. ficus-indica*.
Les teneurs en acides aminés sont exprimés en g/100 g.

Les acides aminés	Raquette	Fruit	Graines	Références
Alanine	1.25	3.17	4.75	
Arginine	5.01	1.11	6.63	
Asparagine	3.13	1.51	Trace	
Acide aspartique	4.38	Trace	10.42	
Acide glutamique	5.43	2.40	21.68	
Glutamine	36.12	12.59	Trace	
Cystéine	1.04	0.41	0.37	
Histidine	4.18	1.64	3.11	
Isoleucine	3.97	1.13	6.20	
Leucine	2.71	0.75	9.94	
Lysine	5.22	0.63	6.79	(Feugang et al., 2006, Sawaya et al., 1983)
Méthionine	2.92	2.01	0.70	
Phénylalanine	3.55	0.85	5.25	
Sérine	6.68	6.34	8.46	
Thréonine	4.18	0.48	1.53	
Tyrosine	1.46	0.45	3.09	
Tryptophane	1.04	0.46	Trace	
Valine	7.72	1.43	6.02	
Acide α -aminobutyrique	Trace	0.04	Trace	
Carnosine	Trace	0.21	Trace	
Citrulline	Trace	0.59	Trace	
Ornithine	Trace	Trace	Trace	
Proline	Trace	46.00	Trace	
Taurine	Trace	15.79	Trace	
Glycine	Trace	Trace	5.06	

Tableau 5: Distribution et teneur en composés phénoliques : polyphénols et flavonoïdes dans les différentes parties de la plante de l'espèce *O. ficus-indica*.

Partie de la plante	Principaux composés identifiés	Teneur en mg/100 g	Références
Fleur	Acide gallique	1630–4900	(De Leo et al., 2010, Ahmed et al., 2005–Clark et al., 1980)
	Quercetin 3- <i>O</i> -Rutinoside	709	
	4 Kaempferol 3- <i>O</i> -Rutinoside	400	
	5 Quercetin 3- <i>O</i> -Glucoside	447	
	6 Isorhamnetin 3- <i>O</i> -Robinobioside	4269	
	7 Isorhamnetin 3- <i>O</i> -Galactoside	979	
	8 Isorhamnetin 3- <i>O</i> -Glucoside	724	
	9 Kaempferol 3- <i>O</i> -Arabinoside	324	
	Pulpe	Acides phénoliques totaux	
Quercétine		9	
Isorhamnétine		4.94	
Kaempférol		0.78	
Lutéolin		0.84	
Isorhamnétine glycosides		50.6	
Kaempférol		2.7	
Graine	Acides phénoliques totaux	48–89	(Chougui et al., 2013)
	Feruloyl-sucrose isomer 1	7.36–17.62	
	Feruloyl-sucrose isomer 2	2.9–17.1	
	Sinapoyl-diglucoside	12.6–23.4	
	Flavonoïdes totaux	1.5–2.6 -	
	Tannins totaux	4.1–6.6 -	
Peau du fruit	Acides phénoliques totaux	45.7 × 10 ³	(Kuti et al., 2004, Moussa-Ayoub et al., 2011, Jorge et al., 2013)
	Flavonoïdes totaux	6.95	
	Kaempférol	0.22	
	Quercétine	4.32	
	Isorhamnétine	2.41–91	
Raquette	Acide gallique	0.64–2.37	(Valente et al., 2010, Bensadon et al., 2010, Gallegos et al., 2009, Guevara et al., 2010)
	Acide coumarique	14.08–16.18	
	Acide 3,4- dihydroxybenzoïque	0.06–5.02	
	Acide 4-hydroxybenzoïque	0.5–4.72	
	Acide férulique	0.56–34.77	
	Acide salicylique	0.58–3.54	
	Isoquercétine	2.29–39.67	
	Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glucoside	4.59–32.21	
	Nicotiflorine	2.89–146.5	
	Rutine	2.36–26.17	
	Narcissine	14.69–137.1	

Tableau 6 : Comparaison de la composition en acides gras dans les différentes parties de la plante de l'espèce *O. ficus-indica* et d'autres huiles comestibles (compositions sont exprimées en g/100 g d'acides gras).

Acides gras	C12: 0	C14: 0	C16: 0	C16: 1	C18: 0	C18: 1	C18: 2	C18: 3	C20: 0	C22: 0	C22: 1	C24: 0	Références
Raquette	1.33	1.96	13.87	0.24	3.33	11.16	34.87	33.2 3	-	-	-	-	(Abidi et al., 2009)
Huile de graine de cactus	-	-	20.1	1.80	2.72	18.3	53.5	2.58	-	-	-	-	(Ramadan et al., 2003b)
Huile de graine de cactus	-	-	9.32	1.42	3.11	16.77	70.29	nd	-	-	-	-	(Ennouri et al., 2005)
Huile de pulpe de fruit	-	1.13	34.4	1.62	2.37	10.8	37	12.6 8	-	-	-	-	(Ramadan et al., 2003)
Peau du fruit	0.71	1.95	23.1	2.48	2.67	24.1	32.3	9.27	nd	0.5	-	0.41	(Ramadan et al., 2003a)
Huile d'argan	-	0.10	11.7	0.14	4.9	36.6	31.3	0.09	0.33	0.12	-	0.06	(Marfil et al., 2008)
Huile d'olive	-	11.5	0.9	1.4	61.9	3.8	1.1	0.23	-	-	-	-	(Ollivier et al., 2003)
Huile de pépin de raisin	-	0.06	8.3	0.1	3	12	67.6	0.3	0.2	0.1	0.02	0.01	(Rubio et al., 2009)
Huile de soja	-	-	6	0.4	2.2	26.1	50.1	14.5	-	-	-	-	(Ayorinde et al., 2000)
Huile de maïs	-	-	13.4	Trace s	1.5	27.4	56	0.9	0.2	-	-	-	(Karoui et al., 2010)
Huile de tournesol	-	0.08	7.4	0.09	4.56	25.17	60.15	0.3	-	-	-	0.34	(Filip et al., 2011)

(6) Rôle et importance des différentes parties de la plante

Le cactus Nopal est employé dans les domaines nutritionnel, de la santé et la cosmétiques sous différentes formes : thé, confiture, jus et huile extraite de graines de figues de Barbarie. D'une part il est utilisé comme un remède pour les divers problèmes de santé dans différents pays : par exemple, dans la médecine traditionnelle subsaharienne, la fleur de cactus et les fruits sont donnés comme agents anti-ulcérogènes ou antidiarrhéiques. Les fleurs étaient également administrées par voie orale en tant que médicament anti-hémorroïdique et la sève de cladode comme un traitement contre la coqueluche. D'autre part, les populations autochtones le consomment en quantités importantes sous forme de fruits frais ou sec. Dans ces populations, la raquette de cactus, les fruits et les fleurs sont consommés pour leurs contenus intéressants en antioxydants, polysaccharides pectiques et fibres. Des rapports scientifiques récents ont mis en évidence que des molécules de cactus naturel peuvent avoir un intérêt potentiel élevé en santé humaine et en médecine (Alimi et al., 2010, Valente et al., 2010). En règle générale, en médecine à base de plantes, l'extraction de composés bioactifs à partir de matériaux perméables végétales solides utilisant des solvants constitue une étape clé dans la fabrication de produits phytochimiques riche. L'espèce *O. ficus indica* est connue pour sa haute teneur en polyphénols présentant des propriétés anti-oxydantes et anti-inflammatoires (Butera et al., 2002, Kuti et al., 2004). D'intéressantes molécules, à savoir les alcaloïdes, indicaxanthine, néeobétanine et divers flavonoïdes ont été isolés à partir de cactus (Valente et al., 2007). Les polysaccharides, qui sont abondants dans les extraits de cladode, sont dotés d'effets antidiabétique et hypoglycémiant (Yang et al., 2008). En médecine traditionnelle, elle est utilisée comme une source de nutriments végétaux dans de nombreux pays. Il est prétendu être une excellente source d'oligo-éléments naturels qui peuvent améliorer la santé humaine (Stintzing et Carle, 2005). L'extrait de cactus a montré des activités anti-tumorales (Zou et al., 2005) et des activités anti-oxydantes (Budinsky et al., 2001; Tesoriere et al., 2004). En effet, le jus de cladode contient une grande variété de composés antioxydants comme les polyphénols (en particulier certains flavonoïdes et proanthocyanidines), la vitamine C et E, b-carotène (provitamine A), le glutathion, etc (Gaby, 1999; Betancourt-Domínguez et al., 2006; Tesoriere et al., 2005). Par ailleurs, la consommation régulière du jus de cactus réduit le cholestérol sanguin et la glycémie (Wolfram et al., 2002; Fernandez et al., 1994). La raquette intervient dans le processus de cicatrisation (Galati et al., 2003) et il a une activité anti-inflammatoire (Panico et al., 2007). Le cactus est considéré comme une réserve fourragère, il peut constituer un appoint alimentaire pour les périodes de transition en été et en automne et lors des années de sécheresse. Sa capacité à emmagasiner l'eau offre des possibilités exceptionnelles pour la production de grandes quantités de biomasse utiles pour nourrir le bétail.

(7) Activité biologique et utilisation médicale

Les composées des extraits issus du cactus ont été utilisées comme traitement sur de nombreux modèles expérimentaux, de manière à l'évaluer le potentiel de leurs composés à traiter différentes maladies. L'ensemble de ces études permet d'avoir une base scientifique sur l'utilisation médicinale de cette plante. Ces études montrent que le

cactus à un potentiel thérapeutique pour le syndrome métabolique (y compris le diabète de type 2 et l'obésité), la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD), les rhumatismes, l'ischémie cérébrale, les cancers, et les infections bactériennes et virales (Ahmed et al., 1996, Lee et al., 2012). Cette plante pourrait même exercer des effets préventifs et thérapeutiques pour l'alcoolisme et la dépendance à l'alcool (Tomczyk et al., 2012). Des auteurs ont rapporté que l'utilisation de la poudre de raquette, ainsi que la poudre de graine et l'huile, sur des souris et des rats, ont un effet hypolipidémique et hypocholestérolémique (Galati et al., 2003, Oh et al., 2006, Ennouri et al., 2005). Les extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de la raquette, ainsi que l'extrait hexanique de la fleur, *in vivo* et *in vitro* sur des modèles de bactérie comme *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Vibrio cholerae*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis* ont présentés une activité antimicrobienne (Castillo et al., 2011, Sanchez et al., 2010, Ennouri et al., 2014, Yasmeen et al., 2012). Dans les cellules humaines épithéliales intestinales cancéreuses (Caco-2) stimulées par l'IL-1 β , le co-traitement avec indicaxanthine (un pigment obtenu à partir du fruit comestible de l'espèce d'*O. ficus-indica*) empêche les activations de NOX-1 et NF-kB et atténue l'augmentation de la NO synthase inductible (Tesoriere et al., 2014). Ces données suggèrent que les pigments de cactus peuvent influencer directement les mécanismes inflammatoires de l'intestin (Tesoriere et al., 2014). Dans les cultures de chondrocytes humains stimulés avec IL-1 β , les extraits lyophilisés de raquettes d'*O. ficus-indica* réduit la production de molécules clés généralement libérés après une inflammation chronique telle que l'oxyde nitrique (NO), les glycosaminoglycanes et la prostaglandine-E2 (PGE-2) (Panico et al., 2007). Pour cette raison, les extraits lyophilisés de la raquette pourraient avoir un intérêt pharmacologique pour prévenir les altérations du cartilage et dans le traitement des maladies articulaires. Sur la lignée cellulaire microgliale murine (BV-2) activées par le LPS, une fraction butanol (obtenu à partir d'extraits d'éthanol 50% d'*Opuntia ficus indica* et des produits d'hydrolyse) inhibe la production de NO par répression de l'expression de l'ARNm et de la protéine iNOS, inhibe la dégradation de I κ B- α et présente une forte activité de piégeage du peroxyde d'azote (Lee et al., 2006). En outre, dans les cellules corticales de souris en culture, la fraction butanolique de l'espèce d'*O. ficus indica* réduit de manière significative les lésions neuronales induites par le N-méthyl-D-aspartate, le kaïnate et la privation d'oxygène et de glucose (Kim et al., 2006). Ces résultats confirment que l'espèce *Opuntia ficus indica* pourrait atténuer les dommages neuronaux résultant ou non de l'activation de la microglie.

(8) Relation biodiversité d'*Opuntia* et molécules d'intérêt thérapeutique/biomédicale

La valeur nutritionnelle du cactus à fruits repose principalement sur sa composition en acide ascorbique, tocophérols, caroténoïdes, fibres, acides aminés et sur de grandes quantités de glucose et de fructose. Les figues de Barbarie sont également riches en phénols, flavonoïdes, bétaxanthines et bétacyanines (Tableau 7), qui favorisent un bon état de santé à travers des actions hypoglycémiantes et hypolipémiantes ainsi que des propriétés antioxydantes (Valente et al., 2010, Osorio et al., 2011, Schaffer et al., 2005). Les pigments naturels comme les bétalaïnes existent avec une

teneur très élevée dans le cactus. Dans le cadre de l'augmentation de l'aversion des consommateurs pour les colorants synthétiques, les colorants naturels, tels que le rouge des bétacyanines et le jaune des bétaxanthines, représentent une bonne alternative naturelle pour répondre à la croissance et à la demande de l'industrie alimentaire. Les propriétés antioxydantes des pigments de type bétalaïne représentent un argument supplémentaire en faveur du développement de leur utilisation dans la nutrition et la santé (Castellanos et al., 2008, Fernandez et al., 2002). Dans la médecine traditionnelle, l'espèce *Opuntia ficus indica* a été utilisée pour le traitement des brûlures, des œdèmes, de l'hyperlipidémie, de l'obésité et de la gastrite catarrhale. Les extraits alcooliques sont indiqués pour des effets anti-inflammatoire, hypoglycémiant et antiviral (Kaur et al., 2012). Pour l'espèce *Opuntia reticulata* il a été rapporté qu'elle a un effet purgatif et anthélmintique. L'emploi de son suc « acre et caustique » est réservé surtout aux animaux. Leurs racines sont également employées contre les maux de dents. *L'Opuntia dillenii* (KerGawl.) Haw. comme toutes les *Opuntia*, est employée en tisanes émoullientes et pectorales dans le cas des bronchites. Les fruits sont utilisés dans le traitement de l'asthme et de la coqueluche comme cholagogue. Ce serait de plus un antivenimeux. (Soulaire, 1947).

Tableau 7: Noms de bétaxanthines et bétacyanines présents dans les espèces *Opuntia spp.*

Composé	nom	radical	Espèce <i>Opuntia</i>	Références
	Portulacaxanthine I	R3 = hydroxyproline	<i>O. ficus-indica</i>	[Castellanos-S et al., 2008]
	Portulacaxanthine III	R3 = glycine	<i>O. ficus-indica</i>	[Castellanos-S et al., 2008, Strack et al., 2003]
	Muscaaurine	R3 = histidine	<i>O. robusta, O. ficus-indica, O. megacantha</i>	[Castellanos-S et al., 2008, Stintzing et al., 2005]
	Indicaxanthine	R3 = proline	<i>O. robusta Wendl, O. robusta, O. streptacantha Lemaire, O. ficus-indica, O. megacantha, O. albi-carpa</i>	[Stintzing et al., 2001, Castellanos-S et al., 2008]
Bétaxanthines	(S)-sérine-bétaxanthine	R3 = sérine	<i>O. ficus-indica</i>	[Castellanos-S et al., 2008, Strack et al., 2003]
	(S)-valine-bétaxanthine	R3 = valine	<i>O. ficus-indica</i>	[Strack et al., 2003]
	(S)-isoleucine-bétaxanthine	R3 = isoleucine	<i>O. ficus-indica</i>	[Strack et al., 2003]
	Acide γ -aminobutyrique -bétaxanthine	R = butyric acid	<i>O. spp</i>	[Stintzing et al., 2005]
	Méthionine-bétaxanthine	R3 = méthionine	<i>O. spp</i>	[Stintzing et al., 2005]
	(S)-Phénylalanine-bétaxanthine	R3 = phénylalanine	<i>O. ficus-indica</i>	[Strack et al.,

			2003]
Vulgaxanthiné I	R3 = glutamine	<i>O. robusta Wendl, O. ficus-indica</i>	[Strack et al., 2003]
Vulgaxanthiné II	R = acide glutamique	<i>O. streptacantha; O. beta vulgaris L.spp. V. Pablo; O. bergeriana; O. ficus indica; O. alba-carba; O. robusta and O. Spp</i>	[Stintzing et al., 2005]
Vulgaxantine III	R = asparagine	<i>O. streptacantha; O. beta vulgaris L.spp. V. Pablo; O. alba-carba; O. robusta and O. Spp</i>	[Stintzing et al., 2005]
Vulgaxanthine IV	R3 = leucine	<i>O. streptacantha; O. beta vulgaris; O. alba-carba; O. robusta Wendl, O. ficus-indica</i>	[Castellanos-S et al., 2008, Strack et al., 2003]
Miraxanthine II	R3 = acide aspartique	<i>O. bergeriana; O. ficus indica</i>	[Stintzing et al., 2001]
			[Osorio-Esquivel et al., 2011, Stintzing et al., 2001, Castellanos-S et al., 2008, Stintzing et al., 2005]
Bétanine	R1 = R2 = H	<i>O. robusta Wendl, O. robusta, O. streptacantha Lemaire, O. ficus-indica, O. megacantha, O. albi-carpa, O. xocoonstle</i>	[Osorio-Esquivel et al., 2011, Castellanos-S et al., 2008, Stintzing et al., 2005]
iso-Bétanine	R1 = R2 = H	<i>O. robusta Wendl, O. robusta, O. streptacantha Lemaire, O. ficus-indica, O. xocoonstle</i>	[Osorio-Esquivel et al., 2011, Castellanos-S et al., 2008, Stintzing et al., 2005]
Bétacyanines			[Osorio-Esquivel et al., 2011, Stintzing et al., 2001, Castellanos-S et al., 2008, Stintzing et al., 2005]
Bétanidine	R = H	<i>O. robusta Wendl, O. robusta, O. streptacantha Lemaire, O. ficus-indica, O. megacantha, O. xocoonstle</i>	[Castellanos-S et al., 2008, Stintzing et al., 2005]
Gomphrénine i	R1 = R2 = H	<i>O. robusta Wendl, O. robusta, O. ficus-indica</i>	[Osorio-Esquivel et al., 2011, Stintzing et al., 2001, Castellanos-S et al., 2008, Stintzing et al., 2005]
Phyllocactine	R1 = malonyl R2 = H	<i>O. xocoonstle</i>	[Osorio-Esquivel et al., 2011, Stintzing et al., 2001, Strack et al., 2003, Stintzing et al., 2005]

b) L'huile de graine de cactus (*Opuntia spp*)

(1) Les différents modes d'extraction de l'huile

Plusieurs facteurs contribuent à l'altération de la qualité des fruits de cactus qui sont considérés comme une ressource agrobiologique et ceci par plusieurs phénomènes microbiologique, chimique et physique. Cette altération est due à la période estivale de récolte avec une température très élevée. Ainsi, la localisation des lieux de production, qui se trouvent éloignés des lieux de vente, engendre d'énormes pertes pour les producteurs. La quantité d'huile extraite des graines dépend de la taille des graines. L'huile végétale issue de cactus est principalement obtenue par pression à froid suivie d'une extraction par solvant. Il ne faut pas la confondre avec une huile essentielle car l'huile végétale contient des corps gras et possède une texture huileuse, contrairement à une huile essentielle, cette dernière résultant de l'extraction de l'essence des composés aromatiques volatiles contenues dans les différents organes d'une plante. D'après **Mohamed Fawzy Ramadan 2003**, les fractions volatiles des graines broyées sont extraites par hydrodistillation suivie d'une extraction liquide-liquide avec trois types de solvants : éther, dichlorométhane et hexane. Cette méthode ne donne pas lieu à une huile végétale car seules les substances aromatiques sont obtenues. **El Mannoubi et al., 2008** ont comparé les taux de lipides, acides gras et stérols entre les graines et la pulpe. Après formation de lyophilisat, les lipides sont extraits avec un mélange méthanol/chloroforme. Il s'avère que ce sont les graines qui contiennent la quantité la plus importante d'huile.

(2) Composition chimique

La composition de l'huile de graine de cactus contient plusieurs fraction de molécules ce qu'il lui confère un aspect très riche et nutritif. Au niveau des acides gras, elle contient une teneur très élevée en C18:3n-6, allant de 49.7 à 56.1%, et en C18:3n-6 entre 15.6 à 62.1% (**Nizar Yeddes et al., 2012; Ramadan et al., 2003; Matthaus et al., 2011; Ennouri et al., 2006; Ennouri et al., 2005; Ennouri et al., 2005; Ennouri et al., 2006; Labuschagne and Hugo, 2010; Sawaya et al., 1982; Chougui et al., 2013**). Certains composés volatiles ont été identifiés comme l'acide hexadécanoïque avec une teneur de 28.5 à 65.7mg/100mg (**Zito et al., 2013**). La composition phénolique s'avèrent très riche en féruloyl-sucrose isomer 3 ça concentration s'exprime par rapport à une échelle standard d'acide gallique, (une teneur qui peut aller de 105 à 717 mg d'acide gallique/100 g), et la teneur moyenne des dérivés du feruloyl de s'étale de 51.7 à 233 mg d'acide gallique/100 g. D'autres composés phénoliques ont été cités dans la littérature comme les flavonoïdes et les tanins (**Chougui et al., 2013**). Sa composition minérale est très riche en potassium, phosphore, sodium et magnésium (**Tesoriere et al., 2005, Soel et al., 2007**), ses compositions en fibres et en sucres peuvent atteindre jusqu'à 9.23% et 51.11% respectivement (**Chougui et al., 2013**). Quatre types de polysaccharides sont rencontrés comme l'arabinane et les résidus α -(1/5)-linked arabinofuranosyl, arabinose, rhamnogalacturonane (**Habibi et al., 2005b**). La vitamine K représente 0.525 g/kg, la vitamine E 0.403 g/kg et en particulier le γ -tocophérol avec 0.330 g/kg (**Matthaus et al., 2011; Ramadan and Morsel, 2003a**). Au niveau des

phytostérols, **Ramadan and Morsel, 2003a** ont montré la présence d'une teneur très élevée en β -sitosterol et en campesterol avec respectivement 6.75 et 1.66 g/kg. Des études ont montré que l'huile de graine de cactus contient cinq fois plus de stérols que l'huile d'argan. Certaines études ont rapporté que l'extrait de chloroforme contenant la fraction de stérol issues de l'huile de graine de cactus présentent une teneur très élevés en phytostérols totaux par rapport l'huile d'argan et l'huile d'olive marocaine(**El Kharrassi et al., 2014**). Le fait intéressant, c'est que l'huile d'argan contient principalement deux phytostérols et qui sont majoritaire, le schotténol (56,97%) et le spinastérol (43,03%) (**El Kharrassi et al., 2014; Khallouki et al., 2003**). Cependant, pour l'huile d'argan, l'origine et le procédé d'extraction peuvent influencer sur les caractéristiques physico-chimiques de l'analyse en composantes (**Ahmed et al., 2005**). Cela peut expliquer la faible teneur en stérols totaux dans cette huile. En revanche, les extraits de stérols à la fois d'huile d'olive (OOSE) et l'huile de cactus ont montré plus de 80% de sitostérol comme le phytostérol majeur. En outre, le campesterol a été trouvé en faible teneur dans les huiles d'olive et de cactus. Le sitostanol et campestanol, les deux formes saturées du sitostérol et du campesterol, ont été détectés dans une moindre mesure dans l'OOSE et dans le COSE (**El Kharrassi et al., 2014**). Pour les acides aminés, leur teneur peut atteindre jusqu'à 106.23 g/protéine avec l'acide glutamique comme acide aminé le plus représenté (15,73-20,27%) et avec une teneur moyenne de la leucine et l'acide aspartique (**Nakayama et al., 2011, Chougui et al., 2013**).

(3) Intérêts pharmacologiques

La composition de l'huile de graine cactus lui confère plusieurs propriétés intéressantes, vu qu'elle contient de grande quantité d'acide gras polyinsaturée (**Sawaya et al., 1982**), sa teneur en tocophérol est bien plus supérieur aux autres huiles car elle peut atteindre jusqu'à (946 mg/kg) et plus au moins proche de l'huile d'argan (850 mg/kg) (**Zine et al., 2013**). Elle est moins résistante à l'oxydation par rapport à l'huile de sésame (**Garby et al., 2015**). Elle très utile dans la gestion du diabète sucré (**Chougui et al., 2013**). L'étude comparative entre la graine et l'huile réalisé *in vivo* sur des souris par **Ennouri et al., 2007** a montré que l'enrichissement de l'alimentation avec les graines du fruit de cactus avait un effet hypolipémiant très marquée par rapport à l'alimentation l'huile de graine. Il pourrait réduire de manière significative les niveaux de triglycérides dans le sérum et les lipides totaux dans le foie. Il a été rapporté que l'huile de graine de la figue de barbarie à des effets hypocholestérolémiant et hypoglycémique (**Ennouri et al., 2006a. Ennouri et al., 2006b**). Une étude *in vivo* mené sur des souris ayant reçu l'alloxane a montré que le traitement avec cette huile provenant de l'espèce *O. ficus indica* à une concentration de (2 mL/kg) donne un effet antidiabétique (**Ali Berraaouan et al., 2015**). En ce qui concerne la graine du fruit, **Chougui et al., 2013** ont montré que les extraits de graine de cactus contenant la plus grande teneur phénoliques, tanins et flavonoïdes et qu'ils présentent les activités antioxydantes. Dans la littérature, plusieurs auteurs ont confirmé que les extraits de graine de couleur vert et jaune provenant de variété mexicaine, ont la meilleur activité anti-radicalaire par rapport aux fruit de couleur rouge (**Cardador-Martinez et al., 2011**). L'étude réalisé par **Morales et al., 2012** sur le fruit acide appelé xoconostle

provenant de deux espèces *Opuntia* (*O. joconostle* F.A.C. Weber ex Diguet et *O. matudae* Scheinvar) qui se trouve en Amérique latine, a montré que la pulpe avait une quantité appréciable de fibres solubles et en composés antioxydants tels que l'acide ascorbique, tandis que les graines sont une source de fibres, de composés phénoliques, flavonoïdes, acides gras polyinsaturés et de tocophérols (spécialement γ -tocophérol), ce qui peuvent fournir des propriétés nutritionnelles et antioxydantes. Par contre, la pulpe présente des propriétés anti-oxydante, anti-inflammatoires et anti-ulcérogènes (Ahmed et al., 2005; Galati et al., 2001; Livrea & tesoriere, 2006 ; Maataoui et al., 2006). Toutes ces nombreuses qualités sont exploitées et utilisées dans l'industrie agroalimentaire et cosmétique.

c) *L'arganier (Argania spinosa)*

(1) Origine et répartition géographique

L'arganier (*Argania spinosa*) est une plante endémique du sud-ouest du Maroc, où ses forêts couvrent une superficie de 8300 km² et qui constitue ainsi un biotope unique, nommé « la forêt d'argan ». Il est considéré comme un cas emblématique du patrimoine génétique marocain. C'est une plante oléagineuse appartenant à l'embranchement des angiospermes, plante à fleurs qui se reproduit par graines, appartenant à la classe des dicotylédones, de sous-classe les gametopétales, et de l'ordre des ebanales de la famille des Sapotaceae. Il est l'une des espèces végétales les plus remarquables d'Afrique du Nord en raison de son intérêt botanique et bioécologique ainsi que sa valeur sociale, vu ces utilités multiples : intérêt écologique et vocation fruitière, pastorale et forestière. C'est un arbre qui a joué un rôle essentiel dans la micro-économie du sud-ouest marocain (El Monfalouti et al., 2010). En fournissant de la nourriture pour les êtres humains et les animaux, il a joué un rôle clé pour les populations indigènes de ces régions depuis des siècles. Parmi ses caractéristiques botaniques, l'arganier est le deuxième arbre le plus répandu au Maroc après le cèdre. Il pousse de façon sauvage et en abondance dans la région s'étendant de Safi aux confins du Sahara et délimitée par l'océan Atlantique à l'ouest et les montagnes de l'Atlas à l'est. Sa répartition géographique est limitée; situé de 29°15' à 31°20' N et de 8°10' à 10°25' W. Dans la zone où pousse l'arganier, il y a environ 21 millions d'arbres qui jouent un rôle vital dans la chaîne alimentaire et l'environnement, mais leur nombre est actuellement en baisse (Batanouny, 2011). Il est considéré comme des piliers de la richesse nationale, les autorités tentent de mener des actions de préservation et de développement du « système arganier ». Cette préoccupation coïncide avec les recommandations internationales dans le domaine de la conservation de la biodiversité. Cette plante recèle plusieurs avantages, vu qu'elle protège l'environnement (protection du sol contre l'érosion), et constitue une source de revenus supplémentaires pour les citoyens locaux en particulier chez les femmes, et ceci par la création de plusieurs coopératives qui servent à la valorisation des produits de l'arganier du point de vue socioéconomique. Le commerce d'Arganier constitue de nos jours un vrai paradigme économique, du fait de la croissante demande par le marché extérieur. C'est un produit actuellement très sollicités par les industries agroalimentaires et cosmétiques européennes (Hawa, 2007).

(2) L'huile d'argan

(a) Rôle socioéconomique

L'huile d'argan est un produit traditionnel et typique du terroir. Il représente une source de richesse pour les populations locales. Le Maroc étant le producteur de référence de ce produit. Il est traditionnellement bien connu pour ses propriétés cardioprotectrices et il est également utilisé dans le traitement des infections de la peau. En raison de ses propriétés organoleptiques uniques associées à ses propriétés cardioprotectrices, elle a actuellement trouvé une grande place dans le marché très concurrentiel de l'huile comestible internationale. Elle fait l'objet d'une forte médiatisation de ces bienfaits sur la santé et en cosmétologie. En outre, les coopératives productrices de cette huile, jouent un rôle important dans le développement socio-économique, puisqu'elles représentent une des composantes de l'économie sociale et solidaire, du faite qu'elles ont un impact direct sur les petits agriculteurs et plus précisément sur les femmes dans les zones pauvres puisqu'ils lui ont assuré l'opportunité d'autonomisation, ainsi l'offre d'emploi indirecte. Elles sont aussi guider et orienter par la production de fiches techniques en différentes langues (arabe, berbère) sur les bonnes pratiques de production et de transformation ce qui a un impacte important dans le processus d'une bonne qualité de l'huile d'argan. ([Actes du 2ème Congrès International de l'Arganier, Agadir, 9 - 11 décembre 2013](#)).

(b) Mode d'extraction

Il existe plusieurs procédés pour extraire l'huile d'argan, à savoir :

❖ La méthode traditionnelle

Ce procédé nécessite d'écarter minutieusement la pulpe des fruits mûrs, puis briser les noix avec des pierres, ensuite sécher et les grains ou « amandons » à l'air dans des récipients en argile et les torrifiés dans des plaques d'argile en chauffant légèrement. Les grains torrifiés sont refroidis puis broyés l'aide d'une meule manuelle : trituration, pour donner une pâte brunâtre. Cette dernière est finalement mélangée avec de l'eau chaude pendant plusieurs minutes par la main. L'étape suivante correspond au malaxage manuel de la pâte jusqu'à ce qu'elle se solidifie et qu'une émulsion brune soit obtenue. Après décantation, l'huile est recueillie. Cette huile limpide présente un goût de noisette. En plus, pour assurer sa préservation, le sel est ajouté. Parmi les inconvénients de cette méthode, c'est ça mauvaise conservation, l'absence des normes de qualité et d'hygiène et que la préparation de l'huile demande beaucoup de temps environ de 20h. Cependant cette technique permet d'avoir une teneur d'acidité plus élevé par rapport à celle obtenue par la presse mécanique, vu que l'acidité ne dépasse pas le 0,8% ([Charrouf et Guillaume, 1999](#)).

❖ La presse mécanique

L'utilisation cette méthode a permis de remplacer la mouture et le malaxage traditionnel et ne nécessite pas le mélange de la pâte et de l'eau. Le rendement de l'huile a connu une augmentation avec un rendement qui peut

atteindre 43% et qui est due à la récupération de 10% de l'huile qui reste dans le tourteau. L'avantage de cette technique c'est qu'elle nécessite seulement deux heures pour obtenir un litre d'huile. Elle offre aussi une meilleure conservation de l'huile. Cette technique d'extraction permet l'obtention de deux types d'huile : alimentaire et cosmétique.

❖ L'extraction par solvant

A travers ce procédé d'extraction, l'huile d'argan obtenue est de nature cosmétique, elle peut être extraite à partir des amandons en utilisant un solvant lipophile volatil. Ce mode d'extraction s'avère intéressant vu que le rendement de l'huile peut varier de 50 à 55%. Cette technique présente certains inconvénients, car par rapport au procédé d'extraction traditionnelle, l'huile obtenue possède des propriétés organoleptiques insatisfaisantes, et que la teneur en fraction insaponifiable est trois fois plus faible par rapport à l'huile extraite par presse (**Charrouf et Guillaume, 1999**).

(c) Classification

La classification qualitative et quantitative de l'huile d'argan repose sur plusieurs paramètres qui sont soumis à la norme Marocaine (N.M. 08.5.090) (**SNIMA, 2003**). Cependant plusieurs paramètres à savoir l'analyse sensorielle qui est très appréciée par son goût et ses arômes, se basent essentiellement sur les caractéristiques organoleptiques (odeur, couleur, ou avec des senteurs soit : positives avec des goûts noisettes, grillé, amande ou cacahouète, ou des senteurs négatives qui se distinguent par des goûts vineux, chomé ou rance). Ce paramètre s'avère nécessaire comme critère indispensable à la commercialisation réussie des produits alimentaires et qui est considéré comme une partie intégrante de l'évaluation des huiles d'argan, il dépend surtout du procédé de fabrication ainsi que le mode de conservation. En outre d'autres paramètres tels que les caractéristiques physicochimiques participent à la dénomination et la classification comme l'acidité qui est exprimée en pourcentage d'acide oléique, l'indice de peroxyde (IP) exprimé en Meq O₂/Kg, qui permet l'évaluation de la teneur de l'huile en produits d'oxydation primaires (**Marmesat et al., 2009**), et le coefficient d'extinction spécifique des absorbances UV à 232 nm et 270 nm qui donne une idée sur le stade d'oxydation de l'huile à partir de l'absorbance de certaines molécules peroxydes comme les cétones insaturées (**Harhar et al., 2010**). Ils existent différents types d'huiles d'argan et qui sont classés en fonction de leur acidité, ce paramètre nous donne une idée sur l'état d'altération de l'huile (**Gharby et al., 2014**). Différents noms ont été attribués à cette huile à la base de son utilisation comme l'huile d'argan vierge, l'huile d'argan cosmétique, l'huile d'argan pressée froide, etc. (**Charrouf et Guillaume, 2010**).

○ Les huiles d'argan (vierge extra, vierge fine, vierge courante, lampante)

Selon la norme marocaine N.M. 08.5.090 (**SNIMA, 2003**), l'huile d'argan vierge extra possède une acidité inférieure à 0,8 par contre l'huile d'argan vierge fine a une acidité qui est comprise entre 0,8 et 1,5%. La troisième classe concerne l'huile d'argan vierge courante qui a une acidité comprise entre 1,5 et 2,5%. Ces trois classes

sont consommables en état. Pour la dernière classe, nous avons l'huile lampante qui est impropre à la consommation avec une acidité inférieure à 2,5%.

- L'huile d'argan comestible

Cette huile est préparée à partir de grains torréfiés, elle est le constituant principal de « l'Amlou » ([El Monfalouti et al., 2010](#)). Elle a de goût de noisette avec une senteur olfactive gustative typique des huiles obtenues des amandons torréfiés, la durée de la torréfaction a peu d'influence sur l'acidité ([Harhar et al., 2013](#)). Cette huile possède beaucoup de qualités avec une faible humidité et une teneur élevée en molécules bioactives.

- L'huile d'argan cosmétique

Cette huile est préparée par extraction au solvant à partir des noyaux non torréfiés ([El Monfalouti et al., 2010](#)). Les amandons passent directement au broyage sans subir l'opération de torréfaction. ([Hachmi et al., 2011](#)). L'huile d'argan cosmétique a un profil aromatique qui est riche en alcools et en cétones. Son profil olfacto-métrique est composé essentiellement des notes fruité/vert/herbeuse, son arôme est dominé par les alcools ([Zahar et al., 2011](#)). Elle est directement utilisée pour l'application cutanée ou sous forme de lotion capillaire. Ça composition chimique lui confère des propriétés anti-sébum et dermo cosmétique ([Devrev, 2007](#) ; [Guillaume et Charrouf, 2011](#)). Sa teneur en constituants volatiles est inférieure à celle de l'huile d'argan alimentaire ([Pauly et al., 2001](#)) et sa durée de vie est aussi plus court ([El Monfalouti et al., 2010](#); [Harhar et al., 2010](#)). Ça fraction insaponifiable représente 1% de ça composition ([Guillaume et Charrouf, 2011](#)).

- L'huile d'argan de beauté

La préparation de cette huile nécessite la cueillette et le pelage des fruits, ainsi la rupture de l'écrou et le pressage du noyau non torréfié, ce qui offre un rendement d'huile de 45% ([Guillaume et Charrouf, 2011](#)). Elle est produite par pressage à froid à partir des amandons non torréfiés ([Charrouf et Guillaume 2007](#); [Guillaume et Charrouf, 2011b](#); [Faez et al., 2012](#); [Harhar et al., 2011](#)).

- L'huile essentielle (pulpe, feuille)

Peu d'étude ont montré l'intérêt nutritionnel et médicinal des huiles essentielles issues de l'arganier, et particulièrement la pulpe du fruit et les feuilles. L'étude menée par [Harhar et coll., 2011](#) a ciblé l'identification de la composition chimique de ces huiles, dans le but d'avoir une idée sur les molécules majoritaire considéré comme principes actifs, tester leur activité biologique et d'évaluer leur valeur commerciale. Cependant les techniques les plus utilisées pour ce genre d'extraction sont soit l'hydrodistillation, le CO2 supercritique ou l'extraction aux micro-ondes ([Gomez et al., 2001](#)). Le rendement en huile essentielle de la pulpe et des feuilles d'arganier est faible : 0.5% et 0.1%, respectivement, avec l'identification des dérivés terpéniques oxygénés comme un principal constituant de la pulpe, et le 1,10-di-épi-cubénol comme principe actif de la feuille. Il a été démontré que l'huile essentielle issues des

feuilles de l'arganier présente un effet inhibiteur vis à- vis plusieurs microorganismes, et que l'huile essentielle issues de la pulpe possède des propriétés insecticides ([Harhar et al., 2011](#)).

(d) Mode d'Altération

La classification de l'huile est l'un des facteurs informatifs sur le mode d'altération par hydrolyse. Les acides gras naturels sont essentiellement présents sous forme de triglycérides 98-99%, ([Rahmani et al., 2005](#)). L'hydrolyse de ces derniers libère les acides gras et leur dosage permet d'obtenir l'information sur l'état d'avancement de la dégradation de l'huile. Depuis la récolte des amandes jusqu'au stockage de l'huile, nous devons prendre en considération l'acidification et l'oxydation de l'huile d'argan qui peuvent conduire à des phénomènes néfastes d'altération. Ainsi, il est conseillé que le stockage du produit fini doit à l'abri de la lumière, de l'air et de la chaleur. La conservation est évaluée par la stabilité oxydative qui est représentée par le nombre de jours de stockage des huiles placées à température de 35 °C et à l'obscurité, correspondant à un indice de peroxyde égal ou supérieur à 20 meq d'O₂/kg d'huile ([Link, 1974](#)). La durée de cette période de stockage est influencée par le type de processus technologique de trituration des amandes qui se fait au moment de l'extraction et avant le malaxage de la pâte obtenue avec ajouts successifs de petites quantités d'eau tiède ([Hachmi et al., 2011](#)), ainsi que par les antioxydants naturellement présents (comme les composés phénoliques en particulier l'acide férulique, tocophérols et β-carotène). Ces antioxydants peuvent passer dans les huiles lors de leur extraction en fonction de la nature de leur structure. À certaines concentrations et en tenant compte de l'effet de synergie, ces composés ont un potentiel antioxydant et se comportent comme des antioxydants naturels qui protègent l'huile contre l'oxydation. Les périodes de conservation pour les huiles d'argan extraites traditionnellement et industriellement sont respectivement de 200 et 270 jours. Au-delà de la valeur caractéristique de la qualité de 20 meq d'O₂/kg d'huile à température de 35 °C et à l'obscurité, établie par le Conseil oléicole international (COI), les huiles produites perdent leur fraîcheur et sont considérées impropres à la consommation. Les teneurs en polyphénols totaux exprimés en quantité d'acide caféique sont de 56,3 mg/kg, celles des tocophérols totaux sont de 620,0 mg/kg ([Chimi, 1988](#)). Nous remarquons que cette huile a une teneur élevée en tocophérols, ce qui est intéressant pour sa conservation ([Boukhobza, 1988](#)).

(e) Composition et caractéristique physico-chimique

La variation de l'origine géographique des huiles comestibles affecte considérablement les proportions des composants de l'huile. La qualité d'une huile comestible peut être reflétée par la qualité sensorielle, sa valeur nutritionnelle et son effet pharmacologique. Dans l'évaluation de la qualité nutritionnelle de l'huile, la composition en acides gras occupe une place particulière. En effet, les acides gras polyinsaturés sont des nutriments essentiels car ils sont les précurseurs biologiques des leucotriènes et des prostaglandines, deux types de composés agissant comme des messagers cellulaires. Cependant, la simple présence d'une grande quantité d'acide linoléique n'implique pas une huile de haute valeur nutritive comme c'est le cas pour l'huile de pépins de raisin ([Matthäus et al., 2008](#)). L'huile

d'argan contient des niveaux élevés d'acide oléique et d'acide linoléique (qui est le deuxième principal acide gras insaturé). Les principaux acides gras saturés sont les acides palmitique et stéarique et par conséquent les qualités nutritionnelles générales de l'huile d'argan sont identiques à celles de l'huile d'olive. Par contre, la composition en acides gras de l'huile d'argan est beaucoup plus homogène par rapport à l'huile d'olive et, par conséquent, sa valeur nutritionnelle est moins variable. L'huile d'olive présente une grande variabilité chimique liée à ses multiples origines géographiques et sa composition en acide gras : sa quantité en acide linoléique peut varier de 3,5 à 21% et celle en acide oléique de 55 à 83%. Cependant la teneur moyenne en acide gras de l'huile d'argan se compose de 45% d'acides gras monoinsaturés, 35% d'acides gras polyinsaturés, et 20% d'acides gras saturés ([Sour et al., 2012](#)). Le profil de composante mineure de l'huile d'argan a peu de variation et est susceptible d'être responsable d'un profil pharmacologique plus reproductible. L'huile d'argan vierge contient une fraction insaponifiable très particulière, avec des quantités plus élevées en comparaison avec toute autre huile comestible, par la présence des tocophérols : alpha, bêta, gamma (la plus dominant qui peut atteindre jusqu'à 85,1% ([Afia et al., 2014](#))) et delta et quatre tocotriénols alpha, bêta, gamma et delta), les polyphénols : l'acide férulique (avec une teneur de 3147 µg/kg) et des caroténoïdes : la bêta-carotène ([Khallouki et al, 2003; Matthäus et al, 2010](#)), ainsi les phytostérols ([El Kharrassi et al, 2014](#)). Ces fruits contiennent aussi une grande teneur de composés polyphénoliques à potentiel antioxydant avec une concentration importante de 15,4 g / kg ([Khallouki et al, 2015](#)). Au niveau des phytostérols, le spinastérol et le schotténol sont les plus représentés, leur teneur peut atteindre jusqu'à 68,92 -91,24 mg/100g d'huile respectivement ([El Kharrassi et al, 2014](#)). En outre, une étude récente a permis d'évaluer pour la première fois leur activité biologique sur des cellules microgliales murines BV2, les résultats montrent que le traitement avec ces deux phytostérols ne présentent aucune toxicité, toutefois ils impactent le potentiel membranaire mitochondriale, et peuvent moduler l'expression des genes de deux récepteurs nucléaire LXR a et b et leur gène cible ABCA1 et ABCG1, ils peuvent aussi jouer un role de protection par modulation du métabolisme du cholestérol ([El Kharrassi et al, 2014](#)). Ces biomolécules sont performantes aussi bien dans le domaine de la revitalisation et de la protection anti-radicalaire ([Gharby et al., 2011](#)). Elles sont aussi utilisées pour vérifier l'authenticité de l'huile d'argan ([Gharby et al., 2011](#)). Deux stérols minoritaires rentrent aussi dans la composition de la fraction stéroliques de l'huile d'argan : le stigmast-8,22-diène et le stigmasta-7,24-28-diène (ou Δ -7-avénastérol). Leurs proportions varient entre 3,2% et 7% du mélange des stérols totaux. Ces fruits contiennent une grande teneur de composés polyphénoliques antioxydantes à une concentration importante de 15,4 g / kg avec une dominance de la catéchines (39%) ([Khallouki et al., 2015](#)). En outre, la pulpe du fruit de l'arganier et ses feuilles contiennent des huiles essentielles intéressantes. Les produits majoritaires de la pulpe sont le camphre suivi du 1,8 cinéole et du bornéol, il a été démontré qu'elle contient des composées à effet insecticide ([Hachmi et al., 2011](#)). Au niveau de la feuille, son huile essentielle peut atteindre un rendement de 0.05 % de la matière sèche ([Hicham et al., 2011](#)). Certain travaux mené par des chercheurs ont montré la présence de stérols et tritépènes ainsi les sesquiterpènes oxygénés notamment le 1,10-diépi-cubénol ([Chahboun,](#)

1993 ; Hichamet al., 2011); de polyphénols, et de saponosides (El Kabouss, 2002). Hicham et coll suggèrent qu'elle présente une activité antimicrobienne.

(f) Intérêts Pharmacologique

L'huile d'argan a été utilisée comme aliment et comme ingrédient alimentaire et a été appliquée sur la peau pendant des siècles. Par conséquent, ses toxicités aiguë et chronique sont supposées être nulles, en particulier lorsqu'il est administré par voie orale à des doses ordinaires. Initialement, ces propriétés pharmacologiques ont tout simplement été déduites en prenant en considération les propriétés de ses constituants, qui ont été isolés et évalués sur le plan pharmacologique. Elle est impliquée dans la prévention de l'athérosclérose grâce à ses propriétés hypocholestérolémiantes, hypolipidémiantes, et antihypertenseurs (Charrouf et al., 2010) et antithrombotique (Mekhfi et al., 2012) et antidiabétique (Samane et al., 2009 ; Samane et al., 2006). Elle se caractérise aussi par la réduction des effets métabolique de l'obésité (Sour et al., 2015). Actuellement, plusieurs études réalisées sur des modèles animaux ou des études cliniques sont en cours pour faire une évaluation scientifique des avantages avancés traditionnellement pour la consommation de cette huile. Son effet alimentaire sur le système immunitaire a été évalué sur des rats. (Benzaria et al., 2006). Ces études ont conclu que ces effets sur les cellules immunitaires sont similaires par rapport à l'huile d'olive, et que l'huile d'argan n'a pas d'effets marqués sur la fonction des cellules immunitaires. (Benzaria et al., 2006). L'effet antiprolifératives des tocophérols et saponine issues de l'huile d'argan sur le cancer de la prostate humain a été aussi démontré par Drissi et coll. (Drissi et al., 2006). D'autre étude *in vitro* réalisé sur des cellules de fibroblaste ont montré que son utilisation chez les patients atteints de la maladie Pseudo-neonatal adrenoleukodystrophy (P-NALD) à un rôle thérapeutique potentielle, puisqu'on absence d'activation de PPAR α et PGC 1 α l'huile d'argan est capable de stimuler la prolifération des peroxyosomes dans les cellules de fibroblastes de patient atteint la P-NALD (El Kebbaj et al., 2012). Il a été aussi rapporté dans une étude *in vitro* sur des cellules cancéreuse que les extraits de fruit ont un effet antiproliférative, antioxydante et antipaludique (El Babili et al., 2010). Un seul cas d'allergie à cette huile a été cité par Astier et coll. (Astier et al., 2010). Les hormones thyroïdiennes et le métabolisme des acides gras sont étroitement liés et les acides gras insaturés ont été montrés pour empêcher l'hypothyroïdie (Cherki et al., 2006). L'effet sur l'activité thyroïdienne de l'huile d'argan a été évalué dans une étude de cohorte réalisée sur 149 volontaires euthyroïdiens consommant du sel non iodé en mesurant les concentrations plasmatiques de triiodothyronine libre (FT3), tétraiodothyronine (FT4) et l'hormone stimulant la thyroïde. Cette étude a montré qu'on ne peut pas s'attendre à une activité de l'huile d'argan sur l'hypothyroïdisme. En outre, une étude récente *in vivo* réalisé sur des souris montre que l'huile d'argan peut ajouter de nouvelles potentialités thérapeutique, puisqu'elle offre une protection préventive contre la baisse de l'expression de gènes impliqués dans la gluconéogénèse hépatique FAOx, et qui est liée à la reprise des expressions de gènes des récepteurs nucléaires PPAR α et ERR α ainsi que de leur co-activateur PGC-1 α (El Kebbaj et al., 2016).

2. Molécules bioactives

a) Les phytostérols

Les stérols sont des constituants des lipides qui se trouvent dans la partie appelée "l'insaponifiable" de l'huile, c'est à dire la fraction qui est insoluble dans l'eau mais soluble dans les solvants organiques, après saponification des lipides. Ils constituent la fraction la plus importante de l'insaponifiable et en représentent environ de 30 à 60%. La teneur en "insaponifiable" des matières grasses (huiles et graisses) est de l'ordre de 0,5 à 2 % en général; il s'agit d'un mélange complexe, qui à côté des stérols, contient des hydrocarbures (squalène, etc), des alcools gras (cires), des pigments liposolubles (carotène, etc.) et des vitamines. Les stérols sont des constituants complexes dont le rôle biologique est important et leur distribution dans les matières grasses est très étudiée. Ils sont les principaux constituants des membranes cellulaires, leur principale fonction au niveau de la membrane, est d'assurer leur perméabilité appropriée, la fluidité, la rigidité, la durabilité et réduisent la liberté de mouvement des phospholipides (Yeagle, 1985; Boesze-Battaglia and Schimmel, 1999 ; Maxfield et Tabas, 2005; Hac-Wydro et al., 2007). En outre, ils sont utilisés pour l'analyse des denrées alimentaires. La détermination de la composition stérolique d'une huile végétale constitue un critère important d'identification de son origine botanique : généralement, des plantes appartenant à une même famille botanique présentent la même composition qualitative pour les stérols. Par contre, l'espèce et la race sont différenciées par des compositions quantitatives différentes. (COI / T.20 / Doc. n° 10 / Rev. 1). Ils se trouvent en grande quantité dans les huiles et les graisses et en particulier chez l'huile de germe de blé et l'huile de maïs avec une teneur de 919 et 909 mg/100g respectivement, l'huile de colza présente lui aussi une grande teneur avec une valeur de 668 mg/100g (Marangon F. i, Poli A., 2010). La figure 3 présente un exemple de phytostérols avec leur structure chimique.

(a) Structures

Les stérols ont une structure chimique analogue à celle du cholestérol. Ils sont structurellement liée au cholestérol et sont principalement les carbonés C-28 et C-29 des alcools stéroïdes (Otaegui-Arrazola et al., 2010). Ce sont des composés tétracycliques comportant les plus souvent 27, 28 ou 29 atomes de carbone. Ils diffèrent de leurs précurseurs biosynthétique, les alcools tritérpéniques tétracycliques et les 4-méthyl stérols par l'absence de groupe méthyle en position 4. Une mise en point détaillée sur la biosynthèse des stérols a été réalisée par Benveniste en 1986 (Benveniste, 1986). Le noyau tétracyclique possède le plus souvent une double liaison localisée fréquemment en 5, mais que l'on peut rencontrer en 7 et beaucoup plus rarement en 8 (9), en 8 (14) ou en 9 (11). Le noyau cyclopropanique en 9-10-19 subsiste très rarement (stérols de pollens principalement). Les groupes méthyles 18 et 19, la fonction alcool en 3 et la chaîne latérale en 17 sont en configuration bêta. Le groupe méthyle 14 alpha subsiste très rarement. La chaîne latérale possède 8, 9 ou 10 atomes de carbone, elle peut être saturée ou comporter en 22, 24 (55), 24 (28) ou 25 (27) une ou 2 doubles liaisons qui ne sont jamais conjuguées. Lorsque l'atome de carbone 24 est saturé, il peut être de configuration R ou S, une double liaison en 24 (28) peut être Z ou E, une double liaison en 22(23) est

toujours E, enfin, la structure de la chaîne latérale des stérols d'algues et d'animaux marins inférieurs peut être très particulière. ([A. Karleskino](#)). Ils ont un système cyclopentano-perhydrophénanthrène avec fonction alcool secondaire en position 3, estérifiée par un acide gras en position 17, généralement avec une double liaison en position 5 et/ou 7 de la chaîne latérale de structure spécifique. Ils sont classés en deux catégories, la première avec les zoo-stérols (origine animale) avec pratiquement un seul représentant, mais très important le cholestérol (il existe aussi le lanostérol, moins important, intermédiaire dans la biosynthèse du cholestérol) et la seconde avec les phytostérols (origine végétale), nombreux, différenciés par la chaîne en position 17 et/ou la position de la double liaison (5 et/ou 7). Ses principaux dérivés sont : les acides biliaires, émulsifiants qui jouent un rôle important dans la digestion des lipides (émulsification des matières grasses au niveau de l'intestin), les hormones du cortex surrénale (cortisone, etc.) et gonadiques (testostérone, oestrone) et la vitamine D. Leurs interactions avec les phospholipides ont été étudiées dans des monocouches de Langmuir mixtes utilisés en tant qu'un modèle de membrane. Il a été rapporté que l'incorporation de phytostérols particulièrement les β -Sitostérol et stigmastérol dans des monocouches de phospholipides augmente leur condensation et révèlent une plus grande affinité envers les phosphatidylcholines par rapport à phosphatidylethanolamines. Ils interagissent plus fortement avec les phospholipides possédant des chaînes plus longues et saturés ([Hac-Wydro et al., 2007](#)). Après saponification des lipides, on obtient du savon, qui, suivi d'une extraction par l'éther diéthylique, donne deux phases : la phase aqueuse qui contient uniquement le savon et la phase organique qui contient la partie insaponifiable. Cette fraction de stérols va être purifiée par chromatographie sur couche mince puis mélangée avec des dérivés silylés pour qu'ils soient détectés en chromatographie en phase gazeuse (capillaire) ([COI / T.20 / Doc. n° 10 / Rev. 1](#)).

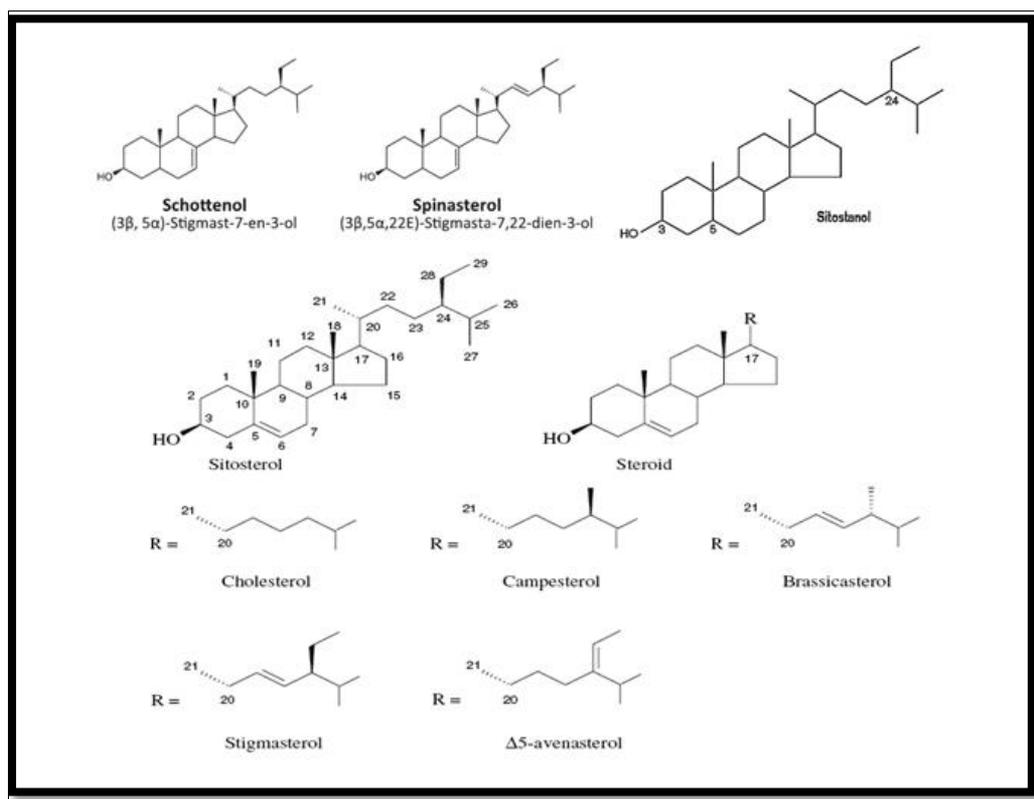


Figure 3: Présentation des différentes structures stéroliques (El Kharrassi et al., 2014 ; Marangoni et al., 2010; Hovenkamp et al 2008, IUPAC-IUB 1976).

(2) Activité biologique

Les phytostérols pourraient avoir certains avantages dans la prévention des maladies cardio-vasculaires, et ils pourraient également contribuer à la prévention du cancer et des maladies inflammatoires (Jones et al., 2009 ; Vejux et al., 2012). Certains de ces molécules ont le pouvoir de traverser la barrière hémato-encéphalique (Vanmierlo et al., 2012) et de moduler l'amyloïdogénèse chez la souris in vivo (Burg et al., 2013). L'étude menée par Badreddine et al., 2015 a permis d'évaluer les activités biologiques de certains phytostérols comme le (spinastérol et schottérol) les deux stérols majoritaire dans l'huile d'argan, sur des cellules du système nerveux central (cellules 158N oligodendrocytes murines, des cellules de gliome de rat C6), ces derniers ont montré qu'ils n'ont aucun effet sur la croissance cellulaire, mais qu'ils diminuent l'activité mitochondriale. Dans la littérature, plusieurs auteurs ont montré que le b-sitostérol a des effets très bénéfiques sur la santé humaine, puisqu'il abaisse le taux du cholestérol et renforce l'immunité (Pegel, 1997 ; Nieman, 1994), elle présente aussi des effets anti-inflammatoires, antipyrétiques et anticancéreux et en particulier chez la prostate (Klippell, 1997; Kritchevsky et Shirley, 2005). Le b-sitostérol est très abondant dans l'huile de graine de sésame qui constitue un peu près de 60%, ainsi que dans le soja, le tournesol et l'huile d'olive (Garby et al., 2015 ; Zine et al., 2013). Un renforcement de l'auto-immunité a été également démontré (Bouic P. et al., 1999). Les phytostérols diminuent l'absorption intestinale du cholestérol (Plat J, Mensink RP, 2005). Leur absorption au niveau du tractus intestinal est dix fois plus faible par rapport à celui du cholestérol (De

Jong et al., 2003; Von Bergmann et al., 2005). Néanmoins, d'autres études ont rapporté qu'ils ont un effet hypocholestérolémiant en réduisant le taux du LDL, et antiathérogène, et participe à la prévention des maladies coronaires (**Berger et al., 2004**). Cependant lorsqu'ils sont présents à des concentrations supérieures à la normale accompagné d'une absorption accrue au niveau intestinale (phytostérolémie, sitostérolémie), ce qui est synonyme de la présence d'une maladie héréditaire rare et donc peuvent fortement affecter les propriétés membranaires. (**Kritchevsky et Chen, 2005**). En outre, cette famille de molécule bioactive, peuvent affecter le taux de cholestérol grâce à la régulation positive de l'ATP-binding cassette transporteurs ABCG-5 et ABCG-8, situées à la surface apicale de l'entérocyte (**Marangoni, Poli, 2010**). Certains stérols présenteraient des activités anti-cancéreuses et permettraient une inhibition des cancers du colon, du rectum et du poumon (**Mendilaharsu et al., 1998, Normen et al., 1999**). Des études ont montré qu'une supplémentation en phytostérols aurait un effet hypocholestérolémiant et limiterait ainsi le risque de maladies cardiovasculaires (**Jones et al., 1999, Vissers et al., 2000**). Du fait de leur nature hydrophobe, il faut éthyler les stérols afin de les incorporer dans de nombreux produits cosmétiques. Enfin, les stérols interviennent dans de nombreux produits présentant des activités anti-inflammatoires ou réparatrices de dommages cutanés et dans des shampooings (**Wachter et al., 1995**).

b) Les acides gras

Les acides gras (AG) représentent les constituants majeurs de la bicouche lipidique des membranes cellulaires au sein d'un glycérophospholipide ou d'un sphingolipide (**Arterburn et al., 2006**). Ils participent à la formation des esters de cholestérol (**Johnson et al., 2006**). Ils se subdivisent, selon qu'ils contiennent ou non des doubles liaisons, en AG saturés (AGS), et en AG insaturés (AGI), eux-mêmes répartis, selon le nombre d'insaturations, en 2 sous-groupes : les acides gras mono-insaturés (AGM) et les acides gras poly-insaturés (AGPI) (**Savary et al., 2012**). Les travaux de **Gardner et al., (1995)** ont montré que les acides mono ou polyinsaturés ($\omega 6$) pouvaient réduire significativement le taux de LDL-cholestérol. Un fort apport alimentaire en acides gras mono-insaturés va augmenter la proportion de ces acides dans les LDL ce qui va protéger ces derniers de l'oxydation puisqu'ils jouent un rôle prépondérant dans la protection des maladies cardiovasculaires (**Kris-Etherton et al., 1999; Kratz et al., 2002; Reaven et al., 1996**). En outre, beaucoup d'études ont cibler les activités biologiques des AGPI, prenant par exemple l'acide docosahexaénoïque (DHA, C22: 6 n-3) sont essentiels pour les fonctions cérébrales (**Crupi et al., 2013**), vu qu'il peut agir contre les effets cytotoxiques des oxystérols en améliorant les effets protecteurs de la vitamine E et en particulier l'alpha tocophérol (**Nury et al., 2015**). En plus, il a été démontré *in vitro* sur des cellules humaines SK-N-BE, que le DHA les protège contre les acides gras de types C22: 0, C24: 0 et C26:0 qui provoquent les dysfonctionnements mitochondriaux et le stress oxydatif (**Zarrouk et al., 2015**). D'autres études *in vitro* ont montrées que le DHA pouvait activer les PPAR α en protégeant les cellules des tubules rénaux de l'apoptose induite par la doxorubicine (**Lin et al., 2007**). Cette diminution a été observée dans le cerveau et le foie des patients atteints de la maladie d'Alzheimer (**Astarita et al., 2010**). Les AGPI à longue chaîne comme (acide éicosapentaénoïque (EPA) pourrait

améliorer la mémoire et donc réduire le risque de maladie d'Alzheimer ([Taepavarapruk et al., 2010](#)). D'autres études ont mis en relation la présence de DHA et d'EPA dans la structure cérébrale et apparition de dépressions nerveuses ([Logan, 2004](#)). D'autres AGPI présentent un effet protecteur vis-à-vis certaine maladie, comme l'acide arachidonique et l'acide linoléique qui exercent un effet hypocholestérolémiant et des propriétés inhibitrices de la prolifération des cellules métastatiques du cancer du colon ([Soel et al., 2007](#)). De toute évidence, leur accumulation suite à une défiance de la beta oxydation peroxysomale due à une mutation de gène ABCD1 peut provoquer la maladie X-ALD ([Trompier et al., 2014](#)). Plusieurs travaux ont mentionné que l'acide oléique (présent en grande quantité chez l'huile d'olive) était capable de ralentir la pénétration des acides gras dans les parois des cellules artérielles, or la pénétration puis l'oxydation de ces acides gras est à l'origine de la formation de la plaque d'athérome dans l'intima des vaisseaux sanguins ([Charbonnier et al., 1982](#)), et que l'acide linoléique oméga-3 se trouve en pourcentage élevé chez le cactus (en particulier dans le fruit, la pulpe et la graine) ([El-Mostafa et al., 2014](#)), ce dernier possède des effets bénéfiques dans les maladies cardiovasculaires, et les diabètes ([Kim et al., 2014](#)).

c) Les tocophérols

Les tocophérols sont reconnus pour leur double action bénéfique. En effet ils ont tout d'abord l'atout d'être une vitamine (vitamine E) et ils ont également une forte activité antioxygène ([Burton et al., 1986](#)). Ils sont rencontrés dans les huiles végétales sous quatre formes, l' α -tocophérol (vitamine E), le α -tocophérol, le β -tocophérol et le γ -tocophérol. Certaines plantes médicinales contiennent des teneurs importantes en vitamine E, par exemple l'huile d'argan semble être la plus riche en γ -tocophérol comme principal tocophérol ([Ramadan and Morsel, 2003 ; El-Mostafa et al., 2014](#)), par rapport au cactus genre *Opuntia*, qui est riche en α -tocophérol avec une teneur de (17,6 g/kg) au niveau de la peau du fruit, alors que la graine contient un taux plus faible, principalement du γ -tocophérol ([Ramadan and Morsel, 2003 ; El-Mostafa et al., 2014](#)). La teneur totale en tocophérols dans les huiles d'olive est très variable puisqu'elle a été reportée dans une gamme allant de quelques mg à 450 mg/kg d'huile ([Grigoriadou, 2007 ; Boskou, 2006 ; Gutierrez et al., 1999](#)). L' α -tocophérol représente à lui seul 90% de la totalité des tocophérols ([Sherwin et al., 1976](#)), mais on trouve également un peu de β et γ tocophérols, alors que le δ tocophérol n'est présent qu'à l'état de traces ([Psomiadou et al., 2000](#)). Par contre chez l'huile d'argan, il est deux fois plus riche en tocophérol que l'huile d'olive, en particulier le γ -tocophérol qui représente la partie majoritaire avec plus que 75% des tocophérols totaux ([Khallouki et al., 2003](#)). Leur teneurs varient en fonction de l'origine géographique, le mode de conservation des fruits ainsi que le procédé d'extraction des huiles. Les tocophérols sont liposolubles et leur présence dans les huiles les protège du rancissement. Dans l'organisme humain, les principaux systèmes antioxydants endogènes agissent dans les parties aqueuses de la cellule. L' α -tocophérol (90 % des tocophérols dans l'huile d'olive) va s'insérer dans les membranes cellulaires ainsi que dans les lipoprotéines en stabilisant les radicaux peroxy ([Serbinova et al., 1991](#)). L' α -tocophérol est en effet connu pour être l'antioxydant lipophile le plus puissant pour limiter le processus d'oxydation radicalaire. Elle est actuellement la molécule la plus efficace capable

de contrecarrer 7KC- et 7b- OHC- qui induisent la mort cellulaire sur divers types de cellules (Miguet, et al., 2002 ; Ragot et al., 2013). Son effet protecteur peut être amélioré par la présence du DHA (Nury et al., 2015). Une déficience en tocophérol dans les membranes cellulaires peut augmenter la perméabilité des cellules et donc les rendre plus vulnérables à la dégradation. Il est aussi l'antioxydant le plus important dans les LDL et pourrait donc jouer un rôle clé en inhibant leur oxydation. Une fois oxydé, l'alpha-tocophérol peut être régénéré par l'acide ascorbique (vitamine C) ou l'ubiquinol (Gille et al., 2008 ; Pincemail et al., 2003, Bascetta et al., 1983). En plus de leur activité antioxydante, les tocophérols ont été associés à un ralentissement de la propagation cellulaire, de l'agrégation plaquettaire et de l'adhésion des monocytes dans les vaisseaux sanguins. Zingg (2004) suggérait que ces effets pourraient être dus à des interactions entre l'alpha-tocophérol, certaines enzymes et des protéines structurales.

d) Les composés phénoliques

Les composés phénoliques est particulièrement les polyphénols sont des molécules naturelles dotées de nombreuses propriétés physiologiques, vu leur capacité à protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres (Zheng et al., 2010 ; Sies, 2010), ils peuvent également agir contre l'athérosclérose et les maladies dégénératives (Del Rio et al., 2010), ainsi la progression du cancer (Clement et al., 2009). Du point de vue alimentaire, leur apport agit de façon bénéfique sur la santé humaine sur l'amélioration de l'inflammation intestinale (Romier et al., 2009, Biasi et al., 2011), et en interférant indirectement avec les protéines de signalisation spécifique, qui permettent la médiation de la régulation des gènes en réponse à un stress oxydatif et de l'inflammation (Fraga et al., 2010 ; Covas et al., 2010). Les quantités de composés phénoliques sont très variables d'une huile à une autre, tant sur le plan quantitatif que qualitatif. Il est généralement admis que l'activité phénolique se situe entre 200 et 600 mg d'équivalents d'acide gallique par litre d'huile. Si la composition phénolique peut servir de marqueur pour l'identification des huiles c'est parce que l'origine géographique a une forte influence sur la synthèse de certains phénols (Vinha et al., 2005). En effet, un stress hydrique engendrera une plus grande richesse des huiles en composés phénoliques. Par exemple chez l'olivier, le facteur le plus déterminant est le type de variétés cultivées. De nombreuses études ont montré que certaines variétés d'olives étaient plus riches en composés phénoliques que d'autres (Gomez et al., 2008 ; Tura et al., 2008 ; Tura et al., 2007 ; Vinha et al., 2005). En effet, au sein de l'huile l'activité antioxydante des polyphénols présentent deux effets principaux : tout d'abord ils protègent l'huile de l'oxydation (donc augmentent sa durée de vie) mais ils vont également augmenter le potentiel antioxydant de l'organisme et ainsi prévenir le développement de certaines maladies. Une étude sur le cancer du côlon a également montré que des extraits phénoliques issus de l'huile d'olive semblaient réduire la capacité d'adhésion des cellules cancéreuses, ce qui ralentirait la prolifération du cancer du côlon (Hashim et al., 2005). Manna et al., 1999, ont souligné un effet protecteur des phénols vis-à-vis de l'oxydation des érythrocytes sanguins. L'oxydation des érythrocytes peut entraîner des déformations de ceux-ci et donc des défauts de transport d'oxygène dans le sang et à plus grande échelle une hémolyse (Van Dyke et al., 1996). Cela est particulièrement vrai lorsque les érythrocytes

sont exposés à du peroxyde d'hydrogène. Individuellement, des composés tels que l'hydroxytyrosol et l'acide vanillique (à moindre échelle le tyrosol) ont démontré de fortes activités antioxydantes (Owen et al., 2000). Ils ont aussi été associés à certains effets bénéfiques dans la protection de certaines maladies. Ainsi l'hydroxytyrosol exerce une action inhibitrice sur les lipooxygénases ce qui va protéger les acides gras de l'oxydation et donc *in vivo* réduire le dépôt des LDL dans les parois artérielles (Visioli, 1998). L'hydroxytyrosol est capable de donner un hydrogène aux formes radicalaires des lipides hydroperoxylés (radicaux LOO^{*}) et ainsi de les stabiliser. En ce qui concerne la prévention des maladies cardio-vasculaires, il a été rapporté que ces molécules sont associées à une réduction de l'agrégation plaquettaire tout comme la lutéoline et l'apigénine (Petroni et al., 1995). La présence de quelques polyphénols et de l'hydroxytyrosol est également corrélée à une réduction de la formation de molécules pro-inflammatoires comme le thromboxane et les leucotriènes (Rotondo et al., 2000 ; Kohyama et al., 1997). De leur côté, l'acide caféique et l'acide férulique ont un effet cytoprotecteur sur les cellules endothéliales en bloquant l'augmentation de la concentration de Ca²⁺ en réponse à l'oxydation des LDL (Viera et al., 1998). L'acide caféique, l'acide férulique ainsi que l'hydroxytyrosol sont donc tous impliqués dans la protection contre les maladies cardiovasculaires. Il a été démontré *in vivo* sur des rats de type Wistar que l'administration chronique des polyphénols issues du vin rouge présente un rôle préventif en empêchant la dysfonction endothéliale induite par le vieillissement et le déclin de la performance physique: (Dal-Ros et al., 2011).

B. Les récepteurs nucléaires LXR et leur rôle dans la régulation du métabolisme du cholestérol et de l'inflammation

Les récepteurs LXRs (Liver X Receptor) sont des facteurs de transcription régulateurs pivots de l'homéostasie des lipides chez les mammifères. Ils contrôlent l'expression de nombreux gènes impliqués dans l'absorption, le transport, l'efflux et de l'excrétion du cholestérol d'une manière tissu-dépendante (Cynthia et al., 2014). Ils appartiennent à la superfamille des récepteurs nucléaires (Peet et al., 1998) qui sont des facteurs de transcription activés par des signaux lipophiles (stéroïdes ; hormones thyroïdiennes ; dérivés vitaminiques : acide rétinoïque et vitamine D3 ; métabolites lipidiques : acides gras et dérivés hydroxylés du cholestérol). Il existe deux isotypes de LXR : LXR α (également décrit dans la nomenclature par NR1H3) et LXR β (NR1H2). Ils appartiennent à une superfamille de 48 facteurs de transcription activés par des ligands et qui régulent le développement, le métabolisme, la croissance et l'homéostasie cellulaires (Yang et al., 2007). LXR α et β sont parmi les principaux récepteurs nucléaires régulateurs du métabolisme des lipides et l'homéostasie du cholestérol par l'induction de l'expression de plusieurs gènes cibles, tels que ABCA1, ABCG1, ApoE, SREBP-1c, qui à leur tour régulent l'efflux de cholestérol et des acides gras et la synthèse des triglycérides (Kalaany et al., 2006). Ils participent également à la régulation du métabolisme du glucose (Mitro et al., 2007). LXR β est exprimé de façon ubiquitaire alors que LXR α a été détecté dans le foie, le tissu adipeux, les glandes surrénales, les intestins, les poumons et les cellules de la lignée myéломonocytaire (Repa et al., 2000). Les deux LXRs sont également exprimés dans le cerveau (Wang L. et al., 2002). Les ligands naturels de LXR α et de

LXR β sont des dérivés de cholestérol appelés oxystérols (Peet et al., 1998). LXR α et LXR β fonctionnent comme des hétérodimères avec le Récepteur à l'acide rétinoïque (Rétinoïde X Receptor, RXR), un partenaire commun à plusieurs récepteurs nucléaires. L'hétérodimère LXR/RXR se lie à un élément de réponse à LXR (LXRE) dans la région du promoteur du gène cible et régule l'expression de ce gène par différents mécanismes, tels que l'activation directe, indépendante du ligand, de la répression ligand-dépendante, et la trans-répression (Glass et al., 2000).

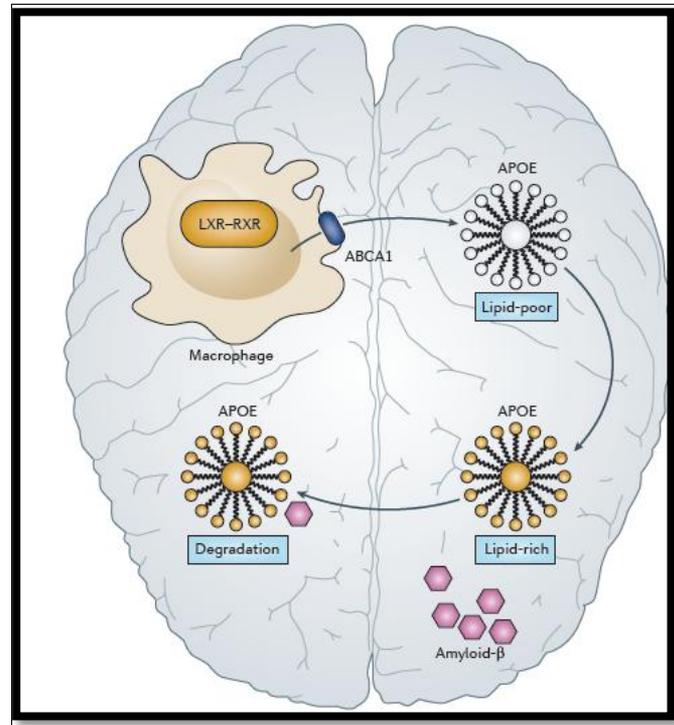


Figure 4 : Les voies de signalisation LXR dans le cerveau. LXR active le gène codant le transporteur ABC 1 (ABCA1) impliqué dans le transport des lipides, ce qui conduit à un enrichissement en lipides de l'apolipoprotéine E (APOE). APOE est associée à l'augmentation de la dégradation de l'amyloïde- β et à la réduction du développement pathologique ressemblant la maladie d'Alzheimer, dans le modèle de souris RXR. D'après (Hong C. et Tontonoz P. 2014)

1. LXR comme cible thérapeutique

La compréhension du rôle d'LXR dans la signalisation et dans l'homéostasie du cholestérol dans divers types de cellules a suscité l'intérêt pour le développement de thérapies ciblant LXR. Bien que la première génération des agonistes synthétiques de LXR tels que T0901317 et GW3965 se sont révélés être maladaptés pour le développement clinique en raison de leurs effets pléiotropiques, ces composés ont néanmoins restés des outils précieux pour la compréhension des rôles métaboliques de LXR. Leur utilisation préclinique a permis d'obtenir des avancées très importantes sur le métabolisme du cholestérol et d'orienter les recherches cliniques. Le développement d'agonistes de LXR synthétiques a commencé au début des années 2000 avec la découverte des deux premiers agonistes, T0901317 et GW3965. Ces composés sont des agonistes entiers pour les deux LXR α et LXR β et induisent l'expression de gènes

cibles d’LXR *in vitro* et *in vivo*. En effet, l’analyse de la régulation génique de ces composés a conduit à l’identification d’un grand nombre de cibles de LXR (Collins et al., 2002; Schultz et al., 2000).

2. LXR: facteurs de transcription, mécanisme moléculaire et mode d’action

Les LXR - à savoir LXR α et LXR β - sont des facteurs de transcription activés par les stérols et régulés par la liaison de ligands physiologiques, tels que les oxysterols (Peet et al., 1998, Peet et Janowski, 1998) et certains intermédiaires dans la voie de biosynthèse du cholestérol, tels que desmostérol (Collins et al., 2002, Yang et al., 2006). Curieusement, les stérols endogènes qui activent fortement LXR peuvent également inhiber l’activation de la voie SREBP (Sterol Response Element Binding Protein) (Frolov et al., 2003, Spencer et al., 1985). Ceci souligne que les voies de signalisation impliquant à la fois LXR et SREBP sont fortement interconnectées dans le contrôle de l’homéostasie du cholestérol. La plupart des agonistes synthétiques de LXR n’inhibent pas la maturation of SREBP. Ce qui démontre que les deux voies peuvent être ciblées pharmacologiquement indépendamment l’une de l’autre.

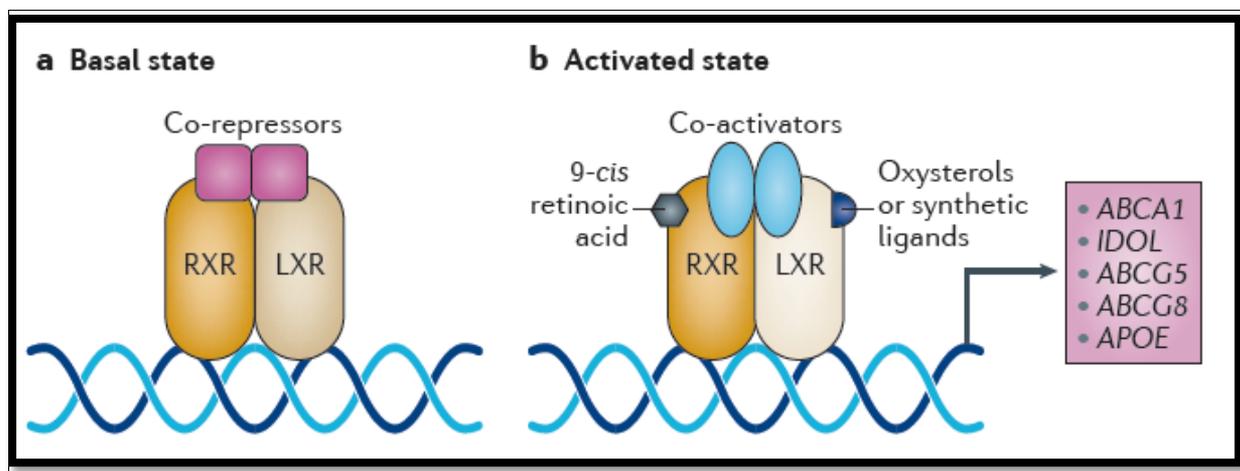


Figure 5: Hétérodimérisation LXR-RXR et activation de gène cibles. LXR et RXR forment un hétérodimère -obligatoire- qui se lie à l’élément de réponse LXRE formé d’un motif du type *direct repeat 4* (DR4) et présent dans les régions régulatrices des gènes cibles. La séquence consensus du motif DR4 est « AGGTCA n nnnAGGTCA » ('n' représente un des 4 nucléotides). (a) A l’état basal, les co-represseurs, comme NCOR1 (nuclear co-repressor 1) et SMRT (silencing mediator of retinoic acid and thyroid hormone receptor) sont liés à l’hétérodimère LXR-RXR, inhibant ainsi l’activation de la transcription des gènes cibles. (b) Quand RXR est activé par des rétinoïdes (ligands), et/ou LXR est activé par des oxystérols ou des ligands synthétiques, les co-activateurs comme NCOA1 (nuclear receptor co-activator 1) et ASC2 (activating signal co-integrator 2) sont recrutés et l’activité transcriptionnelle est initiée. Les ligands de LXR seuls sont également capables d’initier la transcription en présence de LXR. Alors qu’en présence des deux ligands de LXR et de RXR, il y a un effet synergique sur l’activation des gènes cibles. ABC, ATP-binding cassette; APOE, apolipoprotein E; IDOL, inducible degrader of the LDL receptor. D’après (Hong C. et Tontonoz P. 2014).

La figure 5 montre respectivement les mécanismes impliqués dans l’inhibition et l’activation transcriptionnelle des gènes cibles de LXR. En l’absence d’un ligand lié, l’hétérodimère RXR-LXR est censé rester lié à la région promotrice

des gènes cibles dans un complexe avec des co-répresseurs, inhibant ainsi l'activation du gène cible (Svensson et al., 2003). En effet, la suppression de LXR dans certains types de cellules a été associée à une expression élevée de l'ARNm (dé-répression) de certains gènes cibles, tels que ABCA1 (Wagner et al., 2003). Lors de la liaison d'agoniste, la conformation de l'hétérodimère LXR-RXR est altérée, ce qui conduit à la libération de co-répresseurs SMRT et NCoR1, suivie du recrutement de co-activateurs EP300 (protéine E1A associée à p300) et du ASC2 (aussi connu comme NCOA6) (Hu et al., 2003, Son et al., 2009). La liaison de l'hétérodimère RXR-LXR à l'ADN est spécifique à l'élément de réponse à LXRE, qui est une répétition directe de la séquence AGGTCA. L'analyse du génome a confirmé la présence de l'élément de réponse DR4 dans les régions régulatrices de nombreuses cibles de LXR (Boergesen et al., 2012, Quack et al., 2002). En plus de l'activation de gènes, l'activation LXR peut être associée à la répression de certains gènes, notamment ceux liés aux réponses inflammatoires. L'expression différentielle d'LXR offre des possibilités de ciblage spécifiques de certains types cellulaires avec des agonistes sélectifs.

3. Les Oxystérols

Les oxystérols peuvent varier dans le type (hydroperoxy, hydroxy, céto, époxy), le nombre et la position des fonctions oxygénées et introduites dans la nature de leur stéréochimie (Zarrouk et al., 2014). Parmi les oxystérols résultant de l'auto-oxydation du cholestérol (oxydation non enzymatique du cholestérol) on trouve le 7-hydroxycholestérol, 7-ketocholestérol, et le cholestérol-5, 6-époxyde principaux (Vejux et al., 2011). Les autres oxystérols, 24S-hydroxycholestérol, 25-hydroxycholestérol, 27-hydroxycholestérol, et 4 α -hydroxycholestérol résultent de l'oxydation enzymatique du cholestérol via les enzymes du cholestérol 24-hydroxylase (CYP46A1), le cholestérol 25-hydroxylase (Ch25h), le cholestérol 27-hydroxylase (CYP27A1), et le cholestérol 4-hydroxylase (CYP3A4), respectivement. Ils sont largement présents dans les aliments riches en cholestérol. Certains dérivés de l'oxyde de cholestérol soit par voie enzymatique ou non enzymatique (Iuliano et al., 2011) formés de manière endogène ou présents dans divers produits alimentaires ont été montrés à jouer un rôle important dans le métabolisme, l'équilibre redox et le statut inflammatoire de certaines cellules, notamment les cellules vasculaires et les cellules nerveuses, qui sont fortement touchés par le processus de vieillissement, et sont associés aux principales maladies liées à l'âge telles que les maladies cardiovasculaires et la démence (Lordan et al., 2009; Vejux et Lizard, 2009; Leoni et Caccia, 2011; Poli et al., 2013). Ils peuvent affecter les principaux organes comme le cerveau et la prostate, ainsi la contribution au développement de maladies liées à l'âge (Schroepfer, 2000), et jouant un rôle critique dans le vieillissement et dans la pathophysiologie de plusieurs maladies liées à l'âge telles que l'athérosclérose, le diabète type 2, la maladie d'Alzheimer et la cataracte, l'ostéoporose, et certaines formes de cancers (de carcinome du côlon et le cancer de la prostate) (Zarrouk et al., 2014). Plusieurs formes d'oxystérols ont été rapportées pour être particulièrement impliquées dans la pathogenèse des maladies dégénératives caractérisées par une inflammation chronique, tels que la maladie d'Alzheimer et l'athérosclérose (Otaegui-A et al., 2010). Elles jouent un rôle en tant

qu'intermédiaires dans la biosynthèse des stérols et du catabolisme de cholestérol, et sont aussi nécessaires à la synthèse d'acides biliaires (Iuliano, 2011; Otaegui-A et al., 2010). Certains exercent leur cytotoxicité par la NADPH oxydase dans l'activation des macrophages et des cellules vasculaires (Rosenblat et al., 2002. Leonarduzzi et al., 2006). *In vitro* le 7KC et le 7OHC qui résultent de l'auto-oxydation du cholestérol (Iuliano, 2011) ont montré être toxique à une gamme de concentration comprise entre 25-50µM, sur plusieurs lignées cellulaires (neuronal comme la microglie : BV2, les oligodendrocytes : 158N et SKNBE, les cellules vasculaires, et celle de la moelle osseuse) (Lizard et al., 1996 ; Ragot et al., 2013. Nury et al., 2013; El Kharrassi et al., 2014; Badreddine et al., 2015). Une autre étude récente *in vitro* réalisée sur les cellules d'oligodendrocytes murins 158N a montré que le traitement avec certains oxystérols comme le 7 ketocholestérol (7KC), le 7b-hydroxycholestérol (7b-OHC) et le 24 (S) hydroxycholestérol (24S-OHC) (uniquement formé dans les neurones du cerveau à partir du cholestérol par l'intermédiaire de l'enzyme 24-hydroxylase cholestérol (CYP46A1)) (Lund et al., 1999), peuvent provoquer des lésions cérébrales en déclenchant un mode de mort cellulaire très complexe définie comme l'oxiaptophagy, impliquant simultanément le stress oxydatif, l'apoptose et l'autophagie, et que leur effet cytotoxique ont été atténué par l'administration de l'alpha tocophérol et de l'acide docosahexaénoïque (Nury et al., 2015). Cependant, le 7KC et le 7b-OHC peuvent déclencher au niveau des cellules 158N oligodendrocytes murins, un mode apoptotique de la mort cellulaire associée à une perte de potentiel membranaire mitochondriale conduisant à l'activation de la caspase-3 (Ragot et al., 2011; Ragot et al., 2013). *In vitro*, le traitement des macrophages THP-1 avec le 25-hydroxycholestérol et le 7K ont montré une augmentation de la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires tel que l'IL-1b, IL-6, IL-8 ainsi que la sécrétion du TNFα et une expression accrue de NADPH oxydase et la production de ROS (Palozza et al., 2011). Bien que certaines études *in vitro* sur un modèle cellulaire humaine d'entérocyte CaCo-2 ont montré que leur action peut être modulée par l'intervention des composés phénoliques qui peuvent freiner la production des cytokines inflammatoires induites par les oxystérols (Fiorelle et al., 2013).

4. La lignée microgliale

a) Description des cellules microgliales

Les cellules microgliales ou microglie ont été découvertes par Pio del Rio Hortega (1882-1945), appelée auparavant cellule Hortega, ce sont des macrophages résidents, et les médiateurs clés de la neuro-inflammation (Schnegg et al., 2012), elles font partie des cellules gliales, d'origine mésodermique, elles sont présentes à tous les stades du développement du cerveau, (Ginhoux and Prinz, 2015), constituent un réseau de cellules immunocompétentes, leur activation est synonyme d'une agression ou d'une maladie neurologique (Lawson et al., 1990; Kreutzberg, 1996), ou suite d'une infection, d'une ischémie, d'un traumatisme, d'une maladie neurodégénérative (Gonzalez-Scarano et al., 1999). Elles sont considérées comme des cellules phagocytaires avec des ramifications courtes, situées dans le parenchyme nerveux, à l'exclusion de la lame basale des vaisseaux sanguins (Del Rio-Hortega, 2012; Iglesias-Rozas et Garrosa, 2012; Lassmann, 2012; Donnou, 2007) qui exercent dans le système nerveux central (SNC) une fonction

analogue à celle des macrophages dans la périphérie et contribuent à l'homéostasie du cerveau (Rafael et al., 2015). Elles ont un rôle physiologique dans le développement du SNC, et contribuent au développement des circuits neuronaux du cerveau (Ginhoux and Prinz, 2015), et assure la défense immunitaire du cerveau et sont très mobiles et polymorphes. Parmi c'est principales fonction, c'est qu'elles interviennent dans l'homéostasie du système nerveux centrale (Pfrieger et al., 2003). Ces cellules possèdent des capacités régénératrices et un potentiel immunorégulatrice, faisant d'eux des cibles attrayantes pour la manipulation thérapeutique. (Ginhoux and Prinz, 2015). Les travaux de Butovsky et al. 2012, ont montré que L'expression du gène CD39 (ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase), permet la distinction de la microglie.

b) Facteurs d'activation

Leur activation ainsi leur prolifération se produit dans presque toute pathologie unique affectant le système nerveux central. Elles peuvent subir la voie d'activation alternative exprimer des marqueurs de type M2 et contribuer à la neuroprotection (Rafael et al., 2015). Elles sont aussi activés au cours de la pathogénie de la maladie de Parkinson en réponse à différents stimuli proinflammatoires (Zhang et al., 2005). Des médicaments ont été suggérées pour empêcher l'activation de la microglie vu que certain l'ont considéré comme un problème (Aisen, 2002; Block et Hong, 2005; Gao et al., 2003; Rock and Peterson, 2006). Les microglies sont étroitement liées à la maladie la pathologie d'Alzheimer, car leur accumulation permet l'expression du CMH-II dans les zones entourant les plaques séniles (McGeer et al., 1987).

c) Relations Microglie et maladies peroxysomales

Les cellules de la microglie sont étroitement liées dans développement de la plupart des maladies neurodégénératives, dont la maladie de Parkinson (Zhang et al, 2005; Rogers et al, 2007; Doorn et al. 2012) la maladie d'Alzheimer (Rogers et al, 2007; Solito et Sastre, 2012; Mosher et Wyss-Coray, 2014), et d'AVC (Patel et al, 2013), la maladie de Huntington, la sclérose latérale amyotrophique, le syndrome de Shy-Drager, la sclérose en plaques et l'encéphalopathie du SIDA (McGeer et al., 1988). En outre, quand elles sont hyperactives, la neuroinflammation et la neurotoxicité augmentent de façon significative en produisant plusieurs médiateurs pro-inflammatoires, comme dans les maladies cérébrales chroniques telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la sclérose en plaques (Glezer et al., 2007). Certains auteurs ont rapporté que la sécrétion élevés des médiateurs pro-inflammatoires responsable des processus neurodégénératifs tel que la Prostaglandine E2 (PGE2), l'oxyde nitrique (NO), et le facteur de nécrose tumorale- α (TNF α) sont du à une aberration au niveau des cellules microgliales au cours de leur activation (Choi et al, 2009; Nam et al, 2008; Wang et al, 2010). Elles peuvent être stimuler par les Lipopolysaccharides, le glutamate, l'arachidonate et b-amyloïde (Brown et Neher, 2010; Hammond et al., 1999). L'étude menée par C.-H. Kang et al. (2012) a montré que l'expression de médiateurs pro-inflammatoires dans les cellules microgliales BV2 stimulés par LPS utilisé comme un inflammagen pour créer l'inflammation dans le cerveau (Lehnardt et al., 2003), est atténuée par la caféine. Cependant certain travaux réalisé in vitro ont montré qu'après activation par TNF α ou de

l'IL-1, les cellules microgliales produisent Le TGF β l'isoforme 1 (transforming growth factor) acteurs majeurs de cette immunosuppression contribuent généralement à inhiber les réponses inflammatoires (da Cunha et al., 1993; Chao et al., 1995; da Cunha et al., 1997, Pratt et McPherson, 1997). *In vitro* il a été démontré que l'exposition des BV2 à l'acrylamide peut réduire la viabilité cellulaire, ainsi l'induction de l'apoptose (Zhang et al., 2015). Récemment d'autres travaux *in vitro* sur les cellules BV2 de rat traité par le LPS, ont montré que l'utilisation d'un nouveau composé tel que N-adamantyl-4-méthylthiazol-2-amine (KHG26693) qui est un dérivé du thiazole, présente des effets anti-inflammatoires / anti-oxydantes contre l'inflammation induite par le LPS en supprimant plusieurs réponses inflammatoires par réduction des taux de facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α), l'interleukine-1 β (IL-1 β), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), les espèces réactives de l'oxygène (ROS), l'oxyde nitrique (NO), et la peroxydation lipidique (Eun-A et al., 2014).

5. La mitochondrie

a) La chaîne respiratoire

Il est constitué de cinq complexes à savoir le complexe I : NADH Coenzyme Q oxydoréductase, complexe II : Succinate désydrégénase, complexe III : Ubiquinol Cytochrome C Réductase, complexe IV : Cytochrome Oxydase, et le complexe V : ATP synthase, en catalysant la phosphorylation de l'ADP en ATP par le transfert des électrons entre ces cinq complexes intégrés (Chen et al., 2005; Ghezzi et al., 2012). Elle génère également des seconds messagers tels que H₂O₂ et NO, la médiation des signaux inflammatoires et la survie / mort de la cellule (Yin et al., 2013). Elle est considéré comme le siège de nombreuses réactions du métabolisme énergétique comme la bêta-oxydation des acides gras, les oxydations phosphorylantes, le cycle de Krebs et une partie de la néoglucogénèse et du cycle de l'urée (Nouette-Gaulain et al., 2007).

b) Le potentiel membranaire mitochondriale : : rôle dans le fonctionnement cellulaire et conséquences de son dysfonctionnement au niveau cérébrale vis-à-vis les maladies neurodégénératives

Le potentiel de la membrane interne mitochondriale ($\Delta\Psi_m$) sert à caractériser la capacité métaboliques et la mort cellulaire à un stade précoce (Chen, 1988). En effet, il est nécessaire pour le maintien de la fonction physiologique de la chaîne respiratoire (production d'ATP/phosphorylation oxydative). Il est mesuré par coloration au DIOC6(3) (3,3'-dihexyloxycarbocyanine iodide) par cytométrie en flux (Schlattner et al., 2001). Il est engendré à travers la membrane mitochondriale interne, du au mouvement des protons expulsé de la matrice mitochondriale vers l'espace inter-membranaire, au moment du transfert des électrons, cependant ce potentiel peut être en baisse au moment de l'ouverture du canal potassique ATP-dépendant mitochondrial conduisant à une entrée d'ions potassium dans la matrice mitochondriale (Nouette-Gaulain et al., 2007). Les pompes à protons créant une différence de potentiel qui

existe de part et d'autre de la membrane interne mitochondriale, et réalisent un gradient électrochimique ($\Delta\Psi_m$) entre l'espace intermembranaire et la matrice, provoquant une polarisation entre les deux faces de la membrane interne. Celle du côté matriciel étant négative par rapport à l'autre (plus de 100 mV). Ce gradient assurera le Fonctionnement de l'ATP synthase (Hüttemann et al., 2008). La dissipation de ce gradient permet la rentrée de protons et libère l'énergie nécessaire à la phosphorylation de l'ADP en ATP. En effet, une hyperpolarisation du potentiel membranaire mitochondriale ($\Delta\Psi_m$) peut être expliqué comme une caractéristique de développement et de progression tumorale, qui est associée à des altérations de la phosphorylation oxydative, mise en évidence par une diminution de la respiration cellulaire avec une stimulation concomitante de la glycolyse dans le but de maintenir la production d'ATP (Heerdt et al., 2006; Forkink et al., 2014; Sánchez-Cenizo et al., 2010). Par exemple, l'étude *in vitro* mené sur des cellules épithéliales hépatique de rat exposé au Benzo[a]pyrène, a montré que ce composé provoque l'élévation du ($\Delta\Psi_m$) qui dépend de l'oxyde nitrique (NO) vu qu'il joue le rôle d'un régulateur (Kévin et al., 2015; Beltrán et al., 2002; Nagy et al., 2003). En outre, l'incorporation du β -sitostérol dans la membrane mitochondriale favorise la fluidité de la membrane intérieure et, par conséquent conduit à l'augmentation du potentiel de membrane mitochondriale et qui peut être hydroxylé dans la mitochondrie (Aringer et al., 1976; Shi et al., 2013). Cependant certain travaux *in vivo* sur un modèle cellulaire tel que la microglie (BV2) ont montré que les phytostérols issues de l'huile d'argan et du cactus tel que le spinastérol et le schotténol, peuvent impacter le potentiel membranaire mitochondriale (El Kharrassi et al., 2014). Les travaux de Badreddine et al., 2015 suggèrent que ces deux phytostérols moduler l'activité mitochondriale et donc pourraient influencer métabolisme cellulaire. En outre, le métabolisme énergétique peut être influencé au niveau cérébrale par l'effet causer de l'acrylamide qui peut se traduire par l'inhibition de la succinate déshydrogénase, un gonflement mitochondrial, ainsi la diminution de l'état de respiration (Husain et al., 1986; Chen et al., 2013; Medrano et al., 1988). Un dysfonctionnement mitochondrial peut être déclencher à travers l'action des oxystérols (Vejux et al., 2009 ; Zarrouk et al., 2014). Une étude *in vitro* réalisé sur des cellules de la épithélium pigmentaire rétinien à démontré que le 27-OHC ainsi que le 7-KC peuvent induire une réduction du potentiel membranaire mitochondriale, Ce dernier peut être effondré le cas d'une ouverture du pore de transition de perméabilité mitochondriale qui est un canal non spécifique et situé à la membrane interne et qui est du a une surcharge calcique (Bo Li, 2009 ; Dasari et al., 2010 ; Gramajo et al., 2010). Le 7-KC et le 7bOHC ont un grand impact sur l'activité mitochondriale vu que son dysfonctionnement et ça dépolarisation peuvent être du à la production excessive du ROS (Galea et al., 2012), et qui sont impliqué dans les voies métaboliques tel que PDK1/PKB (Akt)/GSK3 (Ragot et al., 2011; Ragot et al., 2013). Cependant ce changement du potentiel peut conduire à des altérations de la fonction mitochondriale et jouent un rôle dans le pore de transition de la perméabilité et sa régulation par les membres de la famille Bcl-2 : protéine anti-apoptotique dans la voie intrinsèque de l'apoptose (Kluck et al., 1997; Ly et al., 2003). Certaines maladies mitochondriales peuvent manifester des anomalies de la substance blanche et baisse épisodique. Une baisse progressive peut également survenir suite à l'infection dans les leucodystrophies liées Pol III (Bernard et al., 1993) ou AGS (Crow et al., 2015), et après un traumatisme crânien

dans X-ALD ([Raymond et al., 2010](#)). Cette diminution peut aussi être observée chez les patients en sepsis, vu qu'il est considéré comme marqueur de sévérité ([Adrie et al., 2001](#)).

Elle constitue une cible potentielle directe ou indirecte de phytostérols ([Lizard et al., 2011](#)). En effet, une étude récente *in vitro* sur des cellules microgliales de BV2 a montré que leur exposition à l'acrylamide peut altérer le métabolisme énergétique de la cellule, et ceci par diminution de la respiration mitochondriale, une glycolyse aérobie, et l'abaissement de l'expression complexe I, III, et IV, des sous-unités, ainsi la diminution du potentiel de la membrane mitochondriale et le rapport de Bcl-2 / Bax, et l'activation de la voie apoptotique intrinsèque et des réponses inflammatoires. ([Zhigang et al., 2015](#)).

MATERIEL ET METHODE

III. MATERIEL ET METHODE

A. Caractérisation phénologique, génétique, morpho-anatomique et physico-chimique du germoplasme national cactus genre *Opuntia* Spp

1. Matériel végétal : origine et conduite technique

Notre étude est réalisée au niveau du cactétum d'Ain Nzagh, installé au CRRA-INRA de Settât. Ce site se trouve dans les environs de la ville de Settât à 7 km sur la route de Tnine Ouled Bouziri, à 400 m d'altitude, une latitude de 32.95° et une longitude de 7.62°. Le cactétum contient 126 accessions âgées de 4 ans, plantées en 16 lignes et chaque accession est représentée par 4 écotypes à l'exception la dernière accession 772 qui est représentée par 3 écotypes. Les écotypes installés au cactétum d'Ain Nzagh ont été collectés dans différentes régions du Maroc. Ces régions sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 8 : Les régions de collecte des écotypes installés dans le cactétum

Régions	N° d'accession
les plaines de la Chaouia côtière entre El Jadida et Mohammedia : Jamaât Riah.	A1 jusqu'à K3
Rhamna et Jbillette.	111 jusqu'à 1101
Le plateau des Phosphates et la zone d'Ouardigha.	211 jusqu'à 275
Le moyen Atlas entre Béni Mellal et Séfrou.	311 jusqu'à 371
Les plaines des Angades et les montagnes des Horst et Beni Znassen de l'oriental : Maroc oriental.	411 jusqu'à 471
Le Pré rif occidental.	611 jusqu'à 651
le Sousse et les Montagne de Ait Baâmrane : Agadir et haut Atlas.	711 jusqu'à 772

a) Période de collecte

Le cactus *Opuntia* a été collecté en 2011 est installé à (CRRA-INRA Settât) entre les mois de janvier et mars dans plusieurs régions du Maroc.

b) Conduite de la culture

La plantation a été effectuée à partir de grandes boutures de raquettes récoltées, séchées avant d'être directement plantées dans le sol préparé. La partie basale des raquettes a été placées horizontalement avec une légère inclinaison afin d'augmenter la surface de contact avec le sol. Ce site, au regard du nombre élevé d'accession, servira à une étude à différents niveaux : morpho-anatomique, phénologique, physico-chimique et génétique.

c) *Description et localisation du site expérimentale numéro 2: Jamaât Riah*

Le matériel végétal étudié est le genre *Opuntia Spp* qui comprend deux espèces : *Opuntia ficus indica Mill* et *Opuntia Megacantha Slam Dyk*. Chacune des plantes étudiées est âgée de 10 ans et manifestement saine, vigoureuse. Sur ce site, l'âge des plantes nous a donné l'opportunité de récolter les fruits dans le mois de juillet à partir du cactétum qui contient 33 écotypes provenant de différentes région du Maroc, et installé au site expérimentale de l'INRA Jamaât Riah-Settat de la région côtière des plaines de la Chaouia entre El Jadida et Mohammedia.

2. **Etude phénologique des écotypes de cactus issue de différentes région du Maroc**

Afin de comprendre le comportement physiologique des écotypes de cactus genre *Opuntia*, nous avons réalisée une étude phénologique. Donc nous avons déterminé le nombre des raquettes totales pour une première évaluation de l'état initial des écotypes du cactétum, c'est-à-dire qu'on va essayer de retracer la phénologie durant l'année 2012 (figure 6) en sachant que la plante mère donne plus de raquette que de fruit à son jeune âge. La production de la saison au cours du printemps pour le cactus se déroule entre les mois Mars à Juin et une autre production au cours de l'automne (hors saison) se déroule durant les mois de Septembre à Décembre. Puis un suivie de l'apparition des bourgeons indéterminés et leur évolution en bourgeons végétatifs (biomasse : production de raquette) et fructifères ou florale (fleur = fruit= taux de fructification) produits aux différents niveaux hiérarchiques de la plante : raquette mère, raquette de la première année, raquette de la deuxième année. Pour les écotypes qui ont donné des fruits, nous avons suivi la croissance et le développement de quelque fruit en marquant des derniers et en mesurant la longueur et la largeur durant six observations à partir la dernière semaine du mois de Mai. L'objectif est déterminé les écotypes en fonction de leur origine et espèces ceux qui ont un taux élevée de production en biomasse (production de bourgeons végétatif = absence de situation de stress), et ceux qui ont un taux élevée de production fructifère (production de fruit = situation de stress = en cours d'adaptation édaphoclimatique). Les écotypes donnant des bourgeons, sont considérés comme précoces ou moyennement précoce. Par contre les écotypes qui n'ont pas donné de bourgeons sont considérés comme tardifs. La méthode d'analyse statistique utilisée dans notre étude est l'ANOVA (Analysis Of Variance) qui est une technique statistique permettant de comparer les moyennes de plus de deux populations. Son but est en fait de procéder à une sorte de généralisation de la comparaison des moyennes lorsqu'il y a plus de deux valeurs à comparer.

- Le taux de bourgeonnement global est le suivent :

$$\text{Taux de bourgeonnement} = 100 * [\text{Nbre Rqt Brg} / \text{Nbre Tot Rqt}]$$

- Nbre Rqt Brg : Nombre raquettes bourgeonnées
- Nbre Tot Rqt : Nombre total de raquettes.



Figure 6 : Apparition des bourgeons indéterminés dans la raquette mère



Figure 7 : l'évolution des bourgeons indéterminés en bourgeons végétatifs



Figure 8 : Croissance de bourgeons fructifères /florale ou nouvelles fruits

d) La croissance et le développement de raquettes

Dans cette étude, nous avons suivi la croissance et le développement de nouvelles raquettes au cours du temps. L'observation est faite sur deux plantes parmi les quatre de chaque écotype en excluant les écotypes non bourgeonnées et en mentionnant les raquettes concernées par cette étude (figure 9).

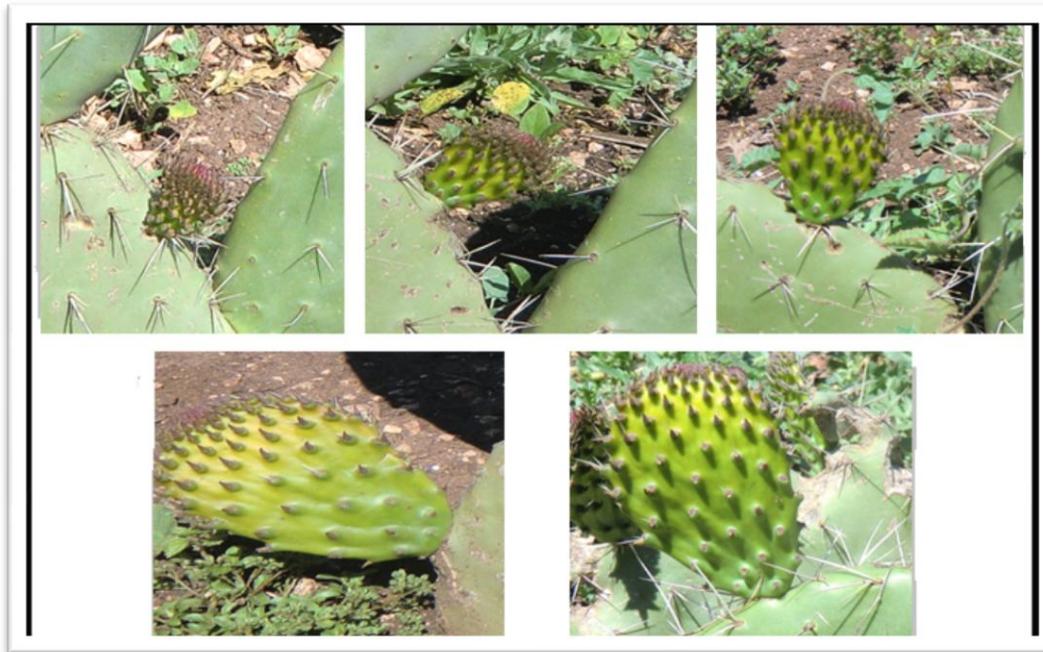


Figure 9 : Croissance de bourgeons végétatifs ou nouvelles raquettes chez l'espèce *Opuntia Megacantha*

e) Croissance et Développement du fruit

Pour les écotypes qui ont donné des fruits, nous avons suivi la croissance et le développement de quelques fruits en marquant ces derniers et en mesurant la longueur et la largeur en six observations à partir la dernière semaine du mois de Mai (figure 10).



Figure 10 : Croissance de bourgeons fructifères ou nouvelles fruits de l'espèce *O. Ficus Indica*

3. Etude de la diversité génétique du cactus marocain par les descripteurs morphologiques et les marqueurs moléculaires

a) *Polymorphisme morphologique*

Dans cette étude, dix traits morphologiques quantitative de la plante comprenant la hauteur, le diamètre, le nombre moyen de raquettes, la hauteur des cladodes, la largeur des cladodes, l'indice de forme de cladode (pour chaque raquette c'est le rapport de la longueur divisé par leur largeur), épaisseur des cladodes, la distance moyenne entre les aréoles, nombre moyen d'épines par aréole. Les données ont été enregistrées à partir de quatre plantes choisies au hasard (2 ans) pour chaque adhésion. Les données morphologiques ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA) et des moyens ont été séparés avec le test de Student-Newman-Keuls pour une probabilité $< 0,05$. Une matrice de proximité a été générée en utilisant la distance euclidienne au carré puis regroupement des écotypes a été réalisé en utilisant la méthode Ward. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel SPSS v 16,0 (IBM, Chicago, IL, USA).

b) *Polymorphisme moléculaire*

(1) Extraction de l'ADN

Après avoir prélevé les raquettes des écotypes sélectionnés, nous avons isolés uniquement l'épiderme des cladodes qui a été lyophilisé, broyé puis congeler (en parallèle avec les épines). Dans un premier temps nous avons utilisé le protocole MATAB (mixed alkyltrimethylammonium bromide) pour extraire l'ADN, ensuite nous avons appliqué un nouveau protocole CTAB (hexadecyltrimethylammonium bromide) sur l'épiderme de la raquette, vu que la méthode MATAB présente des difficultés d'extraction d'ADN. Selon le protocole modifié du CTAB pour l'extraction d'ADN, nous avons prélevé 1g de matière fraîche lyophilisé ensuite on ajouter 10 ml de tampon d'extraction CTAB puis agitation sur vortex pendant 15 secondes, incubation à 65°C dans un bain marie pendant 1h, avec agitation tout les 10 minutes par retournement de tube, et laisser refroidir pour avoir une petite pelote blanche, suivie de deux extractions (V/V) de chloroforme : agitation 15 secondes sur vortex et centrifugation pendant 20 minutes à 25000 g à 4°C. Le surnageant est transféré dans un nouveau tube et ajout d'un volume égal d'isopropanol (le cas ou il n y a pas de précipitation placé à -20°C minimum 1h). Ensuite une centrifugation à 25000 g pendant 3minutes (pelote ADN blanche). Le culot est repris avec 1ml d'éthanol (75%) dans un tube eppendorf, centrifugation à 25000 g pendant 3 minutes à 4°C. Le culot de l'ADN est repris dans 500 µl de TE (10mM Tris-HCL, pH 8 1mM EDTA)et le conserver à -20°C.

(2) Amplification des fragments d'ADN

(a) Réalisation de la PCR par les techniques microsatellites-ISSR (*inter-simple sequence repeat*)

(i) Amorces microsatellites utilisées

Nous avons testé 14 amorces ISSR en utilisant la technique simple PCR, afin de sélectionner les amorces de type microsatellites-simple ISSR compatibles sur les écotypes de cactus sélectionnées, et nous n'avons retenues que les amorces compatibles (Sedra et al, 1998). Le volume réactionnel pour une PCR est de 25 µl composé de : 3µl d'ADN (20µg/ml), 0,2 µl du Taq (5u/ µl), 2,5 µl de l'amorce (10 mM), 1 µl de d'NTP (10 Mm), 2,5 µl du tampon de la Taq, 3,5 µl de MgCL2 (25 mM), 12,3 µl de l'eau distillée stérile

(ii) Les étapes de l'amplification

L'amplification de l'ADN est réalisée dans un thermocycleur, selon le programme suivant : une pré dénaturation pendant 5 minutes à 94 °C. Une étape de 45 cycles d'amplification : dénaturation pendant 15 secondes à 94°C, hybridation des amorces sur l'ADN pendant 30 secondes à 51°C , élongation pendant 1 minute à 72°C Et élongation supplémentaire pendant 7 minutes à 72°C.

(b) Réalisation de la PCR par la technique RAPD (*random amplified polymorphic DNA*)

(i) Amorces RAPD

Nous avons testé 34 amorces RAPD (séquences de 10 bases nucléaires) en utilisant la technique de PCR, afin de sélectionner les amorces de type RAPD compatibles sur les écotypes de cactus sélectionnées. Le volume réactionnel est de 25 µl composé de : 5µl d'ADN (20µg/ml), 0,2 µl du Taq (5u/ µl), 0,4 µl de l'amorce (10 mM), 0,4 µl de d'NTP (10 Mm), 5 µl du tampon de la Taq, 3,5 µl de MgCL2 (25 mM), 10,5 µl de l'eau distillée stérile.

(ii) Les étapes de l'amplification

L'amplification de l'ADN est réalisée dans un thermocycleur, selon le programme suivant (Sedra et al, 1998) : une pré dénaturation pendant 5 minutes à 94 °C et une étape de 30 cycles d'amplification : dénaturation pendant 1 minute à 94°C, hybridation des amorces sur l'ADN pendant 1 minute à 36°C, élongation pendant 1 minute et 30 secondes à 72°C et élongation supplémentaire pendant 15 minutes à 72°C. Une fois l'amplification est terminée, on ajoute 5 µl de Bleu de Bromophénol aux produits amplifiés. Ci-joint le tableau 9 qui présente les différentes séquences d'amorce utilisée pour ISSR et RAPD.

Tableau 9 : Liste et caractéristiques des amorces utilisées pour évaluer la variabilité génétique dans et entre *Opuntia spp* du Maroc

Type d'amorce	Code d'amorce	Séquence amorce 5' - 3'	Température de recuit(°C)	Nombre total de bandes	Nombre de bandes polymorphhes	Gamme de taille (bp)	PIC
ISSR	ISSR-8	ATCAATCAATCAATCA	30	7	7	234-1966	0.97
	ISSR-17	ATCATCATCATCATC	54	4	4	225-1268	0.93
	ISSR-29	TGTATGTATGTATGTATGTACG	54	6	6	258-731	0.62
	ISSR-31	GACAGACAGACAGACAGACA	54	9	9	125-1047	0.90
	ISSR-34	CCTGGGTTCC	71	7	7	920-2077	0.86
	ISSR-38	GGTGGCGGGA	71	8	7	391-1275	0.80
	ISSR-42	ATCATCATCATCATCATCATC	60	-	-	-	-
	ISSR-46	ATCATCATCATCATC	60	8	7	158-2127	0.84
	ISSR-48	CATCAGAAGTGCGTTCGTAGG	60	3	3	400-900	0.78
	ISSR-49	TGTGTGTGTGTGTGTGTGTG	60	-	-	-	-
	ISSR-50	AGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG TC	73	7	7	271-889	0.80
	ISSR-51	TCCTCCTCCTCCTCCAG	60	-	-	-	-
	ISSR-53	TCTCTCTCTCTCTCTCTC	71	-	-	-	-
	ISSR-54	TCCTCCTCCTCCTCCG	52	7	7	191-1047	0.77
Total Mean	14			66 6.6	64 6.4		0.82
RAPD	UBC-515	GGGGGCCTCA	36	-	-	-	-
	UBC-518	TGCTGGTCCA	36	-	-	-	-
	UBC-523	ACAGGCAGAC	36	-	-	-	-
	UBC-528	GGATCTATGC	36	-	-	-	-
	UBC-529	CACTCCTACA	36	-	-	-	-
	UBC-531	GCTCACTGTT	36	-	-	-	-
	UBC-533	GCATCTACGC	36	-	-	-	-
	UBC-536	GCCCCTCGTC	36	-	-	-	-
	UBC-547	TATGACCTGG	36	-	-	-	-
	UBC-548	GTACATGGGC	36	-	-	-	-
	UBC-551	GGAAGTCCAC	36	-	-	-	-
	UBC-562	CAAAGTAGCC	36	-	-	-	-
	UBC-565	GGTCGATTTTC	36	-	-	-	-
	UBC-	CCACATGCGA	36	-	-	-	-

566	UBC-	AGACACCTGA	36	-	-	-	-
567	UBC-	ACCTGTTCTC	36	-	-	-	-
568	UBC-	CGAATTGCTG	36	-	-	-	-
569	UBC-	GGCCGCTAAT	36	-	-	-	-
570	UBC-	GCGCGGCACT	36	6	6	464-1375	0.7
571	UBC-	TTCGACCATC	36	-	-	-	6
572	UBC-	CCCTAATCAG	36	-	-	-	-
573	UBC-	GCCAGACAAG	36	-	-	-	-
574	UBC-	GTCTGATGTG	36	-	-	-	-
577	UBC-	GCGGGCAGGA	36	-	-	-	-
584	UBC-	GCTACTAACC	36	-	-	-	-
587	UBC-	CAGAGGTTGG	36	-	-	-	-
588	UBC-	GACGGAGGTC	36	-	-	-	-
589	UBC-	TCCCTCGTGG	36	-	-	-	-
591	UBC-	GGGCGAGTGC	36	-	-	-	-
592	UBC-	CGAGCTTTGA	36	-	-	-	-
593	UBC-	CCCCTCGAAT	36	-	-	-	-
596	UBC-	ACGGGCGCTC	36	-	-	-	-
598	UBC-	CAAGAACCGC	36	-	-	-	-
599	UBC-	GAAGAACCGC	36	-	-	-	-
600							
Total	34			6	6		
Mean				6	6		0.7
							6

(c) *Electrophorèse en gel d'agarose*

Pour la préparation du gel, on pèse 0,8 g d'agarose pour la migration d'ADN génomique et 1,8 g pour la migration des bandes amplifiées par PCR. On ajoute 100 ml de TBE 1X (voir annexe), on chauffe jusqu'à l'ébullition pendant 2 minutes dans une micro-onde et on laisse refroidir, puis on ajoute 6,6 µl de BET pour visualiser les bandes sous les ultraviolets. Ensuite on coule le gel et on le laisse refroidir à température ambiante. Une fois le gel est refroidi, les échantillons d'ADN sont déposés dans les puits. L'ADN est visualisé par coloration à l'aide d'une solution de Bromure d'éthidium et les bandes sont notées par amorces et par génotype du cactus.

(d) Détermination de la taille des bandes

(i) Analyses statistiques des résultats

Les résultats obtenus à partir des bandes polymorphes de microsatellites ISSR et RAPD sont rassemblés dans des matrices, et pour chaque gel, on a enregistré la présence (1) ou l'absence (0) de bande pour chaque piste sur le gel d'agarose; par conséquent, une matrice de données binaires a été créée. Pour chaque marqueur, nous avons calculé la teneur de l'information polymorphe (PIC) en utilisant la formule développée par [Botstein et al. \(1980\)](#): $PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - 2 \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n p_i^2 p_j^2$, où p_i et p_j sont les fréquences des allèles i^{th} et j^{th} et n est le nombre total de ces allèles. Les coefficients ont été calculés et un dendrogramme a été généré sur la base de la matrice de similitude et à l'aide du module SAHN, Procédé pair non pondéré-groupe d'analyse arithmétique (UPGMA): ce genre de programme est spécifique dans l'étude de la biologie moléculaire vis-à-vis la diversité génétique, afin de déterminer un dendrogramme. Par la suite, une analyse en composantes principales (ACP) a été effectuée, cette analyse sert à visualiser la disposition et la distribution entre les écotypes par rapport aux facteurs les plus dominants, afin de montrer leur répartition dans deux et trois dimensions. Toutes ces analyses ont été effectuées en utilisant le logiciel NTSYSpc v 2.1 ([Rohlf, 2000](#)).

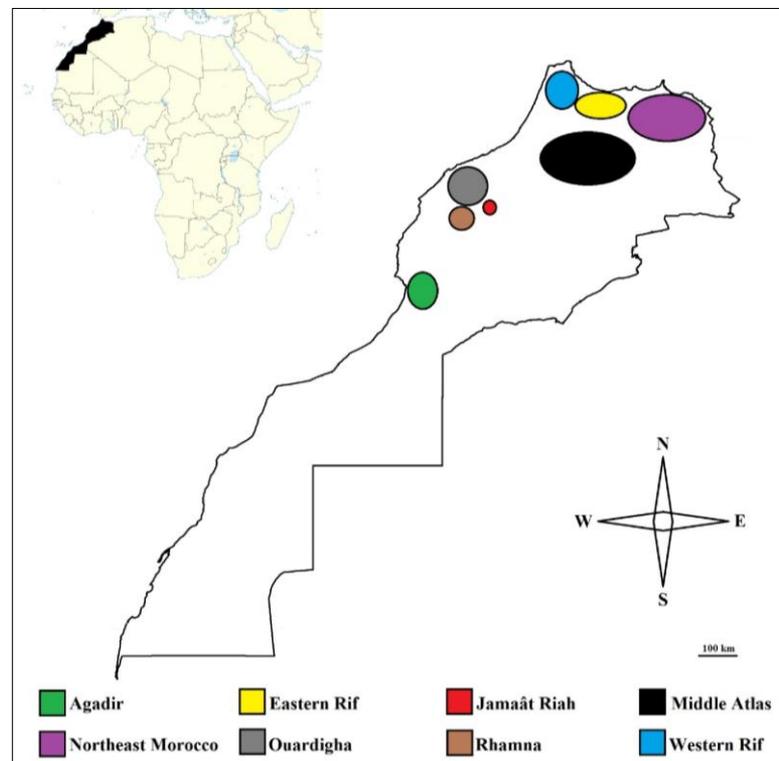


Figure 11 : Carte du Maroc montrant l'origine géographique des 124 accessions d'*Opuntia* spp. Utilisées appartenant au cactéum AIN Nezagh (1^{er} site expérimentale comportant des écotypes âgés de 4ans). D'après [El Kharrassi et al., 2015](#).

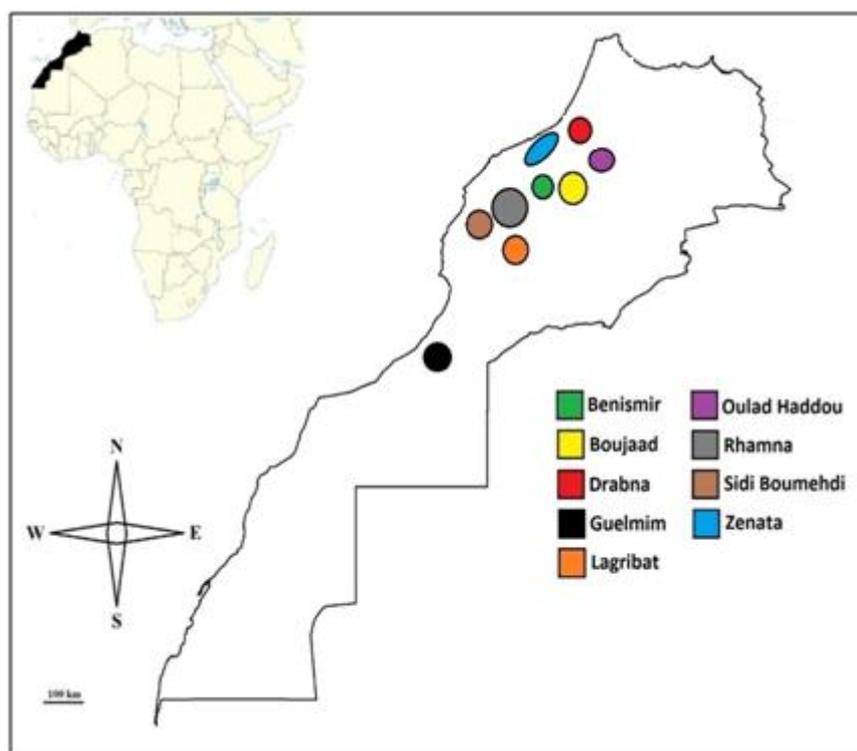


Figure 12 : Carte du Maroc montrant les origines géographiques des accessions appartenant à deux espèces *O. ficus indica* et *O. de megacantha* utilisées dans cette étude appartenant au deuxième site expérimentale Jamaât Riah, comportant 33 écotypes âgées de 10 ans. D'après [El Kharrassi et al., 2016](#).

4. Etude morpho-anatomique de cactus genre (*Opuntia spp*) marocain

Toutes les observations sont effectuées sur des cladodes arrivées à maturité et âgées d'un an à deux ans. Les caractères liés aux cladodes nous ont permis de faire une classification plus approfondie. Il s'agit de la détermination de la longueur des raquettes (en cm) qui elle est mesurée de la base au sommet le long de la médiane, la largeur des raquettes (en cm) qui est mesurée sur la partie la plus large et la forme : le rapport longueur/ largeur a permis de classer les cladodes selon différentes formes par la formule suivante $X= A/B$ (Figure 14).

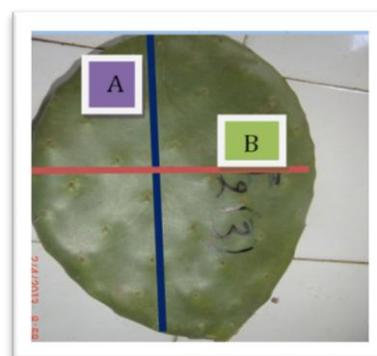


Figure 13: Mesure biométrique de la raquette, **A**= longueur, **B**= largeur

- Si $X \geq 3$, la forme est elliptique étroite
- Si $2 \leq X < 3$, la forme est elliptique moyenne
- Si $1 \leq X < 2$, la forme est elliptique large
- Si $X \approx 1$, la forme est circulaire (figure 14)

Forme des cladodes

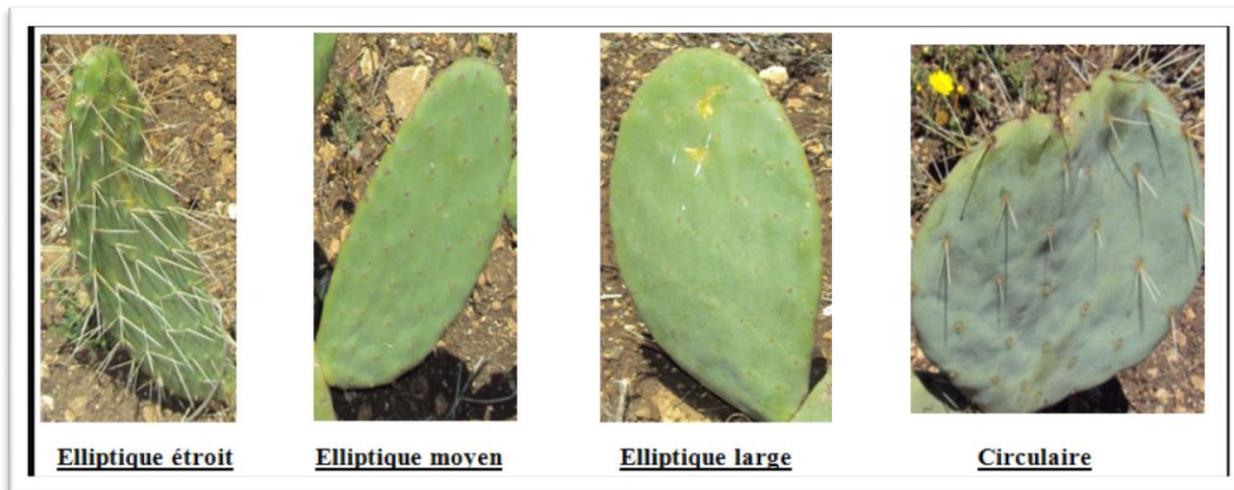


Figure 14 : Présentation des différentes formes de raquette de cactus genre Opuntia

L'épaisseur des raquettes : elle est mesurée au milieu de la marge de la raquette. Le nombre d'aréole par raquette et les distances entre les aréoles à différentes positions. Le nombre d'épines par aréole : elle est déterminée au sommet, au milieu et à la base. Pour les épines : les observations des épines sont effectuées pour déceler la forme d'aiguillon selon les formes (figure 16).



Figure 15 : Présentation des différentes distances mesurées entre les aréoles

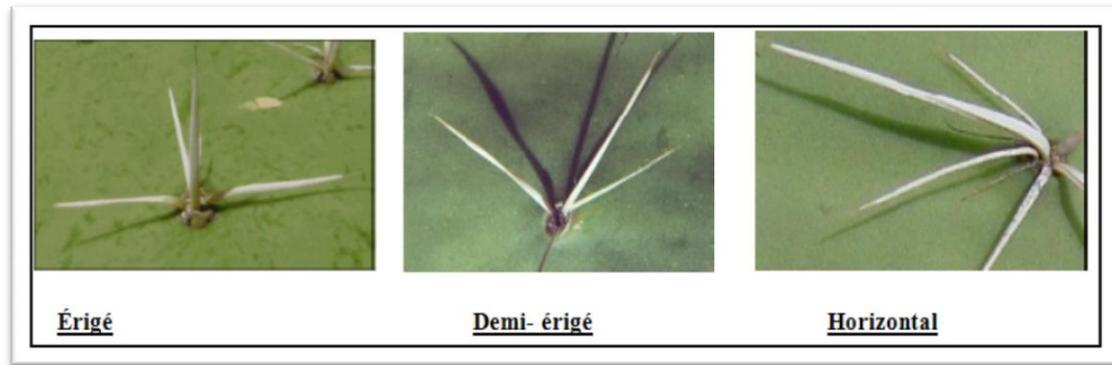


Figure 16 : Aiguillon central : port Érigé, demi-érigé et horizontal

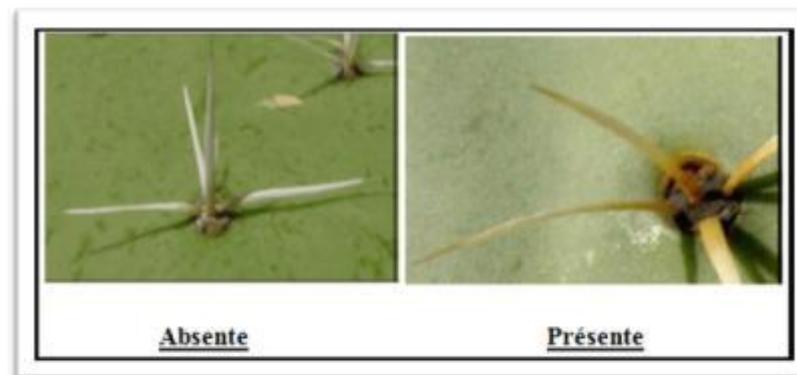


Figure 17: Aiguillon central : courbure absente ou présente et Torsion absente ou présente

(3) Etude Agronomique

(a) Mesure de la plante entière exhaustive

Les observations et les mesures réalisés sont effectuées sur des plantes âgées de quatre ans qui nous a permis de classer les pieds selon : le nombre total des raquettes qui est le nombre de toutes les raquettes de la plante et le nombre de raquettes de l'année qui est le nombre des raquettes qu'ont développées cette année.

(b) Mesure Agronomique sur la raquette

(i) Non destructive exhaustive

Toutes les observations sont effectuées sur des cladodes arrivées à maturité et âgées d'un à deux ans. Il s'agit de la détermination de: la longueur des raquettes (en cm) qui est mesurée de la base au sommet le long de la médiane, la largeur des raquettes (en cm) qui est mesurée à la partie la plus large et l'épaisseur des raquettes qui est mesurée au milieu de la marge de la raquette.

(ii) Destructive 2/4:

Dans cette étude les mesures sont apportées sur des raquettes saines vigoureuses âgées de un à deux ans. Les caractères mesurés sont : la longueur (en cm), la largeur (en cm), l'hauteur (en cm), épaisseur (en cm) et poids frais (en g). Les mesures sont conçues de telle sorte que l'on puisse prélever des parties de plantes pour effectuer des mesures ou des dénombrements sans nuire aux observations ultérieures qu'on veut poursuivre jusqu'à la fin de la période de végétation. La matière sèche des raquettes récoltées (pesées au champ) est déterminée après coupage de ces dernières en petits morceaux (1 à 2 cm) puis une dessiccation à l'étuve à une température de 60C° pendant 48h.



(c) **Figure 18** : Présentation de quelques étapes lors d'une mesure destructive

(c) Mesure agronomique sur le fruit

Pour chaque écotype nous avons prélevé trois fruits à partir du deuxième site expérimentale (Jemaat Riah), avec un total de 99 fruits pour tous les écotypes. Les fruits ont été prélevés avec un petit morceau de raquette (au stade mature déterminé par visuellement) afin de garder un métabolisme stable durant la saison d'été. Les échantillons ont été conservés à une température ambiante au laboratoire. Après observation, nous avons remarqué la présence de cinq types de fruits distingués par leur couleur. Des fruits de couleur rose (R), vert (V), rose/rouge (RR), jaune orangé (JO) et orange (O). Chaque type de fruit a été épluché, broyé puis filtré sur un tamis ordinaire, afin de séparer les graines et obtenir le jus correspondant. Les jus obtenus ont été mis en aliquotes stockés à -28°C jusqu'à utilisation. La durée du stockage varie entre cinq et six mois. Pour chaque analyse effectuée, le nombre de répétitions a été fixé à deux.

(i) Non destructive exhaustive

Les observations sont effectuées depuis l'appariation des fruits jusqu'à la maturité on consiste ici de faire des mesures chaque 6 jours pour suivre l'évolution de la taille en fonction de temps. Il s'agit de la détermination de: la longueur des fruits (en cm) qui est mesurée de la base au sommet le long de la médiane. Et le diamètre des fruits qui est mesurée au milieu de la marge du fruit.

(ii) Destructive 2/4

Nous avons étudié certains caractères, à savoir le poids et la composition du fruit, le diamètre (D), la taille du fruit (Pf), la teneur en eau de la chair (TE), et le pourcentage de la chair (%P), la relation poids frais : (matière fraîche & matière sèche, part du jus), et la pulpe.

(d) Saisie et analyses des données

Toutes les mesures qui ont été prises ont été saisies dans les tableaux Excel ont été soumises à une analyse de variance (Anova) Test par paire n'a été effectuée que lorsque le test de F dans la variance s'est révélé significatif au $p = 0,05$. Afin de déterminer les différences entre les traitements à l'aide de la méthodologie de conception asymétrique, des moyens de traitement n'ont pas été comparés en utilisant le test de différence significative moins standard, mais plutôt des différences de t probabilité sur les différences sages paire.

5. Caractérisation physico-chimique des différentes parties de la plante de cactus

✓ Raquette

a) *Teneur en eau*

Un échantillon de raquette, de poids déterminé, est placé dans une étuve à une température voisine de 52°C. Il est pesé à des intervalles de temps réguliers jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Après dessiccation et refroidissement, l'échantillon est pesé à nouveau et la teneur en eau est ainsi calculée.

b) *Teneur en cendres brutes*

L'échantillon ($2 \pm 0,0003$ g) de raquette est placé dans un creuset, préalablement calciné et taré, à 550°C dans un four à moufle à chauffage électrique pendant 4 heures jusqu'à incinération totale. Après refroidissement, le résidu obtenu est pesé et la teneur en cendres est alors déterminée. Pour chaque analyse effectuée, le nombre de répétitions a été fixé à deux.

c) *Dosage de protéines totales*

Le principe est la détermination de l'azote total, il est réalisé par la méthode (**Kjeldhal, 1883**) qui s'effectue en trois étapes : Minéralisation de la matière organique par l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur ; Distillation ; Titration de l'ammoniac libéré. Le principe consiste à hydrolyser la matière sèche par ébullition en présence d'acide sulfurique concentré. Dans ces conditions, l'azote est transformé en ammoniacque fixée par l'acide sulfurique sous la forme de sulfate d'ammonium. Cette solution est titrée par de la soude et dosé, après être reçue dans une solution d'acide borique. La teneur en protéine exprimée en pourcentage est obtenue en multipliant la teneur en azote par un coefficient de 6,25.

Etape 1 : La minéralisation, on prélève $0,25 \pm 0,0003$ grammes de chaque échantillon (matière sèche) de raquette dans des tubes d'hydrolyse avec 3 grammes de catalyseur à partir d'un mélange composé de : 10 grammes de cuivre et 100 grammes de sulfate de potassium. Ces produits doivent être mélangés et broyés. Ajouter 6 ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) et porter à ébullition pendant 30 minutes à 320 °C, après on augmente la température à 420 °C pendant une heure, l'extrait doit être clair. Sinon nous continuons l'hydrolyse jusqu'à ce que cette condition soit acquise. Laisser refroidir sous la hotte, jauger à 100 ml avec de l'eau distillée et mélanger au vortex. Cette étape a pour but la dégradation de la matière organique azotée et sa transformation en sel d'ammonium. Etape 2: La distillation, l'appareil de distillation est capable de mélanger 50 ml d'eau distillée, 40 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) et 10 ml d'acide borique (H_3BO_3). Son principe est de transformer l'ammonium sous sa forme volatile, l'ammoniacque. La soude est ajoutée en excès afin de changer le pH acide en un pH basique, ce qui a pour effet d'obtenir de l'ammoniacque. L'ammoniacque (NH_3) est entraîné par la vapeur d'eau par distillation. Les vapeurs

d'ammoniaque sont condensées au contact d'un réfrigérant et recueillies dans une solution contenant de l'acide borique. L'acide borique va retenir l'ammoniaque sous sa forme acide. Etape 3: La titration, on titre, avec de l'acide sulfurique 0,05N, la solution jusqu'à équivalence par le virage de l'indicateur coloré.

d) Dosage des sucres totaux

La détermination du sucre total est effectuée par la méthode **Dubois et al., (1956)** ou méthode phénol /acide sulfurique passant par trois étapes : Hydrolyse acide, filtration et lecture de l'absorbance. En présence d'acide sulfurique concentré, les produits se condensent avec le phénol pour donner des complexes de couleur jaune–orangée, l'apparition de ces complexes est suivie par mesure de l'absorbance à la longueur d'onde de 490 nm.

Etape 1 : Hydrolyse acide de la liaison glycosidique dans le polyose. Peser, dans un bécher, 0,5 g d'échantillon sec de raquette. Ajouter 20 ml d'acide sulfurique 0.5 M. Placer dans une étuve pendant 3h à 105°C.

Etape 2 : Filtration, on transvase quantitativement le contenu du bécher dans une fiole de 500 ml. Ajuster le volume par l'eau distillée. Filtrer la solution.

Etape 3 : Lecture de l'absorbance, on dépose avec précaution, dans un tube en pyrex, 1 ml de filtrat dilué 1/10. Ajouter 1ml de phénol et 5 ml d'acide sulfurique concentré. Maintenir les tubes 5 min à 100°C. Après 30 minutes, la lecture de l'absorbance est effectuée à 490 nm à l'aide d'un spectrophotomètre et la coloration reste stable pendant 3 à 4 heures. Pour chaque série de détermination, une gamme d'étalonnage est nécessaire. Une solution de glucose est utilisée, différentes dilutions sont préparées allant de 0 à 100 µg/ml.

Conditions d'applications : L'étape d'addition de l'acide sulfurique dans la solution phénolique aqueuse doit être réalisée avec précaution sous la hotte en raison d'un dégagement important de chaleur et de vapeur toxique lors de l'addition d'acide sulfurique.

✓ **Raquette, épine, fleur**

e) Dosage des Polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (FC) : 100 µl d'extrait de la poudre de (raquette, fleur, épine) sont mélangées avec 500 µl du réactif FC et 400 µl de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 7,5 % (m/v). Le mélange est agité et incubé à température ambiante dans l'obscurité pendant dix minutes et l'absorbance est mesurée à 760 nm par un spectrophotomètre UV (Perkin Elmer). Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Courbe d'étalonnage : Un standard de calibration a été préparé en utilisant des solutions d'acide gallique de différentes concentrations de 0.03 jusqu'à 0.3 g/l. 100µl de la solution diluée est oxydée par le réactif de Folin-Ciocalteu (Dilué 10 fois), laissé 5 minutes et puis neutralisée avec 2 ml de carbonate de sodium 20% puis les

solutions ont été agitées immédiatement et maintenues à température ambiante dans l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760 nm.

f) Dosage des Flavonoïdes totaux

La détermination des flavonoïdes totaux a été effectuée selon la méthode décrite par **Dehpeur et al., (2009)**. Cinq cent μl d'extrait méthanoïque, comprenant les polyphénols, issus de la raquette, de la fleur ou de l'épine sont ajoutés à 1500 μl de méthanol à 95 %, 100 μl de chlorure d'ammonium AlCl_3 à 10 % (m/v), 100 μl d'acétate de sodium 1 M et 2,8 ml d'eau distillée. Le mélange est agité puis incubé à température ambiante dans l'obscurité pendant 30 min. Le blanc est réalisé en remplaçant l'extrait par du méthanol à 95 % et l'absorbance est mesurée à 415 nm en utilisant un spectrophotomètre UV (Perkin Elmer). Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine.

Courbe d'étalonnage: Un standard de calibration a été préparé en utilisant des solutions de quercétine à différentes concentrations de 0,03 jusqu'à 0,3 g/l. 0,5 ml de la solution diluée a été mélangé avec 1,5 ml de éthanol 95%, est mis à réagir avec 0,1 ml de chlorure aluminium 10%, 0.1 ml d'acétate de sodium 1M et 2,8 ml d'eau distillée puis laissé 30 minutes dans l'obscurité. L'absorbance a été déterminée à 415 nm. En utilisant les valeurs des absorbances obtenues pour les différentes solutions de quercétine.

g) Dosage du phosphore lipidique

L'extraction des phospholipides a été réalisée par la méthode de **Folch et al., (1975)**. Dix g de fleur en poudre sont placés dans un bécher broyées en présence de 5 volume du mélange chloroforme/méthanol (2/1 ; v/v). Pour accélérer la séparation des 2 phases, nous ajoutons 0,2 v/v de solution aqueuse de chlorure de potassium 0,8%. Mettre sous agitation pendant 1 heure. Après décantation, la phase chloroformique est filtrée puis évaporée au rota vapeur. Le résidu obtenu de lipides totaux est dissout dans 3 ml de solvant d'extraction puis conservé à -28°C jusqu'à utilisation.

(1) Minéralisation

Il s'agit de minéraliser la matière organique. Le phosphore lipidique est libéré par chauffage en présence de 0,45 ml d'acide perchlorique 70%, l'opération est effectuée sous une hotte, par chauffage dans un bain à sable pendant environ 1h jusqu'à la libération de carbone sous forme de CO_2 , l'azote sous forme de NH_4^+ , l'hydrogène sous forme de H_2O et le phosphore sous forme de H_3PO_4^- .

(2) Dosage du phosphore

Le phosphate en présence d'un excès de molybdate d'ammonium donne un complexe phosphomolybdeux-molybdique de couleur bleue. Une gamme d'étalon allant de 0,5 à 3 μg de phosphore est réalisée avec une solution de phosphore inorganique (KH_2PO_4) à 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Nous ajoutons successivement après refroidissement 3,5ml d'eau

distillée ; 0,5ml de molybdate d'ammonium à 2.5% p/v ; 0,5ml d'acide ascorbique à 10% p/v. (Tableau 12, voir annexe)

✓ **Jus du fruit**

h) Dosage des Caroténoïdes

La détermination des caroténoïdes a été réalisée sur une aliquote de l'hexane par la méthode spectrophotométrique (Lee & Castle, 2001). 2 ml du jus ont été mélangés avec 5 ml de solvant d'extraction (hexane : acétone : éthanol, 50 : 25 : 25, v/ v/ v), agité et centrifugé pendant 5min à 6500 rpm à 5°C. La couche supérieure de l'hexane contenant des caroténoïdes est récupérée et ajusté à 25 ml avec de l'hexane et ensuite mesurée en utilisant un spectrophotomètre à 450 nm. La teneur des caroténoïdes totaux on été calculées en mg B-carotène par litre en utilisant un coefficient d'extinction de 2505 (De Ritter et Purcell, 1981). Les concentrations en pigments-étalons sont calculées d'après la formule générale reprise de Bidigare (1991) :

Concentration en pigment (mg /l) dans l'extrait : $(DO*1000) / \alpha*L$

DO : densité optique

α : coefficient spécifique d'extinction ($l\ g^{-1}\ cm^{-1}$)

L : longueur du trajet optique en cm

i) Dosage de la Vitamine C (Acide ascorbique)

La méthode de titrage redox indirect a été utilisée pour quantifier la vitamine C dans le jus de fruit. Une portion aliquote de 10 ml de jus de fruit a été mélangée avec un excès d'une solution d'iode. La vitamine C réagit avec l'iode et l'iode a été titré en excès avec du thiosulfate de sodium (Farrington, Jagota & Slater, 1994)

j) Mesure de l'acidité

Les échantillons du jus de fruits d'*Opuntia* de volume connu, ont été titrés par une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0,01N, en présence de phénolphtaléine. A la zone de virage de l'indicateur a été alors déterminée. Elle est exprimée en milliéquivalents d'acide par litre de jus (Montana et al., 1994).

k) Mesure du pH

La mesure de la valeur du pH des jus étudiés a été effectuée par un pH-mètre, préalablement étalonné par des solutions tampons de pH égal à 4 et à 7.

l) Dosage des Sucres réducteurs

La concentration de sucres réducteurs a été mesurée dans 100 ml de jus de fruit selon la méthode Nelsone Somogyi (Somogyi, 1952).

m) Détermination de la matière sèche solubles

La teneur en solides solubles de la figue de Barbarie jus de fruits a été mesurée avec un réfractomètre à main (Erma, Tokyo, Japon) à 20 ° C et exprimée en ° Brix.

B. Caractérisation physico-chimique des huiles

1. Matériel végétal utilisé

Dans cette étude nous avons utilisées comme matériel végétal, des huiles alimentaires à savoir l'huile d'olive, l'huile d'argan, l'huile de graine de cactus à partir de l'espèce *O. megacantha slam Dyck*, et l'huile essentielle de la raquette de cactus espèces *O. megacantha slam Dyck* d'origine marocaine. Ce travail a été réalisé au Laboratoire Officiel D'Analyses Et De Recherches Chimiques De Casablanca (LORAC) du ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime au Maroc.

a) Préparation de l'extrait de la raquette

Le matériel utilisé est de la poudre de raquette cactus *Opuntia megacantha Slam Dyck* âgés de 5 ans, nous avons utilisé deux méthodes d'extraction, l'extraction Soxhlet utilisant de l'hexane, et l'extraction sous vide dans lequel la poudre de cactus est filtrée dans un ballon avec 100 ml d'éther de pétrole suivie d'évaporation à froid. Le ballon, contenant de la graisse de la poudre, est récupéré puis 3 ml d'isooctane et 3 ml de KOH sont ajoutés, puis on ajoute le monohydrate de bisulfate, sous agitation et on laisse décanter.

2. Mesures qualitatives et quantitatives

a) Mesure qualitatifs

Les critères physico-chimiques pour la classification qualitative des huiles sont l'acidité libre (% en poids, exprimée en acide oléique) sur AOCS (American de la société des chimistes du pétrole), le peroxyde sur (ISO 3960), et l'ultraviolet d'absorbance par spectrophotomètre (**COI / T 0,20 / Doc. n° 19 / rév. 2**).

(1) Mesure de l'acidité

L'acidité d'une huile, est la quantité d'acides gras libres exprimée en pourcentage % d'acide oléique. Elle est détectée par la mise en solution d'une prise d'essai dans un mélange de solvants d'éthanol et éther diéthylique préalablement neutralisés par l'hydroxyde de potassium en présence de phénolphthaléine. Puis titrage des acides gras libres par la solution d'hydroxyde de potassium (0,1N).

(2) Mesure de l'indice de peroxyde

En présence de l'oxygène de l'air, les acides gras insaturés entrant dans la composition des corps gras s'oxydent en donnant des peroxydes. Ce phénomène a lieu au cours du stockage des corps gras : c'est le rancissement. La détermination de la quantité des peroxydes d'un corps gras montre son altération par oxydation. On définit l'indice de peroxyde comme étant le nombre de milliéquivalent d'oxygène par kilogramme de corps gras. Elle exprime le taux des produits d'oxydation présent dans l'huile. Il est déterminé par traitement de l'huile en solution dans l'acide acétique et isooctane par une solution d'iodure de potassium puis l'iode libéré est titré par une solution de thiosulfate de sodium (0.01N).

$$IP = TB \times N \times 1000 / PE \text{ (mégO}_2\text{/kg)}$$

(3) Détermination du coefficient d'extinction spécifique

L'extinction spécifique d'une huile d'olive reflète l'oxydation de l'huile. En effet l'huile d'olive vierge, de bonne qualité est bien conservée contient très peu de produits d'oxydation en majorité de nature peroxydique. Ces matières présentent un maximum d'absorption au voisinage de 270 nm. L'extinction spécifique est déterminée en solubilisant une prise d'essais dans du cyclohexane et la mesure est réalisée par un spectrophotométrie UV aux longueurs d'onde : 270 / 266/ 274 nm :

$$\Delta E = E\%(271\text{nm}) - [(E\%(266\text{nm}) + E\%(274\text{nm})) / 2]$$

$E\%$: Extinction spécifique

b) Mesures quantitatives

(1) Partie saponifiable

(a) Dosage des acides gras

Dans un tube à essai sont ajoutés 0,3 g d'échantillon, 3 ml d'isooctane et 3 ml de KOH (2 Normal préparé avec le méthanol). Ajouter du bisulfate monohydrate (pour séparer les deux phases) et après agitation, laisser décanter. Ensuite on prélève la phase supérieure environ 1,5 ml. Après dilution avec l'isooctane dans des vials, l'analyse est réalisée par injection dans un chromatographe en phase gazeuse (CPG), Brand HP 6890. colonne de l'injecteur. (COI / T .20/Doc. n ° 24).

(2) Partie insaponifiable

(a) Dosage des stérols totaux

Les extraits de stérols sont obtenus par chromatographie sur couche mince (CCM). Les spots CCM sont repris chacun dans 500 µl du réactif de silylation constitué d'un mélange de pyridine-hexaméthylidisilazane-

triméthylchlorosilane 9 :3 :1 (v/v/v). L'échantillon est évaporé à nouveau sous atmosphère d'azote avant d'être analysé par CPG. La Chromatographie est effectuée en utilisant une colonne HP-5 (5% phénylméthyl siloxane, diamètre: 320µm, longueur: 15 m), capillaire en silice fondue, de 0,25 microns épaisseur du film, de la flamme détecteur à ionisation (FID), le procédé ([COI / T.20 / Doc. n° 10 / Rev. 1](#)).

(b) Dosage des tocophérols

La teneur en vitamine E a été déterminée par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) (HP 1050 marque Détecteur: réfractomètre différentiel Marque HP 1047A, Maroc) ([ISO 9936](#)) Colonne: tube en acier inoxydable de 280 mm de long et 4,6 mm de diamètre intérieur rempli de greffé par des groupes d'octodécylsilane de silice (C18) de 5 µM de diamètre des particules de Enregistreur et / ou intégrateur Marque SP427. En utilisant comme éluant un mélange d'isooctane (99%) et d'alcool isopropylique (1%).

(c) Dosage du Spinastérol et Schotténol dans les extraits de stérol et des huiles par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-SM)

Les analyses de 7 échantillons d'huile et 4 extraits chloroformique d'huile ont été réalisées par la plateforme Lipidomique de l'Université de Bourgogne. Brièvement, pour les huiles, nous avons pesé une goutte, alors que l'analyse des extraits est faite à sec. Ensuite, 20 µL Epicoprostanol/Ethanol 1 mg/ml (51,5 nM), 1 ml Ethanol, 60 µl KOH 10M ont été ajoutés et le mélange a été incubé 45 mn à 56°. Puis, 2 ml hexane et 1 ml H₂O sont ajoutés. L'échantillon est agité puis centrifugé. Nous obtenons une phase hexanique + 100 µL BSTFA/TMCS (N,O-bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide/ Triméthylchlorosilane) 4/1 v/v 45 mn à 80°A + 100 µl hexane GC-EIMS (Impact électronique).

Pour l'analyse quantitative, nous avons analysé le Spinasterol et Schottenol mode SIM (selected ion monitoring), ions sélectionnés : Epicoprostanol m/z 370, Spinasterol m/z 343, Schottenol m/z 386. Calcul : rapport surface du pic de l'ion de quantification/surface du pic de l'ion 370. Ratio rapporté à une courbe de calibration établie à partir de standards purs. Les analyses du Campesterol et du Sitosterol ont été réalisées en mode SCAN. Le rapport de surface des pics est multiplié par la quantité d'Epicoprostanol mise dans les tubes (51 nM). Pour l'analyse qualitative : en mode Scan, les essais pour la caractérisation des différents stérols est difficile sans avoir les standards à cause de nombreux isomères et des spectres très proches. Il faudrait donc des standards pour séparer les isomères selon leur temps de rétention.

C. Evaluation de l'activité biologique in vitro des phytostérols issues de l'huile d'argan et de cactus sur le métabolisme du cholestérol au niveau cellules microgliales BV-2

1. Les STÉROLS

a) Synthèse des stérols

Les synthèses chimiques du Schotténol et du Spinastérol ont été réalisées par le Dr. Mohammad Samadi du département de chimie du Pôle Chimie Physique Moléculaire de l'Université de Lorraine Lorraine, Metz, France. Le Schotténol [(3-beta,5-alpha)-Stigmast-7-en-3-ol] et le Spinasterol [(3-beta,5-alpha,22E)-Stigmasta-7,22-dien-3-ol] ont été synthétisés à partir du stigmastérol 90% (TCI) et sitostérol 70% (Sigma-Aldrich) qui ont été utilisés en tant que tel sans autre purification (**Badreddine et al., 2015**). Toutes les réactions ont été effectuées sous une atmosphère d'argon. Une Chromatographie a été effectuée en utilisant du gel de silice (Merck Kieselgel 60, 230-400 mesh) avec des mélanges d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole comme éluant. Les analyses ont été effectuées sur couche mince 60 F254 (Merck).

b) Extraction des stérols

Peser dans un ballon de 100 ml 2,5 à 3 g d'échantillon. Ajouter 30 ml du KOH (2N), puis chauffer (à reflux) pendant 30 minutes. Après ébullition, ajouter 25 ml d'eau distillé et laisser refroidir. Mettre dans une ampoule à décanter (rincer avec l'acétone technique), ajouter 75 ml d'éther de pétrole, le mélange est agiter dans l'ampoule et dégazé. Après séparation des 2 phases (phase organique qui contient la partie insaponifiable les stérols et la phase aqueuse. Si apparition de la mousse, ajouter 4 ml de l'alcool). Eliminer la phase aqueuse et garder la phase organique. Puis effectuer 5 lavages successifs avec de l'eau distillée, jusqu'à élimination du savon et vérifier avec le phénophtaléine. Après, récupérer la phase organique et évaporer à sec le contenu sur rota vapeur. Ajouter 1 ml d'hexane et déposer 250 µl à 300 µl du contenu du ballon à l'aide d'une seringue sur une plaque CCM. Après une 1 h de migration (solvant de migration : 66% hexane ,34% éther di éthylique), pulvériser à l'aide d'un pulvérisateur (2,7 dichlorofleurise 0,2 % dans l'éthanol) sur la plaque CCM et gratter la bande contenant les stérols. Dans un ballon à 100 ml, ajouter le spot gratté avec 10 ml du chloroforme et filtrer, sur papier filtre, dans un tube à essai le contenu du ballon. Evaporer sous courant d'azote à sec. L'extrait obtenu des stérols est sous la forme de poudre blanche. (COI/ T.20 / Doc. n° 10 / Rev. 1).

2. Culture cellulaire des cellules microgliales BV-2

Les cellules BV-2 dérivent des cellules murines microgliales immortalisées par l'oncogène v-raf/v-myc et sont fréquemment utilisée pour se substituer à la culture de cellules microgliales primaires. Elles sont cultivées en milieu

RPMI 1640 supplémenté avec 10% de SVF, 1% d'antibiotiques et 2mM de Glutamate. Le SVF a été décomplémenté pendant 30 minutes au bain marie à 56°C pour tous les milieux de culture.

a) Mesure la viabilité cellulaire

Le test MTT sert à évaluer de l'activité succinate déshydrogénase, il a été effectué sur des cellules BV2 comme décrit précédemment (Nury et al., 2013), dans le but d'évaluer la prolifération cellulaire et / ou viabilité. Après une cinétique de traitement 24h et 48h par différents phytostérols : Spinastérol, Schotténol, ou par un mélange des deux phytostérols, ou encore par des extraits de stérols issus de l'huile d'argan, ou de l'huile de la graine de cactus ou de l'acide férulique avec des concentrations de (2, 5, 10, 20, 40, 80, 155 μ M). Pour ce test MTT, nous avons utilisé comme control négatif le 4 alpha hydroxycholestérol et comme control positif le 7-cétocholestérol avec des concentrations de 20 μ M. Les cellules ont été lavées au DPBS puis incubées pendant 3h à 37°C avec le sel de tétrazolium MTT (Sigma Réf : M2128) dilués dans le milieu de culture approprié à chaque type cellulaire pour une concentration finale de 5 mg/ml. Les cellules ont ensuite été lavées au PBS puis incubées à température ambiante pendant 10 minutes avec du diméthylsulfoxyde (DMSO) et sous agitation. Les plaques ont été lues à 570 nm avec un lecteur de microplaque.

b) Mesure de la mort cellulaire par coloration à l'iodure de propidium (IP)

La viabilité cellulaire et l'intégrité membranaire sont évaluées par coloration à l'iodure de propidium (IP) et analyser par cytométrie en flux. L'IP (λ Excitation à 538 nm ; λ Emission à 617 nm) est un fluochrome qui s'intercale dans les acides nucléiques en émettant une fluorescence rouge. Il diffuse à travers une membrane dégradée est exclu par une membrane intacte. L'IP ne colore que les cellules mortes (nécrose primaire ou secondaire). Les cellules BV-2 ont été cultivées sur des plaques de 12 puits et traitées de manière cinétique 24h et 48h. Traitement de 24h : avec 4 α -hydroxycholesterol (4 α -KC), 7-cétocholesterol (7-KC), Spinastérol (spina) et Schotténol (Schott.) à 1,5, 6,25, 12,5, 25 et 50 μ M. Le DMSO et l'éthanol ont été utilisés comme contrôles. Traitement de 48h : avec 4 α Tr, 7-KC, Spina, Schott, ou les extraits de stérols des huiles d'argan ou de graine de cactus, à 12,5, 25 et 50 μ M. Le milieu de culture est récupéré dans un tube de 15 ml, puis rincer au PBS 1x et récupérer dans un tube de 15ml. 300 μ L de trypsine 1x par puits a été ajouté, puis incubé 5 minutes à 37°C. Les cellules ont été récupéré dans un tube de 15ml et centrifuger 5 minutes à 200g. Le surnageant est éliminé et les cellules sont repris dans 1ml de PBS1x. Les cellules sont ensuite transférées dans des tubes pour cytométrie et 1 μ L d'IP à 1 mg /ml (1 μ g/ml) est ajouté juste avant de passer les tubes au cytomètre (Fluorescence rouge FL3).

c) Mesure du potentiel transmembranaire mitochondrial Dioc6 (3)

Le potentiel de la membrane interne mitochondriale ($\Delta\Psi_m$) est essentiel pour maintenir la fonction physiologique de la chaîne respiratoire (production d'ATP/phosphorylation oxydative). La détermination de son état est largement

utilisée pour caractériser la capacité métaboliques et la mort cellulaire à un stade précoce (**Chen, 1988**). Une différence de potentiel existe de part et d'autre de la membrane interne mitochondriale. Elle est créée par les pompes à protons qui réalisent un gradient électrochimique ($\Delta\Psi_m$) entre l'espace intermembranaire et la matrice, provoquant une polarisation entre les deux faces de la membrane interne. Celle du côté matriciel étant négative par rapport à l'autre (plus de 100 mV). Ce gradient assurera le Fonctionnement de l'ATP synthase (**Hüttemann et al., 2008**). La dissipation de ce gradient permet la rentrée de protons et libère l'énergie nécessaire à la phosphorylation de l'ADP en ATP. Le potentiel de la membrane mitochondrial ($\Delta\Psi_m$) peut être mesuré par coloration au DiOC6(3) (3,3'-dihexyloxycarbocyanine iodide) par cytométrie en flux (**Schlattner et al., 2001**). Le DiOC6(3) ($\lambda_{\text{Excitation Max}}=488 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{Emission Max}}=501 \text{ nm}$) est un fluochrome cationique, lipophile, son accumulation dans la mitochondrie dépend du $\Delta\Psi_m$ et l'intensité de sa fluorescence est proportionnelle au $\Delta\Psi_m$ (**Bunting et al., 1989**). Les cellules BV-2 ont été cultivées en plaques de 12 puits. Après traitement de 24 h et 48h par différents phytostérols ou extraits avec une gamme de concentration : 12.5, 25, 50 μM . Nous avonsensemencé 500 μL 60 000 cellules par ml. La dépolarisation mitochondriale est indiquée par une diminution de la fluorescence verte recueillie à travers un filtre de bande passante de 520/10 nm. Le DiOC6 (3) a été utilisé à 40 nM de (**Nury et al., 2013**). Les analyses par cytométrie en flux ont été effectuées avec un cytomètre Galaxy cytomètre (Partec). Dix mille cellules ont été analysées pour chaque échantillon. Les données ont été analysées avec le logiciel Flomax (Partec) ou logiciel FlowJo (arbre Star Inc.) (**Nury et al., 2013**). Les mesures ont été réalisées trois fois.

d) Etude de l'effet des phytostérols issus de cactus et de l'huile d'argan sur le métabolisme mitochondrial de la lignée microgliale BV-2

(1) Préparation des cellules de la microglie

Les cellules microgliales BV-2 ont été préparées pour l'étude totale de la chaîne respiratoire c'est-à-dire l'exploration des complexes I, II, III, IV et la citrate Synthase. Nous avons trois conditions :

- Cellules BV2 contrôle avec un véhicule de DMSO à 0.13%
- Cellules BV2 traité 24H par le Spinastérol à 10 μM
- Cellules BV2 traité 24H par le Schotténol à 10 μM

Donc pour chaque échantillon nous avons décongelé deux culots, soit 6 millions de cellules, à température ambiante, puis chaque culot a été repris par 150 μl de tampon A (Saccharose 250 Mm, Tris 20 mM, EDTA 2 mM, BSA 1mg/ml, H₂O Qsp 50 ml). Rassembler les culots ainsi repris dans un seul eppendorf, et congeler les cellules dans l'azote liquide 3 min, au laboratoire dans un container type Voyageur 2. Décongeler rapidement à 37°C, et agiter doucement. Séparation des suspensions cellulaires en deux eppendorfs.

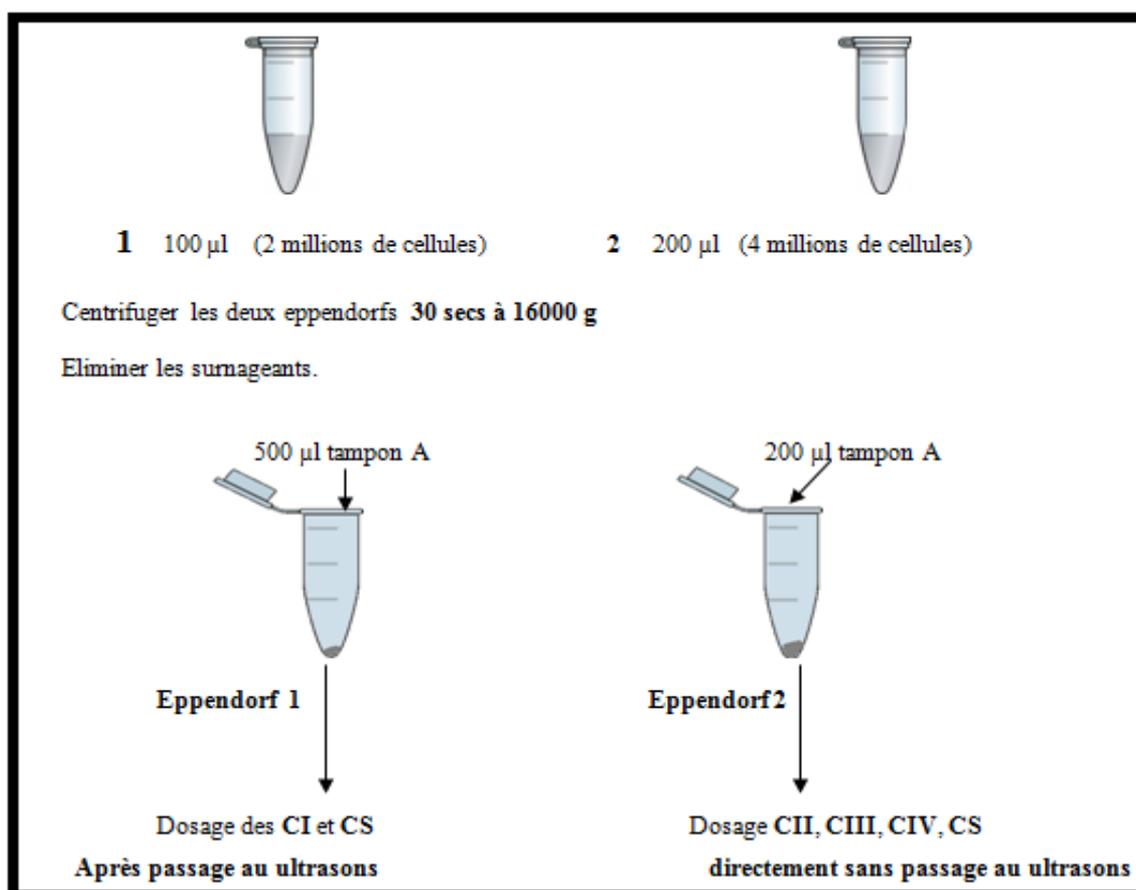


Figure 19: Préparation des cellules de la microglie BV-2 pour l'étude totale de la chaîne respiratoire.

Ensuite nous conservons les suspensions cellulaires dans la glace durant la manipulation.

(2) Mesure de l'activité mitochondriale

Nous avons effectué le dosage des complexes isolés : complexe I, II, III, IV et la citrate synthase (CS) par Spectrophotomètre UV/ visible de marque SAFAS (Monaco) type UV mc2 avec logiciel de pilotage et acquisition de données SAFAS SP2000.

e) Détection des lysosomes à membrane déstabilisée par coloration à l'Acridine Orange (AO)

La déstabilisation de membrane lysosomale peut être étudiée par coloration à l'acridine orange (AO) et analysée par cytométrie en flux (Yuan et al., 2002). L'AO ($\lambda_{\text{Excitation Max}} = 502 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{Emission Max}} = 525 \text{ nm}$) est une sonde lipophile, cationique, capable de traverser la membrane cytoplasmique et celle des organites cellulaires (Han et Burgess, 2010). L'AO est un colorant métachromatique qui se caractérise par sa capacité à émettre une fluorescence verte en milieu basique et une fluorescence orange/rouge en milieu acide. La quantité de fluorescence orange/rouge sera donc proportionnelle au volume et à la quantité de compartiments acides dans la cellule. La perméabilisation de la membrane lysosomale se caractérise par une diminution de la fluorescence orange/rouge (Malvitte et al., 2008;

Nylandsted et al., 2004). Les cellules BV-2 ont été cultivées en plaques de 12 puits. Après 24 h par différents phytostéroïdes ou extraits, avec une gamme de concentration : 1.51, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50µM. Nous ajoutons 500µL de la solution de traitement aux 500µL du milieu qui contient les cellules, ce qui fait un volume totale de 1 ml donc 60 000 cellules par ml. Les plaques ont été récupérées, le milieu a été écarté, et 300µL de la trypsine ont été ajoutés puis les cellules sont incubées pendant 5 minutes. Ensuite, les cellules ont été récupérées dans le flacon qui contient le milieu, centrifugé à 300g pendant 5 minutes. Le surnageant est éliminé et les cellules adhérentes et non adhérentes ont été récupérées dans 1 ml de PBS. Afin d'évaluer la perméabilité de la membrane lysosomale, la suspension cellulaire a été incubée en présence de 1 µg/ml d'AO (2µL) (*Sigma*) pendant 15 min à 37°C. L'analyse a été réalisée par un cytomètre en flux Galaxy ; les signaux fluorescents rouge et vert ont été sélectionnés respectivement par des filtres de bande passante à 630 nm et 520 ± 20 nm. Pour chaque échantillon, la fluorescence a été quantifiée pour 10 000 cellules sur une échelle logarithmique. Les données sont analysées avec le logiciel FloMax. Les mesures ont été réalisées en triplet.

f) Quantification des ARN messagers par RT-qPCR

(1) Extraction des ARN totaux

L'extraction de l'ARN à partir des cellules de BV2 se fait par le Kit d'extraction RNeasy de Qiagen. Après incubation des cellules de BV2 ensemencé pour 24h et 48h avec le Schotténol, le Spinastérol, ou le T0 (901317), un ligand synthétique de LXR utilisé comme control positif, avec des concentrations de 2.5 et 10 µM et le DMSO comme contrôle. Le traitement a été réalisé dans des plaques de 6 puits qui contiennent chacune 300 000 cellules par ml. A la fin du traitement, le milieu est écarté et 2 ml de trypsine sont ajoutés puis une incubation à 37°C pendant 3 minutes est réalisée. Après l'arrêt de l'action de la trypsine par addition du milieu complet, les suspensions cellulaires sont centrifugées à 350g pendant 5 minute et le surnageant est éliminé. Le culot est remis en suspension dans 350 µl de tampon de lyse (RTL) du Kit RNasy. La purification des ARNs totaux est réalisée suivant le protocole de Kit RNasy. L'éluât des ARNs est immédiatement traité à la DNAase (RNase-free DNase Set, Qiagen). Chaque échantillon est traité par un mélange de 10 µl de DNase et 70 µl de RDD (RNase-free DNA Digest Buffer) pendant 20 minutes. Les ARN sont lavés une seconde fois avec 350 µl de tampon RW1 puis centrifugés à 10 000 g pendant 15 secondes à 4°C, suivi de deux autres lavages avec le tampon RPE. Ils sont enfin élués avec 30 à 50 µl de l'eau exempte d'ARNases (RNase-free).

(2) Dosage des ARN totaux

L'absorbance des solutions d'ARN totaux extraits est dosée avec un spectrophotomètre UV1800 Shimadzu. La mesure de l'absorbance est effectuée à 260, à 280 et à 320 nm de longueur d'onde avec 260 nm correspondant à l'absorption maximale des acides nucléiques. Une unité d'absorbance à 260 nm correspond à 40 µg d'ARN totaux/ml.

(3) Transcription inverse (RT)

La réaction est réalisée avec un kit SuperScript® III Reverse Transcriptase (Invitrogen) dans un volume total de 10 µL. Le mélange contient 1 µg d'ARN, 1 µl de Random Primers (Promega) 50 µg/ml, et le volume est complété à l'aide d'eau distillée pour avoir un volume total de 15 µL. Le mélange est chauffé à 70°C pendant 5 minutes puis mis pendant au moins une minute sur la glace. Nous ajoutons à ce mélange 10 µl du MIX RT comprenant 5 µl du M-MLV 5X Buffer, 1,25 µl dNTP 10mM, 0,625 µl de Rnasin Plus (Rnase OUT) (Invitrogen), 1 µl de la M-MLV RT, et complété avec H₂O-Nuclease Free pour avoir un volume totale de 10µl. La réaction de transcription inverse est réalisée selon le protocole suivant : incubation 37°C pendant 60 minutes. Ensuite on complète le volume dans chaque tube à 100 µl avec de l'eau milliQ (ajout de 75 µl). Les produits de RT sont ensuite conservés à -20°C jusqu'à leur utilisation.

(a) Préparation des échantillons

La réaction de transcription inverse est réalisée dans un volume final de 20 µl auquel 80 µl de H₂O ont été ajoutés pour obtenir un volume final de 100 µl. A partir de ces échantillons, une gamme de dilution a été réalisée pour servir de standard pour la réaction de qPCR. Un volume de 25 µl de chacun des échantillons est prélevé et mélangé pour constituer le premier point de gamme, nommé arbitrairement « 64 ». Les points suivants seront réalisés par dilutions au ½ en cascade et donneront les points « 32 », « 16 », « 8 », « 4 » et « 2 ». Les 75 µl de produit de RT restant sont complété avec de l'eau distillée à 200 µl.

(4) Amplification génique quantitative ou qPCR (quantitative polymerase chain reaction)

Le principe de la réaction de la PCR quantitative repose sur la quantification du taux d'ARNm, après transcription reverse en ADNc par une reverse transcriptase, grâce à la fluorescence émise par fluorophore qui s'intercale entre les brins de l'ADN néosynthétisé au cours de la réaction de PCR. La PCR quantitative de l'ADN complémentaire est réalisée à l'aide du kit Go Taq qPCR Master Mix (Promega). Chaque échantillon est analysé en triplet sur des plaques de 96 puits (Applied Biosystems). Les réactions de PCR sont réalisées en double dans un volume final de 12,5 µl contenant 6,25 µl du Go Taq Master Mix 2X, 2,5 µl d'ADNc et 0.02 µl d'amorces sens et anti-sens, qsp H₂O millQ 20µl. la PCR débute par l'activation de l'enzyme PCR (Taq ADN polymerase) par la chaleur à 95 ° C pendant 10 min, suivie d'une étape de dénaturation où l'ADN est amplifié pendant 40 cycles à 95°C pendant 15 s, 60°C pendant 30 s et 72°C pendant 30 s (hybridation-élongation), suivie d'une analyse de la courbe de fusion pour contrôler l'absence de produits non spécifiques. Pour chaque produit de transcription, le rendement d'amplification a été déterminé par la pente de la courbe d'étalon généré à partir de deux dilutions en série d'ADNc, c'est-à-dire que la linéarité de la gamme doit être retrouvée par la quantification et l'efficacité d'amplification calculée grâce à la pente de la régression linéaire obtenue qui doit être assez proche de celle des amorces utilisées pour l'amplification. Les

séquences d'amorces spécifiques ont été choisies en utilisant le logiciel Designer Beacon (Bio-Rad). L'expression des gènes a été quantifiée en utilisant le cycle de seuil (Ct) et de valeurs normalisée par le gène de référence, RPL27 codant pour la protéine ribosomique. A cette fin, l'expression génique quantitative a été déterminée selon deux $\Delta\Delta Ct$ avec $\Delta Ct = (Ct \text{ du gène étudié}) - (Ct \text{ du gène de RPL27})$. (Voir le Tableau 10).

Tableau 10: Présentation des amorces utilisées pour la RT-qPCR

Amorces spécifiques des gènes cibles
ABCA1
ABCG1
ABCG5
LXR alpha
LXR beta
L27 : gène de référence

g) Analyse de l'activation du LXR alpha et LXR beta par transfection des cellules HEK293

Afin d'évaluer le potentiel effet des stérols (Schotténol et Spinastérol) sur l'activation de LXR α et LXR β . Les cellules HEK293 ont été co-transfectées avec un gène rapporteur de luciférase, sous le contrôle de l'élément de réponse de LXRE (LXR Response Element) ou élément de réponse à LXR, et les vecteurs d'expression de LXR α ou LXR β . Les cellules ont ensuite été incubées soit avec le véhicule (DMSO), le ligand synthétique LXR T0901317 agoniste de LXR, le 4 α HC ou 4 β HC (comme témoins), le Schotténol ou le Spinastérol aux concentrations 1,5 ou 10 nM. L'activité luciférase du gène rapporteur a été normalisée à l'activité β -galactosidase et exprimée par rapport au véhicule. (Nury et al., 2013). Les cellules HEK293T ont étéensemencées en triplet dans des plaques à 96 puits. La Lipofectamine 2000 (Invitrogen-Life Technologies) a été utilisée comme agent de transfection. Pour l'essai d'activation LXR α , les cellules dans chaque puits ont été transfectées avec 60 ng de plasmide rapporteur (TkpGL3 LXRE), 60 ng de pCMV- β -Galactosidase comme plasmide de référence, et 60 ng de pSG5-LXR α humain pour une quantité totale en ADN de 180 ng. Pour l'essai d'activation LXR β , chaque puits a été transfectée avec 110 ng de

plasmide rapporteur (TkpGL3 LXRE-RAR α), 50 ng de pCMV β -galactosidase en tant que plasmide de référence, et 160 ng de pCMX-LXR β pour une quantité totale en ADN de 320 ng par puits. (Nury et al., 2013). Les cellules ont été traitées pendant 24 h, puis lysées en utilisant 20 μ l de tampon de lyse (Promega) par puits pour le dosage d'activation LXR α et 50 μ l de tampon de lyse (Thermo Scientific) par puits pour le dosage d'activation LXR β . L'activité de luciférase a été évaluée dans 10 μ l de chaque lysat avec 100 μ l de solution reconstituée de tampon d'essai de luciférase (Promega) pour le dosage d'activation LXR α , 30 μ l de chaque lysat avec 50 μ l de solution reconstituée de tampon d'essai de luciférase (Thermo Scientific) pour le dosage d'activation LXR β . L'activité de la luciférase a été déterminée en utilisant un Luminomètre (Wallac 1420 Multilabel compteur; Perkin Elmer). L'activité β -galactosidase a été déterminée dans 10 μ l ou 20 μ l (pour l'essai d'activation LXR α et LXR β respectivement) de chaque lysat en mesurant l'hydrolyse de Chlorophenolred- β -DGalactopyranoside (CPRG; Roche Diagnostics) à 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Wallac 1420 Multilabel Compteur ; Perkin Elmer). Les valeurs ont été normalisées par rapport au contrôle et ont été considérées comme statistiquement significatives (test-t de Student) à P <0,05.

RESULTATS ET DISCUSSION

IV. Résultats et discussion

A. Identification des espèces de cactus à l'échelle nationale et évaluation de leurs caractères agrochimique

1. Evaluation du comportement phénologique

L'étude de la phénologie proprement dite des espèces Marocaine est rare voire absente. Les études réalisées par des chercheurs marocains sont focalisées seulement sur la période de la floraison et la maturation du fruit pour déterminer la précocité et la tardivité des espèces d'*Opuntia* (*Opuntia ficus indica*). Dans notre étude nous sommes focalisés sur la détermination des bourgeons végétatifs et floraux, afin d'avoir une idée sur la biomasse des jeunes cladodes du catétum ainsi de distinguer d'une part les écotypes au sein des espèces selon les régions qui ont un taux de production élevée de raquette (biomasse) et qui vont servir comme source de fourrage pour le bétail, et d'autre part voir les espèces qui un taux de fructifications élevés (production de fruit) et qui vont servir pour la production agro-industriel, cosmétique et pharmaceutique. Dans cette partie, nous avons pour objectif, la caractérisation du comportement phénologique de ces écotypes en fonction de leur appartenance à différentes espèces, et aussi en fonction de leur origine et l'influence des conditions édapho-climatique.

✓ Observation phénologiques

Les observations phénologiques ont été faites selon l'échelle étendue BBCH ([Hack et al., 1992](#)) et le système national de surveillance de la phénologie ([Thomas et al., 2010](#)):

Phase 4: Développement des organes à multiplication végétative

Les bourgeons végétatifs sont apparus au cours de la première semaine de mai (Figure 20) pour toutes les espèces, sauf *O. robusta*. Le nombre moyen de bourgeons végétatifs par adhésion varie de 0,25 d'*O. leucotricha* originaire du Moyen Atlas à 12,35 d'*O. ficus indica* provenant d'Agadir (tableau 11). Les bourgeons végétatifs ont été développés pour cladodes (figure 20 B), et nous avons observé les cinq phases suivantes: les bourgeons végétatifs ont commencé à développer (figure 20 A); cladodes atteint 30% de leur taille finale (figure 20 B); les cladodes atteint 50% de leur taille finale; les cladodes atteint 70% de leur taille finale; les raquettes ont atteint leur taille finale.

Phase 5: Les bourgeons floraux

Les bourgeons floraux sont apparus sur la première semaine de mai. Cependant, ils ont été observés dans seulement sept accésions: *O. ficus indica* du Jamaat Riah, *O. ficus indica* du Moyen Atlas, *O. ficus indica* d'Agadir, *O. megacantha* du Jamaat Riah, *O. megacantha* d'Ouardigha, *O. megacantha* provenant du Rif oriental et *O. dillenii* d'Ouardigha. Le nombre moyen de bourgeons floraux par écotype/espèce variait significativement dans les écotypes et variait de 0,05 d'*O. ficus indica* et *O. megacantha* du Jamaat Riah à 13,75 chez l'espèce *O. dillenii* provenant de la région d'Ouardigha (tableau 11).

Phase 6: Floraison

La période de floraison est à partir de la moitié du mois de mai dans les sept espèces: *O. ficus indica* du Jaaat Riah, *O. ficus indica* du Moyen Atlas, *O. ficus indica* d'Agadir, *O. megacantha* du Jaaat Riah, *O. megacantha* d'Ouardigha, *O. megacantha* du Rif oriental et *O.dillanii* d'Ouardigha. Nous avons observé les cinq phases de floraison: l'ouverture des premières fleurs; début de la floraison (10% des fleurs sont ouvertes); la pleine floraison (50% des fleurs sont ouvertes); la finition de floraison (la majorité des pétales sont tombés); fin de la floraison (apparition du fruit).

Phase 7: développement du fruit

La formation des fruits a commencé sur la quatrième semaine de mai (Figure 20) chez l'espèce *O. ficus indica* du Jaaat Riah, *O. ficus indica* du Moyen Atlas, *O. ficus indica* d'Agadir, *O. megacantha* du Jaaat Riah, *O. megacantha* appartenant à la région d'Ouardigha, *O. megacantha* du Rif oriental et *O. dillanii* de la région d'Ouardigha, et la croissance de fruits continue pendant quatre semaines, jusqu'ils atteignent leur tailles finales. La longueur et le diamètre de fruits ont été enregistrés à pleine maturité, et nos observations indiquent que les dimensions de fruits dépendent des espèces étudiées (tableau 11).

Phase 8: maturité des fruits

Après avoir atteint la taille finale, les fruits ont commencé à maturité avec une coloration et tous les écotypes d'*O. ficus indica* et *O. megacantha* ont donné des fruits exposés avec une couleur de peau-jaune-orange à pleine maturité, cependant tout les ecotypes de l'espèce *O. dillanii* ont donné des fruits à couleur rouge pourpre. Nous avons observé les trois phases de maturité des fruits suivants: début de la maturation des fruits et leur coloration; maturation avancée et coloration des fruits; fruits à pleine maturité montrant la couleur en pleine maturité ([El Kharrassi et al., 2015](#)).

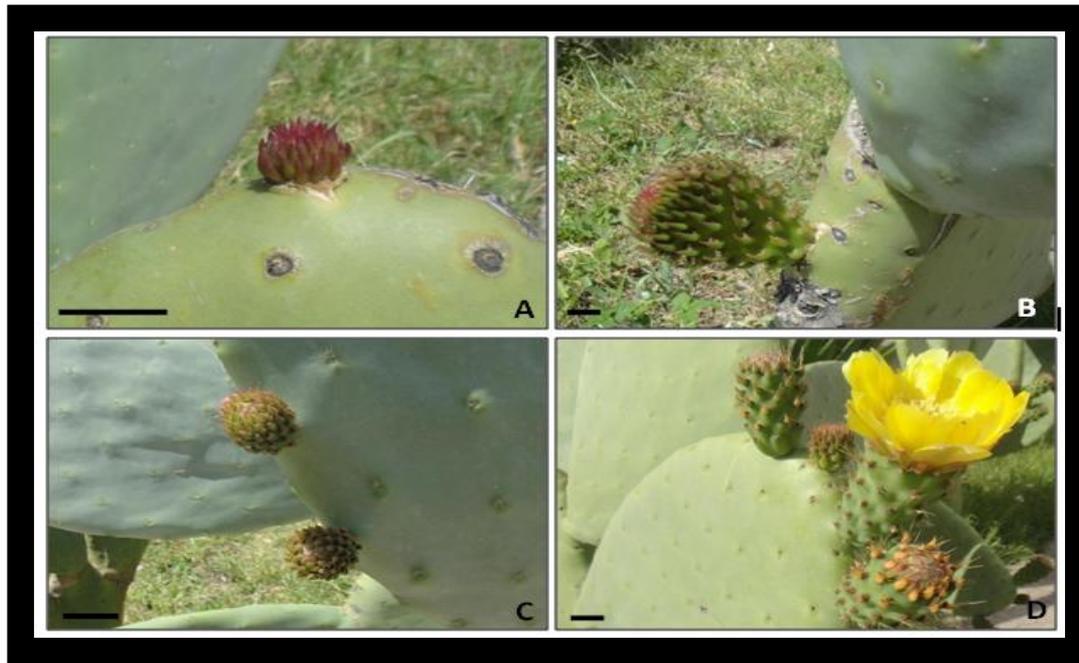


Figure 20: présentation des exemples de certains stades phénologique d'*Opuntia ficus-indica*. Panneaux A, B, de la phase 4 développement des organes à multiplication végétative. Panneau A, bourgeon végétatif commence à se développer. Panneau B, cladode à 30% de sa taille finale. Panneau C, phase 5 bourgeon floral. Panneau D, Phase 6 : floraison. Les barres d'échelle = 2 cm (El Kharrassi et al., 2015).

Tableau 11: Production des bourgeons végétative et floraux et longueur et le diamètre des fruits des jeunes plantations de sept espèces d'Opuntia provenant de différentes régions du Maroc.

Espèces	Origine géographique	Nombre de plante par échantillon	Nombre de bourgeons végétatifs	Nombre de bourgeons floraux	Nombre de plantes qui produisent des fruits	Longueur de fruits à pleine maturité (cm)	Diamètre de fruits à pleine maturité (cm)
<i>O. ficus indica</i>	Jamaât Riah	20	7.40 ± 5.60 [†] _{abc}	0.05 ± 0.22 _a	1	6.40 ± 0.0	3.90 ± 0.00
II.	Rhamna	20	10.65 ± 8.64 _{bc}	-	-	-	-
III.	Ouardigha	20	4.20 ± 3.09 _{abc}	-	-	-	-
IV.	Middle Atlas	16	2.69 ± 2.50 _{ab}	0.56 ± 1.36 _a	3	4.90 ± 0.20	3.00 ± 0.10
V.	Northeast Morocco	8	0.63 ± 1.06 _{ab}	-	-	-	-
VI.	Eastern Rif	16	1.44 ± 1.55 _{ab}	-	-	-	-
VII.	Western Rif	8	6.88 ± 7.02 _{abc}	-	5	4.98 ± 0.43	2.84 ± 0.19
VIII.	Agadir	20	12.35 ± 11.72 _c	1.10 ± 2.25 _a	-	-	-
<i>O. megacantha</i>	Jamaât Riah	20	10.55 ± 10.83 _{bc}	0.05 ± 0.22 _a	1	4.20 ± 0.00	2.40 ± 0.00

						-	-	-
IX.	Rhamna	20	5.50 ± 5.87 _{abc}	-		1	4.10 ± 0.00	2.70 ± 0.00
X.	Ouardigha	8	5.50 ± 5.15 _{abc}	1.75 ± 4.95 _a		-	-	-
XI.	Middle Atlas	12	0.75 ± 1.54 _{ab}	-		-	-	-
XII.	Northeast Morocco	20	2.00 ± 2.13 _{ab}			3	5.10 ± 0.17	3.20 ± 0.30
XIII.	Eastern Rif	20	0.55 ± 0.83 _{ab}	0.20 ± 0.52 _a		-	-	-
XIV.	Western Rif	8	0.63 ± 0.74 _{ab}	-		-	-	-
XV.	Agadir	8	1.75 ± 4.95 _{ab}			-	-	-
<i>O. aequatorialis</i>	Rhamna	4	10.00 ± 2.58 _{abc}	-		-	-	-
<i>O. inermis</i>	Rhamna	4	5.50 ± 3.79 _{abc}	-		-	-	-
<i>O. dillenii</i>	Ouardigha	4	10.75 ± 2.22 _{bc}	13.75 ± 13.87 _b		3	3.40 ± 0.17	1.93 ± 0.05
<i>O. robusta</i>	Northeast Morocco	4	-	-		-	-	-
<i>O. leucotricha</i>	Middle Atlas	4	0.25 ± 0.50 _a	-		-	-	-
XVI.	Western Rif	8	1.38 ± 2.07 _{ab}					

† Les résultats sont présentés en moyenne ± écart-type. Les valeurs suivies par les mêmes lettres minuscules ne sont pas significativement différentes (P> 0,05) par le test de Student-Newman-Keuls.

Analyse statistique

Toutes les expériences ont été effectuées en utilisant un dispositif complètement aléatoire. Les données ont été soumises à une analyse de la variance et des moyens ont été séparés par test Student Newman-Keuls (SNK) à $P = 0,05$. Avant l'analyse, les données de pourcentage ont été transformées arcsinus. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant SPSS v. 16.0 pour Windows (IBM SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

✓ Discussion des traits phénologiques :

La floraison et la fructification critère de la phénologie ont été à peine étudié chez les espèces d'*Opuntia*. Au meilleur de notre connaissance, c'est le premier rapport sur la phénologie des espèces d'*Opuntia* cultivés au Maroc. Comme indiqué précédemment sur l'espèce *O. monacantha* du sud du Brésil par [Lenzi et Orth \(2012\)](#), nos résultats ont montré que les raquettes d'*O. ficus indica*, *O. megacantha* et *O. dillenii* produits des bourgeons végétatifs et floraux. Selon nos observations, le développement du bourgeon floral à la floraison a eu lieu entre mai et Juin. Chez l'espèce *O. ficus indica* en provenance du Mexique, [Pimienta Barrios et al. \(2000\)](#) ont signalé que le développement de la fleur a duré à partir du début du mois de Mars jusqu'à fin Avril. Dans une revue de la littérature, [Reyes-Agüero et al. \(2006\)](#) ont rapporté que le développement du bourgeon floral à la floraison nécessite entre 21 et 75 jours selon les espèces, et peut avoir lieu à des moments différents en fonction de la zone géographique. Nos résultats montrent également que la période de floraison varie du mi-mai jusqu'à début Juin. [Lenzi et Orth \(2012\)](#) ont rapporté des périodes de floraison chez l'espèce *O. monacantha*, qui commence à partir de la fin de Septembre jusqu'à la mi-Janvier, alors qu'il était en Avril-mai chez l'espèce *O. diploursina* de l'Arizona ([Stock et al., 2014](#)). Selon [Reyes-Agüero et al. \(2006\)](#), la période de floraison des espèces d'*Opuntia* en général commence à la fin de l'hiver et peut durer jusqu'au début de l'automne. [Nerd et Mizrahi \(2001\)](#) ont indiqué que, chez *O. ficus indica*, la floraison a continué pendant un certain nombre de semaines et peut eu lieu simultanément comme la formation des jeunes fruits, ce qui est cohérent avec nos observations.

La production de fruits a été observée entre mai et Juin. Cet est en bon accord avec [Reyes-Agüero et al. \(2006\)](#) qui ont déclaré que les fruits de l'hémisphère nord sont produits entre Avril et Novembre. Nos résultats indiquent également que la croissance et la maturation des fruits dépendent de l'espèce. En effet, les espèces *O. ficus indica* et *O. megacantha* ont montré des dimensions plus élevés de fruits avec la couleur de peau jaune-orange en comparaison avec l'espèce *O. dillenii* qui a montré des fruits plus petits avec une couleur rouge pourpre. Chez l'espèce *O. ficus indica* en provenance du Mexique, le développement des fruits a commencé à la mi-Avril et s'est terminée à la fin d'Août ([Pimienta Barrios et al., 2000](#)). Chez l'espèce *O. diploursina* de la région d'Arizona, les fruits mûrissent à la fin mai-Juin ([Stock et al., 2014](#)). Selon [Kuti \(1992\)](#), la maturation des fruits présente une gamme de 45 à 154 jours chez les espèces *O. ficus indica*, *O. inermis*, *O. hyptiacantha* et *O. lindheimeri*. Chez l'espèce *O. joconostle* de San Martín de las Pirámides, au Mexique, la maturation des fruits requis 224 jours après la floraison ([Sánchez et al., 1991](#)). Chez l'espèce *O. monacantha* du sud du Brésil, il a été rapporté que la croissance et le développement des

fruits peut durer 120 jours avant le début de la maturation tandis que la maturation complète a été observée après 240 jours (Lenzi et Orth, 2012). Ces résultats contradictoires indiquent que la phénologie d' *Opuntia* varie considérablement entre les espèces et les conditions environnementales. En effet, il a été signalé que la phénologie des plantes dépend de nombreux facteurs tels que les variables climatiques (température, précipitations), les conditions de croissance, des espèces et des sites géographiques (Carl et al, 2013; Schwendenmann et al, 2010; Woog, 2014). En outre, Reyes-Agüero et al. (2006) ont rapporté que la maturation des fruits en espèces d'*Opuntia* est asynchrone.

2. Etude de la diversité génétique : polymorphisme morphologique et nucléaire

Au Maroc, la diversité génétique est à peine étudiée, le but étudié dans ce chapitre, et l'évaluation de la diversité génétique entre et au sein des écotypes d'*Opuntia* spp. Provenant de différentes régions du Maroc à l'aide des descripteurs morphologiques et les marqueurs moléculaires ISSR et RAPD.

a) Evaluation de la variabilité génétique par les caractères morphologiques

➤ La variabilité génétique au sein d'*Opuntia ficus indica*

Notre enquête a montré que l'espèce *Opuntia ficus indica* est présente dans tous les domaines étudiés. Cependant, nos résultats ont démontré des différences claires entre les 78 accessions à l'égard de descripteurs morphologiques. Par exemple, la hauteur de la plante varie entre 21,33 cm d'Ofi-531 (issue du Rif oriental) à 48,25 cm d'Ofi-762 (Agadir) et le diamètre de la plante varie de 16,43 cm d' Ofi-275 (issue d'Ouardigha) à 71.38 chez Ofi-163 (issue de Rhamna). Dans certains cas, les accessions du même site géographique présentaient significativement des mesures différentes des traits morphologiques; par exemple, lors des adhésions de Rhamna, la longueur de cladode été de 16.30 cm d'Ofi-141 à 29.13 cm d'Ofi-163 (tableau 12). Les écotypes d'*O. ficus indica* ont montré des coefficients de similarité allant de 0,00 à 1,00 (matrice de proximité non représenté). Le coefficient de similarité le plus faible a été observée entre les écotypes d'Ofi-212 et Ofi-262 provenant de la région d'Ouardigha et entre les écotypes d'Ofi-771 et Ofi-772 d'Agadir tandis que le coefficient de similarité la plus élevée a été observée entre les écotypes d'Ofi-163 (issue de Rhamna) et Ofi-275 (issue de Ouardigha). Dans certains cas, les écotypes de différentes régions indiquent un très faible coefficient de similitude (par exemple Ofi-C3 du Jamaat Riah et Ofi-561 du Rif oriental affichent un coefficient de similarité de 0,001). Le dendrogramme présenté dans la figure 21 suggéré 3 grands pôles. Le premier groupe contient 30 écotypes (38,46% du total des écotypes); le deuxième groupe contient 5 écotypes (6,41% du total des entrées) et le troisième groupe est composé de 43 écotypes (55.13% du total des écotypes). Étonnamment, les trois groupes contiennent les écotypes recueillis auprès de différents sites géographiques.

➤ 1.1.2. Variabilité génétique au sein de l'espèce d'*Opuntia megacantha*

La hauteur de la plante des accessions de l'espèce d'*O. megacantha* (Om) variait de 24,67 cm à 40,33 cm, le diamètre de la plante varie à partir de 21,65 cm à 65,38 cm, le nombre moyen des raquettes par plante est de 1,00 à 4,25, la hauteur de cladode est de 17,30 cm à 37,00 cm, la largeur de cladode est de 9,40 cm à 14,67 cm, l'indice de forme de cladode varie de 0,33 à 0,70, l'épaisseur de cladode varie de 0,53 cm à 1,40 cm, la distance moyenne entre les aréoles est de 2,05 cm à 3,15 cm, le nombre moyen d'épines par aréole varie de 3,00 à 5,00 et la moyenne de la longueur de la plus longue épine par aréole est de 1,70 cm à 3,80 cm. Là encore, certaines accessions de la même région affichent sensiblement différentes mesures de traits morphologiques (tableau 12). La gamme de coefficients de similarité était de 0,00 à 1,00 (matrice de proximité non représenté). La similitude était entre Om-B1 et Om-A3, du Jamaat Riah, tandis que la plus forte similarité était entre l'Om t-K1 et Om-K3, du Jamaat Riah. Le dendrogramme (Figure 22) montre 3 groupes, le premier groupe était composé de 11 écotypes (28,95% du total des écotypes); le deuxième groupe contient 20 écotypes (52,63% du total des écotypes), tandis que le troisième groupe composé de 7 écotypes (18,42% du total des écotypes). Le fait intéressant, est que les écotypes recueillis auprès de différentes régions pourraient être trouvés dans le même cluster.

➤ 1.1.3. La variabilité génétique parmi *Opuntia spp.*

Prenant en considération toutes les écotypes étudiées d'*Opuntia spp.*, la hauteur de la plante varie de 19,85 cm de l'écotype OD-242 appartenant à l'espèce *O. dillenii* à 48,25 cm de l'écotype Ofi-762, le nombre moyen de raquettes par plante est de 1,00 à 7,75 chez l'écotype OD-242, avec des raquettes de différentes hauteurs (de 13,70 d'Ofi-331 à 37,00 d'Om-181) et les largeurs (de 6,25 cm d'OD-242 à 20,23 chez Ofi-713). L'épaisseur de cladode varie de 0,47 cm de l'écotype Ofi-264 à 1,40 cm de l'écotype Om-K2 (Tableau 12). Parmi les espèces étudiées, *O. ficus indica*, *O. dillenii* (DO) et *O. inermis* sont inerme. Les coefficients de similarité varie de 0,00 à 1,00. Le dendrogramme montre trois groupes différents (Figure 23), et les écotypes provenant de différentes espèces ou origines géographiques pourraient être recueillies dans le même cluster. Cela montre que les grappes obtenues ne correspondent pas avec les espèces ou sites géographiques évalués.

b) Évaluation de la diversité génétique par les marqueurs moléculaires

Après criblage de 14 amorces ISSR et 34 amorces RAPD, 10 amorces ISSR et une amorce RAPD ont été choisis pour produire des bandes claires, reproductibles et intenses. Les amorces ISSR ont généré un total de 66 bandes, 64 (96,9%) étaient polymorphes. Le nombre de bandes observées par locus variait de 4 à 9, avec une moyenne de 6,6. L'amorce RAPD (UBC-571) a donné 6 bandes, tout polymorphe (tableau 9). Sur la base des valeurs de PIC, les marqueurs ont été très instructif. En effet, les valeurs de PIC variaient de 0,62 à 0,97, avec une moyenne de 0,82. La valeur PIC élevée a été observée dans l'amorce ISSR-8 tandis que la valeur la plus faible a été observée dans l'amorce ISSR-29 (tableau 9). Le dendrogramme affiché 7 pôles à une similitude de 0,76 (Figure 26). *O. inermis* a été

séparée de toutes les autres espèces. Les deux accessions de *O. leucotricha* (Ol-361 et Ol-611) ont été placées dans deux groupes différents, tandis que les écotypes d'Or-412 (*O. robusta*) et d'Oa-171 (*O. aequatorialis*) ont été réunis dans le même cluster. Le fait intéressant, et que 14 accessions appartenant à *O. ficus indica* et *O. megacantha* ont été réunies dans le même groupe. Cela a été confirmé par l'APC (Figure 27), dont les résultats ont été similaires à ceux obtenus par le dendrogramme.

c) *Discussion des résultats du polymorphisme morphologique et moléculaire*

Dans la présente étude, la diversité génétique de 124 écotypes d'*Opuntia spp.* ont été évaluée sur la base de 10 descripteurs morphologiques. L'utilisation de descripteurs morphologiques pour déterminer la diversité génétique au sein des populations de plantes est simple, peu coûteuse et rapide (Bretting et Widrlechner, 1995). Ainsi, ces descripteurs ont été utilisés dans de nombreuses espèces végétales telles que le palmier dattier (Elhoumaizi et al., 2002), de l'avoine hexaploïde (Diederichsen, 2008) et le riz indigène (Yawen et al., 2003). Au meilleur de notre connaissance, c'est la première étude pour évaluer la variabilité génétique au sein et entre les populations d'*Opuntia* au Maroc à l'aide des descripteurs morphologiques. Les études sur la variabilité génétique des espèces d'*Opuntia* à l'aide des descripteurs morphologiques sont rare. Peña-Valdivia et al. (2007) ont évalué la diversité génétique au sein de 55 accessions d'*Opuntia spp.* Aux Mexique basé sur 65 descripteurs morphologiques; ils ont indiqué que seulement quelques traits morphologiques ont montré de manière significative des mesures différentes dans les populations étudiées. Dans une étude plus récente Helesen et al. (2009) ont souligné une nette différenciation entre les espèces d'*Opuntia* à l'aide des descripteurs à base de fruits, fleurs, graines, et les caractéristiques des épines. Dans notre cas, les 124 écotypes ont montré des différences significatives dans les paramètres mesurés et ont été répartis en trois principaux groupes distincts en fonction de la méthode de Ward, contenant 56, 45 et 23 accessions. Les accessions sont classés dans la même espèce peuvent être situés dans différents groupes, et vice versa, même si certaines espèces contiennent des épines tandis que d'autres non. Cela peut s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment les effets environnementaux et le changement évolutif (Chapman et al, 2002;. West-Eberhard, 1989). Nos résultats sont en bon accord avec Valadez-Moctezuma et al. (2014) qui ont soutenu l'hypothèse de l'existence d'un petit nombre d'espèces d'*Opuntia* par rapport à ceux décrits actuellement, mais avec une grande variation génétique intraspécifique. Labra et al. (2003) qui suggère que la présence d'épines ne doit pas être considérée comme un paramètre dans la taxonomie *Opuntia*. L'utilisation de marqueurs morphologiques pour évaluer la diversité génétique au sein des populations est simple et peu coûteuse. Cependant, de tels marqueurs peuvent être affectés par l'environnement (Andersen et Lübberstedt, 2003). Par conséquent, ces dernières années, les marqueurs moléculaires ont été largement utilisés pour évaluer la diversité génétique au sein des populations de plantes. En effet, il a été signalé que les marqueurs moléculaires couvrent une plus grande proportion du génome que celles des marqueurs morphologiques et sont moins influencées par l'environnement, car la variabilité génétique est évaluée en fonction du génotype plutôt que phénotype (Kölliker et al, 2001;. Talebi et Fayyaz 2012). En outre, les marqueurs moléculaires

ont été prouvés puissant pour détecter la variabilité quand il ne serait pas possible avec des marqueurs morphologiques; c'est à dire un marqueur morphologique donné peut affecter d'autres caractéristiques et l'utilité des marqueurs morphologiques est limitée par leur nombre limité (**Andersen et Lübberstedt, 2003**). le long de cette ligne, des marqueurs moléculaires ont été appliqués seuls ou en association avec des descripteurs morphologiques pour évaluer la variabilité génétique dans nombreuses espèces végétales; comme *Phoenix dactylifera L. egin* (**Sedra et al., 1998**), *Olea europaea L.* (**Brake et al., 2014**), et *Citrus sinensis L.* (**Malik et al., 2012**). En ce qui concerne la cactus, **Labra et al. (2003)** ont évalué la diversité génétique de 11 espèces d'Opuntia de l'Italie en utilisant la répétition chloroplastique simple séquence (cpSSR) et les marqueurs(AFLP) : la longueur du polymorphisme des fragments amplifiés, et une similarité génétique élevée entre *O. ficus indica* et *O. megacantha* a été révélé. En effet, ces auteurs suggéré que l'espèce *O. ficus indica* devrait être considéré comme une forme domestiquée d'*O. megacantha*. **Caruso et al. (2010)** ont évalué la diversité génétique entre 62 accessions appartenant à 16 espèces d'Opuntia d'origines différentes, en utilisant les amorces (SSR) : répétitions de séquences simples, et ont constaté que les accessions *O. ficus indica* ne se regroupent séparément des espèces de certain Opuntia, y compris *O. megacantha*. Dans une étude plus récente, **Valadez-Moctezuma et al. (2014)** ont évalué la variabilité génétique parmi 12 espèces Mexican Opuntia (52 cultivars) avec des marqueurs ISSR et RAPD, et ont indiqué que *O. ficus indica et O. megacantha* ont une puissance ascendance. Nos résultats sont compatibles courantes avec tous ces auteurs, depuis une similarité génétique élevée a été observée entre *O.ficus indica* et *O. megacantha*. D'autre part, **Valadez-Moctezuma et al. (2014)** projeté 120 amorces RAPD, dont cinq ont été en mesure de générer des bandes (4.16%). Dans notre cas, seule une amorce RAPD sur 34 (2,94%) a généré les bandes. Nos résultats indique que les marqueurs ISSR sont les plus efficaces et informatif des espèces d'Opuntia. Récemment, les marqueurs ISSR ont été utilisés pour évaluer les relations génétiques et phylogénétiques de 15 espèces d'Opuntia issue de l'Argentine, la Bolivie, le Brésil, le Paraguay et l'Uruguay (**Realini et al., 2014**). Nos résultats sont en contraste avec ceux de **Valadez-Moctezuma et al. (2014)**, qui ont indiqué que l'évaluation de la diversité génétique avec des marqueurs RAPD a été relativement plus efficace que des marqueurs ISSR. Dans notre étude, le nombre total de bandes polymorphes est (64) et les valeurs de PIC est de (0,62 à 0,97) de marqueurs ISSR étaient différents de ceux trouvés par **Valadez-Moctezuma et al. (2014)**, dans lequel le nombre de bandes polymorphes était 70 et le PIC varie de 0,21 à 0,27. Cette différence dans le nombre de bandes et les valeurs polymorphes PIC pourrait s'expliquer par les différentes amorces ISSR employés (différentes séquences), la différence entre les accessions et la haute distance entre les sites géographiques (Mexique et Maroc). En ce qui concerne l'espèce *Opuntia ficus indica*, **Zoghلامي et al. (2007)** ont utilisé 8 amorces RAPD (plus de 22 blindé) pour évaluer la variabilité génétique dans les 36 accessions tunisiennes, et une grande diversité génétique a été détectée. Au Maroc, la diversité génétique au sein des écotypes *O. ficus indica* a été évaluée à l'aide de marqueurs RAPD (**El Finti et al., 2013**), et l'effet de l'origine géographique a été révélé. Dans notre cas, les résultats ont montré la similarité génétique élevée chez les accessions étudiées d'*O. ficus indica*, même si elles ont été collectées à partir de différentes régions du Maroc.

Nous pouvons conclure que cette étude est le premier rapport pour évaluer la diversité génétique au sein et entre les espèces d'*Opuntia* au Maroc à l'aide des descripteurs morphologiques et des marqueurs moléculaires. Un niveau de diversité génétique faible a été observé chez les accessions analysées et une grande similitude qui a été soulignée entre les accessions des deux espèces *O. ficus indica* et *O. de megacantha*. Nos résultats montrent également que les marqueurs ISSR sont très efficaces et informatif chez les espèces d'*Opuntia*. Nos résultats devraient être pris en considération pour les programmes de conservation des ressources génétiques de sélection végétale.

Tableau 11 : Moyennes (\pm SD) des traits morphologiques des différents accessions d'*Opuntia spp.* au Maroc.

Espèces	Origine géographique	Ecotype	Hauteur de la plante (cm)	Diamètre de la plante (cm)	Nombre moyen de raquettes par plante	Hauteur de raquette (cm)	Largeur de raquette (cm)	Indice de la forme de raquette (cm)	Épaisseur de raquette (cm)	Distance moyenne entre les aréoles (cm)	Nombre moyen des épines par aréole	Longueur moyenne de la plus longue épine par aréole (cm)
<i>O. ficus indica</i>	Jamaât Riah	Ofi-B2	36.80 \pm 3.16 ^{abcd}	45.08 \pm 1.92 ^{abcdefghi}	3.00 \pm 2.16 ^{cdef}	26.63 \pm 2.36 ^{bdefghijkl}	13.63 \pm 2.41 ^{bc}	0.51 \pm 0.09 ^{bcd}	0.83 \pm 0.22 ^{abc}	2.70 \pm 0.36 ^{bcd}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-B3	37.10 \pm 2.68 ^{abcd}	47.13 \pm 9.91 ^{abcdefghi}	2.75 \pm 0.96 ^{cdef}	21.98 \pm 5.54 ^{defghijkl}	10.93 \pm 2.44 ^{bcd}	0.50 \pm 0.06 ^{bcd}	0.68 \pm 0.21 ^{abc}	2.58 \pm 0.15 ^{cdef}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-C2	33.38 \pm 8.84 ^{abcd}	37.93 \pm 16.12 ^{abcdefghi}	3.00 \pm 0.82 ^{cdef}	21.80 \pm 0.98 ^{defghijkl}	13.10 \pm 0.33 ^{bc}	0.59 \pm 0.01 ^{bcd}	0.98 \pm 0.05 ^{abc}	2.90 \pm 0.08 ^{bcd}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-C3	36.25 \pm 9.81 ^{abcd}	37.00 \pm 6.77 ^{abcdefghi}	1.75 \pm 0.50 ^{ef}	24.88 \pm 1.84 ^{bdefghijkl}	13.25 \pm 1.56 ^{bc}	0.56 \pm 0.02 ^{bcd}	0.73 \pm 0.13 ^{abc}	2.93 \pm 0.50 ^{bcd}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-D1	29.50 \pm 4.55 ^{abcd}	28.38 \pm 5.76 ^{ghi}	2.50 \pm 0.58 ^{cdef}	20.08 \pm 1.05 ^{efghijkl}	11.35 \pm 0.29 ^{bcd}	0.57 \pm 0.02 ^{bcd}	1.10 \pm 0.00 ^{abc}	2.45 \pm 0.10 ^{defg}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-D2	30.13 \pm 14.77 ^{abcd}	32.38 \pm 14.51 ^{cdefghi}	2.00 \pm 0.82 ^{def}	28.90 \pm 3.53 ^{bcd}	13.19 \pm 3.05 ^{bc}	0.47 \pm 0.05 ^{bcd}	1.20 \pm 0.00 ^{abc}	2.68 \pm 0.49 ^{bcd}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-D3	36.38 \pm 3.42 ^{abcd}	51.38 \pm 7.61 ^{abcdefghi}	3.75 \pm 0.50 ^{bcd}	26.63 \pm 3.38 ^{bdefghijkl}	13.85 \pm 1.64 ^{bc}	0.52 \pm 0.03 ^{bcd}	0.90 \pm 0.47 ^{abc}	2.68 \pm 0.31 ^{bcd}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-E1	37.10 \pm 10.54 ^{abcd}	43.33 \pm 4.19 ^{abcdefghi}	2.25 \pm 1.50 ^{def}	25.13 \pm 2.78 ^{bdefghijkl}	13.30 \pm 1.72 ^{bc}	0.62 \pm 0.16 ^{bcd}	0.80 \pm 0.29 ^{abc}	3.05 \pm 0.33 ^{bcd}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-E2	42.75 \pm 4.86 ^{abc}	52.25 \pm 25.16 ^{abcdefghi}	3.75 \pm 1.89 ^{bcd}	27.43 \pm 1.92 ^{bdefghij}	13.80 \pm 0.68 ^{bc}	0.50 \pm 0.05 ^{bcd}	0.75 \pm 0.41 ^{abc}	2.90 \pm 0.29 ^{bcd}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-F1	27.45 \pm 12.12 ^{abcd}	51.95 \pm 32.28 ^{abcdefghi}	3.50 \pm 1.73 ^{bcd}	28.25 \pm 3.77 ^{bcd}	14.28 \pm 1.81 ^{bc}	0.49 \pm 0.04 ^{bcd}	0.75 \pm 0.41 ^{abc}	3.75 \pm 0.29 ^{ab}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-F2	37.25 \pm 7.58 ^{abcd}	66.00 \pm 12.93 ^{abc}	4.00 \pm 1.15 ^{bcd}	28.15 \pm 4.60 ^{bcd}	14.25 \pm 1.94 ^{bc}	0.51 \pm 0.04 ^{bcd}	0.78 \pm 0.39 ^{abc}	3.18 \pm 0.62 ^{bcd}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-F3	31.88 \pm 1.89 ^{abcd}	34.00 \pm 5.58 ^{cdefghi}	2.25 \pm 0.50 ^{def}	22.10 \pm 2.68 ^{defghij}	12.50 \pm 0.71 ^{bcd}	0.55 \pm 0.05 ^{bcd}	0.60 \pm 0.18 ^{abc}	2.78 \pm 0.26 ^{bcd}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-G1	41.25 \pm 14.31 ^{abcd}	37.28 \pm 25.85 ^{abcdefghi}	3.50 \pm 2.08 ^{bcd}	27.55 \pm 0.90 ^{bdefghij}	10.13 \pm 2.25 ^{cd}	0.41 \pm 0.08 ^{def}	1.05 \pm 0.12 ^{abc}	3.05 \pm 0.29 ^{bcd}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-G2	32.63 \pm 1.70 ^{abcd}	30.13 \pm 4.01 ^{cdefghi}	1.50 \pm 0.58 ^{ef}	23.75 \pm 3.77 ^{cdefghij}	13.15 \pm 2.21 ^{bc}	0.55 \pm 0.02 ^{bcd}	0.63 \pm 0.13 ^{abc}	2.80 \pm 0.24 ^{bcd}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-H1	39.38 \pm 6.63 ^{abcd}	39.68 \pm 1.89 ^{abcdefghi}	2.50 \pm 0.58 ^{cdef}	26.45 \pm 4.79 ^{bdefghij}	13.73 \pm 1.39 ^{bc}	0.52 \pm 0.08 ^{bcd}	0.98 \pm 0.32 ^{abc}	3.10 \pm 0.20 ^{bcd}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-H2	30.00 \pm 7.67 ^{abcd}	35.75 \pm 5.74 ^{bcd}	1.50 \pm 0.58 ^{ef}	24.00 \pm 2.04 ^{cdefghij}	12.85 \pm 0.53 ^{bc}	0.53 \pm 0.02 ^{bcd}	1.10 \pm 0.16 ^{abc}	2.65 \pm 0.04 ^{bcd}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-H3	26.30 \pm 6.53 ^{abcd}	37.25 \pm 2.33 ^{abcdefghi}	2.00 \pm 0.00 ^{def}	21.60 \pm 1.96 ^{defghij}	10.60 \pm 1.55 ^{bcd}	0.48 \pm 0.03 ^{bcd}	1.20 \pm 0.08 ^{abc}	2.60 \pm 0.24 ^{cdef}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-I2	29.88 \pm 1.03 ^{abcd}	29.00 \pm 11.05 ^{efghi}	1.75 \pm 0.96 ^{ef}	18.17 \pm 6.18 ^{ghijkl}	11.60 \pm 1.10 ^{bcd}	0.72 \pm 0.25 ^b	0.70 \pm 0.24 ^{abc}	2.80 \pm 0.43 ^{bcd}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-J1	30.93 \pm 2.69 ^{abcd}	33.00 \pm 8.77 ^{cdefghi}	2.50 \pm 1.00 ^{cdef}	21.33 \pm 1.43 ^{defghijkl}	10.43 \pm 1.25 ^{cd}	0.49 \pm 0.04 ^{bcd}	0.70 \pm 0.22 ^{abc}	2.73 \pm 0.19 ^{bcd}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-J2	24.90 \pm 10.25 ^{bcd}	27.23 \pm 11.98 ^{fghi}	3.00 \pm 0.82 ^{cdef}	19.50 \pm 0.41 ^{fghijkl}	10.50 \pm 1.22 ^{cd}	0.53 \pm 0.05 ^{bcd}	0.90 \pm 0.08 ^{abc}	2.50 \pm 0.41 ^{defg}	-	-
	Jamaât Riah	Ofi-J3	22.83 \pm 4.28 ^{cd}	30.50 \pm 3.67 ^{bcdefghi}	2.75 \pm 0.50 ^{cdef}	18.83 \pm 1.09 ^{fghijkl}	9.88 \pm 2.29 ^{cd}	0.53 \pm 0.14 ^{bcd}	0.98 \pm 0.22 ^{abc}	2.55 \pm 0.13 ^{cdef}	-	-
	Rhamna	Ofi-113	35.00 \pm 3.34 ^{abcd}	62.88 \pm 15.93 ^{abcdef}	4.25 \pm 1.50 ^{bcd}	25.95 \pm 3.09 ^{bdefghijkl}	13.33 \pm 1.48 ^{bc}	0.51 \pm 0.03 ^{bcd}	0.75 \pm 0.41 ^{abc}	2.75 \pm 0.31 ^{bcd}	-	-
	Rhamna	Ofi-121	29.83 \pm 2.17 ^{abcd}	46.75 \pm 10.20 ^{abcdefghi}	6.25 \pm 1.71 ^{ab}	25.28 \pm 3.05 ^{bdefghijkl}	12.58 \pm 1.26 ^{bcd}	0.50 \pm 0.02 ^{bcd}	0.88 \pm 0.43 ^{abc}	2.90 \pm 0.22 ^{bcd}	-	-
	Rhamna	Ofi-141	25.50 \pm 0.00 ^{bcd}	26.50 \pm 3.27 ^{ghi}	1.00 \pm 0.00 ^f	16.30 \pm 0.24 ^{kl}	9.50 \pm 0.41 ^{cd}	0.57 \pm 0.05 ^{bcd}	0.90 \pm 0.08 ^{abc}	2.60 \pm 0.16 ^{cdef}	-	-
	Rhamna	Ofi-142	24.75 \pm 6.50 ^{bcd}	28.03 \pm 4.01 ^{ghi}	1.00 \pm 0.00 ^f	22.60 \pm 1.96 ^{cdefghijkl}	12.85 \pm 2.16 ^{bc}	0.56 \pm 0.05 ^{bcd}	1.15 \pm 0.04 ^{abc}	2.65 \pm 0.53 ^{bcd}	-	-
	Rhamna	Ofi-151	33.93 \pm 3.99 ^{abcd}	45.45 \pm 3.32 ^{abcdefghi}	2.25 \pm 1.26 ^{def}	26.70 \pm 2.52 ^{bdefghijkl}	12.00 \pm 1.36 ^{bcd}	0.45 \pm 0.08 ^{bcd}	0.78 \pm 0.22 ^{abc}	3.00 \pm 0.14 ^{bcd}	-	-
	Rhamna	Ofi-152	31.48 \pm 5.12 ^{abcd}	29.93 \pm 1.34 ^{defghi}	1.50 \pm 0.58 ^{ef}	24.50 \pm 3.39 ^{bdefghijkl}	11.30 \pm 2.43 ^{bcd}	0.45 \pm 0.04 ^{bcd}	0.80 \pm 0.38 ^{abc}	2.83 \pm 0.46 ^{bcd}	-	-
	Rhamna	Ofi-153	27.10 \pm 8.23 ^{abcd}	32.78 \pm 20.66 ^{cdefghi}	2.00 \pm 0.82 ^{def}	22.14 \pm 3.60 ^{defghijkl}	11.29 \pm 2.47 ^{bcd}	0.47 \pm 0.05 ^{bcd}	1.00 \pm 0.24 ^{abc}	3.23 \pm 0.66 ^{bcd}	-	-
	Rhamna	Ofi-161	26.28 \pm 5.33 ^{abcd}	31.33 \pm 4.49 ^{cdefghi}	1.25 \pm 0.50 ^f	20.43 \pm 3.81 ^{efghijkl}	11.60 \pm 2.05 ^{bcd}	0.57 \pm 0.06 ^{bcd}	0.78 \pm 0.36 ^{abc}	2.78 \pm 0.32 ^{bcd}	-	-
	Rhamna	Ofi-162	27.25 \pm 2.30 ^{abcd}	43.05 \pm 11.40 ^{abcdefghi}	2.50 \pm 0.58 ^{cdef}	22.37 \pm 1.69 ^{cdefghijkl}	12.77 \pm 0.38 ^{bc}	0.57 \pm 0.03 ^{bcd}	0.80 \pm 0.28 ^{abc}	2.80 \pm 0.14 ^{bcd}	-	-
	Rhamna	Ofi-163	42.13 \pm 5.39 ^{abcd}	71.38 \pm 5.02 ^a	4.75 \pm 1.89 ^{bcd}	29.13 \pm 4.21 ^{bcd}	14.53 \pm 1.75 ^{bc}	0.50 \pm 0.05 ^{bcd}	0.88 \pm 0.17 ^{abc}	2.85 \pm 0.87 ^{bcd}	-	-
Rhamna	Ofi-1101	38.00 \pm 4.32 ^{abcd}	36.50 \pm 7.08 ^{bcd}	2.25 \pm 0.50 ^{def}	27.70 \pm 2.95 ^{bcd}	13.48 \pm 1.19 ^{bc}	0.49 \pm 0.04 ^{bcd}	0.95 \pm 0.33 ^{abc}	3.00 \pm 0.56 ^{bcd}	-	-	
Ouardigha	Ofi-211	25.38 \pm 9.62 ^{bcd}	24.98 \pm 9.72 ^{ghi}	1.00 \pm 0.00 ^f	22.25 \pm 1.02 ^{defghijkl}	12.00 \pm 0.00 ^{bcd}	0.54 \pm 0.02 ^{bcd}	1.15 \pm 0.12 ^{abc}	2.40 \pm 0.08 ^{efg}	-	-	
Ouardigha	Ofi-212	26.63 \pm 3.68 ^{abcd}	36.00 \pm 6.16 ^{bcd}	1.50 \pm 0.58 ^{ef}	24.40 \pm 2.57 ^{bdefghijkl}	12.17 \pm 1.03 ^{bcd}	0.50 \pm 0.05 ^{bcd}	1.13 \pm 0.17 ^{abc}	2.93 \pm 0.45 ^{bcd}	-	-	
Ouardigha	Ofi-231	29.60 \pm 3.93 ^{abcd}	42.13 \pm 12.68 ^{abcdefghi}	2.50 \pm 0.58 ^{cdef}	21.10 \pm 4.66 ^{defghijkl}	11.05 \pm 3.14 ^{bcd}	0.52 \pm 0.04 ^{bcd}	0.58 \pm 0.21 ^{abc}	2.53 \pm 0.62 ^{defg}	-	-	
Ouardigha	Ofi-232	28.25 \pm 3.97 ^{abcd}	31.00 \pm 4.32 ^{cdefghi}	2.00 \pm 0.82 ^{def}	18.00 \pm 1.63 ^{ghijkl}	10.30 \pm 0.24 ^{cd}	0.57 \pm 0.06 ^{bcd}	0.70 \pm 0.16 ^{abc}	2.80 \pm 0.16 ^{bcd}	-	-	
Ouardigha	Ofi-233	24.13 \pm 9.08 ^{bcd}	29.00 \pm 5.55 ^{cdefghi}	1.75 \pm 0.96 ^{ef}	18.57 \pm 1.41 ^{fghijkl}	9.10 \pm 0.65 ^{cd}	0.49 \pm 0.02 ^{bcd}	0.73 \pm 0.12 ^{abc}	2.57 \pm 0.49 ^{cdefg}	-	-	
Ouardigha	Ofi-261	22.30 \pm 3.19 ^{cd}	29.45 \pm 6.44 ^{defghi}	1.00 \pm 0.00 ^f	19.60 \pm 3.59 ^{fghijkl}	10.65 \pm 1.67 ^{bcd}	0.54 \pm 0.02 ^{bcd}	0.85 \pm 0.12 ^{abc}	2.70 \pm 0.16 ^{bcd}	-	-	
Ouardigha	Ofi-262	26.70 \pm 3.85 ^{abcd}	35.63 \pm 4.17 ^{bcd}	1.50 \pm 0.58 ^{ef}	22.81 \pm 3.35 ^{cdefghijkl}	11.43 \pm 0.52 ^{bcd}	0.49 \pm 0.03 ^{bcd}	0.97 \pm 0.34 ^{abc}	2.73 \pm 0.21 ^{bcd}	-	-	
Ouardigha	Ofi-263	39.13 \pm 4.21 ^{abcd}	44.60 \pm 4.33 ^{abcdefghi}	1.75 \pm 0.50 ^{ef}	30.45 \pm 1.56 ^{abcde}	13.50 \pm 0.71 ^{bc}	0.50 \pm 0.12 ^{bcd}	0.93 \pm 0.46 ^{abc}	3.15 \pm 0.24 ^{bcd}	-	-	
Ouardigha	Ofi-264	28.33 \pm 4.44 ^{abcd}	36.88 \pm 9.19 ^{abcdefghi}	2.50 \pm 1.00 ^{cdef}	23.90 \pm 1.34 ^{cdefghijk}	11.27 \pm 0.56 ^{bcd}	0.47 \pm 0.03 ^{bcd}	0.47 \pm 0.10 ^c	2.40 \pm 0.26 ^{efg}	-	-	
Ouardigha	Ofi-265	24.25 \pm 0.61 ^{bcd}	35.25 \pm 5.92 ^{bcd}	3.00 \pm 0.82 ^{cdef}	23.20 \pm 0.16 ^{cdefghijkl}	10.20 \pm 0.16 ^{cd}	0.43 \pm 0.08 ^{cdef}	1.10 \pm 0.08 ^{abc}	2.90 \pm 0.73 ^{bcd}	-	-	
Ouardigha	Ofi-266	29.88 \pm 5.02 ^{abcd}	27.75 \pm 1.32 ^{fghi}	1.50 \pm 0.58 ^{ef}	27.23 \pm 6.65 ^{bdefghij}	13.77 \pm 1.45 ^{bc}	0.52 \pm 0.06 ^{bcd}	0.77 \pm 0.09 ^{abc}	3.33 \pm 0.24 ^{cdef}	-	-	
Ouardigha	Ofi-271	27.17 \pm 7.71 ^{abcd}	28.83 \pm 8.66 ^{efghi}	1.50 \pm 0.58 ^{ef}	26.20 \pm 0.82 ^{bdefghijkl}	12.45 \pm 0.37 ^{bcd}	0.47 \pm 0.00 ^{bcd}	1.05 \pm 0.04 ^{abc}	3.00 \pm 0.00 ^{bcd}	-	-	
Ouardigha	Ofi-272	35.88 \pm 11.35 ^{abcd}	30.75 \pm 8.07 ^{cdefghi}	2.00 \pm 0.82 ^{def}	22.48 \pm 3.26 ^{cdefghijkl}	12.18 \pm 0.96 ^{bcd}						

O. megacantha

Middle atlas	Ofi-321	38.50 ±19.07 ^{abcd}	29.13 ±12.80 ^{efghi}	3.75 ±0.96 ^{bcdef}	23.47 ±2.17 ^{cdefghijkl}	12.87 ±1.62 ^{bc}	0.54 ±0.03 ^{bcdef}	0.70 ±0.14 ^{abc}	3.20 ±0.14 ^{bcdefg}	-	-
Middle atlas	Ofi-331	31.88 ±8.23 ^{abcd}	22.25 ±1.66 ^{ghi}	1.00 ±0.00 ^f	13.70 ±0.00 ^l	10.70 ±0.00 ^{bcd}	0.65 ±0.11 ^{bcd}	0.80 ±0.00 ^{abc}	2.55 ±0.04 ^{cdefg}	-	-
Middle atlas	Ofi-341	30.63 ±6.94 ^{abcd}	31.38 ±7.06 ^{cdefghi}	1.50 ±0.58 ^{ef}	19.27 ±6.73 ^{ghijkl}	13.00 ±0.50 ^{bcd}	0.51 ±0.05 ^{bcdef}	0.83 ±0.17 ^{abc}	3.13 ±0.26 ^{bcdefg}	-	-
Middle atlas	Ofi-351	31.00 ±8.13 ^{abcd}	30.13 ±10.01 ^{cdefghi}	1.75 ±0.50 ^{ef}	21.07 ±2.08 ^{defghijkl}	11.93 ±0.99 ^{bcd}	0.56 ±0.01 ^{bcdef}	0.77 ±0.29 ^{abc}	3.03 ±0.48 ^{bcdefg}	-	-
Northeast Morocco	Ofi-421	31.00 ±7.43 ^{abcd}	32.68 ±9.46 ^{cdefghi}	1.50 ±0.58 ^{ef}	23.48 ±1.07 ^{cdefghijkl}	11.53 ±1.02 ^{bcd}	0.52 ±0.06 ^{bcdef}	0.73 ±0.21 ^{abc}	2.45 ±0.26 ^{defg}	-	-
Northeast Morocco	Ofi-451	24.50 ±1.78 ^{bcd}	39.63 ±12.96 ^{abcdcdefghi}	2.50 ±0.58 ^{cdef}	23.60 ±1.31 ^{cdefghijkl}	11.30 ±0.41 ^{bcd}	0.47 ±0.01 ^{bcdef}	0.70 ±0.00 ^{abc}	2.40 ±0.08 ^{efg}	-	-
Eastern Rif	Ofi-521	21.88 ±6.51 ^{cd}	21.50 ±10.01 ^{hi}	1.00 ±0.00 ^f	17.00 ±1.63 ^{jk}	12.00 ±1.63 ^{bcd}	0.70 ±0.16 ^{bc}	1.10 ±0.08 ^{abc}	3.50 ±0.41 ^{abcde}	-	-
Eastern Rif	Ofi-531	21.33 ±6.55 ^{cd}	23.33 ±7.32 ^{ghi}	1.00 ±0.00 ^f	22.50 ±0.41 ^{cdefghijkl}	12.00 ±1.63 ^{bcd}	0.53 ±0.02 ^{bcdef}	1.00 ±0.16 ^{abc}	2.60 ±0.33 ^{cdefg}	-	-
Eastern Rif	Ofi-533	32.40 ±14.02 ^{abcd}	42.30 ±23.93 ^{abcdcdefghi}	3.75 ±2.36 ^{bcdef}	26.93 ±1.37 ^{bdefghij}	12.90 ±0.51 ^{bc}	0.48 ±0.04 ^{bcdef}	0.73 ±0.21 ^{abc}	4.17 ±1.31 ^a	-	-
Eastern Rif	Ofi-542	26.38 ±15.21 ^{abcd}	29.75 ±21.63 ^{defghi}	2.00 ±0.82 ^{def}	29.05 ±1.02 ^{bdef}	14.85 ±0.78 ^{bc}	0.51 ±0.01 ^{bcdef}	0.85 ±0.04 ^{abc}	3.70 ±0.08 ^{abc}	-	-
Eastern Rif	Ofi-561	37.25 ±5.84 ^{abcd}	34.93 ±14.14 ^{bdefcghi}	1.75 ±0.96 ^{ef}	26.20 ±6.49 ^{bdefcghijk}	12.75 ±3.52 ^{bc}	0.48 ±0.05 ^{bcdef}	0.78 ±0.30 ^{abc}	2.70 ±0.48 ^{bcdefg}	-	-
Western Rif	Ofi-612	36.25 ±8.87 ^{abcd}	33.63 ±9.32 ^{cdefghi}	2.75 ±0.50 ^{cdef}	23.10 ±2.21 ^{cdefghijkl}	11.57 ±1.05 ^{bcd}	0.50 ±0.03 ^{bcdef}	1.03 ±0.09 ^{abc}	2.37 ±0.45 ^{efg}	-	-
Western Rif	Ofi-631	30.20 ±9.41 ^{abcd}	33.88 ±13.14 ^{cdefghi}	3.50 ±0.58 ^{bcdef}	21.00 ±0.41 ^{defghijkl}	12.25 ±0.20 ^{bcd}	0.58 ±0.00 ^{bcdef}	0.75 ±0.04 ^{abc}	2.80 ±0.00 ^{bcdefg}	-	-
Agadir	Ofi-711	41.70 ±5.77 ^{abcd}	50.80 ±9.72 ^{abcdcdefghi}	2.75 ±1.26 ^{cdef}	28.38 ±2.84 ^{bdefcghijk}	12.90 ±2.37 ^{bc}	0.49 ±0.15 ^{bcdef}	0.55 ±0.19 ^{bc}	3.03 ±0.90 ^{bcdefg}	-	-
Agadir	Ofi-712	40.17 ±6.54 ^{abcd}	57.50 ±20.00 ^{abcdcdefghi}	4.25 ±2.63 ^{bcdef}	26.03 ±2.53 ^{bdefcghijk}	15.47 ±2.17 ^{bc}	0.56 ±0.04 ^{bcdef}	0.87 ±0.17 ^{abc}	2.70 ±0.22 ^{bcdefg}	-	-
Agadir	Ofi-713	45.43 ±4.64 ^{ab}	38.75 ±8.21 ^{abcdcdefghi}	2.25 ±1.26 ^{def}	34.00 ±3.58 ^{ab}	20.23 ±10.73 ^a	0.58 ±0.25 ^{bcdef}	0.83 ±0.26 ^{abc}	3.00 ±0.08 ^{bcdefg}	-	-
Agadir	Ofi-714	35.78 ±6.63 ^{abcd}	47.43 ±8.25 ^{abcdcdefghi}	2.50 ±0.58 ^{cdef}	25.15 ±9.11 ^{bdefcghijk}	15.78 ±3.26 ^{bc}	0.67 ±0.21 ^{bcd}	0.86 ±0.21 ^{abc}	2.85 ±0.24 ^{bcdefg}	-	-
Agadir	Ofi-723	39.03 ±11.53 ^{abcd}	43.88 ±15.29 ^{abcdcdefghi}	2.25 ±0.96 ^{def}	28.45 ±2.19 ^{bdefcghijk}	15.08 ±0.87 ^{bc}	0.53 ±0.04 ^{bcdef}	1.00 ±0.16 ^{abc}	3.05 ±0.10 ^{bcdefg}	-	-
Agadir	Ofi-731	36.85 ±4.98 ^{abcd}	48.38 ±7.62 ^{abcdcdefghi}	2.00 ±0.82 ^{def}	27.43 ±1.54 ^{bdefcghijk}	14.13 ±1.26 ^{bc}	0.51 ±0.03 ^{bcdef}	0.88 ±0.28 ^{abc}	2.95 ±0.54 ^{bcdefg}	-	-
Agadir	Ofi-732	42.68 ±8.01 ^{abc}	40.58 ±8.39 ^{abcdcdefghi}	2.50 ±0.58 ^{cdef}	29.00 ±3.24 ^{bdefc}	14.80 ±0.99 ^{bc}	0.51 ±0.03 ^{bcdef}	1.10 ±0.22 ^{abc}	3.13 ±0.25 ^{bcdefg}	-	-
Agadir	Ofi-733	38.25 ±10.44 ^{abcd}	42.65 ±16.01 ^{abcdcdefghi}	2.25 ±0.50 ^{def}	27.65 ±8.00 ^{bdefcghijk}	13.48 ±2.67 ^{bc}	0.48 ±0.05 ^{bcdef}	1.13 ±0.56 ^{abc}	3.00 ±0.28 ^{bcdefg}	-	-
Agadir	Ofi-742	42.93 ±9.94 ^{abc}	56.25 ±23.09 ^{abcdcdefghi}	3.75 ±1.71 ^{bdef}	27.00 ±2.27 ^{bdefcghijk}	13.33 ±1.68 ^{bc}	0.49 ±0.07 ^{bcdef}	0.75 ±0.24 ^{abc}	2.98 ±0.24 ^{bcdefg}	-	-
Agadir	Ofi-743	39.75 ±10.43 ^{abcd}	69.88 ±26.42 ^{ab}	4.25 ±3.30 ^{bcdef}	25.98 ±4.29 ^{bdefcghijk}	12.95 ±1.32 ^{bc}	0.50 ±0.06 ^{bcdef}	0.63 ±0.29 ^{abc}	3.03 ±0.40 ^{bcdefg}	-	-
Agadir	Ofi-751	45.75 ±2.72 ^{ab}	50.88 ±19.84 ^{abcdcdefghi}	4.00 ±1.63 ^{bcdef}	32.68 ±10.79 ^{abc}	13.13 ±1.11 ^{bc}	0.44 ±0.18 ^{cdef}	1.00 ±0.26 ^{abc}	3.05 ±0.33 ^{bcdefg}	-	-
Agadir	Ofi-752	46.18 ±3.94 ^{ab}	64.63 ±6.42 ^{abcde}	5.25 ±0.50 ^{bcd}	31.15 ±2.56 ^{abcd}	15.63 ±0.75 ^{bc}	0.50 ±0.06 ^{bcdef}	0.73 ±0.24 ^{abc}	2.88 ±0.48 ^{bcdefg}	-	-
Agadir	Ofi-761	40.00 ±10.58 ^{abcd}	55.38 ±19.74 ^{abcdcdefghi}	3.50 ±1.29 ^{bcdef}	22.45 ±6.94 ^{cdefghijkl}	13.43 ±3.06 ^{bc}	0.63 ±0.22 ^{bcd}	0.73 ±0.40 ^{abc}	2.68 ±0.24 ^{bcdefg}	-	-
Agadir	Ofi-762	48.25 ±5.12 ^a	45.00 ±13.20 ^{abcdcdefghi}	3.00 ±1.41 ^{cdef}	23.65 ±3.49 ^{cdefghijkl}	13.25 ±1.46 ^{bc}	0.56 ±0.08 ^{bcdef}	0.88 ±0.34 ^{abc}	2.68 ±0.30 ^{bcdefg}	-	-
Agadir	Ofi-771	33.38 ±3.25 ^{abcd}	46.00 ±5.07 ^{abcdcdefghi}	3.00 ±1.41 ^{cdef}	25.83 ±1.72 ^{bdefcghijk}	12.05 ±1.46 ^{bcd}	0.46 ±0.05 ^{bcdef}	0.90 ±0.16 ^{abc}	2.75 ±0.65 ^{bcdefg}	-	-
Agadir	Ofi-772	33.93 ±3.00 ^{abcd}	47.07 ±12.40 ^{abcdcdefghi}	2.00 ±0.82 ^{def}	25.73 ±1.46 ^{bdefcghijk}	12.80 ±1.12 ^{bc}	0.49 ±0.05 ^{bcdef}	0.73 ±0.25 ^{abc}	2.63 ±0.19 ^{bcdefg}	-	-
Jamaât Riah	Om-A1	30.43 ±3.54 ^{abcd}	42.05 ±15.92 ^{abcdcdefghi}	2.75 ±0.96 ^{cdef}	25.38 ±3.50 ^{bdefcghijk}	12.38 ±0.48 ^{bcd}	0.49 ±0.07 ^{bcdef}	0.80 ±0.18 ^{abc}	2.68 ±0.39 ^{bcdefg}	4.25 ±1.50 ^{abc}	2.70 ±0.22 ^{ghijklmno}
Jamaât Riah	Om-A2	32.15 ±2.83 ^{abcd}	43.05 ±13.93 ^{abcdcdefghi}	2.00 ±0.00 ^{def}	25.15 ±1.65 ^{bdefcghijk}	14.67 ±1.31 ^{bc}	0.58 ±0.03 ^{bcdef}	0.90 ±0.16 ^{abc}	2.90 ±0.16 ^{bcdefg}	3.75 ±0.50 ^{cd}	3.00 ±0.50 ^{cdefghijklm}
Jamaât Riah	Om-A3	29.03 ±5.85 ^{abcd}	36.60 ±6.13 ^{bdefcghi}	2.75 ±0.96 ^{cdef}	25.40 ±1.55 ^{bdefcghijk}	12.80 ±0.98 ^{bc}	0.50 ±0.01 ^{bcdef}	1.05 ±0.04 ^{abc}	3.10 ±0.33 ^{bcdefg}	3.00 ±0.00 ^d	2.15 ±0.29 ^{nop}
Jamaât Riah	Om-B1	29.03 ±5.85 ^{abcd}	36.60 ±6.13 ^{bdefcghi}	1.75 ±0.50 ^{ef}	25.25 ±1.56 ^{bdefcghijk}	12.35 ±1.11 ^{bcd}	0.49 ±0.02 ^{bcdef}	0.98 ±0.10 ^{abc}	2.95 ±0.37 ^{bcdefg}	3.00 ±0.00 ^d	2.38 ±0.39 ^{ijklmno}
Jamaât Riah	Om-K1	25.00 ±10.39 ^{bcd}	21.65 ±12.88 ^{hi}	1.00 ±0.00 ^f	23.53 ±0.38 ^{cdefghijkl}	13.00 ±1.63 ^{bc}	0.55 ±0.04 ^{bcdef}	1.30 ±0.08 ^{abc}	3.00 ±0.41 ^{bcdefg}	4.00 ±0.82 ^{bcd}	2.10 ±0.08 ^{op}
Jamaât Riah	Om-K2	33.93 ±9.72 ^{abcd}	41.88 ±10.36 ^{abcdcdefghi}	3.50 ±1.00 ^{bcdef}	26.30 ±3.50 ^{bdefcghijk}	12.83 ±2.42 ^{bc}	0.48 ±0.03 ^{ef}	1.40 ±1.33 ^a	2.90 ±0.36 ^{bcdefg}	3.00 ±0.82 ^d	3.07 ±0.51 ^{cdefghijk}
Jamaât Riah	Om-K3	32.63 ±7.87 ^{abcd}	65.38 ±14.10 ^{abcd}	4.25 ±0.96 ^{bcdef}	26.28 ±1.21 ^{bdefcghijk}	14.05 ±1.17 ^{bc}	0.53 ±0.03 ^{bcdef}	0.68 ±0.33 ^{abc}	3.05 ±0.17 ^{bcdefg}	3.50 ±0.58 ^{cd}	2.60 ±0.66 ^{ghijklmno}
Rhamna	Om-111	29.50 ±3.27 ^{abcd}	50.05 ±3.23 ^{abcdcdefghi}	2.50 ±0.58 ^{cdef}	24.85 ±1.51 ^{bdefcghijk}	11.00 ±0.00 ^{bcd}	0.44 ±0.02 ^{cdef}	0.60 ±0.00 ^{abc}	2.85 ±0.12 ^{bcdefg}	4.00 ±0.00 ^{bcd}	2.70 ±0.00 ^{ghijklmno}
Rhamna	Om-112	26.38 ±2.06 ^{abcd}	30.13 ±7.88 ^{cdefghi}	1.50 ±0.58 ^{ef}	19.83 ±4.19 ^{ghijkl}	9.40 ±1.04 ^{cd}	0.48 ±0.06 ^{bcdef}	0.53 ±0.05 ^c	2.67 ±0.47 ^{bcdefg}	3.00 ±0.00 ^d	2.27 ±0.12 ^{mnop}
Rhamna	Om-122	28.90 ±5.32 ^{abcd}	42.58 ±8.63 ^{abcdcdefghi}	3.00 ±1.41 ^{cdef}	23.17 ±2.05 ^{cdefghijkl}	14.33 ±3.52 ^{bc}	0.51 ±0.01 ^{bcdef}	0.80 ±0.33 ^{abc}	2.70 ±0.50 ^{bcdefg}	3.00 ±0.00 ^d	2.77 ±0.46 ^{ghijklmno}
Rhamna	Om-131	37.75 ±3.88 ^{abcd}	55.38 ±20.27 ^{abcdcdefghi}	3.75 ±2.36 ^{bcdef}	23.75 ±4.17 ^{cdefghijkl}	13.30 ±2.03 ^{bc}	0.56 ±0.03 ^{bcdef}	1.00 ±0.47 ^{abc}	3.03 ±0.67 ^{bcdefg}	4.00 ±0.00 ^{bcd}	3.80 ±0.58 ^{ab}
Rhamna	Om-143	24.67 ±0.62 ^{bcd}	34.07 ±3.35 ^{cdefghi}	2.50 ±1.73 ^{cdef}	22.70 ±3.84 ^{cdefghijkl}	9.75 ±0.20 ^{cd}	0.45 ±0.09 ^{bcdef}	0.70 ±0.16 ^{abc}	2.55 ±0.04 ^{cdefg}	3.50 ±0.58 ^{cd}	2.30 ±0.08 ^{imnop}
Rhamna	Om-181	27.28 ±4.30 ^{abcd}	32.88 ±5.42 ^{cdefghi}	1.00 ±0.00 ^f	37.00 ±1.63 ^a	12.50 ±0.41 ^{bcd}	0.33 ±0.02 ^f	0.90 ±0.08 ^{abc}	3.00 ±0.08 ^{bcdefg}	4.00 ±0.82 ^{bcd}	1.70 ±0.16 ^p
Ouardigha	Om-221	25.13 ±8.13 ^{bcd}	39.25 ±7.71 ^{abcdcdefghi}	2.00 ±0.82 ^{def}	20.63 ±1.25 ^{defghijkl}	10.88 ±0.75 ^{bcd}	0.52 ±0.03 ^{bcdef}	0.75 ±0.26 ^{abc}	2.38 ±0.15 ^{efg}	3.50 ±0.58 ^{cd}	2.98 ±0.66 ^{defghijklm}
Ouardigha	Om-251	29.03 ±4.45 ^{abcd}	37.75 ±11.26 ^{abcdcdefghi}	2.50 ±0.58 ^{cdef}	21.70 ±0.73 ^{defghijkl}	12.50 ±0.82 ^{bcd}	0.57 ±0.02 ^{bcdef}	1.00 ±0.08 ^{abc}	3.00 ±0.00 ^{bcdefg}	3.00 ±0.00 ^d	2.30 ±0.00 ^{imnop}
Middle atlas	Om-267	31.63 ±2.17 ^{abcd}	43.38 ±8.36 ^{abcdcdefghi}	2.75 ±2.36 ^{cdef}	20.93 ±2.81 ^{defghijkl}	11.15 ±1.35 ^{bcd}	0.53 ±0.04 ^{bcdef}	0.70 ±0.18 ^{abc}	2.60 ±0.34 ^{cdefg}	3.50 ±1.00 ^{cd}	2.75 ±0.80 ^{ghijklmno}
Middle atlas	Om-352	31.88 ±6.76 ^{abcd}	42.15 ±13.78 ^{abcdcdefghi}	2.75 ±0.50 ^{cdef}	22.83 ±2.25 ^{cdefghijkl}	12.70 ±0.92 ^{bc}	0.55 ±0.02 ^{bcdef}	0.77 ±0.26 ^{abc}	2.90 ±0.43 ^{bcdefg}	3.50 ±1.00 ^{cd}	2.83 ±0.40 ^{efghijklmno}
Middle atlas	Om-371	32.50 ±6.54 ^{abcd}	42.38 ±12.26 ^{abcdcdefghi}	2.25 ±1.26 ^{def}	25.50 ±3.97 ^{cdefghijkl}	12.75 ±1.85 ^{bc}	0.57 ±0.18 ^{bcdef}	0.83 ±0.15 ^{abc}	2.75 ±0.33 ^{bcdefg}	5.00 ±1.15 ^a	3.08 ±0.49 ^{cdefghijk}
Northeast Morocco	Om-411	39.73 ±8.94 ^{abcd}	58.50 ±7.93 ^{abcde}	3.25 ±0.50 ^{cdef}	25.30 ±2.89 ^{bdefcghijk}	13.95 ±2.42 ^{bc}	0.55 ±0.05 ^{bcdef}	0.73 ±0.24 ^{abc}	3.15 ±0.83 ^{bcdefg}	4.25 ±0.50 ^{abc}	3.13 ±0.57 ^{cdefghi}
Northeast Morocco	Om-422	30.63 ±2.02 ^{abcd}	44.63 ±7.38 ^{abcdcdefghi}	2.50 ±1.73 ^{cdef}	22.88 ±1.11 ^{cdefghijkl}	11.85 ±2.28 ^{bcd}	0.52 ±0.07 ^{bcdef}	0.80 ±0.32 ^{abc}	2.73 ±0.25 ^{bcdefg}	3.75 ±0.50 ^{cd}	3.35 ±0.13 ^{bdefg}
Northeast Morocco	Om-431	38.85 ±7.35 ^{abcd}	40.95 ±19.31 ^{abcdcdefghi}	3.00 ±0.82 ^{cdef}	23.67 ±1.43 ^{cdefghijkl}	13.23 ±0.76 ^{bc}	0.55 ±0.03 ^{bcdef}	0.80 ±0.22 ^{abc}	2.75 ±0.21 ^{bcdefg}	4.50 ±0.58 ^{abc}	3.57 ±0.39 ^{abcd}
Northeast Morocco	Om-441	36.63 ±7.23 ^{abcd}	43.35 ±10.61 ^{abcdcdefghi}	1.75 ±0.96 ^{ef}	26.25 ±4.52 ^{bdefcghijk}	12.97 ±0.54 ^{bc}	0.47 ±0.06 ^{bcdef}	1.20 ±0.85 ^{abc}	2.63 ±0.26 ^{bcdefg}	3.00 ±0.00 ^d	2.97 ±0.12 ^{defghijklm}
Northeast Morocco	Om-442	35.25 ±3.57 ^{abcd}	54.50 ±7.33 ^{abcdcdefghi}	2.00 ±0.00 ^{def}	26.43 ±2.32 ^{bdefcghijk}	13.60 ±0.90 ^{bc}	0.51 ±0.01 ^{bcdef}	0.75 ±0.21 ^{abc}	2.85 ±0.39 ^{bcdefg}	3.75 ±0.50 ^{cd}	3.28 ±1.03 ^{bdefgh}
Northeast Morocco	Om-461	29.80 ±12.09 ^{abcd}	34.15 ±15.09 ^{cdefghi}	2.50 ±0.58 ^{cdef}	22.55 ±2.59 ^{cdefghijkl}	12.40 ±1.73 ^{bcd}	0.54 ±0.02 ^{bcdef}	0.87 ±0.17 ^{abc}	2.43 ±0.31 ^{efg}	3.50 ±0.58 ^{cd}	2.53 ±0.34 ^{ijklmno}
Northeast Morocco	Om-471	35.00 ±5.72 ^{abcd}	33.00 ±8.16 ^{cdefghi}	1.00 ±0.00 ^f	23.75 ±1.84 ^{cdefghijkl}	13.75 ±1.02 ^{bc}	0.57 ±0.01 ^{bcdef}	0.85 ±0.04 ^{abc}	3.05 ±0.04 ^{bcdefg}	3.50 ±0.58 ^{cd}	2.80 ±0.08 ^{ghijklmno}
Eastern Rif	Om-511	28.13 ±8.93 ^{abcd}	30.20 ±10.41 ^{cdefghi}	3.50 ±0.58 ^{bcdef}	24.25 ±3.06 ^{bdefcghijk}	12.90 ±1.96 ^{bc}	0.52 ±0.01 ^{bcdef}	1.10 ±0.00 ^{abc}	2.50 ±0.00 ^{defg}	4.00 ±0.00 ^{bcd}	2.85 ±0.53 ^{efghijklmno}
Eastern Rif	Om-532	36.50 ±6.16 ^{abcd}	45.40 ±20.76 ^{abcdcdefghi}	3.00 ±1.15 ^{cdef}	20.98 ±3.81 ^{defghijkl}	12.40 ±2.09 ^{bcd}	0.59 ±0.05 ^{bcdef}	0.80 ±0.20 ^{abc}	2.75 ±0.21 ^{bcdefg}	4.00 ±0.00 ^{bcd}	2.43 ±0.22 ^{ijklmno}

	Eastern Rif	Om-541	37.38 ±6.14 _{abcd}	40.75 ±15.02 _{abcdeefghi}	2.00 ±0.82 _{def}	22.75 ±3.84 _{cdefghijkl}	12.38 ±1.60 _{bcd}	0.55 ±0.06 _{bcdef}	0.80 ±0.29 _{abc}	2.73 ±0.46 _{bcdefg}	3.50 ±0.58 _{cd}	2.43 ±0.49 _{ijklmno}
	Eastern Rif	Om-543	39.13 ± 6.14 _{abcd}	38.58 ±9.14 _{abcdeefghi}	2.25 ±0.50 _{def}	20.90 ±2.31 _{defghijkl}	11.03 ±1.86 _{bcd}	0.52 ±0.06 _{bcdef}	0.85 ±0.13 _{abc}	2.13 ±0.25 _g	3.75 ±0.50 _{cd}	2.88 ±0.25 _{efghijklmno}
	Eastern Rif	Om-551	31.75 ±5.39 _{abcd}	44.50 ±7.82 _{abcdeefghi}	2.50 ±1.73 _{cdef}	20.50 ±4.02 _{efghijkl}	13.85 ±7.67 _{bc}	0.70 ±0.19 _{bc}	0.90 ±0.16 _{abc}	2.30 ±0.38 _{fg}	4.00 ±0.00 _{bcd}	2.35 ±0.64 _{klmno}
	Eastern Rif	Om-571	40.33 ±5.37 _{abcd}	35.50 ±10.45 _{bcdeefghi}	2.50 ±1.73 _{cdef}	23.80 ±2.03 _{cdefghijkl}	13.23 ±1.34 _{bc}	0.55 ±0.04 _{bcdef}	0.95 ±0.10 _{abc}	2.33 ±0.15 _{fg}	4.25 ±0.50 _{abc}	2.40 ±0.12 _{ijklmno}
	Eastern Rif	Om-572	37.50 ± 11.02 _{abcd}	35.00 ±4.49 _{bcdeefghi}	1.00 ±0.00 _f	25.35 ±4.20 _{bcdeefghijk}	13.85 ±3.55 _{bc}	0.53 ±0.05 _{bcdef}	1.05 ±0.20 _{abc}	2.30 ±0.41 _{fg}	3.50 ±0.58 _{cd}	2.30 ±0.08 _{lmnop}
	Eastern Rif	Om-581	35.63 ±9.07 _{abcd}	40.38 ±7.80 _{abcdeefghi}	4.00 ±1.83 _{bcdef}	21.13 ±1.18 _{defghijkl}	11.40 ±0.86 _{bcd}	0.54 ±0.03 _{bcdef}	0.85 ±0.06 _{abc}	2.05 ±0.31 _g	4.25 ±0.50 _{abc}	2.85 ±0.10 _{efghijklmno}
	Western Rif	Om-632	37.45 ±4.59 _{abcd}	30.68 ±7.81 _{cdeefghi}	3.00 ±0.82 _{cdef}	17.30 ±4.87 _{ijkl}	11.50 ±1.35 _{bcd}	0.55 ±0.06 _{bcdef}	0.70 ±0.20 _{abc}	2.48 ±0.13 _{defg}	4.00 ±0.00 _{bcd}	2.30 ±0.14 _{lmnop}
	Western Rif	Om-621	29.00 ±7.82 _{abcd}	28.13 ±7.20 _{efghi}	2.50 ±1.29 _{cdef}	21.75 ±0.20 _{defghijkl}	11.00 ±0.00 _{bcd}	0.65 ±0.12 _{bcd}	0.90 ±0.08 _{abc}	2.35 ±0.29 _{efg}	3.50 ±0.58 _{cd}	2.35 ±0.12 _{klmno}
	Western Rif	Om-651	38.13 ± 7.40 _{abcd}	54.00 ±6.87 _{abcdeefgh}	2.75 ±0.50 _{cdef}	22.93 ±3.20 _{cdefghijkl}	13.40 ±2.09 _{bc}	0.58 ±0.02 _{bcdef}	0.80 ±0.22 _{abc}	2.43 ±0.38 _{efg}	4.00 ±0.00 _{bcd}	2.95 ±0.50 _{defghijklmno}
	Agadir	Om-722	31.98 ± 4.04 _{abcd}	41.50 ±8.50 _{abcdeefghi}	3.50 ±0.58 _{bcdef}	24.23 ±1.93 _{bcdeefghijk}	12.56 ±1.70 _{bcd}	0.51 ±0.03 _{bcdef}	0.80 ±0.24 _{abc}	2.63 ±0.26 _{bcdefg}	4.00 ±0.00 _{bcd}	3.03 ±0.05 _{cdefghijkl}
	Agadir	Om-741	31.63 ±3.12 _{abcd}	57.43 ±6.95 _{abcdeefgh}	3.75 ±1.26 _{bcdef}	23.75 ±1.44 _{cdefghijkl}	11.95 ±1.14 _{bcd}	0.50 ±0.04 _{bcdef}	0.85 ±0.47 _{abc}	2.08 ±0.61 _g	3.75 ±0.50 _{cd}	2.63 ±0.62 _{hijklmno}
<i>O. robusta</i>	Northeast Morocco	Or-412	29.28 ±6.52 _{abcd}	42.20 ±6.37 _{abcdeefghi}	2.75 ±0.96 _{cdef}	17.90 ±3.59 _{ghijkl}	17.33 ±3.45 _{ab}	0.97 ±0.10 _a	1.38 ±0.05 _{ab}	3.60 ±0.45 _{abcd}	4.50 ±0.58 _{abc}	4.03 ±0.05 _a
<i>O. aequatorialis</i>	Rhamna	Oa-171	39.88 ±6.94 _{abcd}	34.63 ±4.70 _{cdeefghi}	3.25 ±0.50 _{cdef}	30.63 ±2.95 _{abcde}	14.03 ±9.99 _{bc}	0.48 ±0.41 _{bcdef}	1.08 ±0.39 _{abc}	2.43 ±0.33 _{efg}	5.00 ±0.82 _a	3.48 ±0.32 _{abcdef}
<i>O. dillenii</i>	Ouardigha	Od-242	19.85 ±2.16 _d	28.50 ±3.67 _{efghi}	7.75 ±3.50 _a	13.75 ±1.84 _j	6.25 ±0.86 _d	0.45 ±0.00 _{bcdef}	0.65 ±0.04 _{abc}	2.90 ±0.16 _{bcdefg}	-	-
<i>O. leucotricha</i>	Middle atlas	OI-361	37.63 ±3.35 _{abcd}	53.33 ±9.51 _{abcdeefghi}	4.00 ±0.82 _{bcdef}	24.75 ± 3.10 _{bcdeefghijk}	14.38 ±0.25 _{bc}	0.66 ±0.19 _{bcd}	1.13 ±0.31 _{abc}	2.70 ±0.26 _{bcdefg}	5.00 ±0.82 _a	3.85 ±0.54 _{ab}
	Western Rif	OI-633	42.55 ±9.17 _{abc}	42.93 ±18.69 _{abcdeefghi}	2.25 ±1.26 _{def}	24.40 ±5.63 _{bcdeefghijk}	13.18 ±2.19 _{bc}	0.55 ±0.10 _{bcdef}	0.93 ±0.32 _{abc}	2.90 ±0.12 _{bcdefg}	4.50 ±1.29 _{abc}	3.53 ±1.01 _{abcde}
	Western Rif	OI-611	45.88 ±1.11 _{ab}	50.50 ±6.81 _{abcdeefghi}	4.00 ±1.63 _{bcdef}	27.30 ±3.50 _{bcdeefghij}	13.63 ±1.49 _{bc}	0.50 ±0.02 _{bcdef}	0.85 ±0.24 _{abc}	2.73 ±0.38 _{bcdefg}	4.25 ±0.50 _{abc}	3.65 ±0.84 _{abc}
	Western Rif	OI-641	40.98 ±8.04 _{abcd}	51.95 ±13.07 _{abcdeefghi}	3.25 ±0.50 _{cdef}	23.95 ±5.17 _{cdefghijk}	13.45 ±2.09 _{bc}	0.54 ±0.03 _{bcdef}	0.85 ±0.24 _{abc}	2.62 ±0.26 _{bcdefg}	4.75 ±0.96 _{ab}	3.10 ±1.05 _{cdefghij}
<i>O. inermis</i>	Rhamna	Oi-191	35.63 ±8.94 _{abcd}	50.00 ±8.99 _{abcdeefghi}	5.75 ±0.96 _{bc}	20.73 ±3.26 _{defghijkl}	9.60 ±1.82 _{cd}	0.46 ±0.02 _{bcdef}	0.78 ±0.28 _{abc}	2.33 ±0.25 _{fg}	-	-

Les valeurs moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$)

(-): Absence d'épines

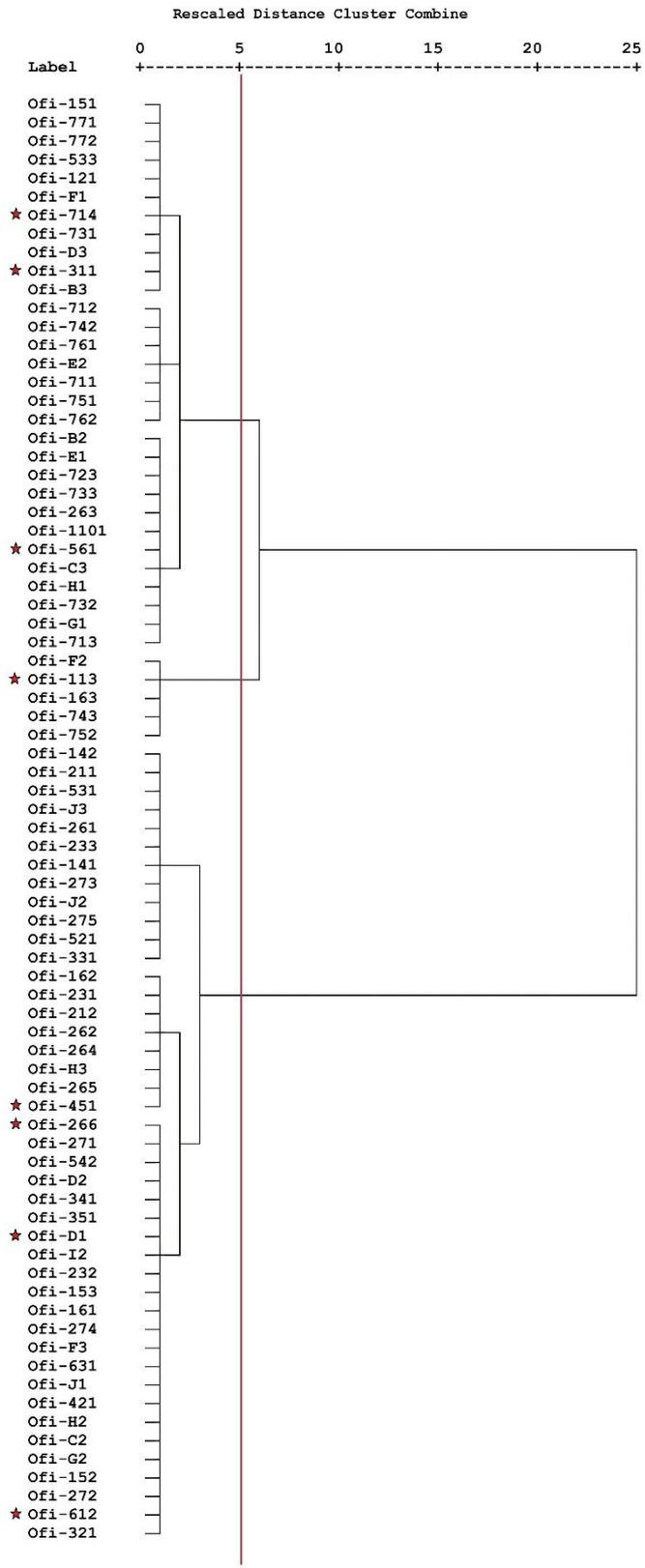


Figure 21: Dendrogramme regroupant 78 accessions d'*Opuntia ficus indica* basé sur 10 caractères morphologiques et la méthode de Ward. Les étoiles rouges indiquent les écotypes utilisés pour l'analyse moléculaire.

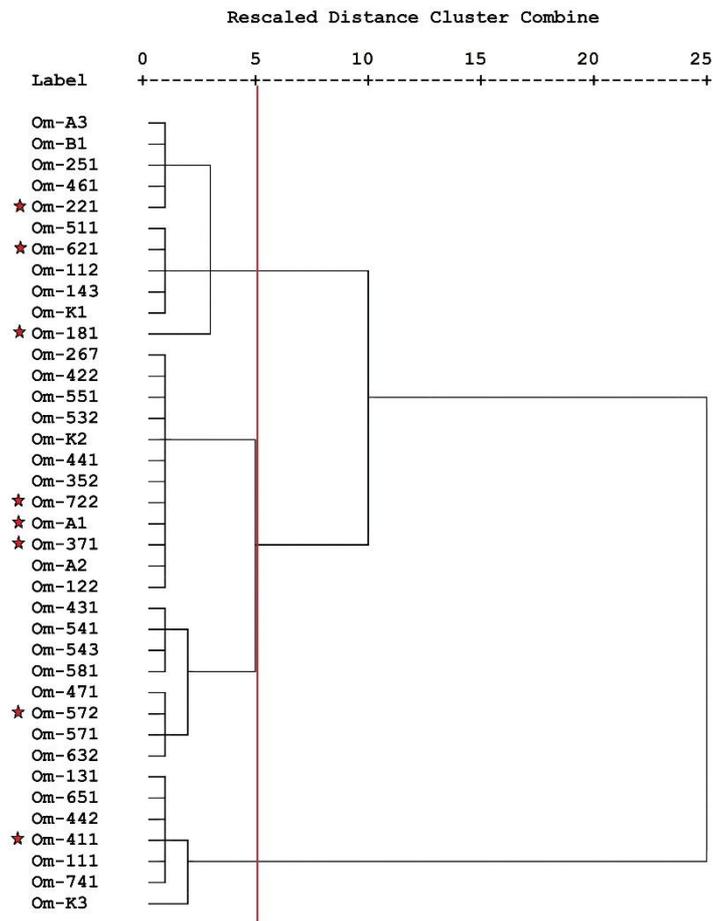


Figure 22 : Dendrogramme regroupant 38 adhésions d'*Opuntia megacantha* basé sur 10 caractères morphologiques et la méthode de Ward. Les étoiles rouges indiquent les écotypes utilisés pour l'analyse moléculaire.

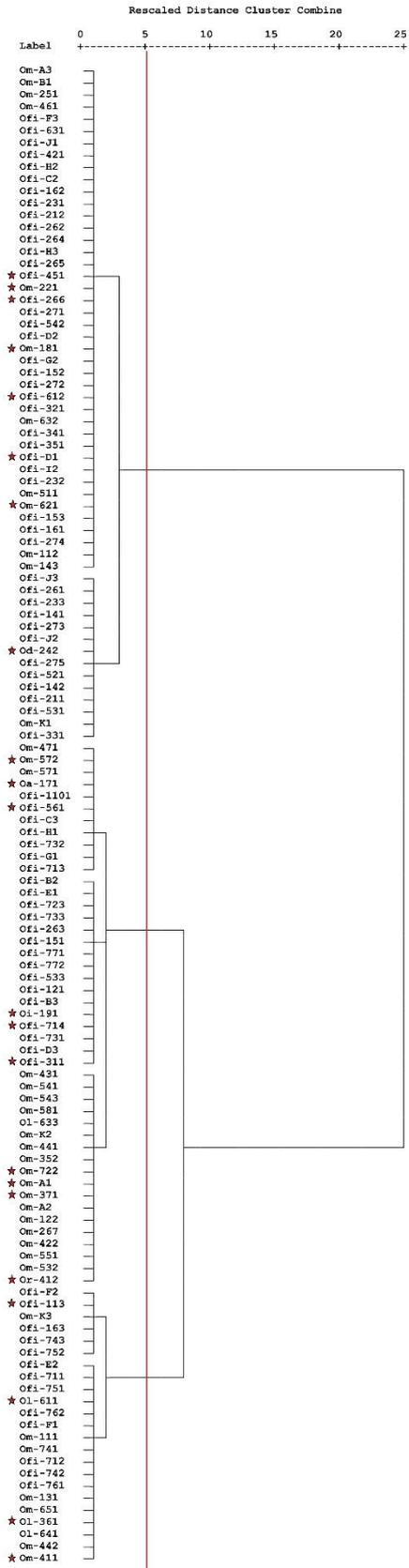


Figure 23 : Dendrogramme regroupant 124 adhésions d'*Opuntia spp.* sur la base de 10 caractéristiques morphologiques et la méthode de Ward. Les étoiles rouges indiquent les écotypes utilisés pour l'analyse moléculaire.

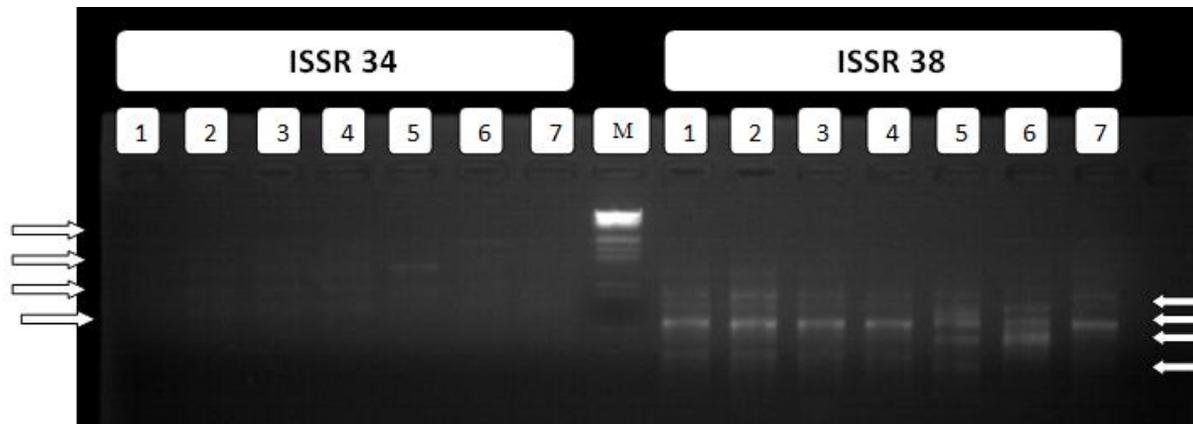


Figure 24: Profil électrophorétique sur gel d'agarose 1,8% des produits de ISSR- 34 et ISSR-38 des différents génotypes des du cactus (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) en utilisant deux amorces : à gauche amorce ISSR 34, et à droite amorce ISSR 38.

M : marqueur du poids moléculaire PCR Marker, 50-2000bp.

1 : *O. Megacantha Slam Dyck*, 2 : *O. Ficus Indica*, 3 : *O. Inermis*, 4 : *O. Aquetarolis Briton et Rose*, 5: *O. Robusta Wedland*, 6: *O. Dillenii*, 7: *O. Leucotricha*

Flèches : marqueurs moléculaires polymorphes.



Figure 25 : Profil électrophorétique sur gel d'agarose 1,8% des produits de ISSR- 8 et ISSR-50 des différents génotypes des du cactus (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) en utilisant deux amorces : à gauche amorce ISSR 8, et à droite amorce ISSR 50.

M : marqueur du poids moléculaire PCR Marker, 50-2000bp.

1 : *O. Megacantha* Slam Dyck, 2 : *O. Ficus Indica*, 3 : *O. Inermis*, 4 : *O. Aquetarolis* Briton et Rose, 5: *O. Roubusta* Wedland, 6: *O. Dillenii*, 7: *O. Leucotricha*

Flèches : marqueurs moléculaires polymorphes.

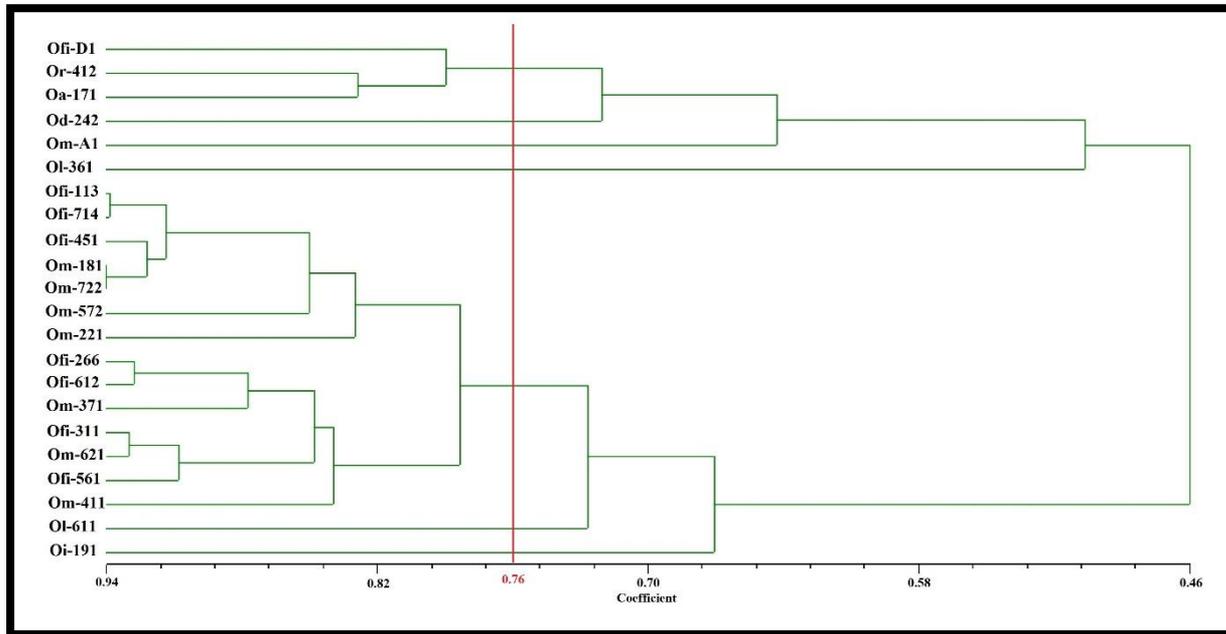


Figure 26: Dendrogramme regroupant 22 accessions d'*Opuntia* spp. sur la base de 10 ISSR et un marqueur RAPD. Le trait en rouge représente le seuil de similarité.

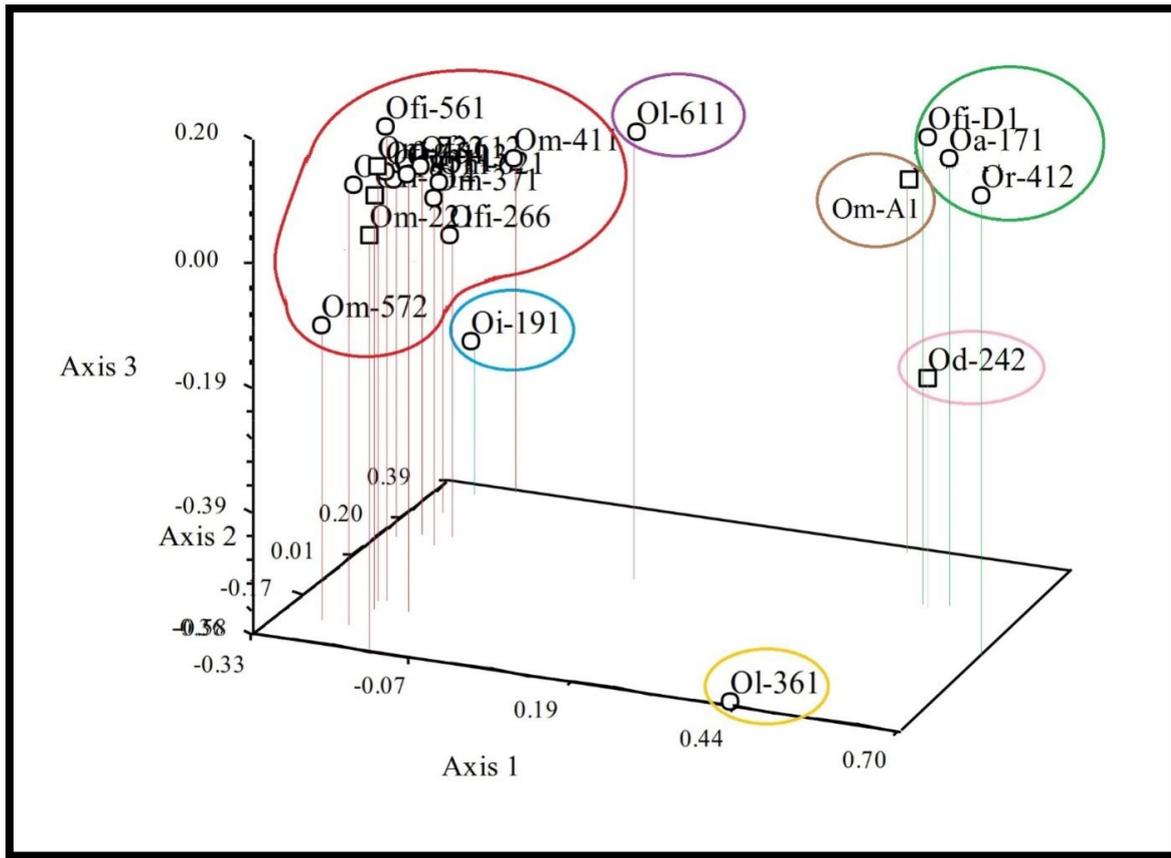


Figure 27: Répartition graphique 3D basée sur l'analyse en composantes principales (ACP) montrant la répartition des 22 accessions d'*Opuntia spp.*

Le tableau 13 montre que le rapport DO 260/280 nm des solutions d'ADNs extrait varie entre 1.24 et 1.77. Ces résultats confirment la pureté de l'ADNs extraits. A partir de la quantité de l'ADN extraits, nous avons réalisé des dilutions dont le but d'obtenir des solutions d'ADN de concentration approximative de 10 à 20 ng/μl pour les réactions d'amplification (PCR).

Tableau 13 : Mesures de la densité optique et la concentration d'ADN des différents géotypes du cactus.

Echantillons	DO à 230nm	DO à 320 nm	Rapport DO 320/230 nm	DO à 260 nm	DO à 280 nm	Rapport DO 260/280 nm	Concentration en ng/µl d'une solution mère diluée 5 fois	Concentration en ng/µl d'une solution mère
1	0.773	0.179	1.31	1.01	0.731	1.38	50.5	252.5
2	0.557	0.141	1.11	0.618	0.475	1.3	30.9	154.5
3	0.291	0.042	1.79	0.52	0.311	1.67	26	130
4	0.131	0.022	2.32	0.305	0.177	1.72	15.2	76
6	0.467	0.05	1.62	0.758	0.438	1.73	37.9	189.5
7	0.467	0.032	1.37	0.637	0.371	1.72	31.9	159.5
10	0.684	0.061	1.52	1.042	0.595	1.75	52.1	260.5
11	0.59	0.079	0.95	0.562	0.361	1.56	28.1	140.5
12	0.362	0.043	1.66	0.602	0.34	1.77	30.1	150.5
13	0.494	0.074	1.15	0.57	0.372	1.53	28.5	142.5
14	0.82	0.129	1.14	0.935	0.613	1.53	46.7	233.5
16	0.528	0.07	1.45	0.767	0.443	1.73	38.4	192
17	0.439	0.101	1.37	0.601	0.374	1.61	30.1	150.5
19	-	0.451	-	1.443	1.162	1.24	72.1	360.5
20	-	0.219	-	0.831	0.65	1.28	41.6	208
21	-	0.132	-	1.565	0.997	1.57	78.2	391
22	-	0.17	-	1.506	0.98	1.54	75.3	376.5
24	0.324	0.037	1.5	0.487	0.285	1.71	24.3	121.5
25	0.528	0.07	1.48	0.781	0.469	1.66	39	195
27	0.64	0.075	1.2	0.769	0.467	1.65	38.5	192.5
28	0.867	0.154	0.9	0.784	0.581	1.35	39.2	196
29	0.668	0.157	1.31	0.875	0.589	1.49	43.7	218.5

3. Caractérisation morpho-anatomique de la raquette et du fruit de cactus

a) Les caractéristiques morphologiques de la raquette

Les valeurs moyennes pour les différentes caractéristiques entre les écotypes sont présentées dans le tableau 14. Le nombre moyen de raquettes par plante variait de 1,75 chez *O. ficus indica* (d'Ouardigha) à 7,75 chez *O. dillenii* (d'Ouardigha). La hauteur de cladode varie de 13,75 à 30,63 cm tandis que la largeur et l'épaisseur de cladode variaient de 6,25 à 17,33 cm et de 0,65 à 1,38 cm, respectivement (Tableau 14). L'espèce *O. aequatorialis* (de Rhamna) avaient la hauteur de cladode plus élevé avec une différence significative ($P < 0,05$) pour tous les autres écotypes, tandis que la plus haute largeur et l'épaisseur ont été observées dans les cladodes de l'espèce *O. robusta* provenant du Nord du Maroc. L'espèce *O. dillenii* avait le plus grand nombre de raquettes par plante. Cependant, ses raquettes avaient, en moyenne, des dimensions plus petites en comparaison avec toutes les autres espèces. Nos résultats montrent également qu'il n'y avait pas de différences significatives entre les écotypes des espèces d'*O. ficus indica* et *O. megacantha* en termes de nombre moyen de raquettes par plante, même si elles ont été collectées à partir

de différentes régions. La moyenne du poids frais (FW) de cladode variait de 67,5 à 895,58 g. La valeur la plus élevée de FW de cladode a été observée chez *O. megacantha* de Jamaat Riah tandis que la valeur la plus basse de FW a été observée dans l'espèce *O. dillenii* de la région d'Ouardigha. Des différences significatives ont été observées entre et au sein des espèces (tableau 14), sauf pour les écotypes d'*O. leucotricha*, qui ont montré aucune différence significative, même si elles ont été recueillies à partir de deux régions différentes, le Moyen Atlas et du Rif occidental. Le poids sec de cladode variait de 8,75 à 67,15 g, sans différence significative entre les écotypes d'*O. leucotricha*.

a) *Les caractéristiques morphologiques du fruit de cactus*

La longueur des fruits variait de 5,53 cm d'Ofi-G10 (de Rhamna) à 8,40 cm d'Ofi-H30 (de Rhamna), alors que le poids des fruits frais variait de 53,33 g chez Ofi-G10 à 103,44 g chez Ofi-H20 (de Zenata). L'analyse statistique (tableau 15) ont indiqué que ni l'espèce, ni l'origine géographique influencé la longueur et le poids des fruits. En effet, les accessions appartenant à différentes espèces de fruits n'ont aucune différence significative dans la longueur (par exemple Ofi-J20 et Om-A10) et le poids (par exemple Ofi-H20 et Om-A20); alors que les écotypes de la même espèce et l'origine géographique des fruits avaient sensiblement des différences en termes de longueur et de poids (par exemple Ofi-G10 et Ofi-H30, tous deux appartenant à *O. ficus indica* et de Rhamna). Dans la variété mexicaine Rojo Pelón, le poids des fruits variait de 25 à 138 g, avec une moyenne de 73 g (Valdez-Cepeda et al., 2013). Dans une autre enquête utilisant des adhésions *Opuntia* provenant de différentes régions du Mexique et de l'Argentine, le poids des fruits plus élevés ont été signalés, allant de 112 à 212 g (Felker et al., 2005). Pimienta Barrios (1994) a signalé que le poids des fruits variait de 114 à 240 g dans certaines populations d'*Opuntia spp* cultivées au Mexique (c.-à-*O. ficus indica* et des hybrides naturels entre *O. ficus indica* et *O. strepacantha*). Ces différences avec nos résultats étaient peut-être en raison de l'effet de l'environnement. En effet, il a été signalé que les facteurs environnementaux tels que l'élévation, le drainage du sol, la température et les précipitations affectent le développement et la morphologie chez les plantes *Opuntia* (Erre et al., 2009). Basé sur la longueur du fruit et le poids, les écotypes Ofi-H30 et Om-A10 peuvent être cultivées pour la consommation humaine. Le poids de fruits frais de la peau varie de 20,56 g chez Ofi-G10 (de Rhamna) à 43,44 chez Ofi-H10 (de Rhamna) et le ratio de la peau fraîche de fruits varie de 27,13% chez Ofi-E10 (de Rhamna) à 47,09% en Ofi-I20 (de Rhamna). Le poids sec de la peau varie de 3,17 g dans Ofi-G30 (de Rhamna) à 8,00 g chez Om-A10 (de Lagribat), alors que la teneur en eau dans la peau varie de 77,12% chez Ofi-B30 (de Guelmim) à 87,97% chez Ofi-I20 (de Rhamna). Là encore, certaines accessions de la même espèce ou l'origine géographique ont montré des différences significatives dans les paramètres étudiés et vice versa (tableau 15). Dans certaines écotypes d'*O. ficus indica* et les hybrides naturels entre *O. ficus indica* et *O. strepacantha* du Mexique, un poids plus élevé de la peau fraîche ont été observés, allant de 52 à 79 g (Pimienta Barrios, 1994). Nos résultats ont montré des moyennes de teneur en eau de 84,15% et 82,12% chez les écotypes d'*O. ficus indica* et *O. megacantha*, respectivement. En Algérie, la teneur moyenne de l'eau dans la peau d' *O. ficus indica* était 90,33%

(Nebbache et al., 2009). En ce qui concerne la couleur de la peau des fruits, notre enquête a montré que toutes les accessions d'*O. megacantha* avaient la peau jaune-orange. Étonnamment, certaines écotypes d'*O. Ficus indica* produit des fruits avec une couleur de peau différente, même si elles ont été collectées à partir de la même zone géographique. Par exemple, Ofi-G30 avait des fruits à peau rose, Ofi-H10 avait des fruits orange à la peau, Ofi-H30 avait les fruits jaune-orange à la peau et Ofi-I20 produisait des fruits rouge pourpre à la peau. Tous ces adhésions ont été recueillies auprès de la région de Rhamna. La différence dans la couleur de peau et la pulpe sont dus à une composition différente en chlorophylle et les pigments de la bétalaïne (Coria Cayupán et al., 2011). Il a également été rapporté que de nombreux composés diffèrent entre les cultivars avec la couleur de peau différente de fruits. Par exemple, Abdel-Hameed et al. (2014) ont constaté que le contenu de fer, cuivre, sodium et de potassium de jus varient en fonction de la couleur des fruits. Kuti (2004) a rapporté que la peau des fruits pourpres contiennent les plus grandes quantités de flavonoïdes. Zito et al. (2012) ont mentionné que de nombreux composés de la peau, de la pulpe et les graines varient en fonction de la couleur des fruits, y compris les acides gras, les hydrocarbures et les antioxydants, entre autres. Par conséquent, la couleur de la peau serait un indice pour la distinction entre les cultivars. En effet, Gurrieri et al. (2000) ont rapporté que le changements de la couleur du fruit de cactus dépend du cultivar. Notre étude a montré que la majorité des écotypes (86,66%) avaient des fruits jaunes-orange, ce qui est cohérent avec l'étude de Gurrieri et al. (2000) qui ont constaté que, en Italie, plus de 90% de la production de figue de Barbarie avait les fruits jaune-orange (appelés cultivar jaune). Cependant, nos résultats ne soutiennent pas le rapport de Gurrieri et al. (2000) lorsque la peau de fruits est concerné. En effet, nous avons constaté que les fruits violet-rouge ont une moyenne de 43,56% de la peau alors que les fruits jaune orangé ont montré 37,57%. Gurrieri et al. (2000) ont constaté que la peau des fruits rouge pourpre avaient un ratio de fruits plus faible que les fruits jaune-orange. Il a été signalé que la peau de cactus à fruit est riche en vitamines E et K1, stérols, soluble dans l'éthanol glucides, glucose, des protéines, de la cellulose, de calcium et de potassium (El kossori et al., 1998; El-Mostafa et al, 2014. ; Habibi et al, 2004).

4. Caractéristiques physicochimique de la raquette et du jus de fruits du figuier de Barbarie

(1) La raquette

La teneur en eau varie légèrement entre les différents écotypes et variait de 86,67 à 92,14%. La teneur en cendres varie de 12,97 à 22,08 g / 100 g de matière sèche, avec des différences significatives au sein des espèces; la valeur la plus élevée a été observée chez *O. ficus indica* du Moyen Atlas tandis que la valeur la plus basse était chez *O. ficus indica* de Rhamna. La teneur en protéines totaux était comprise entre 4,64 g / 100 g de matière sèche chez l'espèce *O. robusta* (provenant du Nord-est du Maroc) et 11,56 g / 100 g de matière sèche chez *O. leucotricha* (du Rif occidental), et des différences significatives ($P < 0,05$) ont été révélés entre et au sein des espèces. La teneur en sucres

totaux se situait entre 3,22 et 12,51 g / 100 g de matière sèche; la valeur la plus élevée a été observée chez *O. leucotricha* du Moyen Atlas tandis que la valeur la plus basse était chez *O. aequatorialis* de Rhamna. Là encore, l'analyse statistique a montré des différences significatives au sein des espèces (tableau 14). Au niveau régional, nous avons observé que les écotypes de différentes espèces, de la même origine géographique pourraient présenter des différences significatives dans les paramètres étudiés et vice versa. Le fait intéressant, qu'il y avait de différence significative entre les écotypes d'*O. leucotricha* en termes de teneur en cendres, protéines totaux et de sucres totaux. En effet, l'espèce *O. leucotricha* du Moyen Atlas a montré un contenu significativement plus élevée en sucres totaux que ceux de l'Ouest du Rif, alors que l'inverse a été observé en termes de teneur en cendres et protéines totaux (tableau 14, figure 28), ce qui pourrait être des indices de distinction des écotypes.

✓ Discussion des caractéristiques physicochimique de la raquette

Nos résultats ont montré que les caractéristiques physico-chimiques d'*Opuntia* au Maroc variaient significativement selon les espèces et leur origine. Les études sur les caractéristiques physico-chimiques des raquettes d'espèces *Opuntia* sont rares. En fait, la plupart des travaux ont été effectués sur les caractéristiques physico-chimiques de l'espèce *O. ficus indica*. Ainsi, chez *O. ficus indica* cv. *Redonda* du Mexique, [Rodríguez-García et al. \(2007\)](#) ont rapporté que la composition chimique des cladodes déshydratés varie selon l'âge de cladode. Par conséquent, la teneur en cendres varie de 18,41 à 23,24%, tandis que les protéines variaient de 11,39 à 14,22%. Cependant, [Hernández-Urbiola et al. \(2011\)](#) a également indiqué que la composition physico-chimique des raquettes varie avec l'âge de cladode; et signalé que chez *O. ficus indica* en provenance du Mexique, le poids sec cladode variait de 100 à 550 g, la teneur en cendres était de 17,65 à 24,30 g, la teneur en protéines était de 5,85 à 8,99 g et la teneur en glucides était de 42,94 à 60,77 g. Dans les raquettes de variétés mexicaines d'*O. ficus indica* *Milpa Alta et Atlixco*, [Ramírez-Moreno et al. \(2013\)](#) ont constaté 18,38 g et 18,23 g de cendres; 12,9 g et 13,84 g de protéines; et 25,38 g et 18,99 g de sucres totaux, respectivement. Chez *O. ficus indica* f. *amyloceae* et *O. ficus indica* f. *inermis* de Tunisie, [Ayadi et al. \(2009\)](#) ont rapporté des valeurs de 25,65 et 23,3 g / 100 g de matière sèche pour les cendres totaux; 8,74 et 8,88 g / 100 g de matière sèche pour les protéines totaux; et 60,36 et 60,93 g / 100 g de matière sèche pour les glucides totaux, respectivement. Chez *O. ficus indica* de l'Inde, la teneur en cendres varie de 19 à 23 g / 100 g de matière sèche, les teneurs en protéines est de 4-10 g / 100 g de matière sèche alors que la teneur en sucre variait de 64 à 71 g / 100 g de matière sèche ([Shilpa et al., 2012](#)). Chez *O. ficus indica* de la région de Marrakech, au Maroc, la teneur en cendres en raquettes était de 19,6% en poids sec ([Malainine et al., 2003](#)). Tous ces résultats indiquent que les caractéristiques physico-chimiques d'*O. ficus indica* varient en fonction du site géographique. En outre, nous avons surtout remarqué que la teneur en hydrates de carbone dans les raquettes d'*O. ficus indica* en provenance du Maroc est inférieur à celui d'*O. ficus indica* d'autres pays. Cela peut être dû à des conditions environnementales.

Tableau 14: Caractéristiques physico-chimiques de raquettes de jeunes plantations de sept espèces d'*Opuntia* provenant de différentes régions du Maroc

Espèces	Origine géographique	Nombre de plante échantillonné	Nombre moyen de raquettes par plante	Hauteur de raquette (cm)	Largeur de raquette (cm)	Épaisseur de raquette (cm)	Poids frais (g)	Poids sec (g)	Teneur en eau (%)	Teneur en cendres (g/100 g matière sèche)	Protéines totaux (g/100 g matière sèche)	Sucres totaux (g/100 g matière sèche)
<i>O. ficus indica</i>	Jamaât Riah	20	2.60 + 1.14 [†] _a	23.07 ± 3.52 _{bc}	12.45 ± 1.88 _{bc}	0.86 ± 0.21 _a	686.56 ± 154.43 _{cde}	54.83 ± 10.15 _{bcde}	91.90 ± 0.86 _{bc}	18.24 ± 3.38 _{defgh}	6.65 ± 1.47 _{abcd}	5.91 ± 1.24 _{abcde}
			12.41 ± 1.75	708.30 ± 49.75 ±								
	Rhamna	20	3.05 + 2.26 _a	25.01 ± 2.91 _c	10.65 ± 1.81 _{bc}	0.87 ± 0.33 _a	275.83 _{cde}	18.75 _{bcde}	92.00 ± 4.75 _c	12.97 ± 1.38 _a	7.48 ± 1.43 _{bcde}	8.95 ± 3.27 _{ef}
				20.33 ± 3.57	389.50 ± 33.89 ±		91.15 ± 1.14	16.08 ± 0.75				
	Ouardigha	20	1.75 + 0.79 _a	20.15 ± 6.12 _{bc}	12.05 ± 1.32 _{bc}	0.80 ± 0.24 _a	145.90 _{bc}	10.84 _{bc}	89.74 ± 3.07 _{bc}	22.08 ± 0.79 _i	7.76 ± 1.35 _{bcde}	5.21 ± 1.38 _{ab}
				551.25 ± 52.25 ±	52.25 ± 89.74 ± 3.07		16.08 ± 0.75	6.45 ± 1.57				
	Middle Atlas Northeast Morocco	16	2.13 + 1.20 _a	23.54 ± 1.11 _{bc}	11.41 ± 0.73 _{bc}	0.75 ± 0.13 _a	218.97 _{bcde}	15.51 _{bcde}	88.46 ± 0.71 _{abc}	20.61 ± 4.04 _{hi}	7.97 ± 1.09 _{bcde}	6.88 ± 0.91 _{bcde}
				23.87 ± 4.89 _{bc}	12.94 ± 1.64 _{bc}		583.38 ± 56.60 ±	56.60 ± 90.08 ± 2.01				
Eastern Rif	16	1.94 + 1.61 _a	22.05 ± 1.85 _{bc}	11.91 ± 0.79 _{bc}	0.92 ± 0.19 _a	150.45 _{bcde}	15.22 _{bcde}	90.65 ± 5.99 _{abc}	16.10 ± 1.12 _{fgh}	7.71 ± 1.21 _{bcde}	4.80 ± 0.31 _{ab}	
			453.75 ± 36.88 ±	36.88 ± 90.65 ± 5.99		16.10 ± 1.12	8.62 ± 2.62					
Western Rif	8	3.13 + 0.64 _a	13.43 ± 1.99 _{bc}	13.43 ± 1.99 _{bc}	0.89 ± 0.17 _a	152.55 _{bcd}	10.60 _{bcd}	91.06 ± 2.41 _{bc}	19.75 ± 1.74 _{bcdef}	8.93 ± 1.15 _{de}	8.62 ± 2.62 _{def}	
			766.00 ± 66.49 ±	66.49 ± 91.06 ± 2.41		19.75 ± 1.74	6.11 ± 0.80 _{abc}					
Agadir	20	3.35 + 1.50 _a	25.76 ± 4.55 _c	13.15 ± 1.56 _c	0.79 ± 0.27 _a	305.57 _{de}	24.94 _e	92.14 ± 3.16 _c	16.32 ± 1.66 _{ghi}	6.11 ± 0.80 _{abc}	7.36 ± 2.36 _{def}	
			895.58 ± 62.54 ±	62.54 ± 18.40 _{de}		18.40 ± 92.14 ± 3.16	16.32 ± 1.66					
<i>O. megacantha</i>	Jamaât Riah	20	2.20 + 1.06 _a	25.06 ± 1.86 _c	11.86 ± 2.61 _{bc}	1.13 ± 0.51 _{ab}	388.75 _e	42.33 ± 42.33 ±	92.14 ± 3.16 _c	15.35 ± 1.18 _{bcdef}	6.70 ± 0.95 _{abcd}	6.02 ± 2.25 _{bcde}
				565.50 ± 42.33 ±	42.33 ± 15.35 ± 1.18		15.35 ± 1.18	6.02 ± 2.25				
	Rhamna	20	2.35 + 1.66 _a	25.29 ± 6.85 _c	11.69 ± 1.13 _{bc}	0.79 ± 0.29 _a	317.28 _{bcde}	21.80 _{bcde}	92.06 ± 1.83 _c	15.85 ± 0.28 _{abcd}	7.32 ± 1.19 _{bcd}	6.20 ± 2.14 _{abcde}
				515.00 ± 38.97 ±	38.97 ± 91.86 ± 2.10		15.85 ± 0.28	6.20 ± 2.14				
	Ouardigha	8	2.25 + 0.71 _a	12.20 ± 1.50 _{bc}	12.20 ± 1.50 _{bc}	0.88 ± 0.23 _a	191.01 _{bcd}	4.68 _{bcd}	89.10 ± 0.64 _{bc}	15.17 ± 2.64 _{bcde}	6.61 ± 0.56 _{abcd}	8.40 ± 2.73 _{abcde}
				573.33 ± 61.57 ±	61.57 ± 89.10 ± 0.64		15.17 ± 2.64	8.40 ± 2.73				
	Middle Atlas Northeast Morocco	12	2.58 + 1.44 _a	22.87 ± 3.26 _{bc}	12.81 ± 1.40 _{bc}	0.76 ± 0.19 _a	200.30 _{bcde}	18.34 _{cde}	89.10 ± 1.01 _{abc}	17.78 ± 1.49 _{abcd}	9.37 ± 3.97 _{de}	7.33 ± 1.99 _{cdef}
				488.00 ± 52.31 ±	52.31 ± 89.10 ± 1.01		17.78 ± 1.49	7.33 ± 1.99				
Eastern Rif	20	2.35 + 0.99 _a	22.66 ± 3.55 _{bc}	12.87 ± 3.70 _{bc}	0.88 ± 0.42 _a	188.65 _{bcd}	18.81 _{bcde}	88.67 ± 0.99 _{abc}	17.06 ± 2.77 _{defgh}	8.59 ± 2.85 _{cde}	4.75 ± 1.54 _{ab}	
			337.50 ± 38.31 ±	38.31 ± 88.67 ± 0.99		17.06 ± 2.77	4.75 ± 1.54					
Western Rif	8	2.05 + 1.19 _a	22.34 ± 2.19 _{bc}	12.20 ± 1.88 _{bc}	0.91 ± 0.19 _a	98.19 _{bc}	11.60 _{bcd}	89.36 ± 1.08 _{abc}	20.42 ± 0.59 _{cdefg}	8.69 ± 2.76 _{cde}	4.16 ± 1.18 _{ab}	
			408.75 ± 44.35 ±	44.35 ± 89.36 ± 1.08		20.42 ± 0.59	4.16 ± 1.18					
Agadir	8	3.63 + 0.92 _a	23.99 ± 1.60 _{bc}	12.25 ± 1.38 _{bc}	0.83 ± 0.35 _a	219.90 _{bcd}	27.10 _{bcde}	90.27 ± 1.84 _{abc}	18.94 ± 3.88 _{hi}	7.01 ± 0.20 _{abcd}	10.37 ± 1.50 _f	
			625.00 ± 57.97 ±	57.97 ± 90.27 ± 1.84		18.94 ± 3.88	10.37 ± 1.50					
<i>O. aequatorialis</i>	Rhamna	4	30.63 ± 2.95 _d	14.03 ± 9.99 _c	1.08 ± 0.39 _{ab}	206.44 _{bcde}	7.47 _{bcde}	91.27 ± 0.76 _{abc}	18.73 ± 0.13 _{efgh}	5.78 ± 0.14 _{ab}	3.22 ± 0.18 _a	
			20.73 ± 3.26	14.03 ± 9.99		655.10 ± 57.77 ±	57.77 ± 91.27 ± 0.76					18.73 ± 0.13
<i>O. inermis</i>	Rhamna	4	5.75 + 0.96 _b	9.60 ± 1.82 _b	0.78 ± 0.28 _a	151.46 _{bcde}	18.22 _{bcde}	92.04 ± 2.13 _c	16.48 ± 0.12 _{efgh}	10.15 ± 0.25 _{ef}	8.70 ± 0.21 _{ef}	
			484.50 ± 38.56 ±	38.56 ± 92.04 ± 2.13		16.48 ± 0.12	8.70 ± 0.21					

<i>O. dillenii</i>	Ouardigha Northeast	4	7.75 ± 3.50 _c	13.75 ± 1.84 _a	6.25 ± 0.86 _a	0.65 ± 0.04 _a	67.50 ± 24.75 _a	8.75 ± 1.92 _a	86.67 ± 2.05 _a	14.17 ± 0.07 _{abc}	7.53 ± 0.49 _{bcde}	5.40 ± 0.22 _{abc}
<i>O. robusta</i>	Morocco	4	2.75 ± 0.96 _a	17.90 ± 3.59 _b	14.38 ± 0.25 _d	1.38 ± 0.05 _b	56.57 ± 580.00 ± 530.00 ± 21.21 _{bcd}	0.81 ± 51.01 ± 1.36 _{bcde}	90.37 ± 0.13 _{ab}	13.69 ± 0.10 _{cdefg}	4.64 ± 0.13 _a	4.75 ± 0.07 _{ab}
<i>O. leucotricha</i>	Middle Atlas	4	4.00 ± 0.82 _a	24.75 ± 3.10 _c	13.54 ± 1.69 _c	1.13 ± 0.31 _{ab}	531.25 ± 269.95 _{bcd}	56.95 ± 28.69 _{bcde}	89.19 ± 0.74 _{abc}	20.74 ± 0.18 _{ab}	5.78 ± 0.25 _{ab}	12.51 ± 0.23 _g
	Western Rif	8	3.63 ± 1.19 _a	25.63 ± 4.46 _c		0.85 ± 0.22 _a					11.56 ± 3.25 _f	5.29 ± 2.03 _{ab}

† Les résultats sont présentés en moyenne ± écart-type. Les valeurs suivies par les mêmes lettres minuscules ne sont pas significativement différentes (P> 0,05) par le test de Student-Newman-Keuls.

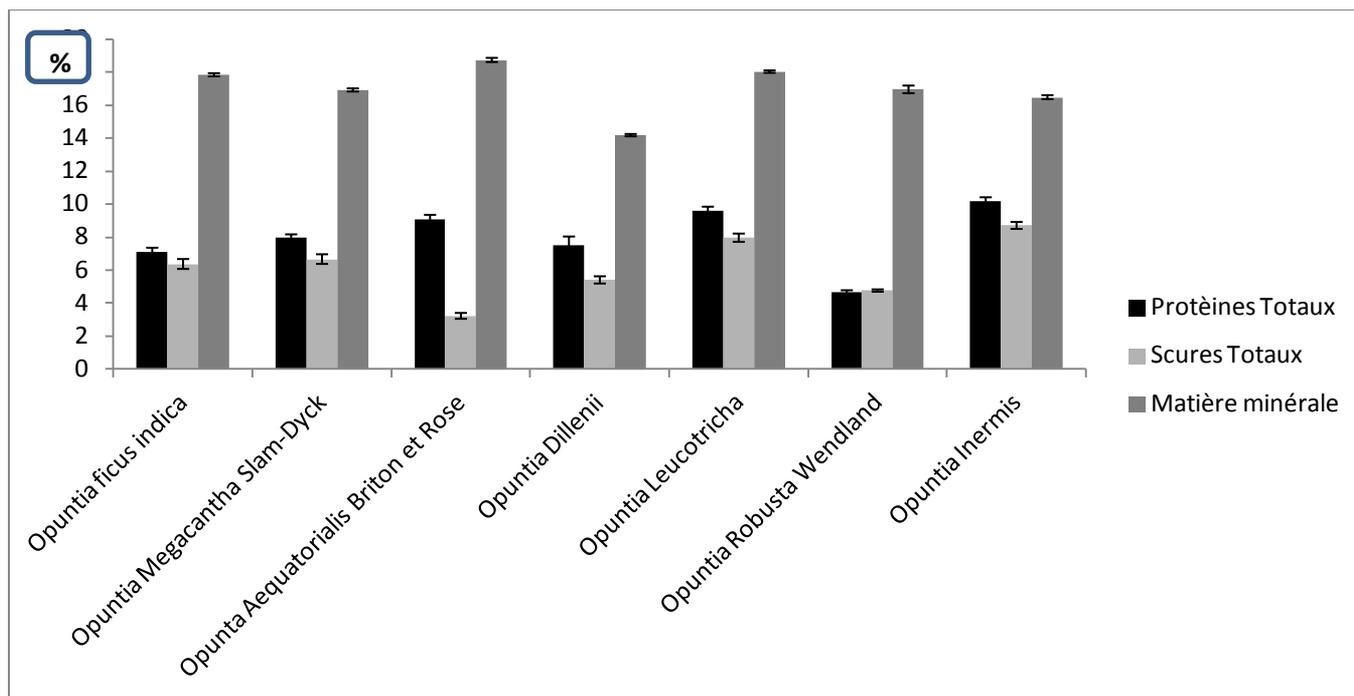


Figure 28: Résultats qui résument les paramètres physico-chimiques des espèces de cactus identifiées dans différentes régions du Maroc.

(2) Le jus de fruit

(a) PH

Les valeurs de pH du jus de fruits de la figue de Barbarie variaient de 3,35 à Ofi-F10 (de Guelmim) à 4,83 en Ofi-C20 (de Guelmim). Ni les espèces ni l'origine géographique affecté la valeur du pH. En effet, les écotypes de la même espèce et l'origine géographique ont montré des différences significatives chez les valeurs de pH et vice versa. Par exemple, Ofi-B30 et Ofi-F30, tous deux de Guelmim et appartiennent à *O. ficus indica*, ont montré de différence significative dans la valeur du pH, 4,34 et 3,38, respectivement; alors, Om-A30 (écotype d'*O. megacantha* de Guelmim) et Ofi-C10 (écotype d'*O. ficus indica* de Boujaad) ne présentaient pas de différence significative dans leurs valeurs de pH (tableau 16). Des études sur les écotypes d'*Opuntia spp.* d'autres pays ont montré des valeurs de pH plus élevées. Les écotypes Sicilienne d'*O. ficus indica* ont montré des valeurs de pH allant de 6,40 à 6,48 (Gurrieri et al., 2000). Dans les populations mexicaines, les valeurs de pH variait de 6,4 à 7,1 (Pimienta Barrios, 1994). Dans les variétés d'*O. ficus indica* originaires du Mexique et de l'Argentine, les valeurs de pH variait de 5,8 à 6,2 (Felker et al., 2005). Ces différences importantes avec nos résultats peuvent être dues à l'effet environnemental. En ce qui concerne la couleur de la peau des fruits, l'écotype de fruits orange peau avait un pH de 3,74. L'écotype de fruits à peau rose a montré une valeur de pH de 3,59. les écotypes de fruits à la peau rouge pourpre ont montré des valeurs de pH variant de 3,61 à 3,63 tandis que les écotypes des fruits peau-jaune-orange présentaient une gamme de pH de 3,35 à 4,83. Chez les écotypes égyptiens à couleur de fruit jaune orangé, la valeur du pH était de 6,16 (Abd El-Razek et

Hassan 2011). **Saenz (2000)** ont rapporté que fruit de cactus à couleur vert a un pH allant de 5,3 à 7,1, tandis que le fruit à couleur de peau pourpre a montré une gamme de pH de 5.9 à 6.2.

(b) *Total des solides solubles*

Le degré Brix variait de 6,20 chez Ofi-J30 (d'Oulad Haddou) à 12,63 d'Om-K30 (de Zenata, tableau 19). L'espèce, l'origine géographique et la couleur de la peau n'affectent pas la teneur totale en solides solubles de jus de fruits. Les écotypes d'*O. ficus indica* ont montré des valeurs de Brix allant de 6,20 à 12,60, tandis que les écotypes d'*O. megacantha* ont montré des valeurs variant de 8,73 à 12,63. Des valeurs plus élevées ont été observées chez les cultivars *Opuntia spp.* en provenance du Mexique, allant de 11,60 à 15,30; avec une teneur en Brix de 13,86 ° chez l'espèce *O. megacantha cv. Naranjona*, et une gamme de 11,86 à 14,00 ° Brix pour les cultivars *O. ficus indica* (**Yahia & Mondragon-Jacobo, 2011**). Une fourchette approximative (11,90 à 16,00 ° Brix) a été rapportée par **Felker et al. (2005)** pour les variétés *O.ficus indica* en provenance du Mexique et de l'Argentine. Chez les génotypes *O.ficus indica* égyptiens avec une couleur de fruit à peau jaune-orange, la moyenne du degré de Brix était de 14,67 (**Abd El-Razek et Hassan 2011**). Dans notre cas, la moyenne du Brix chez les écotypes *O. ficus indica* avec une couleur de fruit à peau jaune-orange était de 10,13, alors qu'il était 10,30 chez les écotypes de fruits à la peau violet-rouge. L'écotype de fruits à peau rose affiche un degré de Brix de 9,40, alors que l'écotype de fruits à la peau orange est exposée à 11,47 ° Brix. **Saenz (2000)** fait état d'une gamme de 12 à 17 ° Brix dans les écotypes d'*O. ficus indica* avec des fruits verts et de 12,8 à 14,5 ° Brix les écotypes à fruit violet. Cette comparaison de nos résultats avec ceux d'autres pays rapportés dans la littérature présente des différences importantes dans le degré de Brix. Cela peut être dû au génotype et l'effet de l'environnement.

(c) *Acidité titrable*

La valeur de l'acidité titrable variait de 0,14 à 0,88%. Le niveau le plus élevée d'acidité titrable a été observée chez *O. ficus indica* Ofi-F30 de Guelmim tandis que la plus faible teneur a été observée chez *O.megacantha* Om -A20 de Benismir (tableau 16). L'espèce, l'origine géographique et la couleur de la peau n'ont pas influencé le niveau d'acidité titrable. l'cotype à fruit de couleur rose (Ofi-G30 de Rhamna) a montré 0,58% d'acidité titrable alors qu'il était de 0,55% chez l'écotype à fruit de couleur orange (Ofi-H10 de Rhamna). Chez les écotypes à fruits de couelur violet-rouge, nous avons observé une moyenne de l'acidité titrable de 0,62%, alors qu'il était de 0,40% chez les écotypes de fruits jaune-orange. Nos résultats indiquent que les génotypes d'*Opuntia* marocaine ont une teneur en acidité totale supérieure aux génotypes d'autres pays. **Abd El-Razek et Hassan (2011)** ont trouvé 0,055% chez les fruit à couelur jaune-orange appartenant à l'espèce (*O. ficus indica*) d'Egypte. **Gurrieri et al. (2000)** ont trouvé 0,02% d'acidité titrable dans le jus de fruit à couleur rouge, jaune et blanche d' *O. ficus indica* sicilienne. **Saenz (2000)** a indiqué que l'acidité titrable variait de 0,01 à 0,18% chez les cultivars de fruits verts alors qu'il variait de 0,03 à 0,04% chez les cultivars de fruits pourpres.

(d) Total des caroténoïdes

La teneur en caroténoïdes totaux variait de 4,79 mg / L chez Om-A20 (de Benismir) à 20,76 g / L chez Ofi-H20 (de Zenata, tableau 16). Les écotypes mexicaine *Opuntia spp.*, ont une teneur en caroténoïdes totaux qui variaient de 1 mg / g de poids sec dans Liria et «2-14-2» (*O. ficus indica*) à 2,5 mg / g de poids sec dans Camuesa (*O. robusta*) (Yahia & Mondragon-Jacobo, 2011). Kuti (2004) a signalé que la teneur en caroténoïdes totaux varie selon l'espèce et la couleur de la peau du fruit, et que les fruits de couleur jaune ont des caroténoïdes généralement plus élevés que les autres fruits colorés. Ainsi, *O. ficus indica* (fruit à couleur verte) a montré la plus faible teneur totale en caroténoïdes (2,9 mg / g de poids frais); suivie par *O. lindheimeri* (fruit à couleur violette) avec 6,7 mg / g de poids frais; *O. streptacantha* (fruit à couleur rouge) avec 14,6 mg / g de poids frais; puis par *O. stricta var. stricta* (couleur de fruit jaune) avec 23,7 mg / g de poids frais. Nos résultats ne soutiennent pas les observations de Kuti (2004). En fait, nous avons constaté que les écotypes d'*O. ficus indica* avaient des teneur plus élevée en caroténoïdes totaux (12,41 mg / L) par rapport aux écotypes d'*O. megacantha* (10,78 mg / L). En outre, les fruits à couleur jaune-orange ont montré une moyenne de 11,57 mg / L de caroténoïdes totaux, fruits à couleur orange avait 13,97 mg / L, les fruits à couleur rose ont montré 14,97 mg / L alors que les fruits à couleur rouge pourpre avaient une moyenne de 15,57 mg / L en caroténoïdes totaux.

(e) La vitamine C

Les écotypes d'*O. ficus indica* de la région de Guelmim, Ofi-D30 et Ofi-F30, avaient la teneur la plus en vitamine C élevé (29,17 mg / L) et les plus bas (11,09 mg / L) des niveaux de vitamine C, respectivement (tableau 16). Chez les écotypes à fruit rose (Ofi-G30), nous avons observé 15,53 mg / L de vitamine C alors que chez l'écotype à fruit orange (Ofi-H10) nous avons trouvé 18,74 mg / L. chez les écotypes de fruit à couleur rouge pourpre, la teneur moyenne en vitamine C était 17,42 mg / L, alors qu'il était de 19,44 mg / L chez les écotypes à fruit jaune-orange. Yahia & Mondragon-Jacobo (2011) ont constaté la plus haute teneur en vitamine C chez l'espèce *O. robusta* cv. *Camuesa* avec 4 mg / 100 g de poids frais lorsque l'on compare des espèces différentes d'*Opuntia* du Mexique. Saenz (2000) a rapporté les gammes de vitamine C de 4,6 à 41,0 et de 20,0 à 31,5 mg / 100 g de fruits vert et violet, respectivement. *O. ficus indica* de l'Egypte avec des fruits jaune-orange affiche une teneur en vitamine C de 20,07 mg / 100 g de poids frais (Abd El-Razek et Hassan, 2011). Chez les cultivars mexicains, la vitamine C varie de 5 à 41 mg / 100 g de poids frais, avec la plus haute teneur en vitamine C chez les cultivars qui produisent des fruits avec une couleur vert clair (Pimienta Barrios, 1994). Kuti (2004) a trouvé des valeurs de vitamine C de 458, 121, 815, et 437 mg / g de poids frais chez *O. ficus-indica* à couleur de fruit verte, et violette chez *O. lindheimeri*, puis rouge et jaune chez *O. streptacantha* et *O. stricta var. stricta*, respectivement. Gurrieri et al. (2000) ont signalé que, dans les cultivars sicilienne *O. ficus indica*, la teneur en vitamine C était de 31, 33 et 38 mg / 100 g chez les cultivars à couleur de fruit rouges, blanches et jaunes, respectivement. Ces résultats divergents pourraient refléter les effets environnementaux et génotypiques sur la teneur en vitamine C chez les écotypes d'*Opuntia*. Nos résultats ont montré

que toutes les écotypes d'*Opuntia* avaient des concentrations plus élevées de vitamine C que celle en caroténoïdes totaux. Cela confirme les conclusions de **Kuti (2004)**.

(f) *Sucres réducteurs*

La teneur en sucres réducteurs variait de 1,93 mg / mL chez Ofi-H20 (de Zenata) à 6,10 mg / mL chez Ofi-C20 (de Guelmim). L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative entre les accessions étudiées (tableau 16). **Abd El-Razek et Hassan (2011)** a rapporté que les écotypes *O. ficus indica* de l'Egypte présentait une teneur en sucres totaux de 7,33% , tandis que dans les espèces mexicaine d'*Opuntia*, la teneur en sucres réducteurs variait de 5 à 14% (**Pimienta Barrios, 1994**).

❖ *Comparaison des caractéristiques de jus d'Opuntia spp. avec certaines espèces végétales*

Notre enquête a révélé que les concentrations des caroténoïdes totaux et de la vitamine C chez les espèces *Opuntia spp.* sont plus bas que dans d'autres espèces bien connues pour leurs concentrations élevées. Par exemple, **Sanchez-Moreno et al. (2006)** ont observé que dans le jus de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. Cv. *Daniella*), la teneur des caroténoïdes totaux est de 15 240 ug / L et la vitamine C est de 165 mg / L. Dans certains cultivars de mandarines, la vitamine C varie de 211,9 à 298,0 mg / L (**Sdiri et al., 2012**). En ce qui concerne les solides solubles totaux, le niveau varie de 8,7 à 10,8 ° Brix dans le jus de certaines variétés d'orange (ananas orange, Hamlin, Trovita, Jincheng, 1232 Tangor, Olinda Valence, et Valencia Delta; **Niu et al, 2008**), alors que **Sanchez-Moreno et al. (2006)** ont constaté 7,4 ° Brix dans le jus de tomate. Dans notre cas, le total des solides solubles atteint 12,63 ° Brix dans l'écotype Om-K30. Notre étude a montré que l'acidité titrable est de 0,14 au 0,88%. En d'autres espèces de fruits, des valeurs approximatives ont été observés: de 0,28 à 1,01% chez les cultivars de nectarine, 0,13-0,87% dans les cultivars de pêchers et de 0,31 à 0,55% en cultivars de pruniers (**Gil et al., 2002**). Notre étude a montré que les écotypes *Opuntia* du Maroc ont des caractéristiques physico-chimiques spécifiques en comparaison avec des espèces *Opuntia* d'autres pays et avec d'autres espèces de fruits. Nos résultats seront bénéfiques pour la valorisation et l'utilisation de ces écotypes de cactus marocaines à fruit.

❖ *Similitude des écotypes d'O. ficus indica et O. de megacantha en fonction des caractéristiques du fruit et du jus*

Nos résultats n'ont pas révélé l'influence de l'origine géographique, les espèces ou la couleur de la peau du fruit sur les caractéristiques physico-chimiques du jus de fruits des accessions d'*O. ficus indica* et *O. de megacantha* du Maroc. Cependant, nos résultats ont montré de grandes différences entre les écotypes marocaines évaluées dans cette étude et d'autres écotypes de l'Egypte, le Mexique, l'Argentine et l'Italie, qui pourrait être due à l'effet de l'environnement. Afin de mieux mettre en évidence la relation entre les écotypes étudiées, un dendrogramme basé sur la méthode de paroisie et y compris toutes les caractéristiques évaluées a été réalisée (Figure 29). Le dendrogramme a

montré la présence de deux groupes, chacun est composé des écotypes de différentes origines géographiques. Le premier groupe contenait 13 écotypes (43,33%); tous appartiennent à l'espèce *O. ficus indica*. Le fait intéressant, est que le second groupe comprenait 17 écotypes (56,66%), dix *O. ficus indica* et sept *O. megacantha*. Cela met en évidence la forte similitude entre *O. ficus indica* et *O. megacantha* au Maroc. Nos résultats confirment les études précédentes réalisées par [Caruso et al. \(2010\)](#), [Labra et al. \(2003\)](#) et [Valadez-Moctezuma et al. \(2014\)](#), qui ont signalé la similarité génétique élevée entre *O. ficus indica* et *O. megacantha*.

En résumé, ni les espèces ni l'origine géographique n'affectent les caractéristiques physico-chimiques des écotypes d'*O. ficus indica* et *O. megacantha* du Maroc. Cependant, de grandes différences ont été observées lorsque l'on compare nos résultats avec ceux des espèces d'*Opuntia* des autres pays, déjà rapportés dans la littérature. Nos résultats ont permis une meilleure caractérisation des écotypes de cactus à fruit marocaines. Ils sera intéressant d'analyser les huiles essentielles de ces écotypes pour d'autres utilisations thérapeutiques et cosmétiques.

Tableau 15: Les valeurs moyennes (+ SD) pour les caractéristiques du fruit dans 30 écotypes d'Opuntia de différentes régions du Maroc.

Espèces	Origine géographique	Ecotype	Nombre de plante échantillonné	Couleur de peau	Longueur du fruit (cm)	Poids du fruit (g)	Poids frais de la peau (g)	Peau /Fruit ratio (%)	Poids sec de la peau (g)	Teneur en eau dans la peau (%)
<i>O. ficus indica</i>	Benismir	Ofi-F20	9	Jaune-orange	6.98 ± 1.26 ^{abcde}	87.11 ± 24.14 ^{abc}	31.67 ± 9.23 ^{cdef}	36.18 ± 2.64 ^{defgh}	4.56 ± 1.01 ^{cdefghi}	84.97 ± 3.10 ^{abcd}
	Benismir	Ofi-G20	9	Mauve-rouge	5.91 ± 0.90 ^{de}	60.22 ± 12.44 ^{cde}	23.78 ± 3.96 ^{efg}	40.02 ± 4.52 ^{abcdef}	3.44 ± 0.53 ^{hi}	85.32 ± 2.13 ^{abc}
	Boujaad	Ofi-C10	10	Jaune-orange	6.95 ± 0.79 ^{abcde}	69.20 ± 7.71 ^{bcde}	23.40 ± 3.31 ^{efg}	33.87 ± 3.38 ^{fgh}	4.70 ± 0.95 ^{cdefghi}	79.84 ± 3.31 ^{de}
	Boujaad	Ofi-C30	6	Jaune-orange	6.68 ± 0.39 ^{bcde}	64.50 ± 8.41 ^{bcde}	24.17 ± 4.62 ^{efg}	37.30 ± 3.66 ^{cdefg}	4.00 ± 0.89 ^{fghi}	83.52 ± 1.13 ^{abcd}
	Boujaad	Ofi-E30	6	Jaune-orange	6.97 ± 0.46 ^{abcde}	67.67 ± 10.56 ^{bcde}	25.50 ± 3.39 ^{efg}	37.87 ± 2.72 ^{bcdefg}	4.00 ± 0.63 ^{fghi}	84.27 ± 1.93 ^{abcd}
	Drabna	Ofi-B20	9	Jaune-orange	6.08 ± 1.19 ^{cde}	70.56 ± 17.49 ^{bcde}	24.44 ± 7.30 ^{efg}	34.36 ± 3.79 ^{efgh}	4.44 ± 1.51 ^{cdefghi}	82.08 ± 2.19 ^{abcde}
	Guelmim	Ofi-B30	9	Jaune-orange	6.79 ± 0.79 ^{abcde}	90.78 ± 9.32 ^{ab}	27.11 ± 4.81 ^{defg}	29.72 ± 3.17 ^{hi}	6.11 ± 0.93 ^{abcde}	77.12 ± 3.57 ^e
	Guelmim	Ofi-C20	3	Jaune-orange	6.53 ± 0.55 ^{bcde}	68.00 ± 19.00 ^{bcde}	26.67 ± 6.66 ^{efg}	39.42 ± 1.11 ^{abcdefg}	5.00 ± 1.00 ^{bcdefghi}	81.10 ± 1.18 ^{bcde}
	Guelmim	Ofi-D30	4	Jaune-orange	6.80 ± 0.73 ^{abcde}	59.25 ± 18.15 ^{de}	27.00 ± 7.79 ^{defg}	45.76 ± 4.62 ^{ab}	3.75 ± 1.50 ^{ghi}	86.42 ± 2.58 ^{ab}
	Guelmim	Ofi-F10	9	Jaune-orange	7.36 ± 1.07 ^{abcd}	68.22 ± 18.36 ^{bcde}	24.78 ± 7.36 ^{efg}	36.33 ± 4.95 ^{defgh}	3.22 ± 0.97 ⁱ	86.72 ± 3.04 ^a
	Guelmim	Ofi-F30	8	Jaune-orange	7.04 ± 0.47 ^{abcde}	58.00 ± 14.89 ^{de}	22.75 ± 5.78 ^{fg}	39.25 ± 2.11 ^{bcdefg}	3.50 ± 0.53 ^{hi}	84.15 ± 2.77 ^{abcd}
	Lagribat	Ofi-D20	6	Jaune-orange	6.85 ± 0.32 ^{abcde}	78.00 ± 4.65 ^{abcde}	31.17 ± 3.06 ^{cdefg}	39.97 ± 3.40 ^{abcdef}	6.33 ± 0.52 ^{abc}	79.60 ± 1.55 ^{de}
	Oulad Haddou	Ofi-J10	7	Jaune-orange	6.64 ± 0.36 ^{bcde}	87.43 ± 8.34 ^{abc}	31.00 ± 2.71 ^{cdefg}	35.77 ± 4.90 ^{defgh}	3.71 ± 0.49 ^{ghi}	87.95 ± 1.87 ^a
	Oulad Haddou	Ofi-J30	3	Jaune-orange	7.60 ± 0.79 ^{abc}	82.00 ± 6.93 ^{abcd}	34.00 ± 2.65 ^{bcde}	41.48 ± 0.72 ^{abcdef}	4.67 ± 0.58 ^{cdefghi}	86.28 ± 1.34 ^{ab}
	Rhamna	Ofi-D10	9	Jaune-orange	7.03 ± 0.61 ^{abcde}	69.33 ± 8.29 ^{bcde}	31.22 ± 3.46 ^{cdefg}	45.20 ± 3.55 ^{abc}	4.22 ± 0.67 ^{efghi}	86.25 ± 2.95 ^{ab}
	Rhamna	Ofi-E10	9	Jaune-orange	7.67 ± 0.52 ^{abc}	84.56 ± 9.36 ^{abcd}	22.78 ± 2.82 ^{fg}	27.13 ± 4.05 ⁱ	4.00 ± 0.71 ^{fghi}	82.14 ± 4.24 ^{abcde}
	Rhamna	Ofi-G10	9	Jaune-orange	5.53 ± 0.70 ^e	53.33 ± 15.12 ^e	20.56 ± 5.66 ^g	39.00 ± 4.34 ^{bcdefg}	3.22 ± 0.67 ⁱ	83.85 ± 3.02 ^{abcd}
	Rhamna	Ofi-G30	6	Rose	7.33 ± 0.82 ^{abcd}	61.50 ± 15.08 ^{cde}	23.17 ± 3.87 ^{efg}	38.33 ± 3.54 ^{bcdefg}	3.17 ± 0.41 ⁱ	86.15 ± 1.85 ^{ab}
	Rhamna	Ofi-H10	9	Orange	7.49 ± 0.57 ^{abcd}	101.00 ± 14.90 ^a	43.44 ± 5.98 ^a	43.29 ± 5.08 ^{abcd}	6.22 ± 0.83 ^{abcd}	85.51 ± 2.31 ^{abc}
	Rhamna	Ofi-H30	9	Jaune-orange	8.40 ± 0.55 ^a	98.11 ± 14.04 ^a	37.11 ± 5.06 ^{abcd}	38.03 ± 3.58 ^{bcdefg}	6.00 ± 0.87 ^{abcdef}	83.74 ± 2.09 ^{abcd}
Rhamna	Ofi-I20	10	Mauve-rouge	6.72 ± 1.35 ^{abcde}	66.60 ± 18.02 ^{bcde}	30.40 ± 5.32 ^{cdefg}	47.09 ± 7.95 ^a	3.70 ± 1.06 ^{ghi}	87.97 ± 1.59 ^a	
Rhamna	Ofi-J20	6	Jaune-orange	7.93 ± 0.74 ^{ab}	89.83 ± 21.30 ^{ab}	31.17 ± 9.28 ^{cdefg}	34.38 ± 3.50 ^{efgh}	4.33 ± 1.21 ^{defghi}	85.82 ± 2.54 ^{ab}	
Zenata	Ofi-H20	9	Jaune-orange	7.08 ± 1.36 ^{abcde}	103.44 ± 20.66 ^a	39.56 ± 6.77 ^{abc}	38.59 ± 3.24 ^{bcdefg}	5.89 ± 0.93 ^{abcdef}	84.77 ± 3.40 ^{abcd}	
<i>O. megacantha</i>	Benismir	Om-A20	9	Jaune-orange	7.33 ± 0.72 ^{abcd}	101.00 ± 15.39 ^a	42.44 ± 7.37 ^{ab}	42.06 ± 4.52 ^{abcde}	7.11 ± 2.03 ^a	83.41 ± 2.65 ^{abcd}
	Guelmim	Om-A30	9	Jaune-orange	7.97 ± 1.09 ^{abcde}	98.56 ± 11.83 ^a	31.22 ± 3.63 ^{cdefg}	31.78 ± 2.60 ^{ghi}	5.78 ± 0.97 ^{abcdef}	81.48 ± 2.61 ^{abcde}
	Lagribat	Om-A10	9	Jaune-orange	7.98 ± 0.72 ^{ab}	100.56 ± 10.03 ^a	42.56 ± 5.00 ^{ab}	42.31 ± 2.54 ^{abcde}	8.00 ± 2.12 ^a	81.38 ± 3.34 ^{abcde}
	Rhamna	Om-K20	3	Jaune-orange	8.00 ± 0.87 ^{ab}	80.33 ± 11.50 ^{abcde}	33.33 ± 4.62 ^{cdef}	42.54 ± 11.08 ^{abcde}	5.67 ± 0.58 ^{abcdefg}	82.67 ± 3.81 ^{abcd}
	Sidi Boumehdi	Om-B10	9	Jaune-orange	7.08 ± 0.48 ^{abcde}	79.56 ± 9.03 ^{abcde}	24.00 ± 3.43 ^{efg}	30.14 ± 2.47 ^{hi}	4.67 ± 0.50 ^{cdefghi}	80.20 ± 3.68 ^{cde}
	Zenata	Om-K10	6	Jaune-orange	7.40 ± 0.89 ^{abcd}	98.67 ± 10.25 ^a	39.83 ± 6.11 ^{abc}	40.27 ± 3.56 ^{abcdef}	6.67 ± 1.51 ^{ab}	83.40 ± 1.61 ^{abcd}
Zenata	Om-K30	6	Jaune-orange	7.62 ± 0.58 ^{abc}	79.33 ± 8.12 ^{abcde}	30.00 ± 3.41 ^{cdefg}	38.11 ± 5.22 ^{bcdefg}	5.33 ± 1.03 ^{abcdefgh}	82.30 ± 2.03 ^{abcde}	

Moyens avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes à 5% de probabilité d'erreur.

Tableau 16 : Présentation des valeurs moyennes (+ SD) pour les caractéristiques de jus de fruits dans les 30 adhésions d'Opuntia de différentes régions du Maroc.

Espèces	Geographic origin	Ecotype	Couleur de la peau	pH	°Brix	Acidité titrable (%)	Caroténoïdes totaux µg/L	Vitamin C mg/L	Scures réducteurs mg/mL	
<i>O. ficus indica</i>	Benismir	Ofi-F20	Yellow-orange	4.15 ± 0.10 _{bcdefgh}	9.93 ± 0.21 _{ab}	0.40 ± 0.11 _{abcde}	11.78 ± 0.20 _{fgh}	22.31 ± 0.04 _d	3.69 ± 2.85 _a	
	Benismir	Ofi-G20	Purple-red	3.61 ± 0.03 _{ghi}	10.87 ± 0.42 _{ab}	0.67 ± 0.07 _{ab}	15.37 ± 0.60 _{cde}	18.70 ± 0.92 _h	3.20 ± 1.99 _a	
	Boujaad	Ofi-C10	Yellow-orange	4.73 ± 0.39 _a	10.00 ± 1.00 _{ab}	0.19 ± 0.05 _{de}	8.98 ± 0.20 _{ij}	21.82 ± 0.18 _{de}	2.95 ± 1.02 _a	
	Boujaad	Ofi-C30	Yellow-orange	4.43 ± 0.39 _{abcd}	10.05 ± 0.35 _{ab}	0.24 ± 0.05 _{cde}	12.57 ± 0.20 _f	19.76 ± 0.13 _{fgh}	3.22 ± 1.29 _a	
	Boujaad	Ofi-E30	Yellow-orange	3.80 ± 0.13 _{fghi}	10.53 ± 0.55 _{ab}	0.55 ± 0.16 _{abc}	8.18 ± 0.20 _j	23.45 ± 0.04 _c	3.98 ± 2.07 _a	
	Drabna	Ofi-B20	Yellow-orange	4.56 ± 0.10 _{ab}	10.23 ± 0.86 _{ab}	0.19 ± 0.02 _{de}	7.98 ± 0.40 _j	20.72 ± 0.13 _{ef}	2.09 ± 1.74 _a	
	Guelmim	Ofi-B30	Yellow-orange	4.34 ± 0.34 _{abcde}	11.13 ± 1.75 _{ab}	0.38 ± 0.20 _{bcde}	7.98 ± 0.40 _j	21.16 ± 0.04 _{de}	2.27 ± 1.58 _a	
	Guelmim	Ofi-C20	Yellow-orange	4.83 ± 0.00 _a	12.60 ± 0.00 _a	0.17 ± 0.00 _{de}	10.18 ± 0.60 _{hi}	18.92 ± 0.35 _h	6.10 ± 0.26 _a	
	Guelmim	Ofi-D30	Yellow-orange	3.64 ± 0.00 _{ghi}	10.00 ± 0.00 _{ab}	0.50 ± 0.00 _{abcd}	10.78 ± 0.40 _{gh}	29.17 ± 0.13 _a	2.06 ± 0.06 _a	
	Guelmim	Ofi-F10	Yellow-orange	3.35 ± 0.25 _i	10.37 ± 0.40 _{ab}	0.42 ± 0.01 _{abcde}	10.98 ± 0.20 _{gh}	22.35 ± 0.44 _d	2.75 ± 2.46 _a	
	Guelmim	Ofi-F30	Yellow-orange	3.38 ± 0.20 _j	10.13 ± 0.23 _{ab}	0.88 ± 0.30 _a	16.57 ± 2.59 _{bcd}	11.09 ± 0.00 _m	3.81 ± 1.79 _a	
	Lagribat	Ofi-D20	Yellow-orange	4.24 ± 0.27 _{bcdef}	8.23 ± 0.25 _b	0.25 ± 0.08 _{cde}	10.18 ± 0.60 _{hi}	21.38 ± 0.18 _{de}	3.18 ± 0.48 _a	
	Oulad		Yellow-orange							
	Haddou	Ofi-J10			4.05 ± 0.00 _{bcdefgh}	9.40 ± 0.40 _{ab}	0.41 ± 0.05 _{abcde}	11.98 ± 0.80 _{fg}	15.44 ± 0.04 _{ijk}	3.30 ± 1.82 _a
	Oulad		Yellow-orange							
	Haddou	Ofi-J30			4.02 ± 0.00 _{cdefgh}	6.20 ± 0.00 _c	0.41 ± 0.00 _{abcde}	14.17 ± 0.60 _e	14.87 ± 0.09 _{ijk}	2.63 ± 0.12 _a
	Rhamna	Ofi-D10	Yellow-orange		4.10 ± 0.03 _{bcdefgh}	10.43 ± 0.78 _{ab}	0.24 ± 0.21 _{cde}	10.78 ± 0.40 _{gh}	26.05 ± 0.00 _b	2.33 ± 1.66 _a
	Rhamna	Ofi-E10	Yellow-orange		3.75 ± 0.08 _{fghi}	9.57 ± 1.60 _{ab}	0.54 ± 0.14 _{abc}	5.39 ± 0.20 _k	21.21 ± 0.79 _{de}	2.41 ± 1.92 _a
	Rhamna	Ofi-G10	Yellow-orange		3.66 ± 0.04 _{ghi}	10.10 ± 0.40 _{ab}	0.67 ± 0.01 _{ab}	15.57 ± 0.80 _{cde}	13.55 ± 0.26 _l	2.23 ± 1.30 _a
	Rhamna	Ofi-G30	Pink		3.59 ± 0.00 _{hi}	9.40 ± 0.60 _{ab}	0.58 ± 0.01 _{ab}	14.97 ± 0.20 _{de}	15.53 ± 0.04 _{ij}	3.47 ± 0.13 _a
	Rhamna	Ofi-H10	Orange		3.74 ± 0.01 _{fghi}	11.47 ± 0.80 _{ab}	0.55 ± 0.02 _{abc}	13.97 ± 0.80 _e	18.74 ± 0.26 _h	2.80 ± 3.04 _a
	Rhamna	Ofi-H30	Yellow-orange		3.66 ± 0.36 _{ghi}	11.87 ± 1.07 _a	0.72 ± 0.16 _a	16.57 ± 0.20 _{bcd}	15.84 ± 0.00 _{ij}	2.56 ± 0.16 _a
	Rhamna	Ofi-I20	Purple-red		3.63 ± 0.00 _{ghi}	9.73 ± 0.47 _{ab}	0.58 ± 0.02 _{ab}	15.77 ± 0.60 _{cd}	16.15 ± 0.13 _i	3.46 ± 3.15 _a
	Rhamna	Ofi-J20	Yellow-orange		4.05 ± 0.05 _{bcdefgh}	11.17 ± 1.10 _{ab}	0.46 ± 0.06 _{abcde}	13.97 ± 0.40 _e	14.74 ± 1.36 _{kl}	4.84 ± 2.65 _a
	Zenata	Ofi-H20	Yellow-orange		3.86 ± 0.21 _{efghi}	10.60 ± 0.98 _{ab}	0.34 ± 0.07 _{bcde}	20.76 ± 0.80 _a	14.17 ± 0.44 _{kl}	1.93 ± 0.92 _a
	<i>O. megacantha</i>	Benismir	Om-A20	Yellow-orange	4.77 ± 0.07 _a	9.50 ± 1.40 _{ab}	0.14 ± 0.01 _e	4.79 ± 0.40 _k	21.25 ± 0.04 _{de}	1.98 ± 0.98 _a
		Guelmim	Om-A30	Yellow-orange	4.82 ± 0.12 _a	8.73 ± 3.19 _{ab}	0.21 ± 0.02 _{de}	5.99 ± 0.40 _k	24.24 ± 0.04 _c	3.66 ± 0.70 _a
		Lagribat	Om-A10	Yellow-orange	4.17 ± 0.53 _{bcdefg}	10.23 ± 1.70 _{ab}	0.46 ± 0.30 _{abcde}	5.79 ± 0.20 _k	14.17 ± 0.88 _{kl}	2.42 ± 0.23 _a
		Rhamna	Om-K20	Yellow-orange	4.14 ± 0.00 _{bcdefgh}	10.43 ± 0.15 _{ab}	0.49 ± 0.01 _{abcd}	17.76 ± 0.60 _{ab}	20.50 ± 0.62 _{efg}	2.16 ± 0.15 _a
		Sidi		Yellow-orange						
Boumehdi		Om-B10			4.53 ± 0.00 _{abc}	10.13 ± 2.14 _{ab}	0.21 ± 0.01 _{de}	5.59 ± 0.40 _k	22.13 ± 0.13 _d	2.73 ± 3.29 _a
Zenata		Om-K10	Yellow-orange		3.77 ± 0.02 _{fghi}	12.03 ± 0.06 _a	0.62 ± 0.03 _{ab}	16.97 ± 0.60 _{bc}	15.66 ± 1.85 _{ij}	2.00 ± 1.33 _a
Zenata		Om-K30	Yellow-orange		3.93 ± 0.00 _{defgh}	12.63 ± 0.55 _a	0.39 ± 0.03 _{abcde}	18.56 ± 0.60 _a	19.45 ± 0.88 _{gh}	3.65 ± 0.88 _a

Moyens avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes à 5% de probabilité d'erreur.

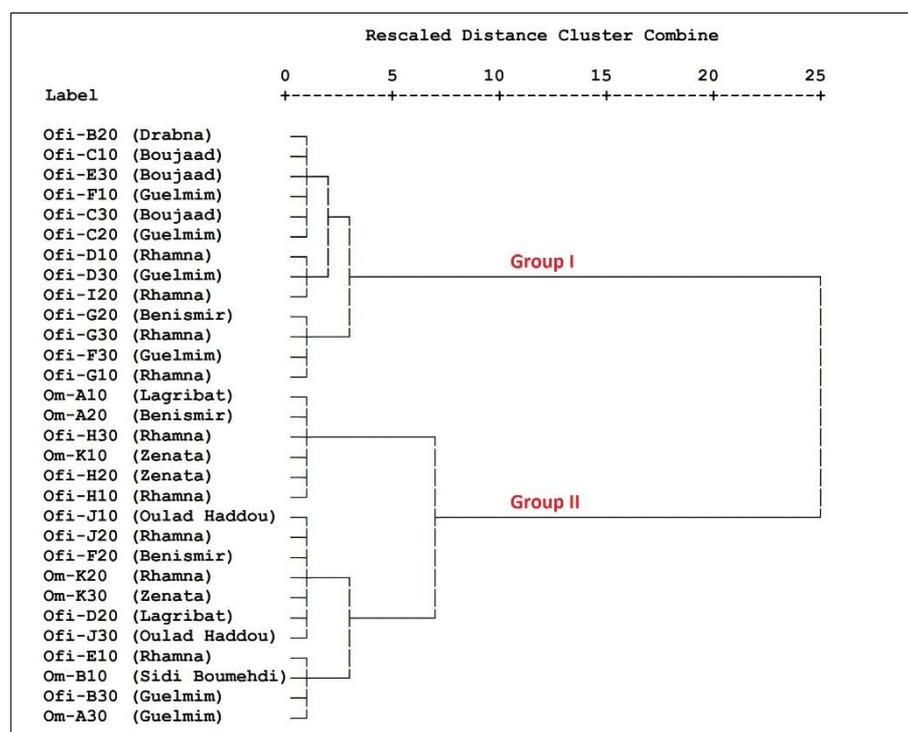


Figure 29: Dendrogramme montrant la relation entre les 30 accessions de *O. ficus indica* et *O. megacantha* du Maroc, sur la base des caractéristiques du fruits et jus selon la méthode de Ward. Chez le deuxième site expérimentale de l'INRA : Jemaat Riah.

(3) Evaluation de la teneur des composés phénolique et lipidique dans les différentes parties de la plante des différentes espèces identifiées de cactus

(a) La Fleur

L'étude biométrique et physico-chimique faite sur le fruit de cactus provenant de la région de Jemâat riah comportant 33 écotypes, a montré la présence de quatre type de fruit présentent quatre couleur différente : le rose, le rouge/rose, l'orange et le jaune/orange. Ces écotypes ont été classé en fonction de la couleur de fruit, leur analyse physico-chimique (Brix, acidité, pH, sucres réducteurs, caroténoïdes et vitamine C) a montré des différences significatif ce qui nous amène à penser que ces écotypes à quartes types de couleurs différentes de fruit sont des variétés. Pour cela nous avons pensé d'étudier les extraits de fleur provenant de ces quatre types de fruits de couleurs différentes, avec l'hypothèse l'existence de quatre nouvelles variétés non identifié dans le secteur national afin de mieux valoriser leur utilisation du point de vue socioénocomique et thérapeutique, en se basent sur la composition chimique et l'identification des molécules d'interets. Donc nous étions intéressé à faire le prélèvement de la fleur au dernier stade de floraison et faire des dosages physico-chimique afin d'avoir une idée sur les molécules d'intérêt comme les composés phénolique et les phospholipides.

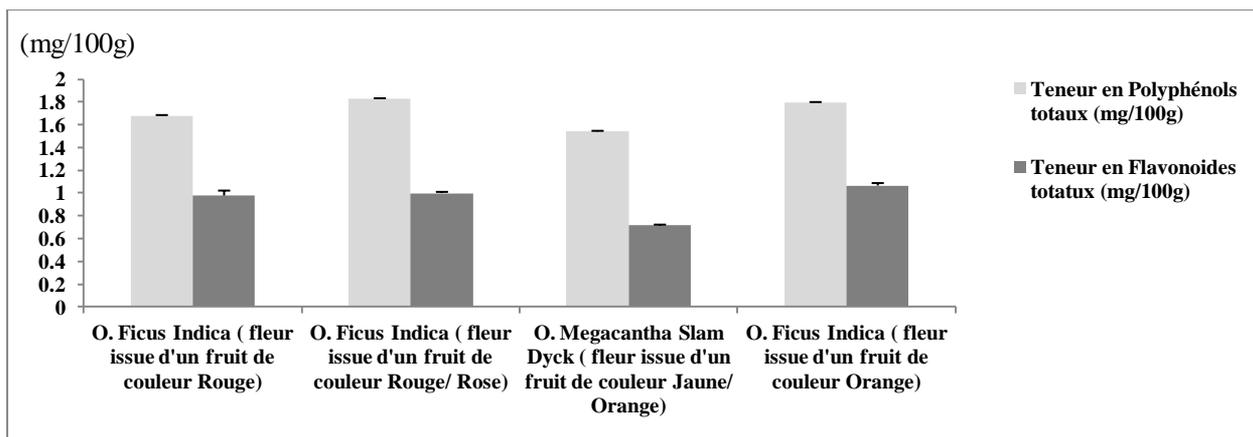


Figure 30: Résultats de la teneur en composés phénolique (mg/100g): Flavonoïdes et Polyphénols dans les extraits de la fleur issues de quatre variétés provenant de deux espèces différentes (*Opuntia ficus indica* (OFI): représenté par trois variétés : issue d'un fruit de couleur rose, rouge/rose et orange et *Opuntia megacantha slam dyck* (OMSD) représenté par une seul variété issue d'un fruit de couleur: jaune/orange) provenant de différentes région du Maroc.

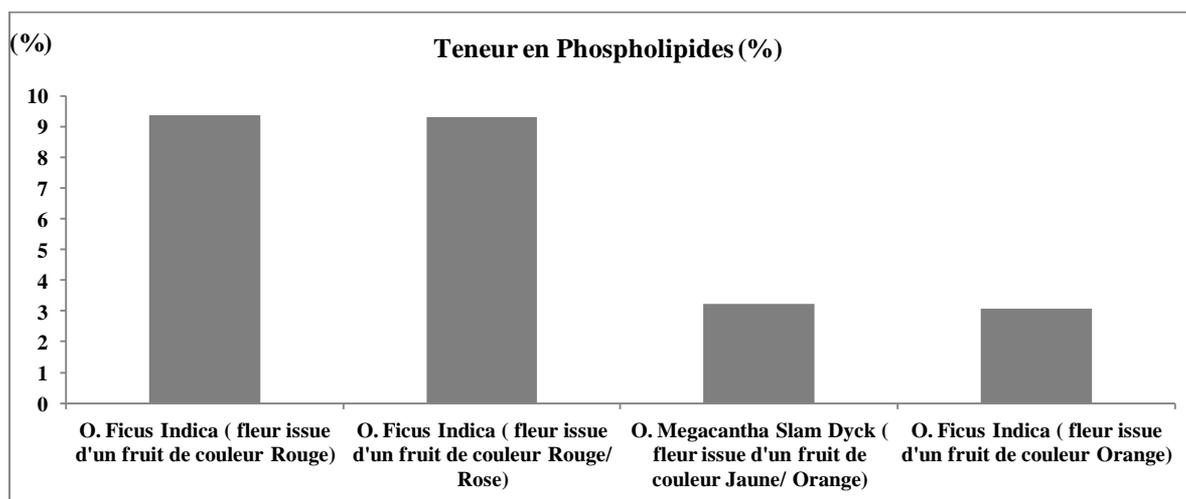


Figure 31: Résultats de la teneur des phospholipides (en %) dans les extraits de la fleur issues de quatre variétés provenant de deux espèces différentes (*Opuntia ficus indica* (OFI): représenté par trois variétés : issue d'un fruit de couleur rose, rouge/rose et orange et *Opuntia megacantha slam dyck* (OMSD) représenté par une seul variété issue d'un fruit de couleur: jaune/orange) provenant de différentes région du Maroc.

(b) La Raquette

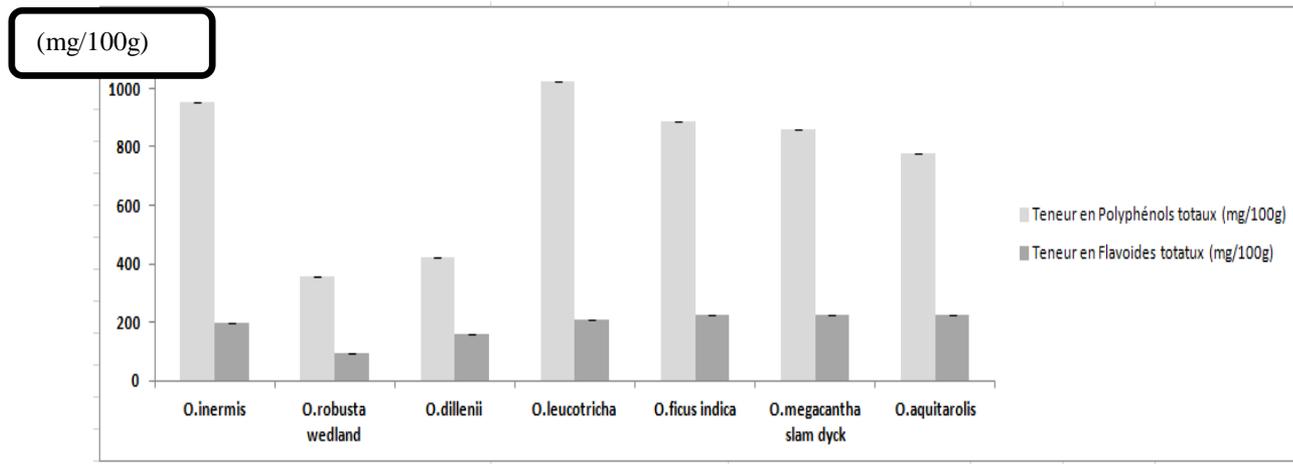


Figure 32: Résultats de la teneur en composés phénolique (mg/100g): Flavonoïdes et Polyphénols dans les extraits de la raquette obtenue par spectrophotomètre issues de sept espèces inermes et épineuse (*Opuntia ficus indica* (OFI), *Opuntia megacantha slam dyck* (OMSD), *O. dillenii*, *O. Aquetarolis*, *O. Inermis*, *O. Robusta wedland*, *O. Leucotricha*, provenant de sept régions différentes du Maroc.

(c) Les épines

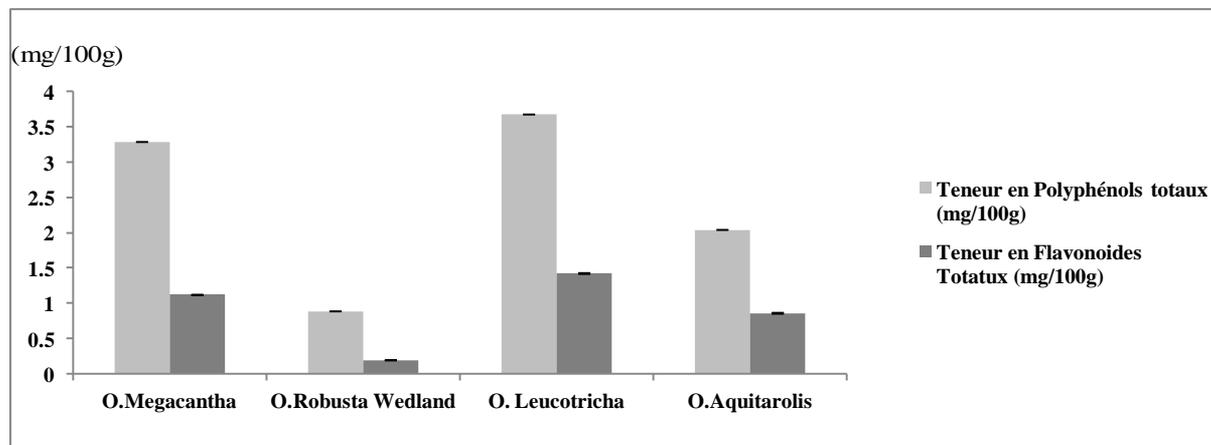


Figure 33: Résultats de la teneur en composés phénolique (mg/100g): Flavonoïdes et Polyphénols dans les extraits des épines obtenue par spectrophotomètre issues de quatre espèces épineuses (*Opuntia megacantha slam dyck* (OMSD), *O. Aquetarolis*, *O. Robusta wedland*, *O. Leucotricha*), provenant de quatre régions différentes du Maroc.

Au niveau de la raquette, les résultats obtenues indiquent que la teneur en polyphénols totaux sont significativement différente entre les espèces et variait de 350 à 1200 mg / 100 g (figure 32), avec une teneur très élevés chez l'espèce *O. leucotricha*. La teneur en flavonoïdes varie de 95 à 225 mg / 100 g, et la valeur la plus élevé a été observés chez les espèces *O. inermis*, *O. ficus indica*, *O. leucotricha* et *O.aequatorialis*. D'autre étude ont montré que la raquette et en particulier chez l'espèce *O. ficus indica* possède des teneures moins élevées par exemple la présence du narcissine,

nicotiflorine avec des teneurs qui peut atteindre jusqu'à 137.1-146.5 mg/100g respectivement (Valente et al., 2010, Bensadon et al., 2010, Gallegos et al., 2009, Guevara et al., 2010). Pour les épines, nous avons constaté que la teneur en polyphénols totaux varie de 0,9 à 3,7 mg / 100 g, avec des teneurs plus élevées chez les espèces *O. leucotricha* et *O. megacantha* par rapport à *O.robusta* et *O. aequatorialis* (figure 33). Nous notons que jusqu'à maintenant aucune étude n'a été réalisé sur la caractérisation des principaux molécules de polyphénols dans cette partie de la plante. Au niveau de la fleur, la teneur en polyphénols totaux est comprise entre 1.5-1.8 mg/100g, et que pour les flavonoïdes est de 0.71-1 mg/100g, et que seul l'espèce *O. ficus indica* est la plus riche en polyphénol par rapport à l'espèce *O. megacantha* (figure 30). Par contre plusieurs auteur ont rapporté que la fleur est très riche en composé phénolique et en particulier l'acide gallique qui peut atteindre à une valeur entre 1630-4900 mg/100g, ainsi la présence d'autre composé comme le 6isoharmnetin3-*O*-Robinobioside, 4269 mg/100g et le 7isoharmnetin3-*O*-Galactoside, 979 mg/100g (De Leo et al., 2010, Ahmed et al., 2005; Clark et al., 1980). Ces résultats ne sont pas en accord avec ceux trouver chez les autres auteurs, ceci peut être expliqué par le type de variété de l'espèce, ainsi leur condition édapho-climatique qui sont très liée à l'environnement. En conclusion, cette étude a révélé que la raquette de cactus est la plus riche en composés phénolique par rapport aux autres parties de la plante, et en particulier l'espèce *O. leucotricha* par rapport aux autres espèces. En perspective, ces travaux ont pour but d'identifier des molécules à fort potentiel thérapeutique dans les extraits de raquette de cactus et voir leurs effets antioxydant à l'aide du test ORAC et DPPH. Ces molécules seront étudiées vis-à-vis leur capacité à contrer les conséquences délétères de la déficience en acyl-coenzyme A oxydase 1 (ACOX1), l'enzyme de la b-oxydation peroxysomale déficiente dans la maladie génétique appelée pseudo-adrénoleucodystrophie néonatale (P-NALD).

B. Etude comparative des molécules bioactives dans les huiles

Dans le but de rechercher de nouvelles molécules potentiellement bioactives, nous avons réalisé une analyse physicochimique de la composition des huiles d'argan et de graine de cactus par comparaison à l'huile d'olive comme huile référence bien documentée et objet de nombreuses études scientifiques.

1. Détermination du taux d'acidité et de l'indice de peroxyde

La qualité d'une huile alimentaire se caractérise principalement par la mesure de trois facteurs que sont : le taux d'acidité, l'indice de peroxyde et l'analyse sensorielle. Ce dernier facteur est souvent utilisé pour comparer la même huile mais d'origines géographiques différentes. Ici nous allons nous attaché à la mesure des deux premiers facteurs : l'acidité et l'indice de peroxyde.

Le taux d'acidité représente la proportion d'acides gras libres issus de la dégradation dans l'huile. Il est obtenu par une méthode de titrage par une base dans le milieu éthanol/éther et il est donné en « grammes d'acide oléique libre pour 100 g d'huile».

L'indice de peroxyde reflète le degré d'oxydation d'une huile, en particulier l'oxydation des acides gras insaturés. Il est déterminé par traitement de l'huile en solution dans l'acide acétique et l'isooctane par une solution d'iodure de potassium puis l'iode libéré est titré par une solution de thiosulfate de sodium. L'indice de peroxyde est exprimé en « milliéquivalents d'oxygène peroxydique lié par kilogramme » (mEq O2/kg).

Nos analyses physicochimiques montrent que l'huile d'olive est la plus acide présentant une valeur de 1,06%, que nous pouvons classer selon la norme du Conseil Oléicole International, comme une huile d'olive vierge, alors que l'huile d'argan à une acidité plus faible avec une valeur de 0,28%, classé comme huile vierge extra. Pour l'huile de graine de cactus issue de l'espèce d'*Opuntia Megacantha*, son acidité de 0,77% est intermédiaire entre celle de l'huile d'olive et celle de l'huile d'argan. Par contre, l'indice de peroxyde de l'huile d'olive est le plus faible, alors que celui de l'huile de graines de cactus est le plus élevé (Tableau 17). Ceci est peut être le reflet d'une composition riche en acides gras polyinsaturés, plus faible dans l'huile d'olive et plus forte en huile de graine de cactus.

Tableau 17: Résultats des mesures du taux d'acidité dans les huiles de graines de cactus, d'argan et d'olive, donné en « grammes d'acide libre pour 100 g d'huile» et de l'indice de peroxyde exprimé en « milliéquivalents d'oxygène peroxydique lié par kilogramme » (mEq O2/kg).

Echantillon	Acidité	Indice de peroxyde (meq O2/Kg)
Huile de graine de cactus	0,77%	2,8
Huile d'argan	0,28%	2,4
Huile d'olive	1,06%	2,2

2. Détermination du coefficient d'extinction spécifique

L'extinction spécifique d'une huile d'olive reflète l'oxydation de l'huile et permet d'estimer sa qualité. Cette méthode est basée sur la mesure d'absorbance en ultraviolet par spectrophotométrie entre 232 et 270 nm due à la formation d'hydroperoxydes et/ou de leurs dérivés cétoniques avec un maximum d'absorption au voisinage de 270 nm.

L'extinction spécifique est déterminée en solubilisant une prise d'essais dans du cyclohexane et la mesure est réalisée par spectrophotométrie UV aux longueurs d'onde : 270 / 266/ 274 nm :

$$\Delta E = E\%(271\text{nm}) - [(E\%(266\text{nm}) + E\%(274\text{nm})) / 2]$$

Avec **E%** représentant l'extinction spécifique.

Tableau 18: Résultats des mesures des coefficients d'extinction spécifiques dans les huiles de graines de cactus, d'argan et d'olive. Avec E% : l'extinction spécifique.

Echantillon	Longueur d'onde	Absorbance en UV	ΔE (variation de l'extinction spécifique)
Huile de graine de cactus	274	0,229	$1,5 \cdot 10^{-3}$
	270	0,238	
	264	0,244	
Huile d'argan	274	0,215	$3,5 \cdot 10^{-3}$
	270	0,197	
	264	0,172	
Huile d'olive	274	0,136	$5 \cdot 10^{-4}$
	270	0,149	
	264	0,163	

Cette analyse spectrophotométrique en ultraviolet permet de nous fournir des indications sur la qualité, l'état de conservation des huiles et sur les modifications subies du fait des processus technologiques qui lui sont appliqués. Nos résultats montrent que pour les trois huiles testées les valeurs du coefficient d'extinction spécifique sont inférieures à la valeur seuil de 0,22 (ou $2,2 \cdot 10^{-1}$) à 270 nm pour une huile vierge extra selon les normes internationales (tableau 18).

3. La composition en acides gras

Les huiles contiennent deux fractions, une principale et majoritaire dite fraction saponifiable constituée de triacylglycérols et une minoritaire dite fraction insaponifiable constituée de métabolites secondaires comme les stérols, les vitamines liposolubles, les caroténoïdes et autres polyphénols.

Le tableau 19 rapporte les résultats d'analyse de la composition en acides gras de la fraction saponifiable.

Tableau 19: Teneur en acide gras dans les huiles d'olive, d'argan, de graine de cactus et de l'huile essentielle de la raquette de cactus (*Opunia megacantha slam dyck*) par dosage en chromatographie en phase gazeuse (CPG). Les valeurs représentent le pourcentage de moles d'AG. ^a représente le rapport entre les pourcentages ω -6/ ω -3.

POURCENTAGE CENTISIMAL DES ACIDES GRAS				
Echantillon d'huile	Olive	Argan	Graines de Cactus	H. essentielle de raquette de cactus
Acide Palmitique C16:0	8,7	11,8	12,1	17,09
Acide Palmitoléique C16:1, ω-7	0,7	0,18	0,7	0,43
Acide Stéarique C18:0	2,8	6,00	3,41	2,15
Acide Oléique C18:1, ω-9	72,79	45,9	18,48	12,84
Acide Linoléique C18:2, ω-6	13,2	34,1	62,99	34,81
Acide Linoléinique C18:3, ω-3	0,9	0,13	0,25	26,65
AG saturés	11,15	17,8	15,1	19,24
AGMI	73,49	46,08	19,8	13,27
AGPI	14,1	34,23	63,24	61,46
ω6/ω3^a	0,069	0,0038	0,004	0,76

Les analyses montrent, comparativement à l'huile d'olive, que l'huile d'argan est plus équilibrée entre acides gras monoinsaturés (AGMI) et acides gras polyinsaturés (AGPI). Le rapport AGPI/AGMI est de 0,19 dans l'huile olive, 0,74 dans l'huile d'argan. Ce rapport est plus en faveur des AGPI dans le cactus puisque l'huile de graine de cactus montre un rapport de 3,3 alors que dans l'huile essentielle de raquette il est de 4,63. La nature des AGPI, en termes de familles ω 3 et ω 6, indique que les huiles d'olive (13,2), d'argan (34,1) et de graines de cactus (62,99) contiennent essentiellement de l'acide linoléique ω 6. Alors que l'huile essentielle de la raquette de cactus est plus équilibrée entre

$\omega 6$ et $\omega 3$, ce qui se traduit par un pourcentage en acide linoléique $\omega 3$ de 26,65. Ce pourcentage est 30 fois supérieur à celui dans l'huile d'olive, 200 fois supérieur à celui dans l'huile d'argan et 106 fois supérieur à celui dans l'huile de graine de cactus. La comparaison des rapports $\omega 6/\omega 3$ donne une idée plus précise sur les différences en AGPI de ces huiles. En effet, le rapport $\omega 6/\omega 3$ est de 0,069 dans l'huile d'olive, plus faible dans les huiles d'argan et de graines de cactus avec respectivement 0,0038 et 0,004. Alors que l'huile essentielle de raquette présente un rapport plus équilibré avec une valeur de 0,76 (tableau 19).

4. Teneur en stérols dans les huiles d'argan, de cactus et l'huile d'olive et de leurs extraits stéroliques

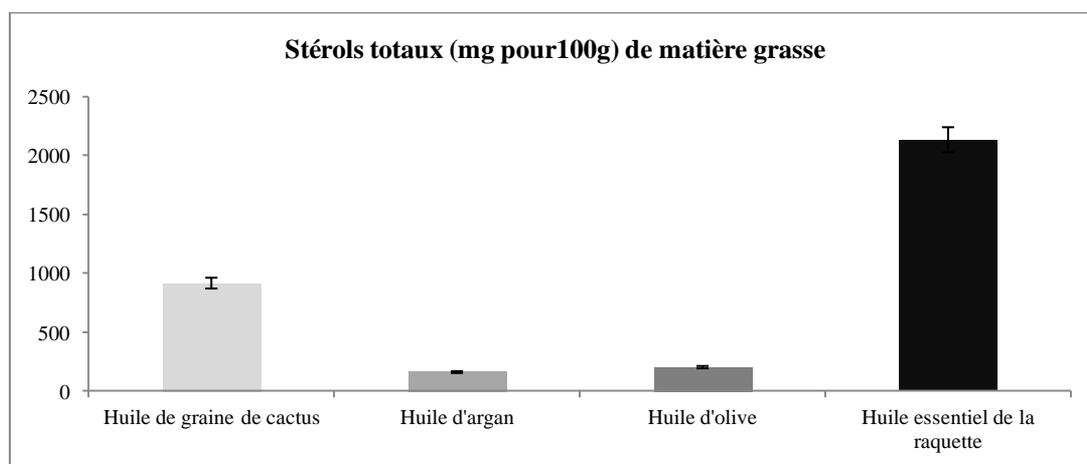


Figure 34: Résultats des dosages des stérols totaux en mg/100g des quatre huiles étudiées par chromatographie en phase gazeuse (CPG).

L'huile de graine de cactus est très riche en stérols par rapport à l'huile d'argan et l'huile d'olive, avec une valeur de 916,18 mg pour 100g de matière grasse (figure 34), par contre l'huile d'olive présente une quantité très faible 203,72 mg pour 100g, mais supérieure à celle l'huile d'argan 162,3 mg pour 100g de matière grasse, Cependant l'huile essentielle de la raquette de cactus issue de l'espèce *Opuntia Megacantha*, présente une teneur la plus élevée avec plus de 2g pour 100g (figure 34). Ce qui explique qu'au sein de la même espèce que la composition varie vis-à-vis des différentes parties de la plante, et donc la raquette reste la partie la plus riche en phytostérols.

L'analyse de la teneur en stérol (tableau 20) a été effectuée par GC-MS, révélant que l'huile de graines de cactus contient cinq fois plus de stérols que l'huile d'argan (HA). Par rapport aux extraits de stérols, nous avons un rendement plus élevé de stérols dans l'extrait de COSE, plus de 2 fois d'extrait d'huile d'olive et près de 3 fois plus que l'huile d'argan (tableau 20). Curieusement, la composition de la fraction de stérols HA présente principalement deux phytostérols, le schotténol (56,97%) et le spinastérol (43,03%). Ceci est en accord avec les travaux déjà publiés par Khallouki et al. (Khallouki et al., 2003). Cependant, l'origine et le procédé d'extraction peuvent influencer les caractéristiques physico-chimiques de l'analyse des composants (Hillali et al., 2005). Ceci peut expliquer la faible teneur en stérols totaux dans notre échantillon HA. En revanche, les extraits stérols d'olive et de cactus (OOSE et

COSE) montrent plus de 80% de sitostérol comme principal phytostérol (Tableau 20). En outre, la teneur en campestérol est faible dans les huiles d'olive et de cactus. Le Sitostanol et le campestanol, les deux formes saturées respectivement de campestérol et de sitostérol, sont détectées, dans une moindre mesure dans les extraits d'huiles d'olive (OOSE) et dans graine de cactus COSE (tableau 20).

Tableau 20 : Analyses GC-MS de Stérols des huiles d'Argan, de graines de cactus, d'olive et des extraits stéroliques obtenus à partir des huiles.

Stérol	Huile d'argan	Huile de graine Cactus	Extrait Stérols		
			AOSE	COSE	OOSE
Schottérol (%)	91.24^a (56.97) ^c	11.61^a (1.29) ^c	7.65^b (58.53) ^c	2.90^b (7.1) ^c	0.01^b (0.08) ^c
Spinastérol (%)	68.92^a (43.03) ^c	14.44^a (1.60) ^c	5.42^b (41.47) ^c	1.69^b (4.14) ^c	0.07^b (0.36) ^c
Campestérol (%)	ND	57.94^a (6.43) ^c	ND	0.96^b (2.34) ^c	1.28^b (6.97) ^c
Sitostérol (%)	ND	737.85^a (81.92) ^c	ND	33.31^b (81.50) ^c	15.22^b (82.80) ^c
Campestanol (%)	ND	7.37^a (0.82) ^c	ND	ND	0.10^b (0.55) ^c
Sitostanol (%)	ND	71.47^a (7.94) ^c	ND	2.01^b (4.94) ^c	1.70^b (9.25) ^c
Stérols Totaux	160.16 ^a	900.68 ^a	13.08 ^b	40.87 ^b	18.38 ^b

Valeurs représentent a: mg/100 g d'huile; b: mg/100 ml d'extrait; c: % of de sterols totaux
AOSE : Argan oil sterol extract. COSE: Cactus Oil sterol extract. OOSE: Olive oil sterol extract.

5. La teneurs en Vitamine E (tocophérols)

La teneur en tocophérols des différentes huiles a été évaluée par HPLC. L'huile d'argan contient une quantité très importante de la vitamine E avec une valeur de 752,21mg/100g, par rapport à l'huile de graine cactus 117,58 mg/100g, une valeur similaire à celle trouvée chez l'huile d'olive avec une teneur de 115,78 mg/100g. Au niveau de l'huile d'argan, le gamma-tocophérol est majoritaire (Tableau 21, Figure 35). Par contre, l'huile essentielle de raquette de cactus, d'*Opuntia megacantha slam dyck*, contient pratiquement que de l' α -tocophérol avec une teneur de 100%, les autres dérivés tocophérols n'ont pas été identifiés. La composition en vitamine E de l'huile de graine de cactus diffère de l'huile essentiel de la raquette, car nous avons trouvé deux composés majoritaires de tocophérol avec une composition équilibrée entre le β -tocophérol 36.89% et la γ -tocophérol 58.06%, alors que les autres tocophérols, l' α - et le σ tocophérols, sont en faible quantité à environ moins de 6%. Donc nous remarquons une grande différence du point de vu composition de la vitamine E dans les différents types d'huiles, et dans les différentes parties de la même espèce de cactus.

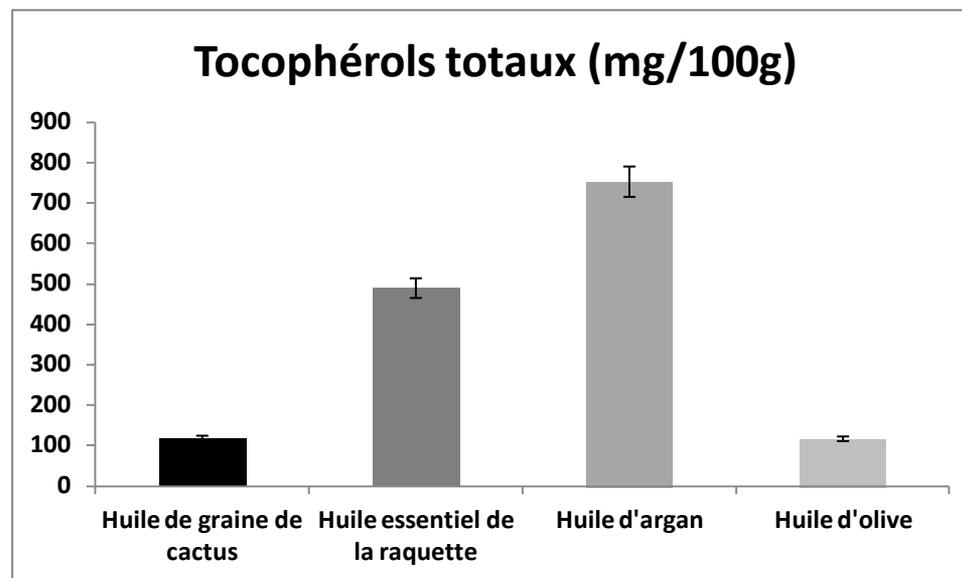


Figure 35: Résultats du dosage des tocophérols totaux en mg/100g des quatre huiles étudiées par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

Tableau 21: Résultats des différents types des tocophérols des quatre huiles étudiées exprimées en pourcentage.

Pourcentage des différents types des tocophérols (%)				
Echantillons	Alpha	Beta	Gamma	Sigma
Huile d'olive	88.01	7.57	4.42	ND
Huile d'argan	5.86	0.12	89.98	4.04
Huile de graine de cactus	1.27	36.89	58.06	3.77
Huile essentielle de raquette	100	ND	ND	ND

6. Discussion

Dès le milieu des années 1990, l'intérêt grandissant pour des huiles plus riches en acides gras polyinsaturés a permis d'obtenir une analyse fine d'huiles alimentaires comme l'huile d'argan (Gharby et al., 2011; Bennani et al., 2007; El Kebbaj et al., 2013). Depuis, il a été démontré dans de nombreuses publications les effets bénéfiques sur la santé humaine de cette huile (Berrougui et al., 2006; Cherki et al., 2005; Derouiche et al., 2005; Drissi et al., 2004). Ces effets bénéfiques sont l'objet d'étude dans de nombreux laboratoires pour identifier les molécules et les cibles cellulaires qui en sont responsables et comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents (El Kebbaj et al., 2013; El Kharrassi et al., 2014; El Kebbaj et al., 2016). La recherche de nouvelles sources de molécules naturelles nous a poussés à analyser les caractéristiques physico-chimiques d'une plante adaptée à de nombreux biotopes, en particulier

au milieu aride qu'est le cactus. Dans ce travail, nous avons effectué des analyses qualitatives et quantitatives en parallèle des huiles d'argan et de graine de cactus ainsi que de l'huile essentielle de raquette de cactus. L'huile d'olive a été utilisée comme huile référence à cause des nombreuses études et analyses effectuées sur ce composé naturel.

L'analyse qualitative montre que l'huile d'argan a la plus faible acidité (0,28%), en accord avec la valeur de 0,27% donnée par [Gharby et al., \(2011\)](#), alors que l'huile issue de graine de cactus est plus proche en acidité de l'huile d'olive. Malgré que l'acidité soit généralement exprimée en acide oléique, elle ne renseigne pas sur la composition réelle d'huile en acides gras. Il a été postulé que la teneur et la composition des triacylglycérols dans les amandons évoluent avec le degré de maturation du fruit et cette composition s'équilibre à maturité ([Gharby et al., 2011](#)). La faible acidité mesurée pour l'huile d'argan reflète donc une faible hydrolyse des triacylglycérols pour libérer des acides gras. Selon la norme marocaine N.M. 08.5.090, l'huile d'argan est classée comme vierge extra si son acidité est \leq à 0.8%, alors qu'elle est classée en huile vierge fine avec une acidité comprise entre 0.8 et 1.5% ([Snima, 2003 ; Rahmani, 2005](#)). La très faible, voir l'absence, d'utilisation d'huiles obtenue de graine de cactus par l'homme jusqu'à présent expliquerait l'absence aussi de normes internationales même si la consommation du fruit de cactus (contenant les graines) est largement répandue au Maroc comme dans d'autres pays.

Deux facteurs, l'air et la lumière, peuvent influencer la qualité sensorielle d'une huile alimentaire. En effet, en fonction du temps, l'exposition de l'huile à l'oxygène de l'air et à la lumière peut engendrer une oxydation des doubles liaisons des AGMI et AGPI par un mécanisme radicalaire et auto-catalytique dont la cinétique dépendra de la température et de la présence de catalyseurs métalliques (Cu, Fe, Mn), mais également du degré d'insaturation des acides gras présents dans l'huile. Les produits de cette oxydation sont des hydroperoxydes, composés instables et qui donnent rapidement des dérivés époxydes et cétones. Sur le plan sensoriel, cette oxydation se traduit par le rancissement de l'huile et qui peut être mesuré par l'indice de peroxyde de cette huile et par le coefficient d'extinction spécifique ([Gharby et al., 2011](#)). Nos analyses montrent, comparativement à l'huile d'olive, que l'indice de peroxyde est plus élevé dans l'huile de graine de cactus qui est riche en AGPI, en particulier en oméga 3 plus riche en doubles liaisons. Ceci est confirmé par les mesures en spectrométrie et le calcul du coefficient d'extinction spécifique qui est plus faible dans les huiles d'argan et de cactus que dans l'huile d'olive moins riche en AGPI.

Les analyses chromatographiques de la composition en acides gras des huiles d'argan et de cactus révèlent que l'huile essentielle de raquette et l'huile de graine de cactus sont très riches en AGPI, principalement en acides linoléique et linoléique qui représentent plus de 60% des acides gras avec une spécificité de la raquette dont l'huile essentielle est particulièrement riche en acides linoléique (26,6 %). Plusieurs études ont montré que chez le cactus (en particulier dans le fruit, la pulpe et la graine) on trouve un pourcentage élevé d'acides linoléique et oléique ([El-Mostafa et al., 2014](#)). Un taux élevé en acide linoléique oméga-6 dans l'huile de graine (53.5% à 70.29%) et ce taux est plus élevé que dans les huiles de pépins de raisin, de sésame et de tournesol ([El-Mostafa et al., 2014](#)). Comme précurseur de

l'acide arachidonique, l'acide linoléique est considéré comme ayant un effet hypocholestérolémiant et des propriétés inhibitrices de la prolifération des cellules métastatiques du cancer du colon (Soel et al., 2007). Alors que l'acide linoléique oméga-3 possède des effets bénéfiques dans les maladies cardiovasculaires, les conditions inflammatoires et les diabètes (Kim et al., 2014).

Dans la fraction insaponifiable, nous avons analysé les stérols présents dans les huiles étudiées. Il est clair que l'huile essentielle de raquette contient un taux très élevé en phytostérols de près de 2g/100g de matière grasse. Ramadan et Morsel (2003) ont montré que le β -sitostérol est un stérol majeur présent dans le fruit, la pulpe et les graines allant de 6,75 à 21,1 mg/g. Le campestérol est présent dans la pulpe, la peau et la graine entre 1,66 et 8,76 mg/g (Ghazi et al., 2013; El-Mostafa et al., 2014). D'autres stérols sont présents en quantités plus faibles, notamment, le stigmastérol, le lanostérol et l'avanestérol (Ghazi et al., 2013; El-Mostafa et al., 2014). Nous avons également montré la présence de deux autres stérols présents en quantité importante dans l'huile d'argan. Il s'agit du spinastérol et du schotténol (El Kharrassi et al., 2014).

Chez le cactus *Opuntia*, la peau du fruit est riche (17,6 g/kg) en α -tocophérol (ou vitamine E), alors la graine contient un taux plus faible (0,403 g/kg), principalement du γ -tocophérol (Ramadan and Morsel, 2003 ; El-Mostafa et al., 2014). Ici nous montrons que l'huile essentielle de raquette est très riche en α -tocophérol (46,7 g/kg) alors que l'huile de graine de cactus contient plus du double en terme de quantité de tocophérols, principalement du α - et du γ -tocophérol. L'huile d'argan semble être la plus riche γ -tocophérol comme principal tocophérol (Ramadan and Morsel, 2003 ; El-Mostafa et al., 2014).

L'intérêt grandissant, aussi bien des pouvoirs publics que des industriels, pour le cactus au Maroc nécessite d'identifier non seulement les espèces de cactus cultivées mais également des biomarqueurs spécifiques permettant d'identifier l'origine des huiles et huiles essentielles dans les extraits de cactus en fonction de l'espèce et de la partie de la plante utilisée. Les analyses présentées dans ce travail vont dans ce sens et pourraient de se révéler utiles pour établir de nouvelles normes en particulier pour les produits issus du cactus.

C. Evaluation de l'activité biologique in vitro des phytostérols et leurs effets sur le métabolisme lipidique au niveau des cellules microgliales BV-2

1. La synthèse chimique d'schotténol et spinastérol

Khallouki et al. 2003 ont rapporté que les deux stérols majeurs trouvés dans HA sont le schotténol et le spinastérol, qui sont également présents dans l'huile de graine de cactus (HGC). Comme ces composés ne sont pas disponibles dans le commerce, nous les avons synthétisé en utilisant l'hydrogénation de l'acétate 7-déshydrostigmastéryl pour le spinastérol et l'hydrogénation complète par réduction en présence du Nickel de la du 7-déshydrostigmastérol (**Kircher et al., 1973**). Structures chimiques du schotténol et spinastérol sont présentés dans la figure 35A.

2. Effets des phytostérols (PS) sur la fonction mitochondriale dans les cellules microgliale BV2

Le test MTT a été réalisé pour évaluer l'effet de PS naturels sur la fonction mitochondriale et la viabilité des cellules BV2. La production de formazan par les déshydrogénases mitochondriales est proportionnelle au nombre de cellules viables et reflète l'activité métabolique mitochondriale. Le 7- α cétocholestérol (7KC) et le 4-hydroxycholestérol (4 α -OHC) ont été utilisés respectivement comme molécules contrôles pour le test MTT comme rapporté précédemment (**Nury et al., 2013**). La figure 35B montre que la réduction du MTT indique une diminution du nombre de cellules viables par rapport au contrôle. Le 7KC a un effet important sur la viabilité cellulaire et exerce une cytotoxicité à 20 μ M après, respectivement, 24 ou 48 h de traitement, tandis qu'à la même concentration le 4 α -OHC a montré un effet très faible (Fig. 35B). Le traitement avec le schotténol a un léger effet et même à 155 μ M nous avons encore 80% et 70% de cellules viables respectivement à 24 et 48 h (Figure 35B). Par ailleurs, une forte concentration de spinastérol semble être plus cytotoxique que le schotténol. Comme le montre la Figure 35C, pour une concentration à 155 μ M, on révèle respectivement 60% et moins de 40% de cellules viables à 24 et à 48 h. Le traitement avec un mélange contenant à la fois du schotténol et du spinastérol et à une concentration finale de 155 μ M a montré un effet intermédiaire (Fig. 35D). Les extraits de stérols ont été préparés à partir de l'huile d'argan (AOSE) et l'huile de graines de cactus (COSE), et leurs contenus en stérols sont présentés dans le tableau 20. Les traitements en parallèle avec ces extraits ont révélé une légère diminution dose-dépendante de la viabilité cellulaire, qui se élève à 80% après 48 h (Figure 35E). Par rapport à des cellules microgliale BV2, la lignée cellulaire humaine de la prostate LNCaP semble être plus sensible aux extraits de stérols, montrant 50% d'inhibition de la prolifération cellulaire après 48 h et seulement à 25 μ M (**Khallouki et al., 2003**). Cela pourrait s'expliquer par l'accumulation de stérols dans des cellules LNCaP, pour lesquels l'absence du mécanisme de rétrocontrôle du cholestérol a été montrée (**Hager et al., 2006**).

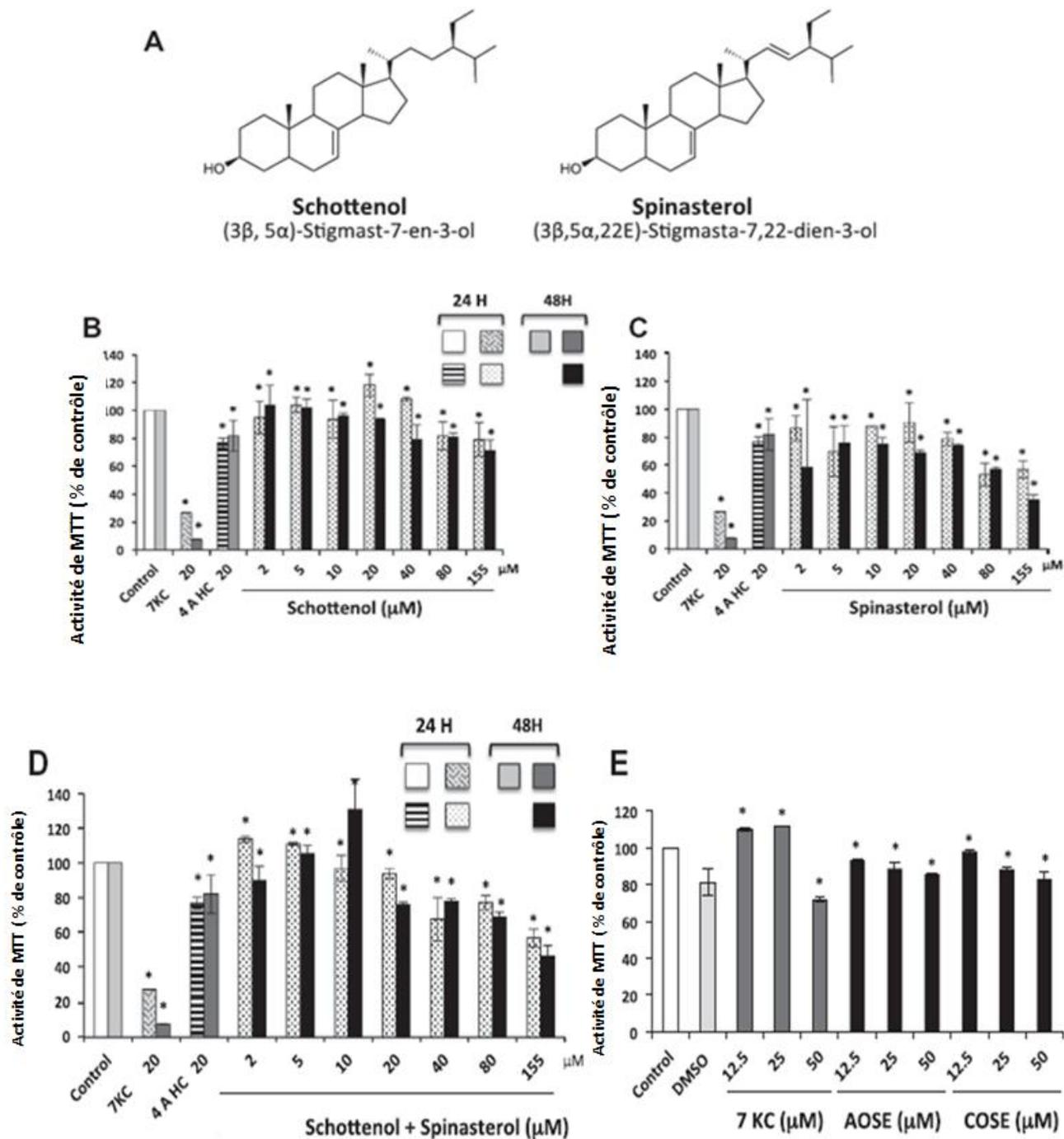


Figure 35: (A) Structure chimique du schotténol et du spinastérol. (B-E) Effets des stérols sur la prolifération cellulaire et la viabilité mesurées avec le test MTT sur des cellules microgliales BV2 traitée pendant 24h ou 48 h. 7-Cétocholesterol (7KC) était utilisé comme contrôle positif et 4 alpha-hydroxycholestérol (4 α -OHC) comme contrôle négatif pour l'induction de la mort cellulaire dans une gamme de concentration de 2 à 155 μ M pour le schotténol (B), le spinastérol (C) ou de leur mélange (D), et de 12 à 50 μ M pour l'extrait stérol AOSE (huile d'argan) ou COSE (huile de cactus) (E). Les valeurs ont été normalisées par rapport au contrôle et ont été considérées comme statistiquement significatif (test t de Student) à $P < 0,05$.

3. Mesure de la mort cellulaire avec l'iodure de propidium (IP) par cytométrie en flux

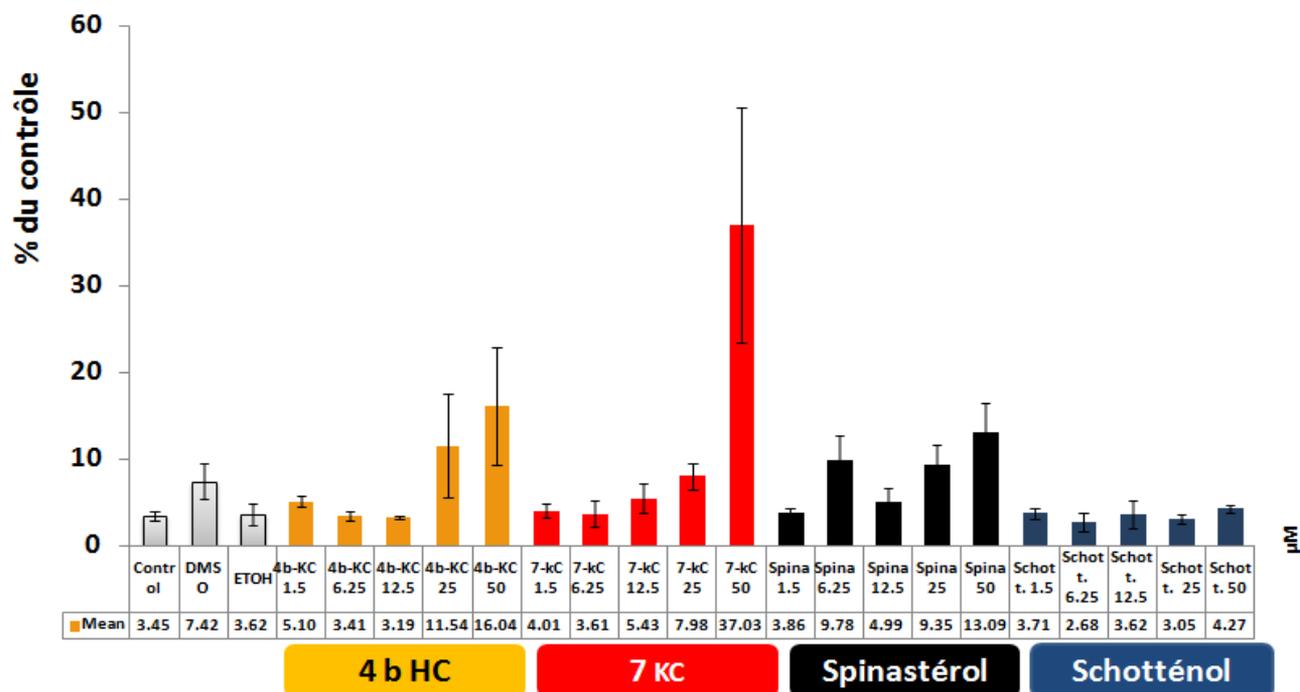


Figure 36 : Evaluation de la mort cellulaire sur les cellules de BV2 après traitement (24h) avec du 4-β cétocholestérol (4β-KC), du 7-α cétocholestérol (7α-KC), du spinastérol (spina) ou du schotténol (Schott.) à 1,5, 6,25, 12,5, 25 et 50 µm. Test de l'iodure de propidium par cytométrie en flux.

Les résultats du test IP par cytométrie en flux ont montré que la mort cellulaire est très importante après traitement par le 7KC par rapport au contrôle négatif 4α-HOC à 50 µM après 24h. Pour le spinastérol, à partir d'une concentration de 50µM, nous avons près de 10% de mort cellulaire. Alors que pour le schotténol aucun effet significatif n'a été mesuré (figure 36).

4. Effets des phytostérols sur le potentiel de la membrane mitochondriale ($\Delta\Psi_m$) dans les cellules microgliales BV2

Le potentiel de la membrane mitochondriale ($\Delta\Psi_m$) a été mesuré en utilisant la sonde fluorescente DiOC6(3). Le traitement avec le véhicule (DMSO) a montré 20% de cellules avec une dépolarisation mitochondriales négatifs. Pour une meilleure précision des analyses, les résultats sont normalisés en pourcentage du contrôle (figure 37). Après 24h de traitement, le pourcentage observé de cellules BV2 avec des mitochondries dépolarisées sous traitement du schotténol ou du spinastérol était de 40% par rapport au témoin, révélant une augmentation du $\Delta\Psi_m$ et une hyperpolarisation des mitochondries dans des cellules BV2, excepté après traitement avec le spinastérol à 50 µM (Fig. 37A). En revanche, une incubation plus longue (48h) avec du schotténol conduit à une diminution du $\Delta\Psi_m$ et une dépolarisation des mitochondries révélés par un pourcentage plus élevé de cellules négatives en DiOC6 (Fig.

37A). De la même manière, le traitement pendant 48 h avec le spinastérol inverse la polarité de la membrane mitochondriale, par rapport au point 24 h, et le même pourcentage de cellules négatives a été obtenu que dans le contrôle (Fig. 37A). Les traitements avec des extraits de stérol ne révèlent aucun effet significatif d'AOSE sur le $\Delta\Psi_m$, tandis que le traitement avec le COSE conduit à une hyperpolarisation des mitochondries à 24 h et à une dépolarisation avec une incubation plus longue de 48 heures (Fig. 37B). Comme le sitostérol représente plus de 80% de l'extrait stérolique COSE (tableau 20), l'effet de COSE pourrait probablement être attribuée à ce composé, qui peut être hydroxylé dans les mitochondries (Aringer et al., 1976). De plus, sitostérol peut être incorporé dans la membrane des mitochondries favorisant ainsi la fluidité de la membrane intérieure et, par conséquent conduirait à l'augmentation du potentiel de la membrane mitochondriale (Shi et al., 2013).

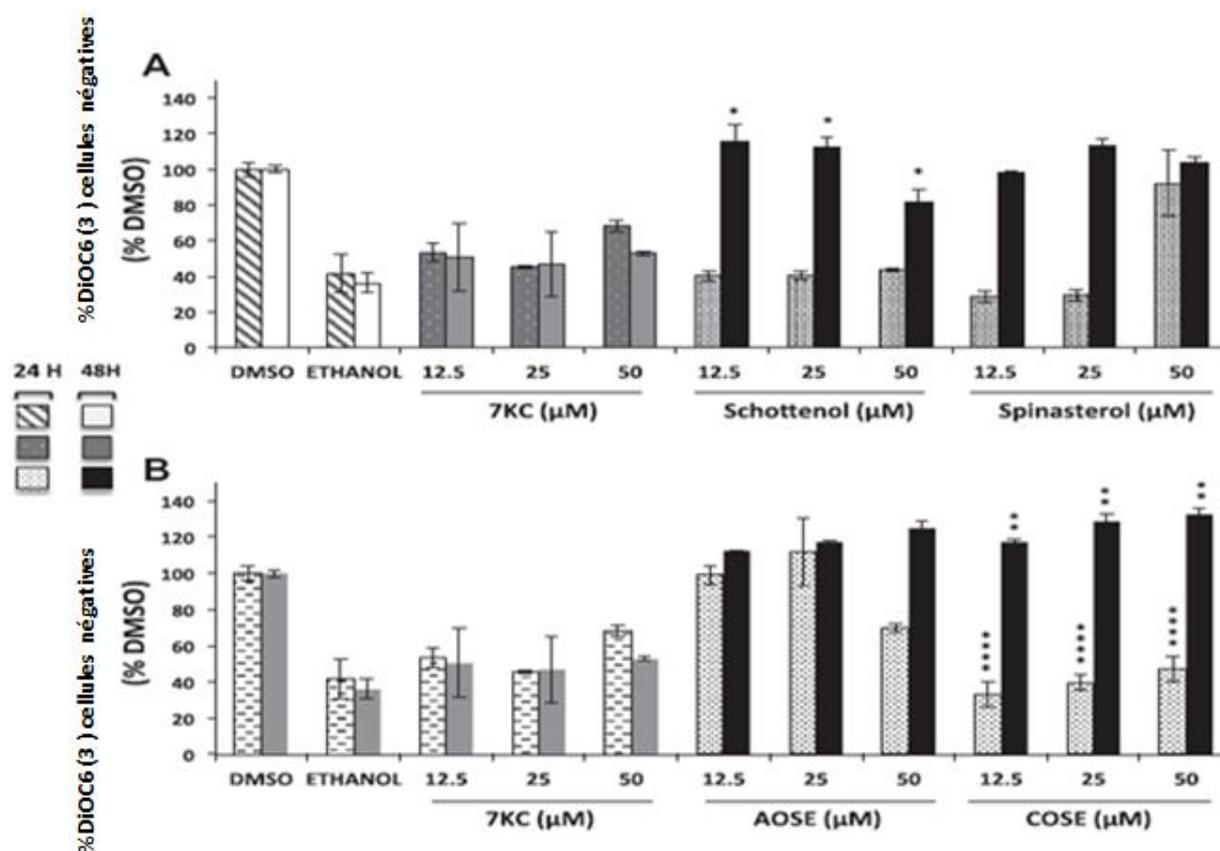


Figure 37: Effet des stérols, A: schottérol et spinastérol, ou des extraits de stérols, B: huile d'argan (AOSE) et l'huile de graines de cactus (COSE), sur le potentiel transmembranaire mitochondrial mesuré par la sonde DiOC6(3) par cytométrie de flux, dans les cellules BV2 traités 24H ou 48H. 7-Ketocholesterol (7KC) était utilisé comme témoin positif. Les cellules ont été traitées par le véhicule (DMSO ou l'éthanol) ou par différents stérols dans une gamme de concentration allant de 12,5 à 50 µM. Les valeurs ont été normalisées par rapport au contrôle et ont été considérées comme statistiquement significatives (t-test de Student) à P < 0,05. Le pourcentage de cellules négatives dans le contrôle est de 20%.

5. Etude de l'effet des phytostérols du cactus et de l'huile d'argan sur les activités des complexes respiratoires mitochondriaux dans la lignée microgliale BV2

Les effets des phytostérols mesurés sur le potentiel membranaire mitochondrial nous ont conduit à évaluer les effets de ces stérols sur les activités des complexes respiratoires mitochondriaux.

La figure 38 montre l'activité du complexe I rapporté à l'activité de la citrate synthase dans les cellules BV non traitées ou traitées avec le schotténol ou le spinastérol. Aucun de ces 2 phytostérol n'a d'effet sur cette activité à une concentration 10 μ M.

Les résultats des mesures des activités des complexes II et III (Figures 39 et 40) nous montrent que le schotténol et le spinastérol n'ont pas d'effet, à la concentration de 10 μ M.

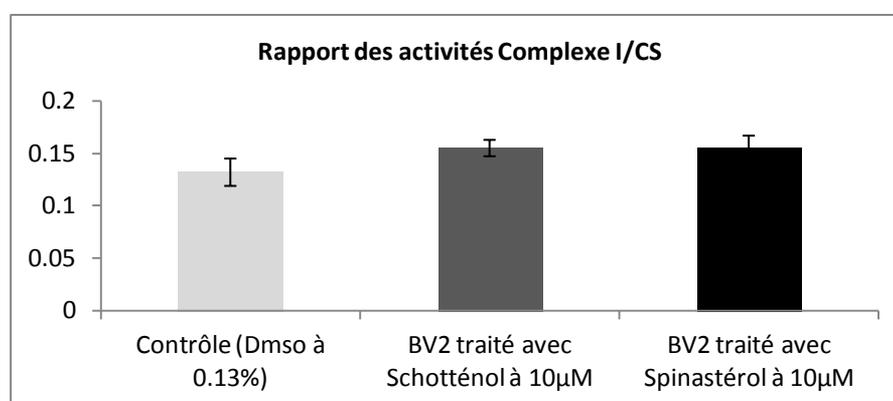


Figure 38: Dosage de l'activité du complexe I isolé de cellules microgliale BV2 traité 24H avec le DMSO à 0.13% (contrôle) ou par mes phytostérols : Schotténol ou Spinastérol à une concentration de 10 μ M. Les valeurs représentent le rapport activité du complexe I à l'activité du citrate synthase (CI/CS).

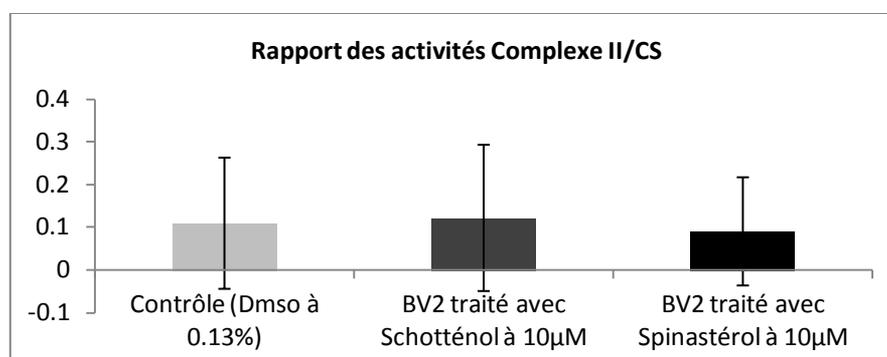


Figure 39: Dosage de l'activité du complexe II isolé des cellules BV2 traitées pendant 24H avec le DMSO à 0.13% (contrôle) ou des phytostérols : Schotténol ou Spinastérol à une concentration de 10 μ M. Les valeurs représentent le rapport activité du complexe II à l'activité du citrate synthase (CII/CS).

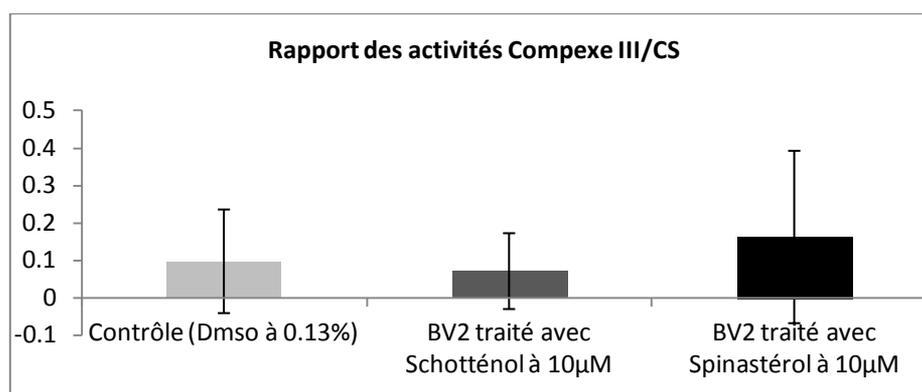


Figure 40: Dosage de l'activité du complexe III isolé des cellules BV2 traitées pendant 24H avec le DMSO à 0.13% (contrôle) ou des phytostérols : Schotténol ou Spinastérol à une concentration de 10µM. Les valeurs représentent le rapport activité du complexe III à l'activité du citrate synthase (CIII/CS).

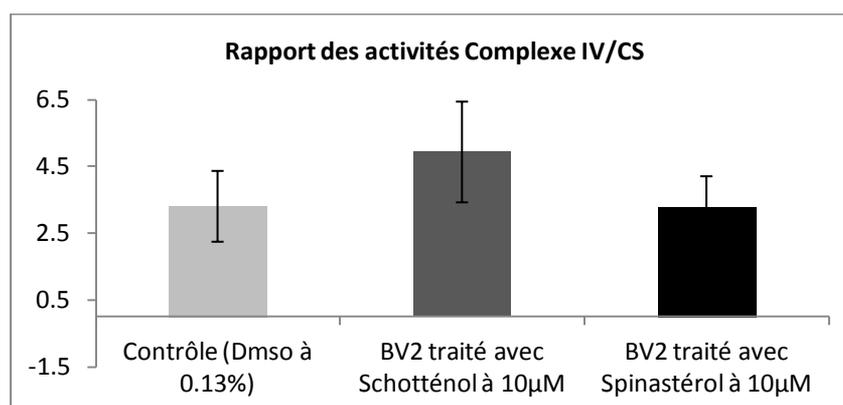


Figure 41: Dosage de l'activité du complexe IV isolé des cellules BV2 traitées pendant 24H avec le DMSO à 0.13% (contrôle) ou des phytostérols : Schotténol ou Spinastérol à une concentration de 10µM. Les valeurs représentent le rapport activité du complexe IV à l'activité du citrate synthase (CIV/CS).

Les résultats du dosage du complexe IV isolé montrent que le schotténol à 10µM présente un effet par rapport aux spinastérol (figure 41). Cet effet peut être considéré comme un agent dopant, puisqu'il active 1,5 fois l'activité du complexe IV (COX cytochrome Oxydase) qui est le dernier segment de la chaîne respiratoire Mitochondriale.

6. Mesure de l'intégrité de la membrane lysosomale par coloration à l'Acridine Orange

L'analyse de l'intégrité de la membrane lysosomale permet d'évaluer l'activité lysosomale des pompes à protons. Dans les lysosomes, les protéases actives peuvent diffuser dans le cytoplasme suite aux divers dommages cellulaires. Pour mesurer donc l'intégrité de la membrane lysosomale, l'acridine orange (AO) est largement utilisé (Baarine et

al., 2012). L'Acridine orange est une base faible qui s'accumule dans sa forme chargée dans les lysosomes des cellules vivantes en raison de faible pH lysosomale donnant une couleur orange/rouge fluorescente lorsqu'elle est excitée par une lumière bleue (Olsson et al., 1987). Pendant l'exposition prolongée à des agents cytotoxiques, cette fluorescence diminue nettement (Yuan et al., 2000). Un changement de fluorescence de l'orange/rouge au vert reflète des fuites du contenu lysosomal et la redistribution des AO des lysosomes, ce qui indique une insuffisance des membranes lysosomales et/ou de la capacité des lysosomes à maintenir un faible pH.

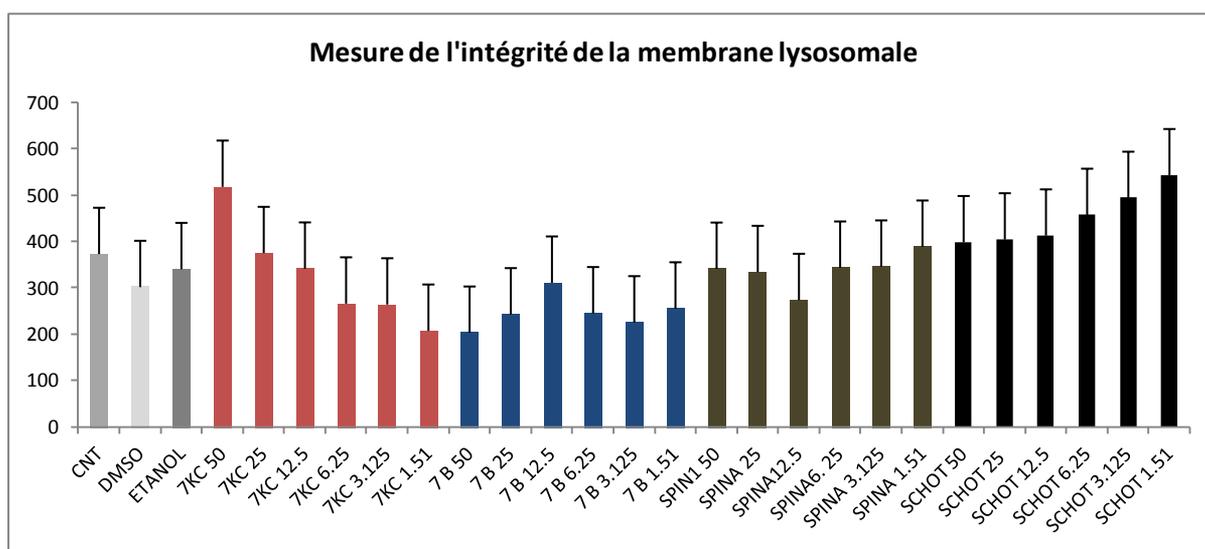


Figure 42: Effets de spinastérol, du schotténol, du 7 beta-hydroxycholestérol ou du 7-cétocholesterol sur l'intégrité de la membrane lysosomale dans les cellules BV2. Les cellules BV2 ont été cultivées pendant 24 h en l'absence ou en présence de spinastérol (SPIN), schotténol (SCHOT) dans une plage de concentrations de 1,51 à 50 μM . 7beta-hydroxycholestérol (7B), et 7-ketocholesterol (7KC), à 50 μM chacun, ont été utilisés comme témoins positifs. Les pourcentages des lysosomes déstabilisés ont été déterminés après coloration avec l'acridine orange. Après 24 h de culture en l'absence ou en présence du SPIN, du SCHOT, du 4 β OHC, ou du 7KC, les cellules ont été colorées avec AO pendant 15 minutes à 37°C, lavé, remis en suspension dans du PBS, et directement analysées par cytométrie de flux. Les données présentées sont la moyenne \pm Ecart-type de trois expériences indépendantes.

Les effets de SPIN et SCHOT ont été comparés à ceux de 4 β OHC et du 7KC (50 μM) utilisés respectivement comme contrôles négatif et positif. Dans la gamme de concentration utilisée (1.51-50 μM) avec 4 β OHC et n'observe donc aucun effet n'a été observé sur les fonctions lysosomales (Figure 42). Sous traitement du 7KC, un effet-dose sur les lysosomes qui sont déstabilisés par rapport au control. Cependant, sous traitement avec SCHOT ou SPIN nous avons un effet-dose inversé et ceci à partir de la faible concentration 1.51 μM indiquant des lysosomes déstabilisés (Figure 42). Certain dommages des organites, en particulier au niveau des lysosome, ont été signalés sur différents types de cellules au cours de traitement avec différents oxystérols (Vejux et al., 2009, Lordan et al., 2009). De plus, l'intérêt de préciser la capacité des phytostérols (SPIN et SCHOT) à induire un dysfonctionnement

lysosomale pourrait avoir des conséquences sur le métabolisme des lipides (Soccio et al., 2004, Toulmay et al., 2011). Dans les oligodendrocytes murins 158N, de légers dysfonctionnements de l'intégrité de la membrane lysosomale ont été observées sous traitement par 4 α OHC et 4 β OHC (Nury et al., 2013). Certains oxystérols ont peut d'impact sur le lysosome comme 4 α OHC et 4 β OHC (Nury et al., 2013).

7. Effet des phytostérols sur l'expression de LXR α , de LXR β et de leurs gènes cibles

Les niveaux d'ARNm gènes d'intérêt ont été mesurés dans les cellules BV2 par PCR quantitative. Tout d'abord l'expression basale des ARNm de LXR α et de LXR β et de leurs gènes cibles ABCA1 et ABCG1 ont été évalués. L'analyse par qPCR a révélé que dans les cellules BV2, l'expression des ARNm LXR α est très faible, alors que celle des ARNm LXR β est 10 fois plus élevée et que les transcrits de ABCA1 et de ABCG1 sont exprimés (Fig. 43A et B). Le ligand benzènesulfonamide synthétique, le T0901317, de LXR induit dans les cellules BV2 à la fois les ARNm de LXR α et de LXR β et ceux de leurs gènes cibles ABCG1 et ABCA1 (Fig. 43). L'induction des ARNm d'ABCA1 par T0901317 a été rapportée dans les macrophages de souris (Terasaka et al., 2003). Cependant, à une forte concentration du ligand T0901317 de LXR nos travaux montrent un effet inhibiteur principalement sur l'expression des ARNm de LXR β (fig. 43D). Cette inhibition se traduit également par une diminution de l'expression des ARNm de ABCA1 et de ABCG1 (Fig. 43 E et F). Le Spinastérol semble être plus efficace à 10 μ M avec une induction des expressions ARNm de LXR α et de LXR β et celles de leurs gènes cibles ABCA1 et ABCG1. Tandis que le traitement par Schotténol montre un effet plus faible mais significatif sur les expressions des ARNm LXR α et LXR β et celles de leurs gènes cibles. Parmi les phytostérols, les dérivés de l'ergostérol ont été rapportés comme ligands des récepteurs LXR α et LXR β induisant l'expression du transporteur ABCA1 (Kaneko et al., 2003). Curieusement, les extraits de stérol de l'huile d'argan (AOSE) réduisent l'expression de l'ARNm LXR β , qui s'accompagne par une diminution importante des taux des ARNm de ABCA1 et de ABCG1 (Fig. 43D-F). Cet effet de AOSE serait dû vraisemblablement au schotténol et/ou spinastérol, qui sont les principaux seuls stérols identifiés dans AOSE (tableau 20).

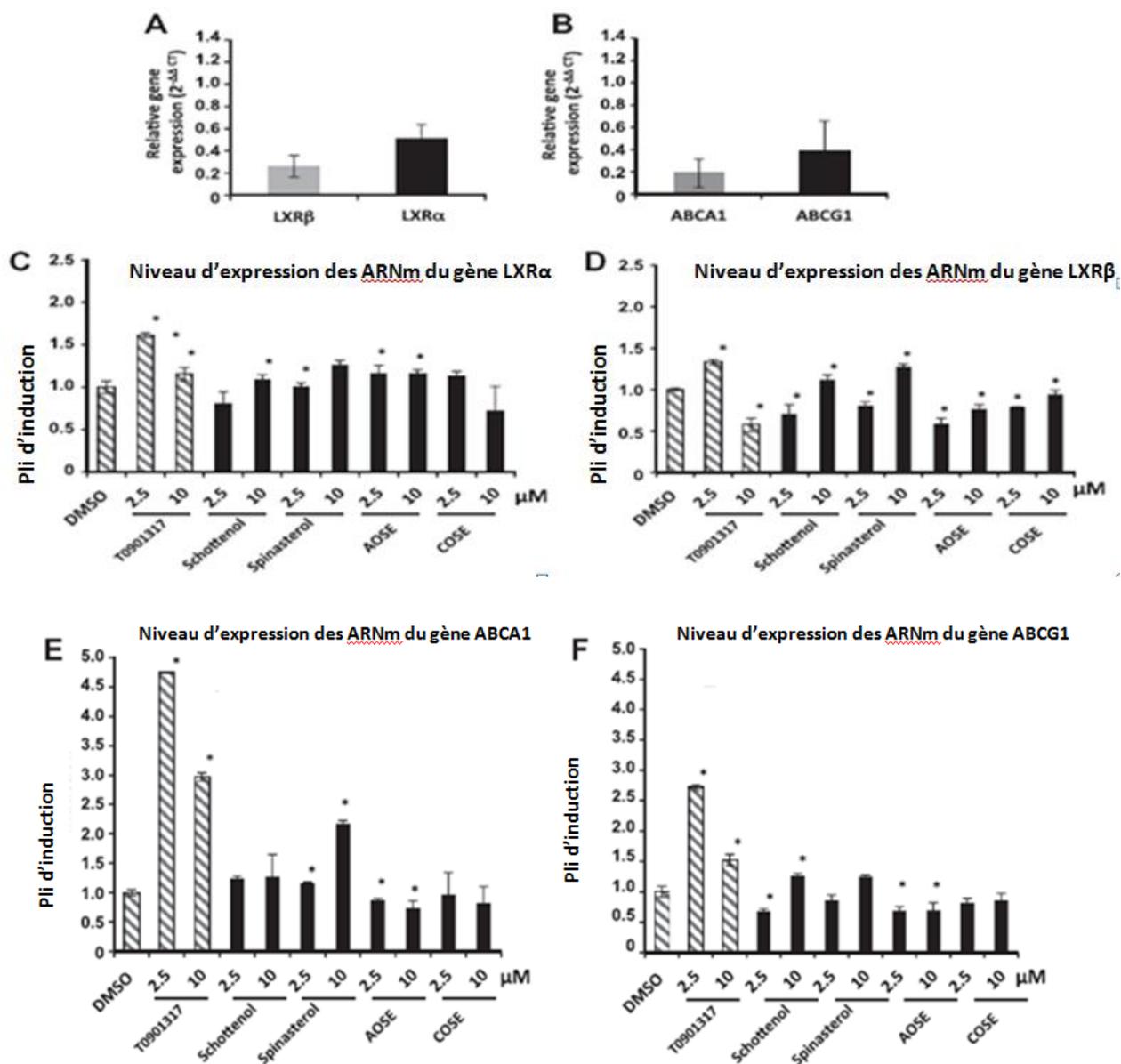


Figure 43 : Expression génique des ARNm LXRα et LXRβ et de leurs gènes cibles ABCA1 et ABCG1 dans les cellules microgliales BV2 : non traité (A et B) ou traitées avec un véhicule (DMSO), par des stérols ou des extraits de stérol pendant 24 h (C-F). Les valeurs de Ct et 2^{-ΔΔCT} obtenues, dans les cellules BV2 non traitées, étaient respectivement les suivantes : LXRα (35,18 ; 0,52); LXRβ (29,64 ; 0,45); ABCA1 (32,7 ; 0,18) et ABCG1 (31,08 ; 0,39). Les valeurs ont été normalisées par rapport au contrôle et ont été considérées comme statistiquement significatif (t-test de Student) à P <0,05 (*).

8. Évaluation de l'activation LXRα et LXRβ par les phytostérols

Le gène rapporteur de la luciférase sous le contrôle d'élément de réponse à LXR (LXRE) a été utilisé pour tester l'activation transcriptionnelles par LXRα ou par LXRβ. Comme rapporté précédemment (Kaneko et al., 2003, Terasaka et al., 2003, Nury et al., 2013), le ligand T0901317, 4α-OHC et 4β-OHC induisent l'activation de LXRα et dans une moindre mesure (au moins pour T0901317 et pour 4α-OHC) l'activation de LXRβ (Fig. 44A et B).

Curieusement, le schotténol induit une activation significative de LXR α , tandis que le spinastérol provoque seulement une très faible activation. De plus, le spinastérol réduit spécifiquement et de manière significative l'activation de LXR β . Ce résultat suggère que Spinastérol est impliqué dans la réduction observée des taux d'ARNm de gènes cibles de LXR β , c-à-d ABCA1 et ABCDG1 (Fig. 44E et F).

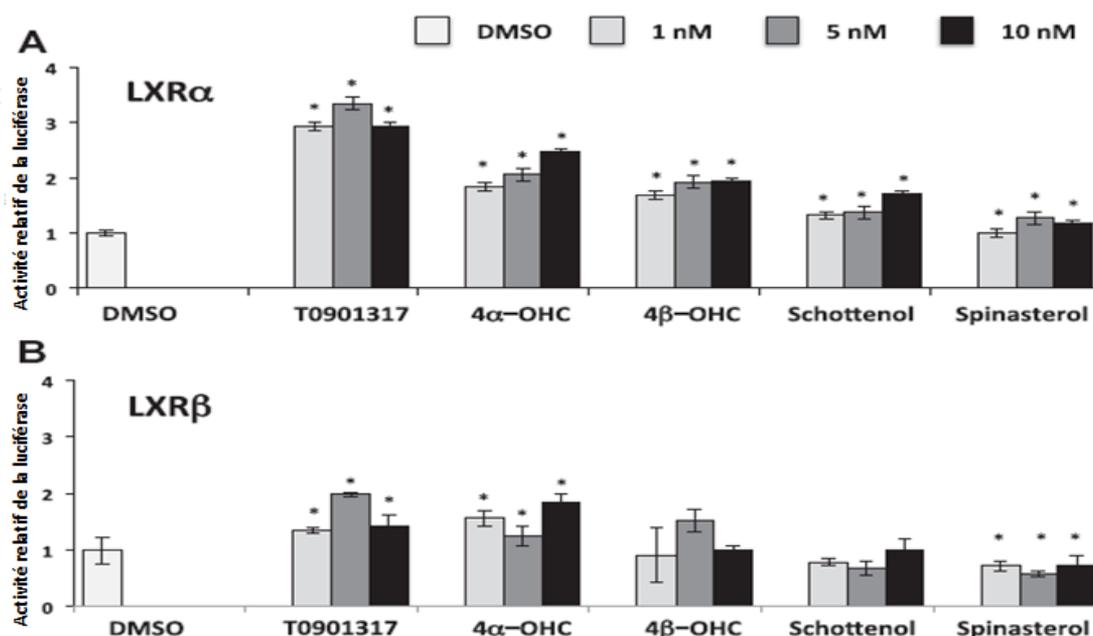


Figure 44 : Evaluation de l'effet de stérols (schotténol et spinastérol) sur l'activation de LXR α et LXR β . Les cellules HEK293 ont été co-transfectées avec un gène rapporteur de la luciférase, sous le contrôle de l'élément de réponse à LXR, le LXRE, et les vecteurs d'expression de LXR α ou LXR β . Les cellules ont ensuite été incubées avec le véhicule (DMSO), le ligand synthétique de LXR T0901317, , 4 α -OHC ou 4 β -OHC (comme témoins), ou encore le schotténol ou le spinastérol à différentes concentrations (1, 5 ou 10 nM). L'activité luciférase du rapporteur a été normalisée à l'activité β -galactosidase et exprimée comme facteur d'activation, par rapport au véhicule. Les valeurs ont été normalisées par rapport au contrôle et ont été considérées comme statistiquement significatives (test t de Student) à P < 0,05 (*).

En conclusion, nos résultats montrent que les phytostérols de l'huile d'argan ou d'huile de graines de cactus ne sont pas toxiques pour les cellules microgliales BV2 et peuvent affecter le potentiel de membrane mitochondriale. Les deux phytostérols, schotténol et spinastérol, peuvent moduler chacun les expressions des gènes de LXR α ou de LXR β ainsi que celles de leurs gènes cibles, ABCA1 et ABCG1. Cependant, seul le schotténol présente une activation différentielle vis-à-vis de la LXR β des récepteurs nucléaires. Le ligand synthétique T0901317 est considéré comme un agoniste puissant de LXR et, comme d'autres agonistes, active le récepteur nucléaire LXR conduisant à la modulation du métabolisme du cholestérol (Joseph et al., 2002, Schultz et al., 2000). De plus, ce puissant agoniste révèle plusieurs effets secondaires liés à l'activation de gènes cibles de LXR impliqués dans la lipogenèse hépatique. Cette activation conduit à l'augmentation du taux de triglycérides dans le plasma et dans le tissu hépatique (Schultz

et al., 2000). Ceci montre par conséquent, le besoin d'identifier des modulateurs sélectifs qui peuvent réguler le métabolisme du cholestérol sans avoir des effets secondaires lipogénique.

V. Conclusion et perspectives

Les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse ont été consacrés d'une part à la caractérisation et la valorisation du germoplasme national de cactus de point de vue agronomique, systématique et physico-chimique ; et d'autre part, à l'évaluation de l'activité biologique d'extraits ou de molécules issues. L'ensemble de ces travaux ont permis d'aboutir aux résultats suivants :

Au niveau agro-morphologique : l'étude phénologique révèle un comportement variable des écotypes installés sous les conditions agro-écologique de la région de Chaouia, et que leur comportement en termes de production de fruit et de biomasse varie considérablement entre les espèces et les conditions environnementales, et seuls 15 écotypes, parmi les 126, produisent des fruits.

Au niveau génétique, l'appréciation du polymorphisme chez le cactus en utilisant des descripteurs morphologiques et des méthodes moléculaires a permis de mettre en évidence de nombreux nouveaux marqueurs. En effet, cette étude a montré (i) un niveau de diversité génétique faible observé chez les écotypes analysées, (ii) une grande similitude génétique soulignée, en particulier, entre les écotypes des deux espèces *O. ficus indica* et *O. d' megacantha*, (iii) et que les marqueurs ISSR sont informatifs et très efficaces pour l'utilisation des ressources génétiques.

Au niveau physico-chimique : l'étude a été menée sur la raquette, jus de fruit, la fleur et les épines. Pour la raquette, les résultats ont montré que la teneur en hydrates de carbone chez l'espèce *O. ficus indica* est inférieure à celle décrite pour *O. ficus indica* d'autres pays. Cela peut être dû à des conditions environnementales. Le fait intéressant est la différence significative entre les écotypes d'*O. leucotricha* en termes de teneur en cendres, de taux de protéines et de sucres totaux. En effet, l'espèce *O. leucotricha* du Moyen Atlas a montré un contenu significativement plus élevée en sucres totaux que ceux de l'Ouest du Rif, alors que l'inverse a été observé en termes de teneur en cendres et de taux de protéines, ce qui pourrait être utilisé comme des indices de distinction entre différents écotypes. Concernant le jus de fruit, les travaux ont montré que ni l'espèce, ni l'origine géographique n'affectent les caractéristiques physico-chimiques des écotypes appartenant aux espèces d'*O. ficus indica* et *O. megacantha* du Maroc. Cependant, de grandes différences ont été observées lorsque nous comparons nos résultats concernant les espèces *Opuntia* avec ceux rapportés dans la littérature pour d'autres pays. En résumé, nos résultats ont permis une meilleure caractérisation des accessions de cactus à fruit marocain. Ces données seront bénéfiques pour la valorisation et l'utilisation de ces écotypes de cactus à fruit à l'échelle national et international. Cependant, la détermination des molécules bioactives particulièrement les composés phénolique, sur les différentes parties de la plante de cactus (raquette, fleur et épine) des différentes espèces identifiées, a révélé que la raquette de cactus est la plus riche en composés phénolique par

rapport aux autres parties de la plante, et particulièrement chez l'espèce *O. leucotricha* par rapport aux autres espèces étudiées.

Au niveau profil chimique : les résultats obtenus par CG et HPLC sur les caractéristiques des huiles ont montré que l'huile de graine de cactus est riche en phytostérols et en particulier le sitostérol, par rapport à l'huile d'argan qui possède une teneur très élevée en tocophérols. Le cactus présente une composition riche en acides gras saturés, mono et polyinsaturés et en antioxydants tels que les composés phénoliques (polyphénols et flavonoïdes), les phytostérols et les tocophérols. Cette composition particulière lui conférerait, des propriétés bénéfiques se traduisant par des effets antioxydant, anti-inflammatoire, antidiabétique et antimicrobien. Cependant, les mécanismes moléculaires de ses effets restent non élucidés. Sa composition chimique s'avère très différentes d'une espèce à une autre, voir même entre les différentes parties de la même plante, tel qu'au niveau des phytostérols. A l'exemple de l'huile de graine de cactus qui est riche en sitostérol, alors que l'huile essentielle de la raquette, est plutôt riche en sitostanol. Cette différence a été aussi observée au niveau des compositions en tocophérols et en acides gras.

En fin, une évaluation de l'activité biologique des phytostérols issues de l'huile d'Argan et de cactus a été évaluée sur le métabolisme lipidique pour un modèle de cellules microgliales, cellules impliquées dans la neuroinflammation cérébrale. Dans ce contexte, nous avons caractérisé les effets de certains extraits stérols ou de phytostérols sur l'expression et l'activation de gènes impliqués dans l'efflux du cholestérol dans les cellules microgliales BV2. L'effets de deux phytostérols ont été suivis. Il s'agit du spinastérol et du schotténol qui sont majoritaires dans la fraction sérols de l'huile d'argan et sont présents également dans l'huile de graine de cactus. Nos résultats ont montré que (i) ces molécules ne sont pas toxiques pour les cellules microgliale BV2 ; (ii) elles ont un impact sur le potentiel de la membrane mitochondriale ; (iii) elles peuvent moduler l'expression des gènes de $LXR\alpha$ et $LXR\beta$ ainsi que leurs gènes cibles, ABCA1 et ABCG1. Cependant, seul le schotténol montre une activation différentielle vis-à-vis du récepteur nucléaire $LXR\beta$. Ces phytostérols sont considérés comme des agonistes de LXR capables d'activer ce récepteur nucléaire et permettant une modulation du métabolisme du cholestérol.

L'ensemble de nos résultats pourront servir comme base de décision pour une meilleure exploitation, utilisation et valorisation des écotypes de cactus marocains à des fins : alimentaire, biomédicale et/ou commerciale. Ces recherches aideront à mieux orienter les choix des écotypes à planter pour chaque zone agroécologique afin de réaliser une complémentarité inter-régionale au lieu d'une concurrence vis-à-vis de la commercialisation du cactus *Opuntia*.

Une partie des travaux, à savoir : l'étude des comportement phénologique, la caractérisation physicochimique du jus de fruit et de la raquette, l'étude morpho-anatomique et l'évaluation de l'activité biologique des phytostérols issues de cactus et de l'huile d'argan ont fait l'objet de trois publications dans des journaux internationaux (indexés et impactés).

En perspective, nous envisageons de séquencer les ADN des différentes espèces identifiées, afin d'obtenir des profils génotypiques propres à chacun et qui pourraient être stockés dans la banque de gène à l'INRA. D'identifier des biomarqueurs spécifiques grâce à la possibilité de désigner des amorces spécifiques pour les différents génotypes de cactus. Il serait intéressant de tester aussi les extraits des composés phénoliques à partir des fleurs issues de quatre variétés appartenant aux deux espèces de cactus *Opuntia ficus indica* et *Opuntia megacantah slam dyck*. Nous avons décrit sept espèces identifiées dans huit régions du Maroc, dont deux identifiées pour la première fois, notamment, *Opuntia leucotricha*, *Opuntia Inermis*, ainsi *Opuntia ficus indica*, *Opuntia megacantah slam dyck*, *Opuntia Dillenni*, *Opuntia Robusta Wend land*, *Opuntia Aequatorialis Briton et Rose*. Obtenir des extraits de ces différentes espèces identifiées à l'échelle nationale permettrait d'analyser et comparer leurs compositions. Par la suite, continuer d'évaluer les effets préventifs de molécules issues de différentes espèces. Evaluer par exemple les effets protecteurs de ceratins extraits ou molécules sur les cellules de fibroblaste des patients atteint d'une déficience peroxysomale au niveau de la bêta-oxydation des acides gras respectivement au niveau peroxysomale et au niveau mitochondriale, ainsi que sur le fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale. En parallèle, nous souhaiterions identifier de nouvelles molécules telles que des polyphénols provenant de différentes parties de la plante d'espèces étudiées grâce aux dosages par GC-SM et par HPLC-SM. D'autres molécules comme le spinastérol et le schotténol méritent que l'on approfondisse les études sur leurs effets dans le cadre des maladies neurodégénératives et comprendre leur mode d'action en particulier sur l'activation des récepteurs nucléaires LXR α et LXR β .

VI. Références bibliographiques

A

- Abd El-Razek, F.H., Hassan, A.A. 2011. Nutritional Value and Hypoglycemic Effect of Prickly Cactus Pear (*Opuntia Ficus-Indica*) Fruit Juice in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 5: 356-377.
- Abdel-Hameed, E.S., Nagaty, M.A., Salman, M.S., Bazaid, S.A. 2014. Phytochemicals, nutritionals and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus indica* Mill.) growing in Taif, KSA. *Food Chem.* 160: 31–38.
- Abidi, S.; Ben Salem, H.; Vasta, V.; Priolo, A. 2009. Supplementation with barley or spineless cactus (*Opuntia ficus indica* f. *inermis*) cladodes on digestion, growth and intramuscular fatty acid composition in sheep and goats receiving oaten hay. *Small Rumin. Res.* 87: 9–16.
- Abildayeva, K., Jansen, P.J., Hirsch-Reinshagen, V., Bloks, V.W., Bakker, A.H., Ramaekers, F.C., de Vente, J., Groen, A.K., Wellington, C.L., Kuipers, F., Mulder, M. 2006. 24(S)-hydroxycholesterol participates in a liver X receptor-controlled pathway in astrocytes that regulates apolipoprotein E-mediated cholesterol efflux. *J. Biol. Chem.* 281 : 12799–12808.
- Actes du Premier Congrès International de l'Arganier, Agadir 15 - 17 Décembre 2011.
- Adrie C, Bachelet M, Vayssier-Taussat M, Russo-Marie F, Bouchaert I, Adib-Conquy M, et al. 2001. Mitochondrial membrane potential and apoptosis peripheral blood monocytes in severe human sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 164: 389–95.
- Afia L., Salghi R., Bammou L., Bazzi El., Hammouti B., Bazzi L., Bouyanzer A. 2014. Anti-corrosive properties of Argan oil on C38 steel in molar HCl solution *Journal of Saudi Chemical Society.* 18: 19–25.
- Ahmad, A.; Davies, J.; Randall, S.; Skinner, G.R.B. 1996. Antiviral properties of extract of *Opuntia streptacantha*. *Antivir. Res.* 30: 75–85.
- Ahmed, M.S.; Tanbouly, N.D.E.; Islam, W.T.; Sleem, A.A.; Senousy, A.S.E. 2005. Antiinflammatory flavonoids from *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl) Haw. flowers growing in Egypt. *Phytother. Res.* 19: 807–809.
- Aisen, P.S., 2002. The potential of anti-inflammatory drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 1: 279–284.
- Andrade-Montemayor, H.M., Cordova-Torres, A.V., García-Gasca, T., Kawas, J.R. 2011. Alternative foods for small ruminants in semiarid zones, the case of Mesquite (*Prosopis laevigata* spp.) and Nopal (*Opuntia* spp.). *Small Rumin. Res.* 98: 83–92.

- Alauddin, M., Quiggin, J. 2008. Agricultural intensification, irrigation and the environment in South Asia: Issues and policy options. *Ecol. Econ.* 65: 111–124
- Alarcon-Aguilar, F.J.; Valdes-Arzate, A.; Xolalpa-Molina, S.; Banderas-Dorantes, T.; Jimenez-Estrada, M.; Hernandez-Galicia, E.; Roman-Ramos, R. 2003. Hypoglycemic activity of two polysaccharides isolated from *Opuntia ficus-indica* and *O. streptacantha*. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 46: 139–142.
- Alberghina, O. 1984. La configurazione tecnico-culturale della fichidindicoltura siciliana. *Inform. Agr.* 40, 37–44.
- Allegra, M.; Ianaro, A.; Tersigni, M.; Panza, E.; Tesoriere, L.; Livrea, M.A. 2014. Indicaxanthin from cactus pear fruit exerts anti-inflammatory effects in carrageenin-induced rat pleurisy. *J. Nutr.* 144, 185–192.
- Allegra, M.; Furtmuller, P.G.; Jantschko, W.; Zederbauer, M.; Tesoriere, L.; Livrea, M.A.; Obinger, C. 2005. Mechanism of interaction of betanin and indicaxanthin with human myeloperoxidase and hypochlorous acid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 332: 837–844.
- Ali Berraaouan, Ziyat Abderrahim, Mekhfi Hassane, Legssyer Abdelkhaleq, Aziz Mohammed, Bnouham Mohamed. 2015. Evaluation of protective effect of cactus pear seed oil (*Opuntia ficus-indica* L. MILL.) against alloxan-induced diabetes in mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.* 8(7): 532–537.
- Alimi, H.; Hfaiedh, N.; Bouoni, Z.; Hfaiedh, M.; Sakly, M.; Zourgui, L.; Rhouma, K.B. 2010. Antioxidant and antiulcerogenic activities of *Opuntia ficus indica* f. *inermis* root extract in rats. *Phytomedicine.* 17: 1120–1126.
- Ammar, I.; Ennouri, M.; Khemakhem, B.; Yangui, T.; Attia, H. 2012. Variation in chemical composition and biological activities of two species of *Opuntia* flowers at four stages of flowering. *Ind. Crop. Prod.* 37: 34–40.
- Amira Zarrouk, Anne Vejux, John Mackrill, Yvonne O’Callaghanb, Mohamed Hammamic, Nora O’Brien, Gérard Lizard. 2014. Involvement of oxysterols in age-related diseases and ageing processes. *Ageing Research Reviews.*
- Andersen, J.R., Lübberstedt, T. 2003. Functional markers in plants. *Trends Plant Sci.* 8: 554-560.
- Arba, M. 2009. Le cactus *Opuntia*, une espèce fruitière et fourragère pour une agriculture durable au Maroc. Symposium international agriculture durable en région méditerranéenne (AGDUMED). Rabat, Maroc, 215-223.
- Araba M. 2000. Les *Opuntias* à fruits comestibles dans certaines régions du Maroc. Actes IIème journée National. Culture de cactus. El kelaa des Sraghna. Maroc. Page 8.

- Aringer L., Eneroth P., Nordstrom L. 1976. Side chain hydroxylation of cholesterol, campesterol and beta-sitosterol in rat liver mitochondria, *J. Lipid Res.* 17: 263–272.
- Arterburn Lm, Hall Eb, Oken H. 2006. Distribution, Interconversion, And Dose Response Of N-3 Fatty Acids In Humans. *Am J Clin Nutr.* 83:1467s-1476s.
- Askar, A. & El-Samahy, S.K. 1981. Chemical composition of prickly pear fruits. *Deutsche Lebensm.-Rund* 77:279–281.
- Astier C. et al. 2010. Anaphylaxis to argan oil. *Allergy.* 65: 662–663.
- Astarita G., Jung K.M., Berchtold N.C., Nguyen V.Q., Gillen D.L., Head E., Cotman C.W., Piomelli D. 2010. Deficient liver biosynthesis of docosahexaenoic acid correlates with cognitive impairment in Alzheimer's disease, *PLoS One* 5 (9) e12538.
- Ayadi, M.A., Abdelmaksoud, W., Ennouri, M. and Attiaet, H. 2009. Cladodes from *Opuntia ficus indica* as a source of dietary fiber: Effect on dough characteristics and cake making. *Industrial Crops and Products*, 30: 40-47.
- Ayorinde, F.O.; Garvin, K.; Saeed, K. 2000. Determination of the fatty acid composition of saponified vegetable oils using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 14: 608–615.

B

- Baarine M., Ragot K., Athias A., Nury T., Kattan Z., Genin E.C., Andreoletti P., Ménétrier F., Riedinger J.M., Bardou M., Lizard G. 2012. Incidence of *Abcd1* level on the induction of cell death and organelle dysfunctions triggered by very long chain fatty acids and TNF- α on oligodendrocytes and astrocytes, *Neurotoxicology.* 33: 212-228.
- Bhat, Aashiq Hussain., Dar, Khalid Bashir., Anees., Suhail, Zargar., Mohammad Afzal., Masood, Akbar., Sofi, Manzoor Ahmad., Ganie, Showkat Ahmad. 2015. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and neurodegenerative diseases; a mechanistic insight. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 74: 101–110.
- Balibrea, M.E., Martinez-Andujar, C., Cuartero, J., Bolarin, M.C., Perez-Alfocea, F. 2006. The high fruit soluble sugar content in wild *Lycopersicon* species and their hybrids with cultivars depends on sucrose import during ripening rather than on sucrose metabolism. *Funct. Plant Biol.* 33: 279–288.
- Bascetta Emanuele, D. Gunstone Frank, C. Walton John. 1983. Electron spin resonance study of the role of vitamin E and vitamin C in the inhibition of fatty acid oxidation in a model membrane. *Chemistry and Physics of Lipids.* Volume 33, Issue 2, August, 207-210.
- Batanouny, K. 2011. *Argania spinosa* (L.) Skeels. accessed on 10-10-2011.

- Baumgart, E., H.D. Fahimi, A. Stich, and A. Volkl. 1996. L-lactate dehydrogenase A4- and A3B isoforms are bona fide peroxisomal enzymes in rat liver. Evidence for involvement in intraperoxisomal NADH reoxidation. *The Journal of biological chemistry*. 271:3846-3855.
- Beltrán, B., Quintero, M., García-Zaragozá, E., O'Connor, E., Esplugues, J.V., Moncada, S. 2002. Inhibition of mitochondrial respiration by endogenous nitric oxide: a critical step in Fas signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 8892–8897.
- Bendhifi, M., Baraket, G., Zourgui, L., Soud, S., Salhi-Hannachi, A. 2013. Assessment of genetic diversity of Tunisian Barbary fig (*Opuntia ficus indica*) cultivars by RAPD markers and morphological traits. *Sci. Hortic*. 158, 1–7.
- Bennani H et al. 2007. Antiproliferative effect of polyphenols and sterols of virgin argan oil on human prostate cancer cell lines. *Cancer Detect Prev*. 31: 64–69.
- Bensadón, S.; Hervert-Hernández, D.; Sáyago-Ayerdi, S.G.; Goñi, I. 2010. By-Products of *Opuntia ficus-indica* as a Source of Antioxidant Dietary Fiber. *Plant Food Hum. Nutr*. 65, 210–216.
- Ben Salem, H., Nefzaoui, A. 2003. Feed blocks as alternative supplements for sheep and goats. *Small Ruminant Research*. 49: 275-288.
- Benzaria A. et al. 2006. Effect of dietary argan oil on fatty acid composition, proliferation, and phospholipase D activity of rat thymocytes. *Nutrition*. 22: 628–637.
- Berger, A., Jones, P.J.H., Abumweis, S.S. 2004. Plant sterols: factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients. *Lipids Health Dis*. 3, 5–24.
- Bernard, G., Vanderver, A. 1993. Pol III-Related Leukodystrophies, in: R.A. Pagon, M.P. Adam, T.D. Bird, C.R. Dolan, C.T. Fong, K. Stephens (Eds.), *Gene Reviews*, (Seattle (WA)).
- Berrougui H., Ettaib A., Herrera Gonzalez M.D., Alvarez de Sotomayor M., Bennani-Kabchi N., Hmamouchi M. 2003. Hypolipidemic and hypocholesterolemic effect of argan oil (*Argania spinosa* L.) in *Meriones shawi* rats, *J. Ethnopharmacol*. 89; 15–18.
- Berezin, O.Y., Tur'yan, Y.I., Kuselman, I., Shenhar, A. 1995. Alternative Methods for Titratable Acidity Determination. *Talanta*, 42, 507-517.
- Berge KE, Tian H, Graf GA, Yu L, Grishin NV, Schultz J, Kwiterovich P, Shan B, Barnes R, Hobbs HH. 2000. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science* 290:1771–1775.

- Berrougui Hicham, Martin Cloutier, Maxim Isabelle, Abdelouahed Khalil. 2006. Phenolic-extract from argan oil (*Argania spinosa* L.) inhibits human low-density lipoprotein (LDL) oxidation and enhances cholesterol efflux from human THP-1 macrophages. *Atherosclerosis*, 184: 389-396.
- Bjorkhem, I., Andersson, O., Diczfalusy, U., Sevastik, B., Yiu, R.J., Duan, C.G., Lund, E. 1994. Atherosclerosis and sterol 27-hydroxylase. Evidence for a role of this enzyme in elimination of cholesterol from human macrophage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:8592–8596.
- Biasi F, Astegiano M, Maina M, Leonarduzzi G, Poli G. 2011. Polyphenol supplementation as a complementary medicinal approach to treating inflammatory bowel disease. *Curr Med Chem*;18:4851–65.
- Bidigare, R.R. 1991. Analysis of algae chlorophylls and carotenoids, in: Hurd, D. C., Spencer, D. W. (Eds), *Marine Particles: Analysis and Characterization*. Am Geophysical Union, Washington, 119-123.
- Block, M.L., Hong, J.-S. 2005. Microglia and inflammation-mediated neurodegeneration: multiple triggers with a common mechanism. *Prog. Neurobiol.* 76, 77–98.
- Boesze-Battaglia, K., Schimmel, R.J. 1999. Cell membrane lipid composition and distribution implications for cell function and lessons learned from photoreceptors and platelets. *J. Exp. Biol.* 200, 2927–2936.
- Bo Li. 2009. Chaîne respiratoire et pore de transition de perméabilité mitochondriale dans la cardioprotection. *Life Sciences*. Université Claude Bernard - Lyon I, French.
- Boskou George', N. Salta Fotini, Chrysostomou Stavroula, Mylona Anastasia, Chiou Antonia, K. Andrikopoulos Nikolaos. 2006. Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market *Food Chemistry*. 94 (4) 558–564.
- Bottelbergs A, Verheijden S, Hulshagen L, Gutmann DH, Goebbels S, Nave KA, Kassmann C, Baes M. 2010. Axonal integrity in the absence of functional peroxisomes from projection neurons and astrocytes. *Glia*. 58(13): 1532-1543.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., Davis, R.W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Gen.* 32, 314–331.
- Boujghagh Mohamed. INRA-Edition 2011. Atlas du cactus (*Opuntia spp.*) de différentes origines géographiques marocaines.
- Boukhobza M, Pichon-Prum N. 1988. L'arganier, ressource économique et médicinale pour le Maroc. *Phytothérapie* ; 27 : 21-6.
- Bouic P. J-D. et J.H. Lamprecht. 1999. Plant sterols and sterolins : a review of their immune-modulating properties - *Altern. Med. Rev.*, 4(3) : 170-177.

- Brake, M., Migdadi, H., Al-Gharaibeh, M., Ayoub, S., Haddad, N., El Oqlah, A. 2014. Characterization of Jordanian olive cultivars (*Olea europaea* L.) using RAPD and ISSR molecular markers. *Sci. Hortic.* 176, 282-289.
- Bretting, P.K., Widrechner, M.P. 1995. Genetic markers and horticultural germplasm management. *Hortic. Sci.* 30,1349-1356.
- Brown, G.C., Neher, J.J. 2010. Inflammatory neurodegeneration and mechanisms of microglial killing of neurons. *Mol. Neurobiol.* 41, 242–247.
- Brutsch M.O. & Zimmermann H.G. 1993. The prickly pear *Opuntia ficus indica* (Cactaceae) in South Africa: utilization of the natural weed, and of the cultivated plants. *Ethon.Bot.* 47(2): 154-162.
- Brutsch, M. 1997. The beles or cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) in Tigray, Ethiopia. *J. Profess. Assoc. Cactus.* 2: 130–141.
- Butterweck, V.; Semlin, L.; Feistel, B.; Pischel, I.; Bauer, K.; Verspohl, E.J. 2011. Comparative evaluation of two different *Opuntia ficus-indica* extracts for blood sugar lowering effects in rats. *Phytother. Res.* 25, 370–375.
- Burg VK, Grimm HS, Rothhaar TL, et al. 2013. Plant sterols the better cholesterol in Alzheimer's disease? A mechanistical study. *J Neurosci*;33:16072–87.
- Burton G. W., Ingold K. U. 1986. Vitamin E: application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. *Acc. Chem. Res.* 19 (7), 194–201.
- Butovsky O, Siddiqui S, Gabriely G, Lanser AJ, Dake B, Murugaiyan G, Doykan CE, Wu PM, Gali RR, Iyer LK, et al. 2012. Modulating inflammatory monocytes with a unique microRNA gene signature ameliorates murine ALS. *J Clin Invest* 122: 3063–3087.
- Byers, T., Perry, G. 1992. Dietary carotenes, vitamin C, and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Annu. Rev. Nutr.* 12, 139-159.

C

- Cámara, M.M., Diez, C., Torija, M.E., Cano, M.P. 1994. HPLC determination of organic acids in pineapple juices and nectars. *Z Lebensm Unters Forsch* 198, 52-56.
- Cardador-Martínez, A., Jiménez-Martínez, C., & Sandoval, G. 2011. Revalorization of cactus pear (*Opuntia* spp.) wastes as a source of antioxidants. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31, 782–788.
- Carl, G., Doktor, D., Koslowsky, D. and Kühn, I. 2013. Phase difference analysis of temperature and vegetation phenology for beech forest: a wavelet approach. *Stochastic Environmental Research and Risk Assessment*, 27, 1221-1230.

- Caruso, M., Curro, S., Las Casas, G., La Malfa, S., Gentile, A. 2010. Microsatellite markers help to assess genetic diversity among *Opuntia ficus indica* cultivated genotypes and their relation with related species. *Plant Syst. Evol.* 290, 85–97.
- Castillo, S.L.; Heredia, N.; Contreras, J.F.; García, S. 2011. Extracts of edible and medicinal plants in inhibition of growth, adherence, and cytotoxin production of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J. Food Sci.* 76, M421–M426.
- Cayuela, J.A.; Rada, M.; del Carmen Pérez-Camino, M.; Benaissa, M.; Abdelaziz, E.; Guinda, Á. 2008. Characterization of artisanally and semiautomatically extracted argan oils from Morocco. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110, 1159–1166.
- Castellanos-Santiago, E.; Yahia, E.M. 2008. Identification and Quantification of Betalains from the Fruits of 10 Mexican Prickly Pear Cultivars by High-Performance Liquid Chromatography and Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 56, 5758–5764.
- Chang-Hee Kang , Rajapaksha Gendara Prasad Tharanga Jayasooriya , Matharage Gayani Dilshara , Yung Hyun Choi , Yong-Kee Jeong , Nam Deuk Kim , Gi-Young Kim. 2012. Caffeine suppresses lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglial cells by suppressing Akt-mediated NF- κ B activation and ERK phosphorylation. *Food and Chemical Toxicology* 50 ; 4270–4276.
- Chahboun J. 1993. La filière triterpénique dans les lipides des feuilles d'*Argania spinosa*. Thèse d'Université ; Univ de Perpignan. France.
- Chapman, B., Mondragón-Jacobo, C., Bunch, R.A., Paterson, H. 2002. Breeding and Biotechnology. In: Nobel, P.S. (Ed.), *Cacti: Biology and Uses*. University of California Press, California, USA. pp 255-271.
- Charcosset, A., Moreau, L. 2004. Use of molecular markers for the development of new cultivars and the evaluation of genetic diversity. *Euphytica.* 137, 81–94.
- Charrouf Z, Guillaume D. 2007. Huile d'argan une production devenue adulte. *Les Technologies de Laboratoire* (6) 4-7. Charouf, Z.; Guillaume, D. Phenols and Polyphenols from *Argania spinosa*. *Am. J. Food Technol.* 2007, 2, 679–683.
- Charrouf Z, Guillaume D. 2010. Should the amazigh diet (regular and moderate argan-oil consumption) have a beneficial impact on human health? *Crit Rev Food Sci Nutr*;50:473-7.
- Chang JY, Phelan KD, Chavis JA. 1998. Neurotoxicity of 25-OH-cholesterol on sympathetic neurons. *Brain Res Bull*; 45:615-22a.

- Chang JY, Phelan KD, Liu LZ. 1998. Neurotoxicity of 25-OH-cholesterol on NGF-differentiated PC12 cells. *Neurochem Res*;23:7-16b.
- Chang JY, Liu LZ. 1998. Neurotoxicity of cholesterol oxides on cultured cerebellar granule cells. *Neurochem Int*;32:317-23c.
- Charbonnier, A. 1982. Main conclusion dawn from the International Symposium on the recent medical researches on the value of the olive oil to health (1–4) Paris, 17 November.
- Chen J.Q., Yager J.D. 2005. Russo J. Regulation of mitochondrial respiratory chain structure and function by estrogens/estrogen receptors and potential physiological/pathophysiological implications, *Biochim. Biophys. Acta* 1746 (1) 1–17.
- Chen, J.H.; Yang ,C.H.; Wang,Y.S.; Lee, J.G.; Cheng, C.H.; Chou, C.C. 2013. Acrylamide-induced mitochondria collapse and apoptosis in human astrocytoma cells. *Food Chem.Toxicol.* 51:446–452.
- Chen, L. B. 1988. Mitochondrial membrane potential in living cells. *Annu Rev Cell Biol* 4:155-181.
- Cherki M., Derouiche A., Drissi A., El Messal M., Bamou Y., Idrissi-Ouadghiri A., Khalil A., Adlouni A. 2005. Consumption of argan oil may have an antiatherogenic effect by improving paraoxonase activities and antioxidant status: intervention study in healthy men, *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 15; 352–360.
- Cherki M. et al. 2006. Argan oil: which benefits on cardiovascular diseases? *Pharmacol Res*; 54: 1–5.
- Chimi H, Rahmani M, Cillard J, Cillard P. 1988. Études de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges et d'argan du Maroc. *Actes Inst Agron Vet (Maroc)*; 8 : 17-21.
- Choi, Y., Lee, M.K., Lim, S.Y., Sung, S.H., Kim, Y.C. 2009. Inhibition of inducible NO synthase, cyclooxygenase-2 and interleukin-1b by torilin is mediated by mitogen-activated protein kinases in microglial BV2 cells. *Br. J. Pharmacol.* 156, 933–940.
- Chougui, N.; Tamendjari, A.; Hamidj, W.; Hallal, S.; Barras, A.; Richard, T.; Larbat, R. 2013. Oil composition and characterisation of phenolic compounds of *Opuntia ficus-indica* seeds. *Food Chem.*, 139, 796–803.
- Chriyaa A. 1998. Techniques culturales du cactus et son utilisation dans l'alimentation des ovins en zones arides. Compte rendu et recommandations de la journée nationale sur la culture du cactus. Direction provinciale d'agriculture. El kelaa des Sraghna, Maroc.
- Clark, W.D.; Brown, G.K.; Mays, R.L. Flower flavonoids of *Opuntia* subgenus *Cylindropuntia*. *Phytochemistry* 1980, 19, 2042–2043.
- Clement, Y. 2009. Can green tea do that? A literature review of the clinical evidence. *Prev Med.* 49, 83-87.

COI/T.20/Doc. n° 24 « Préparation des esters méthyliques d'acides gras de l'huile d'olive et de l'huile de grignons d'olive ».

COI/T.20/Doc. n° 10/Rév. 1, « Détermination de la composition et du contenu en stérols par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire ».

COI/T.20/Doc. n° 20/Rév. 3, « Détermination de la différence entre la teneur réelle et la teneur théorique en triglycérides à ECN 42 ».

COI/T.20/Doc. n° 19/Rév. 2, « Analyse spectrophotométrique dans l'ultraviolet » ou ISO 3656 ou AOCS CH 5-91.

Contreras-Padilla, M.; Pérez-Torrero, E.; Hernández-Urbiola, M.I.; Hernández-Quevedo, G.; del Real, A.; Rivera-Muñoz, E.M.; Rodríguez-García, M.E. Evaluation of oxalates and calcium in nopal pads (*Opuntia ficus-indica* var. *redonda*) at different maturity stages. *J. Food Compos. Anal.* 2011, 24, 38–43.

Coria Cayupán, Y.S., Ochoa, M.J., Nazareno, M.A. 2011. Health-promoting substances and antioxidant properties of *Opuntia* sp. fruits. Changes in bioactive-compound contents during ripening process. *Food Chem.* 126, 514–519.

Costa, R.G., Treviño, I.H., de Medeiros, G.R., Medeiros, A.N., Pinto T.F., de Oliveira, R.L. 2012. Effects of replacing corn with cactus pear (*Opuntia ficus indica* Mill) on the performance of Santa Inês lambs. *Small Rumin. Res.* 102, 13– 17.

Covas MI, Gambert P, Fito´ M, De la Torre R. 2010. Wine and oxidative stress: up-to-date evidence of the effects of moderate wine consumption on oxidative damage in humans. *Atherosclerosis.* 208:297–304.

Crow, Y.C., Chase, D. 2015. Characterization of Human Disease Phenotypes Associated With Mutations in TREX1, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C, SAMHD1, ADAR and IFIH1. (In press).

Crupi R, Marino A, Cuzzocrea S. 2013. N-3 fatty acids: role in neurogenesis and neuroplasticity. *Curr. Med. Chem.* 20:2953–63.

D

Dal-Ros S, Zoll J, Lang AL, Auger C, Keller N, Bronner C, et al. 2011. Chronic intake of red wine polyphenols by young rats prevents aging-induced endothelial dysfunction and decline in physical performance: role of NADPH oxidase. *Biochem Biophys Res Commun.* 404:743–9.

Dasari, B., Prasanthi, J.R., Marwarha, G., Singh, B.B., Ghribi, O. 2010. The oxysterol 27-hydroxycholesterol increases beta-amyloid and oxidative stress in retinal pigment epithelial cells. *BMC Ophthalmol.* 10, 22.

- Deldicque, L.; van Proeyen, K.; Ramaekers, M.; Pischel, I.; Sievers, H.; Hespel, P. 2013. Additive insulinogenic action of *Opuntia ficus-indica* cladode and fruit skin extract and leucine after exercise in healthy males. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* 10, 45.
- De Leo, M.; Abreu, M.B.D.; Pawlowska, A.M.; Cioni, P.L.; Braca, A. 2010. Profiling the chemical content of *Opuntia ficus-indica* flowers by HPLC–PDA-ESI-MS and GC/EIMS analyses. *Phytochem. Lett.* 3, 48–52.
- Del Rio D, Costa L, Lean M, Crozier A. 2010. Polyphenols and health: What compounds are involved? *Nutr. Metabol. Cardiovasc. Dis.* 20,1-6.
- Del Rio LA. 2011. Peroxisomes as a cellular source of reactive nitrogen species signal molecules, *Arch. Biochem. Biophys.* 506, 1-11.
- De Jong, A., Plat, J., Mensink, R.P. 2003. Metabolic effect of plant sterols and stanols. *J. Nutr. Biochem.* 14, 362–369 (Review).
- Demey, J.R., Zambrano, A.Y., Fuenmayor, F., Segovia, V. 2003. Relación entre caracterizaciones molecular y morfológica en una colección de yuca. *Interciencia.*28, 684–689.
- Demopoulos, H.B., Flamm, E.S., Seligman, M.L., Pietronigro, D.D., Tomasula, J., Decrescito, J. 1982. Further studies on free-radical pathology in the major central nervous system disorders: Effect of very high doses of methylprednisolone on the functional outcome, morphology, and chemistry of experimental spinal cord impact injury. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 60:1415–1424.
- Dereje, M., Udén, P. 2005. The browsing dromedary camel I. Behaviour, plant preference and quality of forage selected. *Anim. Feed Sci. Technol.* 121, 297–308.
- De Ritter, E., Purcell, A.E. 1981. Carotenoid analytical methods, in: Bauernfeind, J.C. (Ed.), *Carotenoids as colorants and Vitamin A precursors*. Academic Press, New York. 815-923.
- Derouiche A., Cherki M., Drissi A., Bamou Y., El Messal M., Idrissi-Oudghiri A., Lecerf J.M., Adlouni A. 2005. Nutritional intervention study with argan oil in man: effects on lipids and apolipoproteins, *Ann. Nutr. Metab.* 49, 196–201.
- Diczfalusy, U. 2013. On the formation and possible biological role of 25-hydroxycholesterol. *Biochimie* 95, 455–460.
- Diederichsen, A. 2008. Assessments of genetic diversity within a world collection of cultivated hexaploid oat (*Avena sativa* L.) based on qualitative morphological characters. *Genet. Resour. Crop. Evol.*55, 419-440.
- Dobrev , H. 2007. Clinical and instrumental study of the efficacy of a new sebum control cream. *J Cosmet Dermatol*;6:113-118.

- Dok-Go, H.; Lee, K.H.; Kim, H.J.; Lee, E.H.; Lee, J.; Song, Y.S.; Lee, Y.-H.; Jin, C.; Lee, Y.S.; Cho, J. 2003. Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin, (+)-dihydroquercetin and quercetin 3-Methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Brain Res.* 965,130–136.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus.* 12, 13-15.
- Drissi A., Girona J., Cherki M., Godas G., Derouiche A., El Messal M., Saile R., Kettani A., Sola R., Masana L., Adlouni A. 2004. Evidence of hypolipemiant and antioxidant properties of argan oil derived from the argan tree (*Argania spinosa*), *Clin. Nutr.* 23, 1159–1166.
- Drissi, A., Bennani, H., Giton, F., Charrouf, Z., Fiet, J., & Adlouni, A. 2006. Tocopherols and saponins derived from *Argania spinosa* exert an antiproliferative effect on human prostate cancer. *Cancer Investigation*, 24, 588–592.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28, 350–356.

E

- El Babili, F., Bouajila, J., Fouraste, I., Valentin, A., Mauret, S., & Moulis, C. 2010. Chemical study, antimalarial and antioxidant activities, and cytotoxicity to human breast cancer cells (MCF7) of *Argania spinosa*. *Phytomedicine*, 17, 157–160.
- El Finti, A., Belyadi, M., El Boullani, R, Msanda, F., Serghini, M.A., El Mousadik, A. 2013. Genetic structure of cactus pear (*Opuntia ficus indica*) in Moroccan collection. *Asian J. Plant Sci.* 12,145-148.
- El Kabouss Adil. 2002: Contribution à la valorisation de l'huile d'argan et étude phytochimique et activité antimicrobienne des métabolites secondaires des feuilles de l'arganier : *Argania spinosa* (L.) Skeels Sapotaceae. Thèse de Doctorat National, Faculté des Sciences, Université Mohammed V-Agdal.
- El Kebbaj Riad. 2012. Base moléculaire des effets de l'huile d'Argan sur le métabolisme mitochondrial et peroxysomal des acides gras et sur l'inflammation. Thèse.
- El Kebbaj R., El Kamouni S., El Hajj H.I., Andreoletti P., Gresti J., Latruffe N., El Kebbaj M.S., Vamecq J., Lizard G., Nasser B., Cherkaoui-Malki M. 2013. Modulation of peroxisomes abundance by argan oil and lipopolysaccharides in acyl-CoA oxidase 1-deficient fibroblasts, *Health* 5, 62–69.
- El Kebbaj Riad, Andreoletti Pierre, El Hajj Hammam I., El Kharrassi Youssef, Vamecq Joseph, Mandard Stéphane, Saih Fatima-Ezzahra, Latruffe Norbert, El Kebbaj M'Hammed Saïd, Lizard Gérard, Nasser Boubker and Cherkaoui-Malki Mustapha. 2016. Argan oil prevents down-regulation induced by endotoxin on liver fatty acid oxidation and gluconeogenesis and on Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma

Coactivator-1 α , (PGC-1 α), Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α (PPAR α and Estrogen Related Receptor α (ERR α). *Biochimie Open* (Article in Press).

- El Kharrassi, Y., Mohammad Samadi., Tatiana Lopez, Riad El Kebbaj., Pierre Andreoletti., Hammam I. El Hajj., Joseph Vamecq., Khadija Moustaid., Norbert Latruffe., M'Hammed Saïd El Kebbaj., David Masson., Gérard Lizard., Boubker Nasser and Mustapha Cherkaoui-Malki. 2014. Biological activities of Schottenol and Spinasterol, two natural phytosterols present in argan oil and in cactus pear seed oil. *Biochemical and Biophysical Research Communication*. 446 (3) 798–804.
- El Kharrassi Y, Mazri M.A, Mabrouk A, Nasser B and EL Mzouri E. 2015. Flowering and fruiting phenology, and physicochemical characteristics of young plantations of seven *Opuntia* species from different regions of Morocco. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. 90 (6).
- El Kharrassi Y, Mazri M.A, Benyahia H., Benaouda H., Nasser B and EL Mzouri E. 2016. Fruit and juice characteristics of two cactus pear species (*Opuntia ficus indica* and *O. megacantha*) from different regions of Morocco. *LWT - Food Science and Technology* 65, 610-617.
- El Kossori, R.L., Villaume, C., El Boustani, E., Sauvaire, Y., Méjean L. 1998. Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus indicasp.*) *Plant Food Hum. Nutr.* 52, 263–270.
- El Kossori, R.L.; Villaume, C.; El Boustani, E.; Sauvaire, Y.; Méjean, L. Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus indica sp.*). *Plant Food Hum. Nutr.* 1998, 52, 263–270.
- Elhoumaizi, M.A., Saaidi, M, Oihabi, A., Cilas, C. 2002. Phenotypic diversity of date-palm cultivars (*Phoenix dactylifera L.*) from Morocco. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 49,483-490.
- El Monfalouti, H., Guillaume, D., Denhez, C., and Charrouf, Z. 2010. Therapeutic potential of argan oil: a review. *J Pharm Pharmacol.* 62: 1669-1675.
- Ennouri, M.; Evelyne, B.; Laurence, M.; Hamadi, A. 2005. Fatty acid composition and rheological behaviour of prickly pear seed oils. *Food Chem.* 93, 431–437.
- El Mannoubi, S. Barrek, T. Skanji, H. Zarrouk. 2008. Étude de la composition de la fraction volatile des graines du figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Journal de la société chimique de Tunisie.* 10, 61-67.
- El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbaj, M.S., Latruffe, N., Lizard, G., Nasser, B., Cherkaoui-Malki, M. 2014. Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules.* 19, 14879-14901.

- Ennouri, M., Fetoui, H., Bourret, E., Zeghal, N. & Attia, H. 2006. Evaluation of some biological parameters of *Opuntia ficus indica*: 1. Influence of a seed oil supplemented diet on rats. *Bioresource Technology*. 97, 1382–1386.
- Ennouri, M., Fetoui, H., Bourret, E., Zeghal, N., Guermazi, F. & Attia, H. 2006. Evaluation of some biological parameters of *Opuntia ficus indica*: 1. Influence of seed supplemented diet on rats. *Bioresource Technology*. 97, 2136–2140.
- Ennouri, M., Fetoui, H., Hammami, M., Bourret, E., Attia, H., Zeghal, N. 2007. Effects of diet supplementation with cactus pear seeds and oil on serum and liver lipid parameters in rats. *Food Chemistry* 101, 248–253.
- Ennouri, M.; Ammar, I.; Khemakhem, B.; Attia, H. 2014. Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Opuntia Ficus-Indica* F. *Inermis* (Cactus Pear) Flowers. *J. Med. Food*. 17, 908–914.
- Erre, P., Chessa, I., Nieddu, G., Jones, P.G. 2009. Diversity and spatial distribution of *Opuntia* spp. in the Mediterranean Basin. *J. Arid Environ*. 73, 1058-1066.
- Esteban-Velasco E. & Gallardo-Lara F. 1994. Nutrition and macronutrient metabolism in prickly pear cactus (*Opuntia ficus indica*). *Arid soil research and rehabilitation*. 8: 235-246.
- Eun-A Kim, A Reum Han, Jiyoung Choi, Jee-Yin Ahn, Soo Young Choi, Sung-Woo Cho. 2014. Anti-inflammatory mechanisms of N-adamantyl-4-methylthiazol-2-amine in lipopolysaccharide-stimulated BV-2 microglial cells. *International Immunopharmacology* 22, 73–83.
- Ewald H Hetteema, Ralf Erdmann, Ida van der Klei and Marten Veenhuis. 2014. Evolving models for peroxisome biogenesis. *Current Opinion in Cell Biology*. 29:25–30.<http://dx.doi.org/10.1016/j.ceb.2014.02.002>.
- Egbert Hovenkamp, Isabelle Demonty, Jogchum Plat. 2008. Biological effects of oxidized phytosterols: A review of the current knowledge. *Progress in Lipid Research* 47, 37–49.

F

- Faez M, Bchitou R, Bouhaouss A, Gharby S, Harhar H, Guillaume D, Charrouf Z. 2012. Can the dietary element content of virgin argan oils be used for adulteration detection. *Food Chemistry*, (136) 105- 108.
- Farrington, A. M., Jagota, N., & Slater, J. M. 1994. Simple solid wire microdisc electrodes for the determination of vitamin C in fruit juices.
- Fenner, M. 1998. The phenology of growth and reproduction in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 1, 78–91.

- Fiorella Biasi, Tina Guina, Marco Main, Barbara Cabboi, Monica Deiana, Carlo I. Tuberosoc, Simone Calfapietra, Elena Chiarpotto, Barbara Sottero, Paola Gamba, Simona Gargiulo, Vanessa Brunetto, Gabriella Testa, Maria A. Dessì, Giuseppe Poli, Gabriella Leonarduzzi. 2013. Phenolic compounds present in Sardinian wine extracts protect against the production of inflammatory cytokines induced by oxysterols in CaCo-2 human enterocyte-like cells. *Biochemical Pharmacology* 86, 138–145.
- Florent Ginhoux and Marco Prinz. 2015. Origin of Microglia: Current Concepts and Past Controversies. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. doi: 10.1101/cshperspect.a020537.
- Fraga CG, Galleano M, Verstraeten SV, Oteiza PI. 2010. Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. *Mol Aspects Med*; 31:435–45.
- Fransen M., Nordgren M., Wang B., Apanasets O. 2012. Role of peroxisomes in ROS/ RNS-metabolism: implications for human disease, *Biochim. Biophys. Acta*; 1822: 1363-1373.
- Feugang, J.M., Konarski, P., Zou, D., Stintzing, F.C. and Zou, C. 2006. Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Frontiers in Bioscience*, 11, 2574-2589.
- Forrest, J. and Miller-Rushing, A.J. 2010. Toward a synthetic understanding of the role of phenology in ecology and evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365, 3101–3112.
- Felker, P., del C. Rodriguez, S., Casoliba, R.M., Filippini, R., Medina, D., Zapata, R. 2005. Comparison of *Opuntia ficus indica* varieties of Mexican and Argentine origin for fruit yield and quality in Argentina. *J. Arid Environ.* 60, 405-422.
- Ferdinandusse, S., S. Denis, P.T. Clayton, A. Graham, J.E. Rees, J.T. Allen, B.N. McLean, A.Y. Brown, P. Vreken, H.R. Waterham, and R.J. Wanders. 2000. Mutations in the gene encoding peroxisomal alpha-methylacyl-CoA racemase cause adult-onset sensory motor neuropathy. *Nature genetics*. 24:188-191.
- Fernández-López, J.A.; Almela, L.; Obón, J.M.; Castellar, R. 2010. Determination of Antioxidant Constituents in Cactus Pear Fruits. *Plant Food Hum. Nutr.* 65, 253–259.
- Filip, S.; Hribar, J.; Vidrih, R. 2011. Influence of natural antioxidants on the formation of trans-fatty-acid isomers during heat treatment of sunflower oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113, 224–230.
- Feugang, J.M.; Konarski, P.; Zou, D.; Stintzing, F.C.; Zou, C. 2006. Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Front. Biosci.* 11, 2574–2589.
- Fernández-López, J.A.; Castellar, R.; Obón, J.M.; Almela, L. 2002. Screening and mass-spectral confirmation of betalains in cactus pears. *Chromatographia*. 56, 591–595.

Fernández-López, J.A.; Giménez, P.J.; Angosto, J.M.; Moreno, J.I. 2012. A process of recovery of a natural yellow colourant from opuntia fruits. *Food Technol. Biotechnol.* 50, 246–251.

Food and Drug Administration (FDA). 1996. DHHS étude de la FDA sur l'étiquetage.

Forkink, M., Manjeri, G.R., Liemburg-Apers, D.C., Nibbeling, E., Blanchard, M., Wojtala, A., Smeitink, J.A., Wieckowski, M.R., Willems, P.H., Koopman, W.J. 2014. Mitochondrial hyperpolarization during chronic complex I inhibition is sustained by low activity of complex II, III, IV and V. *Biochim. Biophys. Acta* 1837, 1247–1256.

Fowler AJ, SheumY, Shmuth M, Kao J, Fluhr JW, Rhein L, et al. 2003. Liver C Receptor activators display anti-inflammatory activity in irritant and allergic contact dermatitis models: Liver-X-Receptor-specific inhibition of inflammation and primary cytokine production. *J Invest Dermatol.* 120:246-55.

Franca Marangoni, Andrea Poli. 2010. Phytosterols and cardiovascular health. *Pharmacological Research* 61, 193–199.

Frati Munari A.C., Vera Lastra O., Ariza Andraca C.R. 1992. Evaluation of nopal capsules in diabetes mellitus, *Gac. Med. Mex.* 128, 431–436.

G

Galati, E.M.; Mondello, M.R.; Monforte, M.T.; Galluzzo, M.; Miceli, N.; Tripodo, M.M. 2003. Effect of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cladodes in the wound-healing process. *J. Prof. Assoc. Cactus Dev.* 5, 1–16.

Galati, E.M.; Mondello, M.R.; Giuffrida, D.; Dugo, G.; Miceli, N.; Pergolizzi, S.; Taviano, M.F. 2003. Chemical characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus indica* (L.) mill. Fruit juice: Antioxidant and antiulcerogenic activity. *J. Agric. Food Chem.* 51, 4903–4908.

Galati, E.M.; Mondello, M.R.; Lauriano, E.R.; Taviano, M.F.; Galluzzo, M.; Miceli, N. 2005. *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. fruit juice protects liver from carbon tetrachloride-induced injury. *Phytother. Res.* 19, 796–800.

Galea, E., Launay, N., Portero-Otin, M., Ruiz, M., Pamplona, R., Aubourg, P., Fer-rer, I., Pujol, A. 2012. Oxidative stress underlying axonal degeneration in adrenoleukodystrophy: a paradigm for multifactorial neurodegenerative diseases? *Biochim. Biophys. Acta* 1822, 1475–1488.

Gallegos-Infante, J.-A.; Rocha-Guzman, N.-E.; González-Laredo, R.-F.; Reynoso-Camacho, R.; Medina-Torres, L.; Cervantes-Cardozo, V. 2009. Effect of air flow rate on the polyphenols content and antioxidant capacity of convective dried cactus pear cladodes (*Opuntia ficus indica*). *Int. J. Food Sci. Nutr.* 60, 80–87.

Gao, H.M., Liu, B., Zhang, W., Hong, J.S. 2003. Novel anti-inflammatory therapy for Parkinson's disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 24, 395–401.

- Gardner Christopher D., Kraemer Helena C. 1995. Monounsaturated Versus Polyunsaturated Dietary Fat and Serum Lipids A Meta-analysis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 15: 1917-1927.
- Genin, E.C., F. Geillon, C. Gondcaille, A. Athias, P. Gambert, D. Trompier, and S. Savary. 2011. Substrate specificity overlap and interaction between adrenoleukodystrophy protein (ALDP/ABCD1) and adrenoleukodystrophy-related protein (ALDRP/ABCD2). *The Journal of biological chemistry*. 286:8075-8084.
- Gentile, C.; Tesoriere, L.; Allegra, M.; Livrea, M.A.; D'Alessio, P. 2004. Antioxidant betalains from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) inhibit endothelial ICAM-1 expression. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1028, 481–486.
- Genser B., Silbernagel G., De Backer G., Bruckert E., Carmena R., Chapman M.J., Deanfield J., Descamps O.S., Rietzschel E.R., Dias K.C., Marz W. 2012. Plant sterols and cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis, *Eur. Heart J.* (33) 444–451.
- Gharby S, Harhar H, El Monfalouti H, Kartah B, Aziza H., Charrouf Z. 2011. Chemical and sensory analysis of argan oil. *Les Technologies des Laboratoires*. 22, 13-23.
- Gharby, S.; Harhar, H.; Guillaume, D.; Haddad, A.; Matthäus, B.; Charrouf, Z. 2011. Oxidative stability of edible argan oil: A two-year study. *LWT-Food Sci. Technol.* 44, 1–8.
- Gharby S, Harhar H, Bouzoubaa Z, Roudani Z, Chafchaoui I, Kartah B, Charrouf Z. 2014. Effet des Polyphénols extraits des margines sur la stabilité de l'huile de tournesol (Effect of polyphenols extracts from margins on the stability of sunflower oil). *J. Mater. Environ. Sci.* 5 (2) 464-469.
- Gharby S., Harhar H., Bouzoubaa Z., Asdadi A., El Yadini. A., Charrouf Z. 2015. Chemical characterization and oxidative stability of seeds and oil of sesame grown in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. Article in Press.
- Ghazi Z., Ramdani M., Fauconnier M. L., El Mahi B., Cheikh R. 2013. Fatty acids Sterols and Vitamin E composition of seed oil of *Opuntia Ficus Indica* and *Opuntia Dillenii* from Morocco. *J. Mater. Environ. Sci.* 4 (6) 967-972.
- Ghezzi, D., Zeviani, M. 2012. Assembly factors of human mitochondrial respiratory chain complexes: physiology and pathophysiology, *Adv. Exp. Med. Biol.* 748, 65–106.
- Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., N, Hess-Pierce, B., Kader, A.A. 2002. Antioxidant Capacities, Phenolic Compounds, Carotenoids, and Vitamin C Contents of Nectarine, Peach, and Plum Cultivars from California. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4976-4982.

- Gille Andreas, T. Bodor Erik, Ahmed Kashan, and Offermanns Stefan. 2008. Nicotinic Acid: Pharmacological Effects and Mechanisms of Action. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*.48: 79-106.
- Ginestra, G.; Parker, M.L.; Bennett, R.N.; Robertson, J.; Mandalari, G.; Narbad, A.; Lo Curto, R.B.; Bisignano, G.; Faulds, C.B.; Waldron, K.W. 2009. Anatomical, Chemical, and Biochemical Characterization of Cladodes from Prickly Pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.]. *J. Agric. Food Chem.* 57, 10323–10330.
- Girzalsky W, Saffian D, Erdmann R. 2010. Peroxisomal protein translocation. *Biochim Biophys Acta.* 1803(6): 724-731.
- Glezer, I., Simard, A.R., Rivest, S. 2007. Neuroprotective role of the innate immune system by microglia. *Neuroscience* 147, 867–883.
- Godard, M.P.; Ewing, B.A.; Pischel, I.; Ziegler, A.; Benedek, B.; Feistel, B. 2010. Acute blood glucose lowering effects and long-term safety of OpunDia supplementation in pre-diabetic males and females. *J. Ethnopharmacol.* 130, 631–634.
- Gómez N E, Witte L. 2001. A simple method to extract essential oils from tissue samples by using microwave radiation. *Journal of Chemical Ecology*, 27, 2351-2359.
- Gomez-Lechon, M. J.; Rodeiro, I.; Donato, M. T.; Lahoz, A.; Garrido, G.; Delgado, R. 2008. ,Interactions of Polyphenols with the P450 System: Possible Implications on Human Therapeutics. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry.* 8 (2) 97-106(10).
- Gonzalez-Scarano F., Baltuch G. 1999. Microglia as mediators of inflammatory and degenerative diseases, *Annu. Rev. Neurosci.* 22,219–240.
- Graf GA, Li WP, Gerard RD, Gelissen I, White A, Cohen JC, Hobbs HH. 2002. Coexpression of ATP-binding cassette proteins ABCG5 and ABCG8 permits their transport to the apical surface. *J Clin Invest* 110:659–669.
- Gramajo, A.L., Zacharias, L.C., Neekhra, A., Luthra, S., Atilano, S.R., Chwa, M., Brown,D.J., Kuppermann, B.D., Kenney, M.C. 2010. Mitochondrial DNA damage inducedby 7-ketocholesterol in human retinal pigment epithelial cells in vitro. *Invest.Ophthalmol. Visual Sci.* 51, 1164–1170.
- Gregory R.A & Felker P. 1992. Crude protein and phosphorus contents of eight contrasting *Opuntia* forage clones. *Journal of arid environments.* 22(4): 323-331.
- Grigoriadou D., Androulakis A., Psomiadoub E., Tsimidou M.Z. 2007. Solid phase extraction in the analysis of squalene and tocopherols in olive oil. *Food Chemistry.* 105 (2) 675–680.

- Guevara-Figueroa, T.; Jiménez-Islas, H.; Reyes-Escogido, M.L.; Mortensen, A.G.; Laursen, B.B.; Lin, L.-W.; de León-Rodríguez, A.; Fomsgaard, I.S.; Barba de la Rosa, A.P. 2010. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *J. Food Compos. Anal.* 23, 525–532.
- Guillaume D, et Charrouf Z. 2011. Argan oil and other argan products; use in dermocosmetology. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 403-408.
- Gurrieri, S., Miceli, L., Lanza, C. M., Tomaselli, F., Bonomo, R.P., Rizzarelli, E. 2000. Chemical Characterization of Sicilian Prickly Pear (*Opuntia ficus indica*) and Perspectives for the Storage of Its Juice. *J. Agric. Food Chem.* 48, 5424-5431.
- Gurrieri, S., Miceli L., Lanza, C.M., Tomaselli, F., Bonomo, R.P. and Rizzarelli, E. 2000. Chemical characterization of sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) and perspectives for the storage of its juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5424-5431.
- Gutiérrez F. , Jiménez B. , Ruíz A. , and Albi M. A. 1999. Effect of Olive Ripeness on the Oxidative Stability of Virgin Olive Oil Extracted from the Varieties Picual and Hojiblanca and on the Different Components Involved. *J. Agric. Food Chem.* 47 (1) 121–127.
- Guyton J, Lenz M, Mathews B, Hughes H, Karsan D, Selinger E, et al. 1995. Toxicity of oxidized low density lipoproteins for vascular smooth muscle cell and partial protection by antioxidants. *Atherosclerosis.* 118:237-49.

H

- Habibi, Y., Heyraud, A., Mahrouz, M. Vignon, M. R. 2004. Structural features of pectic polysaccharides from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carb. Res.* 339, 1119-1127.
- Hachmi M'Hamed, Qarro Mohamed, Sesbou Abdessadek, Sabir Mohamed et Charif Siham. 2011. Analyse de la filière huile d'argan au niveau de la zone forestière d'Amsitten dans la région d'Essaouira. *Actes du Premier Congrès International de l'Arganier.*
- Hashim Yumi Z.H.Y. , M. Eng, Chris I.R. Gill, Hugh McGlynn, Ian R. Rowland. 2005. Components of Olive Oil and Chemoprevention of Colorectal Cancer. *Nutrition Reviews.* 63, (11) 374-386.
- Hack, H., Bleiholder, H., Buhr, L., Meier, U., Schnock-fricke, U., Weber, E. and Witzenberger, A. 1992. Einheitliche codierung der phänologischen entwicklungsstadien mono-und dikotyle pflanzen – erweiterte BBCH-Skala, *Allgemein. Nachrichtenbl. Deut Pflanzenschutz*, 44, 265–270.

- Hac-Wydro Katarzyna, Wydro Paweł, Jagoda Agnieszka, Kapusta Joanna. 2007. The study on the interaction between phytostérols and phospholipids in model membranes. *Chemistry and Physics of Lipids* 150, 22–34.
- Hager M.H., Solomon K.R., Freeman M.R. 2006. The role of cholesterol in prostate cancer, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 9, 379–385.
- Hamann, A. 2004. Flowering and fruiting phenology of a Philippine submontane rain forest: climatic factors as proximate and ultimate causes. *Journal of Ecology*, 92, 24-31.
- Hammond, R.A., Hannon, R., Freaan, S.P., Armstrong, S.J., Flower, R.J., Bryant, C.E. 1999. Endotoxin induction of nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in equine alveolar macrophages. *Am. J. Vet. Res.* 60, 426–431.
- Hadjkouider B., Hadjkouider B., Boutekrabt A. et Chaouch F.Z. le 22-25 novembre 2010. La diversité de l'opuntia dans la zone d'el mesrane (djelfa) et perspectives d'amélioration. Séminaire International en Biologie Végétale et Ecologie thème biodiversité, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mentouri Constantine, Algérie. Communication Orale.
- Harhar H, Gharby S, Kartah B, El Monfalouti H, Guillaume D, Charrouf Z. 2011. Influence of argan kernel roasting-time on virgin argan oil composition and oxidative stability. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66, 163-168.
- Harhar H., Gharby S., Kartah B., Guillaume D et Charrouf Z. 2013. .Influence de la manipulation des fruits sur la qualité de l'huile d'argan. Actes du 2ème Congrès International de l'Arganier.
- Harhar H, Gharby S, Guillaume D, Charrouf Z. 2010. Effect of argan kernel storage conditions on argan oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, (112), 915-920.
- Harhar Hicham, Said Gharby, Badr Kartah, Hanae El Monfalouti, Nadia Maata, Dominique Guillaume, et Zoubida Charrouf. 2011. Les huiles essentielles des feuilles et de la pulpe du fruit de l'arganier : composition chimique et activité microbiologique. Actes du Premier Congrès International de l'Arganier.
- Hartings, H., Berardo, N., Mazzinelli, G.F., Valoti, P., Verderio, A., Motto, M. 2008. Assessment of genetic diversity and relationships among maize (*Zea mays* L.) Italian landraces by morphological traits and AFLP profiling. *Theor. Appl. Genet.* 117, 831–842.
- Heerdt, B.G., Houston, M.A., Augenlicht, L.H. 2006. Growth properties of colonic tumor cells are a function of the intrinsic mitochondrial membrane potential. *Cancer Res.* 66, 1591–1596.
- Hernández-Urbiola, M.I., Pérez-Torrero, E. and Rodríguez-García, M.E. 2011. Chemical analysis of nutritional content of prickly pads (*Opuntia ficus indica*) at varied ages in an organic harvest. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8, 1287-1295.

- Helsen, P., Browne, R.A., Anderson, D.J., Verdyck, P., Van Dongen, S. 2009. Galápagos' Opuntia (prickly pear) cacti: extensivemorphological diversity, low genetic variability. *Biol. J. Linnean Soc.* 96, 451–461.
- Hilali M., Charrouf Z., Soulhi A.Ael, Hachimi L., Guillaume D. 2005. Influence of origin and extraction method on argan oil physico-chemical characteristics and composition, *J. Agric. Food Chem.* 53, 2081–2087.
- Hong C and Tontonoz P. 2014. Liver X receptors in lipid metabolism: opportunities for drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery.* 13,433–444.
- Huang, J.-L.; Fu, S.-T.; Jiang, Y.-Y.; Cao, Y.-B.; Guo, M.-L.; Wang, Y.; Xu, Z. 2007. Protective effects of Nicotiflorin on reducing memory dysfunction, energy metabolism failure and oxidative stress in multi-infarct dementia model rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 86, 741–748.
- Husain, R.; Srivastava, S.; Srivastava, S.P.; Seth, P.K. 1986. Effect of acrylamide on energy-linked functions in rat brain. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 37:427–432.
- Huttemann, M., I. Lee, A. Pecinova, P. Pecina, K. Przyklenk, and J. W. Doan. 2008. Regulation of oxidative phosphorylation, the mitochondrial membrane potential, and their role in human disease. *J Bioenerg Biomembr* 40 (5):445-456.

I

- Inglese, P., Barbera, G., La Mantia, T., et Portolano, S. 1995. Crop production, growth and ultimate size of cactus pear fruits following fruit thinning. *Horticultural science.* 30: 227-230.
- ISO 660, « Détermination de l'indice d'acide et de l'acidité » ou AOCS Cd 3d-63.
- ISO 3960 « Détermination de l'indice de peroxyde » ou AOCS Cd 8b-90.
- ISO 5508, « Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras » sur colonne capillaire.
- ISO 9936 « Détermination des teneurs en tocophérols et en tocotriénols – Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance ».
- Iuliano, L. 2011. Pathways of cholesterol oxidation via non-enzymatic mechanisms. *Chem. Phys. Lipids* 164, 457–468.

J

- Johnson EJ, Schaefer EJ. 2006. Potential Role of Dietary N-3 Fatty Acids In The Prevention Of Dementia And Macular Degeneration. *Am J Clin Nutr.* 83:1494s-1498s.

- Jones PJ, AbuMweis SS. 2009. Phytosterols as functional food ingredients: linkages to cardiovascular disease and cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 12:147–51.
- Jones P. JH., Ntanos F.Y., Raeini-Sarjaz M. et C.A. 1999. Vanstone – Cholesterol-lowering efficacy of a sitostanol-containing mixture with a prudent diet in hyperlipidemic men – *Am. J. Clin. Nutr.*, 69 : 1144-1150.
- Jorge, A.J.; de La Garza, T.H.; Alejandro, Z.C.; Ruth, B.C.; Noé, A.C. 2013. The optimization of phenolic compounds extraction from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) skin in a reflux system using response surface methodology. *Asian Pac. J. Trop. Biomed*. 3, 436–442.
- Jump D.B., Botolin D., Wang Y., Christian J. Xu, B., Demeure O. 2005. Fatty acid regulation of hepatic gene transcription, *J. Nutr.* 135, 2503–2506.

K

- Kaneko E., Matsuda M., Yamada Y., Tachibana Y., Shimomura I., Makishima M. 2003. Induction of intestinal ATP-binding cassette transporters by a phytosterolderived liver X receptor agonist, *J. Biol. Chem.* 278, 36091–36098.
- Kar, P., Laight, D., Shaw, K. M., Cummings, M. H. 2006. Flavonoid-rich grapeseed extracts: a new approach in high cardiovascular risk patients? *Int J Clin Pract.*, 60, 1484–1492.
- Karoui, I.J.; Wannes, W.A.; Marzouk, B. 2010. Refined corn oil aromatization by *Citrus aurantium* peel essential oil. *Ind. Crop. Prod.* 32, 202–207.
- Kaur, M.; Kaur, A.; Sharma, R. 2012. Pharmacological actions of *Opuntia ficus indica*: A Review. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2, 1.
- Kévin Hardonnière, Laurence Huc, Normand Podechard, Morgane Fernier, Xavier Tekpli, Isabelle Gallais, Odile Sergent, Dominique Lagadic-Gossmann. 2015. Benzo[a]pyrene-induced nitric oxide production acts as a survival signal targeting mitochondrial membrane potential. *Toxicology in Vitro* 29, 1597–1608.
- Khallouki, F.; Younos, C.; Soulimani, R.; Oster, T.; Charrouf, Z.; Spiegelhalter, B.; Bartsch, H.; Owen, R.W. 2003. Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects. *Eur. J. Cancer Prev.* 12, 67–75.
- Khallouki Farid, Haubner Roswitha, Ricarte Irvila, Erben Gerhard, Klika Karel, Ulrich Cornelia M., Owen Robert W. 2015. Identification of polyphenolic compounds in the flesh of Argan (Morocco) fruits. *Food Chemistry* 179, 191–198.
- Khan, N.S.; Ahmad, A.; Hadi, S.M. 2000. Anti-oxidant, pro-oxidant properties of tannic acid and its binding to DNA. *Chem. Biol. Interact.* 125, 177–189.

- Khatabi, O.; Hanine, H.; Elothmani, D.; Hasib, A. 2013. Extraction and determination of polyphenols and betalain pigments in the Moroccan Prickly pear fruits (*Opuntia ficus indica*). Arab. J. Chem. doi:10.1016/j.arabjc.2011.04.001.
- Khalafalla M.M., Abdellatef E., Mohamed Ahmed M.M., Msman M.G. 2007. Micropropagation of cactus (*Opuntia ficus indica*) as strategic tool to combat desertification in arid and semi arid regions. International journal sustain crop production. 2(4): 1-8.
- Kjeldahl, J. 1883. A new method for the estimation of nitrogen in organic compounds. Zeitschrift Fur Analytische Chemie, 22, 366-382.
- Kim, B.; Choi, Y.-E.; Kim, H.-S. 2014. Eruca sativa and its Flavonoid Components, Quercetin and Isorhamnetin, Improve Skin Barrier Function by Activation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR)- α and Suppression of Inflammatory Cytokines. Phytother. Res. doi:10.1002/ptr.5138.
- Kim, J.-E.; Lee, D.-E.; Lee, K.W.; Son, J.E.; Seo, S.K.; Li, J.; Jung, S.K.; Heo, Y.-S.; Mottamal, M.; Bode, A.M.; et al. 2011. Isorhamnetin Suppresses Skin Cancer through Direct Inhibition of MEK1 and PI3-K. Cancer Prev. Res. 4, 582–591.
- Kim J.H., Fan X., Gabbi C., Yakimchuk K., Parini P., Warner M., Gustafsson J.A. 2008. Liver X receptor beta (LXR β): a link between beta-sitosterol and amyotrophic lateral sclerosis-Parkinson's dementia, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105, 2094–2099.
- Kim, J.-H.; Park, S.-M.; Ha, H.-J.; Moon, C.-J.; Shin, T.-K.; Kim, J.-M.; Lee, N.-H.; Kim, H.-C.; Jang, K.-J.; Wie, M.-B. 2006. *Opuntia ficus-indica* attenuates neuronal injury in in vitro and in vivo models of cerebral ischemia. J. Ethnopharmacol. 104, 257–262.
- Kim Kyu-Bong , Yoon A. Nam, Hyung Sik Kim, Wallace Hayes A, Byung-Mu Lee. 2014. α -Linolenic acid: Nutraceutical, pharmacological and toxicological evaluation. Food and Chemical Toxicology. 70:163-78.
- Kircher H.W. 1973. Rosenstein F.U. 7-Dehydrostigmasterol, alpha-spinasterol, and schottenol, J. Org. Chem. 38, 2259–2260.
- Kleiner, O.; Cohen, Z.; Mares, A.J. 2002. Low colonic obstruction due to *Opuntia ficus indica* seeds: The aftermath of enjoying delicious cactus fruits. Acta Paediatr. 91, 606–607.
- Kluck, R.M.; Bossy-Wetzler, E.; Green, D.R.; Newmeyer, D.D. 1997. The release of cytochrome c from mitochondria: a primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis. Science 275:1132–1136.
- Kölliker, R., Jones, E.S., Jahufer, M.Z.Z., Forster, J.W. 2001. Bulked AFLP analysis for the assessment of genetic diversity in white clover (*Trifolium repens* L.). Euphytica. 121, 305-315.

- Kölsch H, Lütjohann D, Tulke A, Björkhem I, Rao ML. 1999. The neurotoxic effect of 24-hydroxycholesterol on SH-SY5Y human neuroblastoma cells. *Brain Res.* 818:171-5.
- Kohyama N, Nagata T, Fujimoto S & Sekiya K. 1997. Inhibition of arachidonate lipoxygenase activities by 2-(3, 4-dihydroxyphenyl) ethanol, a phenolic compound from olives. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry.* 61, 347–350.
- Kostyuk, V.A., Komura, S., Yagi, K. Reduction of various lipid hydroperoxides by rat liver homogenates. *Biochem. Int.* 11:803–808, 1985.
- Kratz Mario, Cullen Paul and Wahrburg Ursel. 2002. The impact of dietary mono- and poly-unsaturated fatty acids on risk factors for atherosclerosis in humans. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 104 (5) 300–311.
- Kritchevsky, D., Chen, S.C. 2005. Phytosterols-health benefits and potential concerns: a review. *Nutr. Res.* 25, 413–428.
- Kris-Etherton Penny M, Pearson Thomas A, Wan Ying, Hargrove Rebecca L, Kristin Moriarty, Valerie Fishell, and Terry D Etherton. 1999. High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. *Am J Clin Nutr.* 70: 6 953-954.
- Kluge M, Ting IP. 1978. Crassulacean acid metabolism. Analysis of an ecological adaptation. (*Ecological Studies*, vol 30) Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- Kuti, J.O. 1992. Growth and compositional changes during the development of prickly pear fruit. *Journal of Horticultural Science*, 67, 861-868. Kuti, J.O., 2004. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food Chem.* 85, 527-533.

L

- 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 Sci.* 165, 1129-1136.
- Laughton, M.J.; Evans, P.J.; Moroney, M.A.; Hoult, J.R.; Halliwell, B. 1991. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. *Biochem. Pharmacol.* 42, 1673–1681.
- Law M. 2000. Plant sterol and stanol margarines and health, *BMJ* 320, 861–864.
- Lazarow PB. 2003. Peroxisome biogenesis: advances and conundrums. *Curr Opin Cell Biol.* 15(4): 489-497.

- Leclercq S., Skrzypski J., Courvoisier A., Gondcaille C., Bonnetain F., Andre A., Chardigny J.M., Bellenger S., Bellenger J., Narce M., Savary S. 2008. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on the expression of peroxisomal ABC transporters, *Biochimie* 90, 1602–1607.
- Lee, H.S., Castle, W.S. 2001. Seasonal changes of carotenoid pigments and color in Hamlin, Eartygold, and Budd Blood orange juices. *J. Agric. Food Chem.* 49, 877-882.
- Lee, M. 1995. DNA markers and plant breeding programs. *Adv. Agron.* 55, 265–344.
- Lee, M.H.; Kim, J.Y.; Yoon, J.H.; Lim, H.J.; Kim, T.H.; Jin, C.; Kwak, W.-J.; Han, C.-K.; Ryu, J.-H. 2006. Inhibition of nitric oxide synthase expression in activated microglia and peroxynitrite scavenging activity by *Opuntia ficus indica* var. *saboten*. *Phytother. Res.* 20, 742–747.
- Lee, J.; Jung, E.; Lee, J.; Kim, S.; Huh, S.; Kim, Y.; Kim, Y.; Byun, S.Y.; Kim, Y.-S.; Park, D. 2009. Isorhamnetin represses adipogenesis in 3T3-L1 cells. *Obesity* 17, 226–232.
- Lee, J.-C.; Kim, H.-R.; Kim, J.; Jang, Y.-S. 2002. Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *J. Agric. Food Chem.* 50, 6490–6496.
- Lee, J.-A.; Jung, B.-G.; Lee, B.-J. 2012. Inhibitory effects of *Opuntia humifusa* on 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene and 12-O-tetradecanoylphorbol-13- acetate induced two-stage skin carcinogenesis. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 13, 4655–4660.
- Lee, J.-A.; Jung, B.-G.; Kim, T.-H.; Lee, S.-G.; Park, Y.-S.; Lee, B.-J. 2013. Dietary feeding of *Opuntia humifusa* inhibits UVB radiation-induced carcinogenesis by reducing inflammation and proliferation in hairless mouse model. *Photochem. Photobiol.* 89, 1208–1215.
- Lee MH, Lu K, Hazard S, Yu H, Shulenin S, Hidaka H, Kojima H, Allikmets R, Sakuma N, Pegoraro R, Srivastava AK, Salen G, Dean M, Patel SB. 2001. Identification of a gene, ABCG5, important in the regulation of dietary cholesterol absorption. *Nat Genet* 27:79–83.
- Lehnardt S., Massillon L., Follett P., Jensen F.E., Ratan R., Rosenberg P.A., Volpe J.J., Vartanian T. 2003. Activation of innate immunity in the CNS triggers neurodegeneration through a Toll-like receptor 4-dependent pathway, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 8514–8519.
- Lenzi, M. and Orth, A.I. 2012. Mixed reproduction systems in *Opuntia monacantha* (Cactaceae) in Southern Brazil. *Brazilian Journal of Botany*, 35, 49-58.
- Leonarduzzi G, Vizio B, Sottero B, Verde V, Gamba P, Mascia C, et al. 2006. Early involvement of ROS overproduction in apoptosis induced by 7-ketocholesterol. *Antioxid Redox Signal.* 8:375–80.

- Le Houérou H.N. 1996. The role of cacti (*Opuntia* spp.) in erosion control, land reclamation rehabilitation and agricultural development in the Mediterranean basin. *Journal of environments*, 33: 135-159.
- Le Houérou H.N. 2000. The role of cacti (*Opuntia* spp.) in erosion control, land reclamation, rehabilitation and agricultural development in the Mediterranean basin. *Journal of arid environment*. 33: 135-159.
- Leuttge U. 1993. *New physiologist*. 125 (1) 59-71.
- Li, R.; Guo, M.; Zhang, G.; Xu, X.; Li, Q. 2006. Nicotiflorin reduces cerebral ischemic damage and upregulates endothelial nitric oxide synthase in primarily cultured rat cerebral blood vessel endothelial cells. *J. Ethnopharmacol*. 107, 143–150.
- Linares E., Thimonier C., Degre M. 2007. The effect of *NeOpuntia* on blood lipid parameters – risk factors for the metabolic syndrome (syndrome X), *Adv. Ther.* 24, 1115–1125.
- Lin H, Hou CC, Cheng CF, Chiu TH, Hsu YH, Sue YM, Chen TH, Hou HH, Chao YC, Cheng TH, Chen CH. 2007. Peroxisomal proliferator-activated receptor-alpha protects renal tubular cells from doxorubicin-induced apoptosis. *Mol. Pharmacol*. 72:1238–45.
- Link WE. 1974 : In : Official and tentative methods of American Oil Chemists' Society. Third edition. AOCS Method Cd 8-53. Champaign (Illinois): American Oil Chemists' Society (AOCS). 143-4.
- Lizard, G., Deckert, V., Dubrez, L., Moisant, M., Gambert, P., Lagrost, L. 1996. Induction of apoptosis in endothelial cells treated with cholesterol oxides. *Am. J. Pathol.* 148, 1625–1638.
- Lizard G, Gueldry S, Deckert V, Gambert P, Lagrost L. 1997. Evaluation of the cytotoxic effects of some oxysterols and of cholesterol on endothelial cell growth : methodological aspects. *Pathol Biol* 45: 281-90.
- Lizard G, Monier S, Cordelet C, Gesquiére L, Deckert V, Gueldry S, et al. 1999. Characterization and comparison of the mode of cell death, apoptosis versus necrosis, induced by 7 α -hydroxycholesterol and 7-ketocholesterol in the cells of the vascular wall. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 19:1190-200.
- Lizard G. 2011. Impact of phytosterols on mitochondrial functions. *Br J Nutr* . 106:461–2.
- Logan Alan C. 2004. Omega-3 fatty acids and major depression: A primer for the mental health professional. *Lipids in Health and Disease*. 3:25.
- Loik M.E. et Nobel P.S. 1993. Freezing tolerance and water relations of *Opuntia fragilis* from Canada and the United States. *Ecology*. 74: 1722-1732.
- Lordan S., Mackrill J.J., O'Brien N.M. 2009. Oxysterols and mechanisms of apoptotic signaling: implications in the pathology of degenerative diseases, *J. Nutr. Biochem*. 20, 321-336.

Lu K, Lee MH, Hazard S, Brooks-Wilson A, Hidaka H, Kojima H, Ose L, Stalenhoef AF, Mietinnen T, Bjorkhem I, Bruckert E, Pandya A, Brewer HB Jr, Salen G, Dean M, Srivastava A, Patel SB. 2001. Two genes that map to the STSL locus cause sitosterolemia: genomic structure and spectrum of mutations involving sterolin-1 and sterolin-2, encoded by ABCG5 and ABCG8, respectively. *Am J Hum Genet* 69:278–290.

Lund EG, Guileyardo JM, Russell DW. 1999. CDNA cloning of cholesterol 24- hydroxylase, a mediator of cholesterol homeostasis in the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96:7238–43.

Ly, J.D.; Grubb,D.; Lawen,A. 2003. The mitochondrial membrane potential($\Delta\psi_m$) in apoptosis; anupdate. *Apoptosis* 8:115–128.

M

Malainine, M.E., Dufresne, A., Dupeyre, D., Mahrouz, M., Vuong, R. and Vignon, M.R. 2003. Structure and morphology of cladodes and spines of *Opuntia ficus-indica*. Cellulose extraction and characterization. *Carbohydrate Polymers*, 51, 77-83.

Malik,S. K., Rohini, M. R., Kumar, S., Choudhary, R., Pal, D., Chaudhury, R. 2012. Assessment of genetic diversity in sweet orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] cultivars of India using morphological and RAPD markers. *Agri. Res.* 1, 317–324.

Manna C, Galletti P, Cucciolla V, Montedoro GF & Zappia V. 1999. Olive oil hydroxytyrosol protects human erythrocytes against oxidative damages. *Journal of Nutritional Biochemistry.* 10, 159–165.

Marmesat S, Morales A, Velasco J, Ruiz-Méndez M V,and Dobarganes M C. 2009. Relationship between changes in peroxide value and conjugated dienes during oxidation of sunflower oils with different degree of unsaturation. *Grasas y Aceites*, (60) 2, 155- 160.

Mast FD, Li J, Virk MK, Hughes SC, Simmonds AJ, Rachubinski RA. 2011. A *Drosophila* model for the Zellweger spectrum of peroxisome biogenesis disorders. *Dis Model Mech.* 4(5): 659-672.

Matthäus B. 2008. Virgin grape seed oil: is it really a nutritional highlight?*Eur J Lipid Sci Technol.* 110: 645–650.

Matthäus, B., Guillaume, D., Gharby, S., Haddad, A., Harhar, H., Charrouf, Z. 2010. Effect of processing on the quality of edible argan oil. *Food Chem.* 120, 426–432.

Marfil, R.; Cabrera-Vique, C.; Gimenez, R.; Bouzas, P.R.; Martinez, O.; Sanchez, J.A. 2008. Metal content and physicochemical parameters used as quality criteria in virgin argan oil: Influence of the extraction method. *J. Agric. Food Chem.* 56, 7279–7284.

- Mattsson, L.H., Lindmark, H., Diczfalusy, U., Bjorkhem, J., Ottossan, M., Liu, J., Bondjers, G., Wiklund, O. 1996. Oxysterols present in atherosclerotic tissue decrease the expression of lipoprotein lipase messenger RNA in human monocyte-derived macrophages. *J. Clin. Invest.* 97:461–468.
- Maxfield, F.R., Tabas, I. 2005. Role of cholesterol and lipid organization in disease. *Nature* 438, 36–45.
- Medina, E.M.D.; Rodríguez, E.M.R.; Romero, C.D. 2007. Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus indica* fruits. *Food Chem.* 103, 38–45.
- Medrano, C.J.; LoPachin, R.M. 1988. Effects of acrylamide and 2,5-hexanedione on brain mitochondrial respiration. *Neurotoxicology* 10:249–255.
- Mekhfi H, Belmekki F, Ziyat A, Legssyer A, Bnouham M, Aziz M. 2012. Antithrombotic activity of argan oil: an in vivo experimental study. *Nutrition.* 28:937-41.
- Mendilaharsu M., DE Stefani E., Deneo-Pellegrini h., Carzoglio J. et A.Ronco. 1998. Phytosterols and risk of lung cancer : a case-control study in Uruguay –Lung cancer, 21 : 37-45.
- McGeer, P.L., Itagaki, S., Tago, H., McGeer, E.G. 1987. Reactive microglia in patients with senile dementia of the Alzheimer type are positive for the histocompatibility glycoprotein HLA-DR. *Neurosci. Lett.* 79, 195–200.
- Mohamed Fawzy Ramadan, Jorg-Thomas Morsel. Oil cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.) Institute of Food Chemistry, Technical University of Berlin, TIB 4/3-1, Gustav-Meyer-Allee 25, D-13355 Berlin, Germany.
- Miguet-Alfonsi C, Prunet C, Monier S, Bessède G, Lemaire-Ewing S, Berthier A, Ménétrier F, Néel D, Gambert P, Lizard G. 2002. Analysis of oxidative processes and of myelin figures formation before and after the loss of mitochondrial transmembrane potential during 7 β -hydroxycholesterol and 7- ketocholesterol-induced apoptosis: comparison with various pro-apoptotic chemicals. *Biochem. Pharmacol.* 64:527–41.
- Monfalouti H.E., Guillaume D., Denhez C., Charrouf Z. 2010. Therapeutic potential of argan oil: a review, *J. Pharm. Pharmacol.* 62, 1669–1675.
- Moussa-Ayoub, T.E.; El-Samahy, S.K.; Kroh, L.W.; Rohn, S. 2011. Identification and quantification of flavonol aglycons in cactus pear (*Opuntia ficus indica*) fruit using a commercial pectinase and cellulase preparation. *Food Chem.* 124, 1177–1184.
- Mohamed-Yasseen, Y., Barringer, S.A., Splittstoesser, W.E. 1996. A note on the uses of *Opuntia* spp. in Central/North America. *J. Arid Environ.* 32, 347 –353.
- Morales, P.; Ramírez-Moreno, E.; de Cortes Sanchez-Mata, M.; Carvalho, A.M.; Ferreira, I.C.F.R. 2012. Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguet and *Opuntia matudae* Scheinvar) of high consumption in Mexico. *Food Res. Int.* 46, 279–285.

- Morán-Ramos, S.; Avila-Nava, A.; Tovar, A.R.; Pedraza-Chaverri, J.; López-Romero, P.; Torres, N. 2012 *Opuntia ficus indica* (nopal) attenuates hepatic steatosis and oxidative stress in obese Zucker (fa/fa) rats. *J. Nutr.* 142, 1956–1963.
- Mulas M., D'hallewin G., Canu D. 1992. Osservazioni sulla radicazione di cladode di un anno di *Opuntia ficus nindica* Mill. *Frutticoltura.* 19 : 67-70.
- Mulas M., et Mulas G. 2004. Potentialités d'utilisation stratégique des plantes des genres *Atriplex* et *Opuntia* dans la lutte contre la désertification. Short & Medium-Term priority environment. Action program.
- Munguía-Rosas, M.A. and Sosa, V.J. 2010. Phenology of *Pilosocereus leucocephalus* (Cactaceae, tribe Cereeae): a columnar cactus with asynchronous pulsed flowering. *Plant Ecology*, 211, 191–201.
- Muñoz de Chávez, M., Chávez, A., Valles, V. & Roldán, J.A. 1995. The nopal: a plant of manifold qualities. *World Rev. Nutr. Diet.* 77:109–134.

N

- Nadia Chougui., Abderezak Tamendjari., Wahiba Hamidj., Salima Hallal., Alexandre Barras., Tristan Richard., Romain Larbat. 2013. Oil composition and characterisation of phenolic compounds of *Opuntia ficus-indica* seeds. *Food Chemistry* 139,796–803.
- Nagy, G., Koncz, A., Perl, A. 2003. T cell activation-induced mitochondrial hyperpolarization is mediated by Ca²⁺- and redox-dependent production of nitric oxide. *J. Immunol.* 171, 5188–5197.
- Nakayama, M.; Aihara, M.; Chen, Y.-N.; Araie, M.; Tomita-Yokotani, K.; Iwashina, T. 2011. Neuroprotective effects of flavonoids on hypoxia-, glutamate-, and oxidative stress-induced retinal ganglion cell death. *Mol. Vis.* 17, 1784.
- Nam, K.N., Koketsu, M., Lee, E.H. 2008. 5-Chloroacetyl-2-amino-1,3-selenazoles attenuate microglial inflammatory responses through NF-κB inhibition. *Eur. J. Pharmacol.* 589, 53–57.
- Nassar, A.G. 2008. Chemical composition and functional properties of prickly pear (*Opuntia ficus indica*) seeds flour and protein concentrate. *World J. Dairy Food Sci.* 3, 11–16.
- Nebbache, S., Chibani, A., Chadli, R., Bouznad, A. 2009. Chemical composition of *Opuntia ficus-indica* (L.) fruit. *Afr. J. Biotechnol.* 8, 1623-1624.
- Nefzaoui A., Ben Salem H. & Ben Salem L. 1995. 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.

- Nefzaoui A. et Chermiti A. 1991. Place et rôles des arbustes fourragers dans les parcours des zones arides et semi-arides de la Tunisie. *Options Méditerranéennes - Série Séminaires - n.O 16 - 1991*: 119-125.
- Nefzaoui, A. & Ben Salem, H. 2000. *Opuntia*: A strategic fodder and efficient tool to combat desertification in the WANA region. Ed. Inglese, P., *CACTUSNET Newsletter 2000*. 2-24.
- Nerd, A. and Mizrahi, Y. 2001. Biologia reprodutiva. In: *Agroecologia, Cultivo e Usos da Palma-Forageira*. (Barbera, G. and Inglese, P., Eds.). FAO, Paraiba, João Pessoa. 49-57.
- Nerd A., Karady A. et Mizrahi Y. 1991. Out-of-season prickly pear: fruit characteristics and effect of fertilization and short drought periods on productivity. *Horticultural science*. 26: 527-529.
- Nieman, D.C. 1994. Exercise, infection and immunity. *Inter. J. Sports Med*. 15, 131–141.
- Nieddu G. & Chessa I. 1997. Distribution of phenotypic characters within a seedling population from *Opuntia ficus indica* (CV. Gialla). *Acta horticultrae*. 438: 37-42.
- Niu, L., Wu, J., Liao, X., Chen, F., Wang, Z., Zhao, G., Hu, X. 2008. Physicochemical characteristics of orange juice samples from seven cultivars. *Agric. Sci. China*. 7, 41-47.
- Nobel P.S. 1983. Nutrient levels in cacti in relation to nocturnal acid accumulation and growth. *American journal of botany*. 70: 1244-1253.
- Nobel PS., Smith SD. And Winner WE. 1987. Stress physiology and the distribution of plant. *BioScience* 37: 38-46.
- Nobel P.S. et Loik M.E. 1990. Thermal analysis, cell viability and CO₂ uptake of a widely distributed North American cactus, *Opuntia humifusa*, at subzero temperatures. *Plant physiology biochemistry*. 28: 429-436.
- Nobel PS. 1995. Environmental biology. In: Barbera G, Inglese P, Pimienta-Barrios E (eds) *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*. FAO Plant Production and Protection 132:36–48.
- Nobel P.S & Castaneda M. 1998. Seasonal, light and temperature influences on organ initiation of unrooted cladodes of the prickly pear cactus *Opuntia ficus indica*. *Journal of the American society for horticultural science*. 123: 47-51.
- Normen L., Brants H., Voorrips L., Andersson H., Van den brandt P.A. et Goldbohm R.A. 1999. Plant sterol intake and colorectal cancer risk in the Netherlands cohort study – *American Journal of epidemiology*, 149 (11) 402.
- Nouette-Gaulain K., Quinart A., Letellier T., Sztark F. 2007. La mitochondrie : rôles et implications en anesthésie–réanimation *Mitochondria in anaesthesia and intensive care*. *Annales Françaises d’Anesthésie et de Réanimation* 26, 319–333.

- Nuñez-López, M.A.; Paredes-López, O.; Reynoso-Camacho, R. 2013. Functional and Hypoglycemic Properties of Nopal Cladodes (*O. ficus-indica*) at Different Maturity Stages Using in Vitro and in Vivo Tests. *J. Agric. Food Chem.* 61, 10981–10986.
- Nury T., Samadi M., Varin A., Lopez T., Zarrouk A., Boumhras M., Riedinger J.M., Masson D., Vejux A., Lizard G. 2013. Biological activities of the LXR α and beta agonist, 4 β -hydroxycholesterol, and of its isomer, 4 α -hydroxycholesterol, on oligodendrocytes: effects on cell growth and viability, oxidative and inflammatory status, *Biochimie* 95, 518–530.
- Nury, T., Samadi, M., Zarrouk, A., Riedinger, J.M., Lizard, G. 2013. Improved synthesis and in vitro evaluation of the cytotoxic profile of oxysterols oxidized at C4 (4 α - and 4 β -hydroxycholesterol) and C7 (7-ketocholesterol, 7 α - and 7 β -hydroxycholesterol) on cells of the central nervous system. *Eur. J. Med. Chem.* 70, 558–567.
- Nury Thomas, Zarrouk Amira, Mackrill John J., Samadi Mohammad, Durand Philippe, Riedinger Jean-Marc, Doria Margaux, Vejux Anne, Limagne Emeric, Delmas Dominique, Prost Michel, Moreau Thibault, Hammami Mohamed, Delage-Mourroux Régis, O'Brien Nora M., Lizard Gérard. 2015. Induction of oxiaoptophagy on 158N murine oligodendrocytes treated by 7-ketocholesterol-, 7 β -hydroxycholesterol-, or 24(S)-hydroxycholesterol: Protective effects of α -tocopherol and docosahexaenoic acid (DHA; C22:6 n-3). *Steroids*. 99, 194–203.

O

- Oh, P.-S.; Lim, K.-T. 2006. Glycoprotein (90 kDa) isolated from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten makino* lowers plasma lipid level through scavenging of intracellular radicals in Triton WR-1339-induced mice. *Biol. Pharm. Bull.* 29, 1391–1396.
- Ollivier, D.; Artaud, J.; Pinatel, C.; Durbec, J.P.; Guerere, M. 2003. Triacylglycerol and fatty acid compositions of French virgin olive oils. Characterization by chemometrics. *J. Agric. Food Chem.* 51, 5723–5731.
- Olsson M., Rundquist I., Brunk U. 1987. Flow cytofluorometry of lysosomal acridine orange uptake by living cultured cells, *Acta Path. Microbiol. Immunol. Scand. (Sect A)* 95, 159-165.
- Ohlsson BG, Englund MCO, Karisson ALK, Knutsen E, Erixon C, Skribeck H, et al. 1996. Oxidized low density lipoprotein inhibits lipopolysaccharide- induced binding of nuclear factor- κ B to DNA and the subsequent expression of tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β in macrophages. *J Clin Invest.* 98:78-89.
- Osorio-Esquivel, O.; Alicia-Ortiz-Moreno; Álvarez, V.B.; Dorantes-Álvarez, L.; Giusti, M.M. 2011. Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Res. Int.* 44, 2160–2168.

Otaegui-Arrazola A, Menendez-Carreno M, Ansorena D, et al. 2010. Oxysterols: a world to explore. *Food Chem Toxicol.* 48:3289–303.

Ould Mohamedou M.M., Zouirech K., El Messal M., El Kebbjaj M.S., Chraibi A., Adlouni A. 2011. Argan oil exerts an antiatherogenic effect by improving lipids and susceptibility of LDL to oxidation in type 2 diabetes patients, *Int. J. Endocrinol.* 747835.

Owen RW, Mier W, Giacosa A, Hull WE, Spiegelhalter B & Bartsch H. 2000. Identification of lignans as major components in the phenolic fraction. *Clinical Chemistry.* 46, 976–988.

P

Paiz, R.C.; Juárez-Flores, B.I.; Aguirre, R.J.R.; Cárdenas, O.C.; Reyes, A.J.A.; García, C.E.; Álvarez, F.G. 2010. Glucose-lowering effect of xoconostle (*Opuntia joconostle* A. Web. Cactaceae) in diabetic rats. *J. Med. Plants Res.* 4, 2326–2333.

Palozza P, Simone R, Catalano A, Monego G, Barini A, Mele MC, et al. 2011. Lycopene prevention of oxysterol-induced proinflammatory cytokine cascade in human macrophages: inhibition of NF-kB nuclear binding and increase in PPAR γ expression. *J Nutr Biochem.* 22:259–68.

Panico, A.M.; Cardile, V.; Garufi, F.; Puglia, C.; Bonina, F.; Ronsisvalle, S. 2007. Effect of hyaluronic acid and polysaccharides from *Opuntia ficus indica* (L.) cladodes on the metabolism of human chondrocyte cultures. *J. Ethnopharmacol.* 111, 315–321.

Patricia Morales, Esther Ramírez-Moreno, María de Cortes Sanchez-Mata, Ana Maria Carvalho, Isabel C.F.R. Ferreira. 2012 Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguet and *Opuntia matudae* Scheinvar) of high consumption in Mexico. *Food Research International* 46, 279–285.

Patel, A.R., Ritzel, R., McCullough, L.D., Liu, F. 2013. Microglia and ischemic stroke: a double-edged sword. *Int. J. Physiol. Pathophysiol. Pharmacol.* 5, 73–90. Park, E.H.; Kahng, J.H.; Lee, S.H.; Shin, K.H. An anti-inflammatory principle from cactus. *Fitoterapia* 2001, 72, 288–290.

Patel S.B. 2008. Plant sterols and stanols: their role in health and disease, *J. Clin. Lipidol.* 2, S11–S19.

Pegel, K.H. 1997. The importance of sitosterol and sitosterolin in human and animal nutrition. *S. Afr. J. Sci.* 93, 263–268.

Peña-Valdivia, C.B., Luna-Cavazos, M., Carranza-Sabas, J.A., Reyes-Agüero, J.A., Flores, A. 2008. Morphological characterization of *Opuntia* spp.: a multivariate analysis. *J. Prof. Assoc. Cactus Dev.* 10, 1-21.

- Petroni A, Blasevich M, Salami M, Papini N, Montedoro GF & Galli C. 1995. Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thrombosis Research*. 78, 151–160.
- Pfriegeer FW, Steinmetz P. *Recherche*. 2003. 351:51.
- Pfriegeer, F.W. 2003. Outsourcing in the brain, do neurons depend on cholesterol delivery by astrocytes? *Bioessays* 25, 72–78.
- Piga, A. 2004. Cactus pear: a fruit of nutraceutical and functional importance. *J. Prof. Assoc. Cactus Dev.* 6,9-22.
- Pimienta-Barrios, E. 1994. Prickly Pear (*Opuntia* spp.): a valuable fruit crop for the semi-arid lands of Mexico *J. Arid Environ.* 28, 1-11.
- Pimienta-Barrios, E., Zanudo, J., Yepez, and Nobel, P.S. 2000. Seasonal variation of net CO₂ uptake for cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) and pitayo (*Stenocereus queretaroensis*) in a semi-arid environment. *Journal of Arid Environments*, 44, 73-83.
- Pincemail, J., Defraigne, JO. 2003. Le coenzyme Q10 ou ubiquinone : un antioxydant particulier. *Vaisseau, Cœur, Poumons*. 8 :55-60.
- Plat J., J.A. Nichols, R.P. Mensink. 2005. Plant sterols and stanols: effects on mixed micellar composition and LXR (target gene) activation, *J. Lipid Res.* 46, 2468–2476.
- Poli, G., Biasi, F., Leonarduzzi, G. 2013. Oxysterols in the pathogenesis of major chronic diseases. *Redox Biol.* 1, 125–130.
- Potgieter, J.P. 2004. Cactus pear. *Farmers weekly*, 23 April. 38-39.
- Psomiadou Eleni , Tsimidou Maria , and Dimitrios Boskou. 2000. α -Tocopherol Content of Greek Virgin Olive Oils. *J. Agric. Food Chem.*, 48 (5), 1770–1775.

U

- Uchoa, A.F.; Souza, P.A.S.; Zarate, R.M.L.; Gomes-Filho, E.; Campos, F.A.P. 1998. Isolation and characterization of a reserve protein from the seeds of *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae). *Braz. J. Med. Biol. Res.* 31, 757–761.
- USDA, Laboratoire sur les éléments nutritifs, ARS, Programme d'analyse des éléments nutritifs alimentaire nationale et Wave 5f 2001 Beltsville MD.
- USDA, Laboratoire sur les éléments nutritifs, ARS, National des éléments nutritifs de l'Alimentation et l'analyse du programme Vague 5L 2001 Beltsville MD.

R

- Rafael Franco, Diana Fernandez-Suarez. 2015. Alternatively activated microglia and macrophages in the central nervous system. *Progress in Neurobiology* 131, 65–86.
- Rahmani, M . 2005. Composition chimique de l'huile d'argane Vierge». *Cahier Agricultures*. Vol. n°5, Septembre- Octobre, 461-465.
- Ragot, K., Delmas, D., Athias, A., Nury, T., Baarine, M., Lizard, G. 2011. Tocopherol impairs 7-ketocholesterol-induced caspase-3-dependent apoptosis involving GSK-3 activation and Mcl-1 degradation on 158N murine oligodendrocytes. *Chem. Phys. Lipids* 164, 469–478.
- Ragot, K., Mackrill, J.J., Zarrouk, A., Nury, T., Aires, V., Jacquin, A., Athias, A., Pais de Barros, J.P., Véjux, A., Riedinger, J.M., Delmas, D., Lizard, G. 2013. Absence of correlation between oxysterol accumulation in lipid raft microdomains, calcium increase, and apoptosis induction on 158N murine oligodendrocytes. *Biochem. Pharmacol.* 86, 67–79.
- Ramadan, M.F.; Mörsel, J.-T. 2003. Recovered lipids from prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill] peel: A good source of polyunsaturated fatty acids, natural antioxidant vitamins and sterols. *Food Chem.* 83, 447–456.
- Ramachandran, L.; Manu, K.A.; Shanmugam, M.K.; Li, F.; Siveen, K.S.; Vali, S.; Kapoor, S.; Abbasi, T.; Surana, R.; Smoot, D.T.; et al. 2012. Isorhamnetin inhibits proliferation and invasion and induces apoptosis through the modulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ activation pathway in gastric cancer. *J. Biol. Chem.* 287, 38028–38040.
- Ramadan, M.F.; Mörsel, J.-T. 2003. Oil cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.). *Food Chem.* 82, 339–345.
- Ramadan, M.F.; Moersel, J.-T. 2003. Lipid profile of prickly pear pulp fractions. *J. Food Agric. Environ.* 1, 66–70.
- Ramírez-Moreno, E., Córdoba-Díaz, D., De Cortes Sánchez-Mata, M., Díez-Marqués, C. and Goñi, I. 2013. Effect of boiling on nutritional, antioxidant and physicochemical characteristics in cladodes (*Opuntia ficus indica*). *LWT-Food Science and Technology*, 51, 296-302.
- Raymond, G.V., Seidman, R., Monteith, T.S., Kolodny, E., Sathe, S., Mahmood, A., Powers, J.M. 2010. Head trauma can initiate the onset of adreno-leukodystrophy, *J. Neurol. Sci.* 290; 70–74.
- Realini, M. F., Gonzalez, G.E., Font, F., Picca, P.I., Poggio, L., Gottlieb, A.M. 2014. Phylogenetic relationships in *Opuntia* (Cactaceae, Opuntioideae) from southern South America. *Plant Syst. Evol.* DOI 10.1007/s00606-014-1154-1.
- Reaven Peter, Grasse Barbara, Barnett Joellen. 1996. Effect of Antioxidants Alone and in Combination With Monounsaturated Fatty Acid-Enriched Diets on Lipoprotein Oxidation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 16: 1465-1472.

- Remaley AT, Bark S, Walts AD, Freeman L, Shulenin S, Annilo T, Elgin E, Rhodes HE, Joyce C, Dean M, Santamarina-Fojo S, Brewer HB Jr. 2002. Comparative genome analysis of potential regulatory elements in the ABCG5-ABCG8 gene cluster. *Biochem Biophys Res Commun* 295:276–282.
- Repa JJ, Berge KE, Pomajzl C, Richardson JA, Hobbs H, Mangelsdorf DJ. 2002 Regulation of ATP-binding cassette sterol transporters ABCG5 and ABCG8 by the liver X receptors alpha and beta. *J Biol Chem* 277:18793–18800.
- Retamal N., Duran J.M. & Fernandez J. 1987. Seasonal variations of chemical composition in prickly pear (*Opuntia ficus indica* L. Mill.). *Journal of science food agricultural*. 38: 303-311.
- Reyes-Agüero, J.A., Aguirre, R.J.R. and Valiente-Banue, A. 2006. Reproductive biology of *Opuntia*: A review. *Journal of Arid Environments*, 64, 549–585.
- Rock, R.B., Peterson, P.K. 2006. Microglia as a pharmacological target in infectious and inflammatory diseases of the brain. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 1, 117–126.
- Rotondo S. · de Gaetano G. 2000. Protection from Cardiovascular Disease by Wine and Its Derived Products Epidemiological Evidence and Biological Mechanisms. Simopoulos AP, Visioli F (eds): *Mediterranean Diets*. *World Rev Nutr Diet*. Basel, Karger, 87, 90-113.
- Rodríguez-García, M.E., De Lira, C., Hernández-Becerra, E., Cornejo-Villegas, M.A., Palacios-Fonseca, A.J., Rojas-Molina, I., Reynoso, R., Quintero, L.C., Del-Real, A., Zepeda, T.A. and Muñoz-Torres, C. 2007. Physicochemical characterization of nopal pads (*Opuntia ficus indica*) and dry vacuum nopal powders as a function of the maturation. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62, 107-112.
- Rodríguez-Félix A. & Cantwell M. 1988. Developmental changes on the composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). *Plant foods for human nutrition*. 38: 83-93.
- Romier B, Schneider YJ, Larondelle Y, During A. 2009. Dietary polyphenols can modulate the intestinal inflammatory response. *Nutr Rev*; 67:363–78.
- Rosenblat M, Aviram M. 2002. Oxysterol-induced activation of macrophage NADPH oxidase enhances cell-mediated oxidation of LDL in the atherosclerotic apolipoprotein E deficient mouse: inhibitory role for vitamin E. *Atherosclerosis*. 160:69–80.
- Rubio, M.; Alvarez-Ortí, M.; Alvarruiz, A.S.; Fernández, E.; Pardo, J.E. 2009. Characterization of Oil Obtained from Grape Seeds Collected during Berry Development. *J. Agric. Food Chem.* 57, 2812–2815.
- Rohlf, F.J. 2000. NTSYSpc numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.1, users guide. Exeter Software, Setauket, New York.

Rosklint T, Ohlsson BG, Wiklund O, Noren K, Hulten LM. 2002. Oxysterols induce interleukin-1 β production in human macrophages. *Eur J Clin Invest.* 32:35-42.

Russel C.E & Felker P. 1987. Comparative cold hardiness of *Opuntia* spp., and cvs. Grown for fruit, vegetable and fodder production. *Journal of horticultural science.* 62: 545-550.

S

Sáenz, C. 1995. Food Manufacture and by-products. In: *Agroecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear.* (Barbera, G., Inglese, P., Pimienta-Barrios, E., Eds). FAO Plant Product and Protection Paper, Rome 132. 137–143.

Saenz, C. 2000. Processing technologies: an alternative for cactus pear (*Opuntia* spp.) fruits and cladodes. *J. Arid Environ.* 46, 209-225.

Salim, N.; Abdelwaheb, C.; Rabah, C.; Ahcene, B. 2009. Chemical composition of *Opuntia ficus-indica* (L.) fruit. *Afr. J. Biotechnol.* 8, 1623–1624.

Samane S, Christon R, Dombrowski L, Turcotte S, Charrouf Z, Lavigne C, et al. 2009. Fish oil and argan oil intake differently modulate insulin resistance and glucose intolerance in a rat model of dietary-induced obesity. *Metabolism* 58:909-919.

Samane S, Noel J, Charrouf Z, Amarouch H, Haddad PS. 2006. Insulinsensitizing and anti-proliferative effects of *Argania spinosa* seed extracts. *Evid Based Complement Altern Med.* 3:317-27.

Sanchez-Moreno, C., Plaza, L., de Ancos, B., Cano, M.P. 2006. Nutritional characterisation of commercial traditional pasteurised tomato juices: carotenoids, vitamin C and radical-scavenging capacity. *Food Chem.* 98, 749-756.

Sánchez, E.; García, S.; Heredia, N. 2010. Extracts of Edible and Medicinal Plants Damage Membranes of *Vibrio cholerae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 6888–6894.

Sánchez, V.G., Ortega, D.M.L., Granados, S.D. and Cruz, H.J.P. 1991. Fenología y crecimiento de *Opuntia joconostle* cv. Cuaresmero, en San Martín de las Pirámides. *Agrociencia*, 1, 77–91.

Sánchez-Cenizo, L., Formentini, L., Aldea, M., Ortega, A.D., García-Huerta, P., Sánchez-Aragó, M., Cuezva, J.M., 2010. Up-regulation of the ATPase inhibitory factor 1 (IF1) of the mitochondrial H⁺-ATP synthase in human tumors mediates the metabolic shift of cancer cells to a Warburg phenotype. *J. Biol. Chem.* 285, 25308–25313.

Sawaya WN, Khan P. 1982. Chemical characterization of prickly pear seed oil, *Opuntia ficus-indica*. *J Food Sci.* 47(6): 2060-2061.

Sawaya, W.N., Khatchadourian, H.A., Safi, W.M. & Al-Hammad, H.M. 1983. Chemical characterization of prickly pear pulp, *Opuntia ficus-indica*, and the manufacturing of prickly pear jam. *J. Food Technol.* 18:183–193.

- Sawaya, W.N.; Khalil, J.K.; Al-Mohammad, M.M. 1983. Nutritive value of prickly pear seeds, *Opuntia ficus-indica*. *Plant Food Hum. Nutr.* 33, 91–97.
- Savary S, Trompier D, Andréoletti P, Le Borgne F, Demarquoy J, Lizard G. 2012. Fatty acids - induced lipotoxicity and inflammation. *Curr Drug Metab.* 13(10): 1358-1370.
- Schaffer, S.; Schmitt-Schillig, S.; Müller, W.E.; Eckert, G.P. 2005. Antioxidant properties of Mediterranean food plant extracts: Geographical differences. *J. Physiol. Pharmacol.* 56 (Suppl. S1), 115–124.
- Scheinvar L. 1995. Taxonomy of utilized *Opuntia*. In Barbera, G., P. Inglese, and E. Pimienta-Barrios (eds.). *Agroecology, cultivation and uses of cactus pear*. FAO International technical cooperation network on cactus pear.132: 20-27.
- Schroepfer Jr., G.J., 2000. Oxysterols: modulators of cholesterol metabolism and other processes. *Physiol. Rev.* 80, 361–554.
- Schlattner, U., M. Dolder, T. Wallimann, and M. Tokarska-Schlattner. 2001. Mitochondrial creatine kinase and mitochondrial outer membrane porin show a direct interaction that is modulated by calcium. *J Biol Chem* 276 (51):48027-48030.
- Schultz J.R., Tu H., Luk A., Repa J.J., Medina J.C., Li L., Schwendner S., Wang S., Thoolen M., Mangelsdorf D.J., Lustig K.D., Shan B. 2000. Role of LXRs in control of lipogenesis, *Genes Dev.* 14. 2831–2838.
- Schwendenmann, L., Veldkamp, E., Moser, G., Hölscher, D., Köhler, M., Clough, Y., Anas, I., Djajakirana, G., Erasmi, S., Hertel, D., Leitner, D., Leuschner, C.H., Michalzik, B., Propastin, P., Tjoa, A., Tschardtke, T. and Van straaten, O. 2010. Effects of an experimental drought on the functioning of a cacao agroforestry system, Sulawesi, Indonesia. *Global Change Biology*, 16, 1515-1530.
- Sdiri,S., Bermejo, A., Aleza, P., Navarro, P., Salvador, A. 2012. Phenolic composition, organic acids, sugars, vitamin C and antioxidant activity in the juice of two new triploid late-season mandarins. *Food Res. Int.* 49, 462-468.
- Sedra, M.H., Lashermes, P., Trouslot, P., Combes, M.C., Hamon, S. 1998. Identification and genetic diversity analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) varieties from Morocco using RAPD markers. *Euphytica*.103, 75–82.
- Seeman, J. I., Laffoon, S. W., Kassman, A. J. 2003. Evaluation of relationships between mainstream smoke acetaldehyde and “tar” and carbon monoxide yields in tobacco blends of U.S. commercial cigarettes. *Inhal. Toxicol.* 15, 373-395.
- Semagn, K., Bjørnstad, A., Ndjioudjop, M.N. 2006. An overview of molecular marker methods for plants. *Afr. J. Biotechnol.*5, 2540-2568.

- Sepúlveda, E. & Sáenz, C. 1990. Chemical and physical characteristics of prickly pear (*Opuntia ficus indica*) pulp. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* 30:551–555.
- Sevanian A, Berliner J, Peterson H. 1991. Uptake, metabolism, and cytotoxicity of isomeric cholesterol-5,6-epoxides in rabbit aortic endothelial cells. *J Lipid Res.* 32:147-55.
- Setchell, K.D., J.E. Heubi, K.E. Bove, N.C. O'Connell, T. Brewsaugh, S.J. Steinberg, A. Moser, and R.H. Squires, Jr. 2003. Liver disease caused by failure to racemize trihydroxycholestanoic acid: gene mutation and effect of bile acid therapy. *Gastroenterology.* 124:217-232.
- Serbinova Elena, Kagan Valerian, Han Derick, Packer Lester. 1991. Free radical recycling and intramembrane mobility in the antioxidant properties of alpha-tocopherol and alpha-tocotrienol. *Free Radical Biology and Medicine.* 10, 5, 263-275.
- Service de normalisation industrielle (SNIMA). 2003. Corps gras d'origine animale et végétale- Huiles d'argan. Spécifications, Norme Marocaine NM 08.5.090. Snima, Rabat (Morocco).
- Service de normalisation industrielle (Snima). 2003: Huiles d'arganes. Spécifications. Norme marocaine NM 08.5.090. Snima, Rabat (Morocco).
- Shahnejat-Bushehri, A.A., Torabi, S., Omidi, M., Ghannadha, M.R. 2005. Comparison of Genetic and Morphological Distance with Heterosis with RAPD Markers in Hybrids of Barley. *Int. J. Agri. Biol.* 7, 592-595.
- Shi C., Wu F., Xu J. 2013. Incorporation of beta-sitosterol into mitochondrial membrane enhances mitochondrial function by promoting inner mitochondrial membrane fluidity, *J. Bioenerg. Biomembr.* 45. 301–305.
- Shilpa, B.S., Akanksha, and Kavita, G.P. 2012. Evaluation of cactus and hyacinth bean peels as natural coagulants. *International Journal of Chemical and Environmental Engineering,* 3, 187-191.
- Sherwin, Robert S., Merrick Fisher., Rosa Hendler., and Philip Felig. 1976. Hyperglucagonemia and Blood Glucose Regulation in Normal, Obese and Diabetic Subjects. *N Engl J Med.* 294:455-461.
- Sies, H. 2010. Polyphenols and health: update and perspectives. *Arch Biochem Biophys.* 501, 2-5.
- Singh, A.K., G.S. Dhaunsi, M.P. Gupta, J.K. Orak, K. Asayama, and I. Singh. 1994. Demonstration of glutathione peroxidase in rat liver peroxisomes and its intraorganellar distribution. *Archives of biochemistry and biophysics.* 315:331-338.
- Smith, L.L., Johnson, B.N. 1989. Biological activities of oxysterols. *Free Radic. Biol. Med.* 7:285–332.
- Soccio R.E., Breslow J.L. 2004. Intracellular cholesterol transport, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24. 1150-1160.
- Soel, S.M.; Choi, O.S.; Bang, M.H.; Yoon Park, J.H.; Kim, W.K. 2007. Influence of conjugated linoleic acid isomers on the metastasis of colon cancer cells in vitro and in vivo. *J. Nutr. Biochem.* 18, 650–657.

- Somogyi, M. 1952. Determination of reducing sugars by Nelson-Somogyi method. *J. Biol. Chem.* 200, 245-245.
- Sour S., Belarbi M., Sari N., Benammar C.H., Baghdad C.H., Visioli F. 2015. Argan oil reduces, in rats, the high fat diet-induced metabolic effects of obesity. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases.* 25, 382-387.
- Stahl, W., Sies, H. 1997. Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes* 46 (Suppl. 2), S14-S18.
- Souidi M, Serougne C, Parquet M, Ferezou J, Lutton C. 2000. Effets in vivo du 25 et du 27-hydroxycholestérol sur l'expression des récepteurs aux lipoprotéines et sur l'activité de l'HMGCoA réductase dans l'intestin et le foie du Hamster. *Nutr Clin Métabol*;14suppl 2 : CO84.
- Souidi M, Dubrac S, Parquet M, Milliat F, Férézou J, Sérougne C, et al. 2003. Effects of dietary 27-hydroxycholesterol on cholesterol metabolism and bile acid biosynthesis in the hamster. *Can J Physiol and Pharmacol* 81:854-63.
- Stintzing, F.C.; Schieber, A.; Carle, R. 2001. Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *Eur. Food Res. Technol.* 212, 396–407.
- Stintzing, F.C.; Schieber, A. Carle, R. 2003. Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. *Eur. Food Res. Technol.* 216, 303–311.
- Stintzing, F.C.; Herbach, K.M.; Mosshammer, M.R.; Carle, R.; Yi, W.; Sellappan, S.; Akoh, C.C.; Bunch, R.; Felker, P. 2005. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *J. Agric. Food Chem.* 53, 442–451.
- Stintzing, F.C.; Carle, R. 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Mol. Nutr. Food Res.* 49, 175–194.
- Stock, A.D., Hussey, N. and Beckstrom, M.D. 2014. A new species of *Opuntia* (Cactaceae) from Mojave Co, Arizona. *Cactus and Succulent Journal*, 86, 79-83.
- Strack, D.; Vogt, T.; Schliemann, W. 2003. Recent advances in betalain research. *Phytochemistry.* 62, 247–269.
- Surdyk, N., Rosén, J., Andersson, R., Aman, P. 2004. Effects of Asparagine, Fructose, and Baking Conditions on Acrylamide Content in Yeast-Leavened Wheat Bread. *J. Agric. Food Chem.* 52, 2047-2051.
- Sreekanth, D.; Arunasree, M.K.; Roy, K.R.; Chandramohan Reddy, T.; Reddy, G.V.; Reddanna, P. 2007. Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus-indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia Cell line-K562. *Phytomedicine.* 14, 739–746.
- Sudzuki F., Munoz C., et Berger H., 1993. El cultivo de la tuna cactus pear. *Fac ciencias, agrarias y forestales.* Universidad de Chile, Santiago. Pages 88.

Sudzuki Hills F. 1995. Anatomy and morphology. 28-35, in : G.Barbera, P. Inglese and E. Pimienta-Barios (eds) Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear. FAO Plant production and protection. Paper, 132.

T

Taepavarapruk Pomnarin, and Cai Song. 2010. Reduction of acetylcholine release and nerve growth factor expression are correlated with memory impairment induced by interleukin-1b administrations: effects of omega-3 fatty acid EPA treatment. *Journal of Neurochemistry*. (112)1054-1064.

Talebi, R., Fayyaz, F. 2012. Quantitative evaluation of genetic diversity in Iranian modern cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.) using morphological and amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. *Biharean Biol.* 6, 14-18.

Terasaka N., Hiroshima A., Koieyama T., Ubukata N., Morikawa Y., Nakai D., Inaba T. 2003. T-0901317, a synthetic liver X receptor ligand, inhibits development of atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice, *FEBS Lett.* 536; 6–11.

Tesoriere, L.; Butera, D.; Pintaudi, A.M.; Allegra, M.; Livrea, M.A. 2004. Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: A comparative study with vitamin C. *Am. J. Clin. Nutr.* 80, 391–395.

Tontonoz. 2002. Synthetic LXR ligand inhibits the development of atherosclerosis in mice, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99;7604–7609.

Tesoriere, L.; Allegra, M.; Butera, D.; Livrea, M.A. 2004. Absorption, excretion, and distribution of dietary antioxidant betalains in LDLs: Potential health effects of betalains in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 80, 941–945.

Tesoriere L., D. Butera, A.M. Pintaudi, M. Allegra, M.A. 2004. Livrea, Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C, *Am. J. Clin. Nutr.* 80 391–395.

Tesoriere, L.; Fazzari, M.; Allegra, M.; Livrea, M.A. 2005. Biothiols, Taurine, and Lipid-Soluble Antioxidants in the Edible Pulp of Sicilian Cactus Pear (*Opuntia ficus-indica*) Fruits and Changes of Bioactive Juice Components upon Industrial Processing. *J. Agric. Food Chem.* 53, 7851–7855.

Tesoriere, L.; Attanzio, A.; Allegra, M.; Gentile, C.; Livrea, M.A. 2014. Indicaxanthin inhibits NADPH oxidase (NOX)-1 activation and NF-κB-dependent release of inflammatory mediators and prevents the increase of epithelial permeability in IL-1β-exposed Caco-2 cells. *Br. J. Nutr.* 111, 415–423.

- Thomas, K.A., Denny, E.G., Miller-Rushing, A.J., Crimmins, T.M. and Weltzin, J.F. 2010. The National Phenology Monitoring System, v0.1. USA-NPN Technical Series 2010-001.
- Trachtenberg, S.; Mayer, A.M. 1982. Mucilage Cells, Calcium Oxalate Crystals and Soluble Calcium in *Opuntia ficus-indica*. *Ann. Bot.* 50, 549–557.
- Tomczyk, M.; Zovko-Končić, M.; Chrostek, L. 2012. Phytotherapy of alcoholism. *Nat. Prod. Commun.* 7, 273–280.
- Toulmay A., Prinz W.A. 2011. Lipid transfer and signaling at organelle contact sites: the tip of the iceberg, *Curr. Opin. Cell. Biol.* 23 458-463.
- Trompier Doriane, Gondcaille Catherine, Lizard Gérard, Savary Stéphane. 2014. Regulation of the adrenoleukodystrophy-related gene (ABCD2): Focus on oxysterols and LXR antagonists. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 446, 651–655.
- Tura Debora, Gigliotti Carmen, Pedò Stefano, Failla Osvaldo, Bassi Daniele, Serraiocco Arnaldo. 2007. Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea Europea*L.) and correlations with oxidative stability. *Scientia Horticulturae.* 112, (1) 108–119.
- Tura D., Failla O., Pedò S., Gigliotti C., Serraiocco A. and Bassi D. 2008. Effects of Seasonal Weather Variability on Olive Oil Composition in Northern Italy. *Vth IS on Olive Eds.: M.T. Özkaya et al. Acta Hort.* 791, ISHS.

V

- Valadez-Moctezuma, E., Samah, S., Luna-Paez, A. 2014. Genetic diversity of *Opuntia* spp. varieties assessed by classical marker tools (RAPD and ISSR). *Plant Syst. Evol.* DOI 10.1007/s00606-014-1112-y.
- Valdez-Cepeda, R.D., Blanco-Macías, F., Magallanes-Quintanar, R., Vázquez-Alvarado, R., de Jesús Méndez-Gallegos, S. 2013. Fruit weight and number of fruits per cladode depend on fruiting cladode fresh and dry weight in *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller variety ‘Rojo pelón’. *Sci. Hortic.* 161, 165-169.
- Valente, L.; Scheinvar, L.; da Silva, G.; Antunes, A.; dos Santos, F.; Oliveira, T.; Tappin, M.; Aquino Neto, F.; Pereira, A.; Carvalhaes, S.; et al. 2007. Evaluation of the antitumor and trypanocidal activities and alkaloid profile in species of Brazilian Cactaceae. *Pharmacogn. Mag.* 3, 167–172.
- Valente, L.M.M.; da Paixão, D.; do Nascimento, A.C.; dos Santos, P.F.P.; Scheinvar, L.A.; Moura, M.R.L.; Tinoco, L.W.; Gomes, L.N.F.; da Silva, J.F.M. 2010. Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). *Food Chem.* 123, 1127–1131.
- Van Dyke BR and Saltman P. 1996. Hemoglobin: a mechanism for the generation of hydroxyl radicals. *Free Radical Biology and Medicine.* 20, 985–989.

- Van Grunsven, E.G., E. van Berkel, L. Ijlst, P. Vreken, J.B. de Klerk, J. Adamski, H. Lemonde, P.T. Clayton, D.A. Cuebas, and R.J. Wanders. 1998. Peroxisomal D-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency: resolution of the enzyme defect and its molecular basis in bifunctional protein deficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 95:2128-2133.
- Van Proeyen, K.; Ramaekers, M.; Pischel, I.; Hespel, P. 2012. *Opuntia ficus-indica* ingestion stimulates peripheral disposal of oral glucose before and after exercise in healthy men. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* 22, 284–291.
- Vázquez-Ramírez, R.; Olguín-Martínez, M.; Kubli-Garfias, C.; Hernández-Muñoz, R. 2006. Reversing gastric mucosal alterations during ethanol-induced chronic gastritis in rats by oral administration of *Opuntia ficus-indica* mucilage. *World J. Gastroenterol.* 12, 4318–4324.
- Vejux A., Lizard G. 2009. Cytotoxic effects of oxysterols associated with human diseases: Induction of cell death (apoptosis and/or oncosis), oxidative and inflammatory activities, and phospholipidosis, *Mol. Aspects Med.* 30, 153-170.
- Vejux, A., Samadi, M., Lizard, G. 2011. Contribution of cholesterol and oxysterols in the physiopathology of cataract: implication for the development of pharmacological treatments. *J. Ophthalmol.* 2011, 471947.
- Vieira O, Laranjinha J, Madeira V & Almeida L. 1998. Cholesteryl ester hydroperoxide formation in myoglobin-catalyzed low density lipoprotein oxidation: concerted antioxidant activity of caffeic and p-coumaric acids with ascorbate. *Biochemical Pharmacology.* 55, 333–340.
- Vinha Ana F, Ferreres Federico, Silva Branca M., Valentã Patrícia, Gonçalves Ana, Pereira José A, Oliveira M. Beatriz, Seabra Rosa M., Paula B. Andrade. 2005. Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influences of cultivar and geographical origin. *Food Chemistry.* 89 (4) 561–568.
- Vissers M.N., Zock P.L., Meiser G.W. et M.B. Katan. 2000. Effect of plant sterols from rice bran oil and triterpenes alcohols from sheanut oil on serum lipoprotein concentrations in humans – *Am. J. Clin. Nutr.*, 72 : 1510-1515.
- Vitasse, Y., Delzon, S., Bresson, C.C., Michalet, R. and Kremer, A. 2009. Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Canadian Journal of Forest Research*, 39, 1259-1269.
- Visioli Francesco, Bellomo Giorgio, Galli Claudio. 1998. *Biochemical and Biophysical Research Communications* Free Radical-Scavenging Properties of Olive Oil Polyphenols. 247 (1) 60–64.
- Von Bergmann, K., Sudhop, T., Lutjohann, D. 2005. Cholesterol and plant absorption: recent insight. *Am. J. Cardiol.* 96, 10D–14D.

W

- Wanders, R.J. 2004. Metabolic and molecular basis of peroxisomal disorders: a review. *American journal of medical genetics. Part A.* 126A:355-375.
- Wanders, R.J., and H.R. Waterham. 2006. Biochemistry of mammalian peroxisomes revisited. *Annu Rev Biochem.* 75:295-332.
- Wang, M.J., Huang, H.Y., Chen, W.F., Chang, H.F., Kuo, J.S. 2010. Glycogen synthase kinase-3b inactivation inhibits tumor necrosis factor- α production in microglia by modulating nuclear factor κ B and MLK3/JNK signaling cascades. *J. Neuroinflammation* 7, 99.
- Wang Ling, Schuster Gertrud U., Hultenby Kjell, Zhang Qinghong, Andersson Sandra, and Gustafsson JanÅke. 2002. Liver X receptors in the central nervous system: From lipid homeostasis to neuronal degeneration. *PNAS.* 99 . 21 13878–13883.
- Wachter R., Salka B. et A.Magnet. 1995. Phytosterols- active substances of vegetable origin in cosmetics. *Cosmetics and toiletries magazine*, 110 : 72-82.
- Walali L.D. 1997. Le figuier de barbarie. Espèce fruitière d'intérêt secondaire cultivée au Maroc. *BLPNTT. MADRPM/DERD.* 35 : 1-2.
- Wessels A.B. 1988. Spineless prickly pears. Cape Town, South Africa: Luxor Pub.
- West-Eberhard, M.J. 1989. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 20,249-278.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* 18, 6531 – 6535.
- Wiese, J.; McPherson, S.; Odden, M.C.; Shlipak, M.G. 2004. Effect of *Opuntia ficus indica* on symptoms of the alcohol hangover. *Arch. Intern. Med.* 164, 1334–1340.
- Woog, F. 2002. Distribution and timing of nesting in Hawaiian Geese in relation to food phenology in scrublands. *Wildfowl*, 53, 79-106.
- Wu, G.S., Goto, H., Sevanian, A., Rao, N.A. 1990. Retinal lipid peroxidation in intraocular inflammation. *Free Radic. Biol. Med.* 9:148.

Y

- Yahia, E.M., Mondragon-Jacobo, C. 2011. Nutritional components and anti-oxidant capacity of ten cultivars and lines of cactus pear fruit (*Opuntia* spp.). *Food Res. Int.* 44, 2311–2318.

- Yang, N.; Zhao, M.; Zhu, B.; Yang, B.; Chen, C.; Cui, C.; Jiang, Y. 2008. Anti-diabetic effects of polysaccharides from *Opuntia monacantha* cladode in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 9, 570–574.
- Yamashita, H., S. Avraham, S. Jiang, R. London, P.P. Van Veldhoven, S. Subramani, R.A. Rogers, and H. Avraham. 1999. Characterization of human and murine PMP20 peroxisomal proteins that exhibit antioxidant activity in vitro. *The Journal of biological chemistry.* 274:29897-29904.
- Yasmeen, R.; Hashmi, A.S.; Anjum, A.A.; Saeed, S.; Muhammad, K. 2012. Antibacterial activity of indigenous herbal extracts against urease producing bacteria. *J. Anim. Plant. Sci.* 22, 416–419.
- Yawen, Z., Shiquan, S., Zichao, L., Zhongyi, Y., Xiangkun, W., Hongliang, Z., Guosong, W. 2003. Ecogeographic and genetic diversity based on morphological characters of indigenous rice (*Oryza sativa* L.) in Yunnan, China. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 50, 567–577.
- Yeagle, P.L. 1985. Cholesterol and the cell membrane. *Biochim. Biophys. Acta* 822, 267–287.
- Yen, G.-C.; Duh, P.-D.; Tsai, H.-L. 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chem.* 79, 307–313.
- Yin, F.; Jiang, T.; Cadenas, E. 2013. Metabolic triad in brain aging: mitochondria, insulin/IGF-1 signalling and JNK signalling. *Biochem. Soc. Trans.* 41:101–105.
- You, B.R.; Park, W.H. 2010. Gallic acid-induced lung cancer cell death is related to glutathione depletion as well as reactive oxygen species increase. *Toxicol. In Vitro.* 24, 1356–1362.
- Yuan X.M., Li W., Brunk U.T., Dalen H., Chang Y.H., Sevanian A. 2000. Lysosomal destabilization during macrophage damage induced by cholesterol oxidation products, *Free Radic. Biol. Med.* 28, 208-218.

Z

- Zahar M., Reineccius G and Schirle-Keller J-P. 2011. Argan oil aroma: effect of kernels roasting and oil extraction process. *Actes du Premier Congrès International de l'Arganier.*
- Zarrouk Amira, Vejux Anne, Mackrill John, O'Callaghan Yvonne, Hammami Mohamed, O'Brien Nora, Lizard Gérard. 2014. Involvement of oxysterols in age-related diseases and ageing processes. *Ageing Research Reviews* 18, 148–162.
- Zarrouk A, Nury T, Riedinger JM, Rouaud O, Hammami M, Lizard G. 2015. Dual effect of docosahexaenoic acid (attenuation or amplification) on C22:0-, C24:0-, and C26:0-Induced mitochondrial dysfunctions and oxidative stress on human neuronal SK-N-BE cells. *J. Nutr. Health Aging*;19:198–205.

- Zelcer N., Tontonoz P. Liver X receptors as integrators of metabolic and inflammatory signaling, *J. Clin. Invest.* 116 (2006) 607–614.
- Zelcer N., Khanlou N. R. Clare, Q. Jiang, E.G. Reed-Geaghan, G.E. Landreth, H.V. Vinters, P. Tontonoz. 2007. Attenuation of neuroinflammation and Alzheimer's disease pathology by liver x receptors, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 10601–10606.
- Zhang, N.; Pei, F.; Wei, H.; Zhang, T.; Yang, C.; Ma, G.; Yang, C. 2011. Isorhamnetin protects rat ventricular myocytes from ischemia and reperfusion injury. *Exp. Toxicol. Pathol.* 63, 33–38.
- Zheng, R., Shi, Y., Jia, Z., Zhao, C., Zhang, Q., Tan, X. 2010. Fast repair of DNA radicals. *Chem Soc Rev.* 39, 2827-2834.
- Zhigang Liu, GeSong , Chen Zou , GongguanLiu a, Wanqiang Wu , Tian Yuan , XueboLiu. 2015. Acrylamide induces mitochondrial dysfunction and apoptosis in BV-2 microglial cells. *Free Radical Biology and Medicine* 84, 42–53.
- Zine, S., Gharby, S., El Hadek, M. 2013. Physicochemical characterization of opuntia ficus-indica seed oil from Morocco. *Biosci. Biotechnol. Res. Asia* 10 (1), 1–7.
- Zingg, Jean-Marc; Azzi, Angelo. 2004. Non-Antioxidant Activities of Vitamin E. *Current Medicinal Chemistry.* 11, 9, 1113-1133(21).
- Zito, P., Sajeve, M., Bruno, M., Rosselli, S., Maggio, A., Senatore, F. 2012. Essential oils composition of two Sicilian cultivars of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae) fruits (prickly pear). *Nat. Prod. Res.*,1–10.
- Zito Pietro, Sajeve Maurizio, Bruno Maurizio, Rosselli Sergio, Maggio Antonella and Senatore Felice. 2012. Essential oils composition of two Sicilian cultivars of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae) fruits (prickly pear). *Natural Product Research*, 1–10, iFirst.
- 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. *Sci. Hortic.* 113, 134-141.
- Zou, D.-M.; Brewer, M.; Garcia, F.; Feugang, J.M.; Wang, J.; Zang, R.; Liu, H.; Zou, C. 2005. Cactus pear: a natural product in cancer chemoprevention. *Nutr. J.* 4, 25.

VII. Annexe

A. Données supplémentaires

Tableau 2 : Les différentes espèces d'*Opuntia* existant au niveau international (Anderson, 2001).

1. <i>Opuntia acaulis</i>	64. <i>Opuntia ekmanii</i>	127. <i>Opuntia pilifera</i>
2. <i>Opuntia aciculata</i>	65. <i>Opuntia elata</i>	128. <i>Opuntia pinkavae</i>
3. <i>Opuntia aequatorialis</i>	66. <i>Opuntia elatior</i>	129. <i>Opuntia pittieri</i>
4. <i>Opuntia alko-tuna</i>	67. <i>Opuntia elizondoana</i>	130. <i>Opuntia pituitosa</i>
5. <i>Opuntia alta</i>	68. <i>Opuntia ellisiana</i>	131. <i>Opuntia polyacantha</i>
6. <i>Opuntia amyclaea</i>	69. <i>Opuntia engelmannii</i>	132. <i>Opuntia puberula</i>
7. <i>Opuntia ammophila</i>	70. <i>Opuntia excelsa</i>	133. <i>Opuntia pubescens</i>
8. <i>Opuntia anacantha</i>	71. <i>Opuntia feroacantha</i>	134. <i>Opuntia pumila</i>
9. <i>Opuntia andersonii</i>	72. <i>Opuntia ficus-indica</i>	135. <i>Opuntia pusilla</i>
10. <i>Opuntia antillana</i>	73. <i>Opuntia fragilis</i>	136. <i>Opuntia pycnanantha</i>
11. <i>Opuntia apurimacensis</i>	74. <i>Opuntia fuliginosa</i>	137. <i>Opuntia pyriformis</i>
12. <i>Opuntia arcei</i>	75. <i>Opuntia galapageia</i>	138. <i>Opuntia quimilo</i>
13. <i>Opuntia armata</i>	76. <i>Opuntia gosseliniana</i>	139. <i>Opuntia quitensis</i>
14. <i>Opuntia assumptionis</i>	77. <i>Opuntia guatemalensis</i>	140. <i>Opuntia rastrera</i>
15. <i>Opuntia atrispina</i>	78. <i>Opuntia guilanchi</i>	141. <i>Opuntia repens</i>
16. <i>Opuntia atropes</i>	79. <i>Opuntia helleri</i>	142. <i>Opuntia rileyi</i>
17. <i>Opuntia auberi</i>	80. <i>Opuntia hitchcockii</i>	143. <i>Opuntia ritten</i>
18. <i>Opuntia aurantiaca</i>	81. <i>Opuntia hondurensis</i>	144. <i>Opuntia robinsonii</i>
19. <i>Opuntia aurea</i>	82. <i>Opuntia howeyi</i>	145. <i>Opuntia roborensis</i>
20. <i>Opuntia aureispina</i>	83. <i>Opuntia huajuapensis</i>	146. <i>Opuntia robusta</i>
21. <i>Opuntia austrina</i>	84. <i>Opuntia humifusa</i>	147. <i>Opuntia rooneyi</i>
22. <i>Opuntia azurea</i>	85. <i>Opuntia hyptiacantha</i>	148. <i>Opuntia rufida</i>
23. <i>Opuntia bakeri</i>	86. <i>Opuntia inaequilateralis</i>	149. <i>Opuntia salmiana</i>
24. <i>Opuntia basilaris</i>	87. <i>Opuntia inaperta</i>	150. <i>Opuntia salvadorensis</i>
25. <i>Opuntia bella</i>	88. <i>Opuntia infesta</i>	151. <i>Opuntia sanguinea</i>
26. <i>Opuntia bensonii</i>	89. <i>Opuntia insularis</i>	152. <i>Opuntia santa-rita</i>
27. <i>Opuntia bisetosa</i>	90. <i>Opuntia jaliscana</i>	153. <i>Opuntia saxicola</i>
28. <i>Opuntia boldinghii</i>	91. <i>Opuntia jamaicensis</i>	154. <i>Opuntia scheeri</i>
29. <i>Opuntia bonplandii</i>	92. <i>Opuntia joconostle</i>	155. <i>Opuntia schickendantzii</i>
30. <i>Opuntia borinquensis</i>	93. <i>Opuntia karwinskiana</i>	156. <i>Opuntia securigera</i>
31. <i>Opuntia bravoana</i>	94. <i>Opuntia laevis</i>	157. <i>Opuntia soederstromiana</i>
32. <i>Opuntia caracassana</i>	95. <i>Opuntia lagunae</i>	158. <i>Opuntia spinosibacca</i>
33. <i>Opuntia cardiosperma</i>	96. <i>Opuntia larreyi</i>	159. <i>Opuntia spinulifera</i>
34. <i>Opuntia chaffeyi</i>	97. <i>Opuntia lasiacantha</i>	160. <i>Opuntia spraguei</i>
35. <i>Opuntia chavena</i>	98. <i>Opuntia leucotricha</i>	161. <i>Opuntia stenarthra</i>
36. <i>Opuntia chihuahuensis</i>	99. <i>Opuntia lilae</i>	162. <i>Opuntia stenopetala</i>
37. <i>Opuntia chisosensis</i>	100. <i>Opuntia littoralis</i>	163. <i>Opuntia streptacantha</i>
38. <i>Opuntia chlorotica</i>	101. <i>Opuntia lucayana</i>	164. <i>Opuntia stricta</i>
39. <i>Opuntia cochabambensis</i>	102. <i>Opuntia lutea</i>	165. <i>Opuntia strigil</i>
40. <i>Opuntia cochenillifera</i>	103. <i>Opuntia macrocentra</i>	166. <i>Opuntia subsphaerocarpa</i>
41. <i>Opuntia cognata</i>	104. <i>Opuntia macrorrhiza</i>	167. <i>Opuntia subulata</i>
42. <i>Opuntia colubrina</i>	105. <i>Opuntia martiniana</i>	168. <i>Opuntia sulphurea</i>
43. <i>Opuntia columbiana</i>	106. <i>Opuntia megacantha</i>	169. <i>Opuntia tapona</i>
44. <i>Opuntia conjungens</i>	107. <i>Opuntia megapotamica</i>	170. <i>Opuntia taylorii</i>
45. <i>Opuntia crassa</i>	108. <i>Opuntia megarrhiza</i>	171. <i>Opuntia tehuacana</i>
46. <i>Opuntia crystalenia</i>	109. <i>Opuntia megasperma</i>	172. <i>Opuntia tehuantepecana</i>

47. <i>Opuntia cubensis</i>	110. <i>Opuntia microdasys</i>	173. <i>Opuntia tenuiflora</i>
48. <i>Opuntia curassavica</i>	111. <i>Opuntia monacantha</i>	174. <i>Opuntia tomentella</i>
49. <i>Opuntia curvispina</i>	112. <i>Opuntia montevidensis</i>	175. <i>Opuntia tomentosa</i>
50. <i>Opuntia cymochila</i>	113. <i>Opuntia nejapensis</i>	176. <i>Opuntia triacantha</i>
51. <i>Opuntia darrahiana</i>	114. <i>Opuntia neochrysacantha</i>	177. <i>Opuntia tuna</i>
52. <i>Opuntia deamii</i>	115. <i>Opuntia nuda</i>	178. <i>Opuntia turbinata</i>
53. <i>Opuntia decumbens</i>	116. <i>Opuntia occidentalis</i>	179. <i>Opuntia undulata</i>
54. <i>Opuntia dejecta</i>	117. <i>Opuntia orbiculata</i>	180. <i>Opuntia urbaniana</i>
55. <i>Opuntia delaetiana</i>	118. <i>Opuntia oricola</i>	181. <i>Opuntia vaseyi</i>
56. <i>Opuntia depauperata</i>	119. <i>Opuntia pachona</i>	182. <i>Opuntia velutina</i>
57. <i>Opuntia depressa</i>	120. <i>Opuntia pachyrrhiza</i>	183. <i>Opuntia viridirubra</i>
58. <i>Opuntia dillenii</i>	121. <i>Opuntia pailana</i>	184. <i>Opuntia vitelliniflora</i>
59. <i>Opuntia discolor</i>	122. <i>Opuntia pampeana</i>	185. <i>Opuntia wetmorei</i>
60. <i>Opuntia durangensis</i>	123. <i>Opuntia parviclada</i>	186. <i>Opuntia wilcoxii</i>
61. <i>Opuntia echios</i>	124. <i>Opuntia penicilligera</i>	187. <i>Opuntia wootonii</i>
62. <i>Opuntia edwardsii</i>	125. <i>Opuntia pennellii</i>	188. <i>Opuntia zamudioi</i>
63. <i>Opuntia eichlamii</i>	126. <i>Opuntia phaeacantha</i>	

Tableau 12 : Estimation du phosphore

Gamme d'étalonnage							Echantillons		
Tubes	0	1	2	3	4	5	1/2	1/5	1/10
KH ₂ PO ₄ à 2µg/ml (µl)	0	250	500	750	1000	1250			
Eau distillé µl	3500	3250	3000	2750	2500	2250			
Molybdate d'ammonium 2.5% (ml)	500 (µl)								
Acide ascorbique 10%(ml)	500(µl)								
Acide perchlorique 70%(ml)	450(µl)								

Mettre au bain marie pour 5 minutes, puis lire la densité optique à 820 nm.

B. Liste des publications et des communications

Communications Orales

- 1-** El mzouri E ., **El kharrassi Y .**, Nasser B . Caractérisation du fruit du cactus (*Opuntia spp*) au Maroc, 7ème Congrès mondial Education de l'Environnement(WEEC) le 9-14 juin 2013 Marrakech, Maroc.
- 2-** **El Kharrassi Y.**, Samadi M., Lopez T., El Kebbaj R., Andreoletti P., Moustaid K., El Hajj H., Latruffe N., Vamecq J., El Kebbaj M-S., Masson D., Savary S., Lizard G., Nasser B and Cherkaoui-Malki M. Argan oil sterols as potential new LXR agonists. Colloque NutriOX 4-6 septembre Université de Bourgogne Dijon.
- 3-** **El Kharrassi Y.**, Mohammad Samadi., Tatiana Lopez., Riad El Kebbaj., Pierre Andreoletti., Khadija Moustaid., Hammam I. El Hajj., Norbert Latruffe., Joseph Vamecq., M'Hammed Saïd El Kebbaj., David Masson., Stéphane Savary., Gérard Lizard., Mustapha Cherkaoui-Malki and Boubker Nasser. Spinastérol et schotténol stérols, comme d'éventuels nouveaux agonistes de LXR. Journée national Scientifique Biologie Santé et Environnement du 22 à 23 Mai 2014. Journée National Scientifique Biologie Santé et Environnement du 22 à 23 Mai 2014.
- 4-** El Mzouri E., **Y. El Kharrassi .**, A. Mouiz, M. Yatim et B. Nasser. Caractérisations Botanique, Morpho-Agronomique, Phénologique et chimiques du Germoplasme du Cactus (*Opuntia spp*) Marocain. Programme des journées nationales du cactus Ben guérir, 17 e t18 décembre 2014.
- 5-** **Youssef El Kharrassi**, El Houssine El Mzouri, Ettaybi Mohamed, Aminata Kane, Boubker Nasser. Cladode Biochemical Characterization of Moroccan Cactus Pear (*Opuntia spp*) Species. Balkan Agricultural Congress 8-11 Septembre 2014 Turquie Edirne.
- 6-** El Houssine El Mzouri, **Youssef El Kharrassi**, Meriem Yatim, Sanaa Tayaf, Achraf Mabrouk, Boubker Nasser. Phenological Characterization of Cactus Pear Species (*Opuntia spp*) Cultivated in Morocco. Balkan Agricultural Congress 8-11 Septembre 2014 Turquie Edirne.
- 7-** Asmaa Badreddine, El Mostapha Karym, Amira Zarrouk, **Youssef El Kharrassi**, Thomas Nury, Boubker Nasser, Mustapha Cherkaoui-Malki1, Mohammad Samadi, Gérard Lizard. Evaluation of the cytoprotective effects of argan oil and of some of its major compounds (alpha-tocopherol, spinasterol, schottenol, and

ferrulic acid) on 7-ketocholesterol-treated 158N murine oligodendrocytes and human neuronal SK-N-BE cells. Workshop NutriOx 2014. 1 – 3 October 2014. Metz Technopôle, France.

8- Youssef El Kharrassi, My Hassan Sedra, Mouaad Amine Mazri, El Houssine El Mzouri, Boubker Nasser. Etude de la diversité génétique du cactus (*Opuntia spp.*) au Maroc par les descripteurs morphologiques et les marqueurs moléculaires. Le 1er Symposium 'Santé -Environnement-Développement durable' Impact de l'environnement sur la santé et la biodiversité. Le samedi 28 février 2015 à la Faculté des Sciences d'El Jadida.

9- Youssef El Kharrassi, Sedra My Hassan, Mazri Mouaad Amine, El Mzouri El Houssine, Nasser Boubker. Développement d'un protocole facile et efficace pour l'extraction d'ADN génomique à partir du figuier de Barbarie (*Opuntia spp*) pour les études PCR-ISSR/RAPD. Atelier sur les Ressources Génétiques Oasiennes« Rôles & Enjeux pour la Recherche & Développement » Errachidia le 29 & 30 Mai 2015.

10- El Kharrassi Youssef, Mazri Mouaad Amine, Mabrouk Achraf, Ettaybi Mohamed, Nasser Boubker, El Mzouri El Houssine. Evaluation de la teneur en sucres totaux des jeunes raquettes de différentes espèces du cactus (*Opuntia spp.*) provenant de plusieurs régions du Maroc. Atelier sur les Ressources Génétiques Oasiennes« Rôles & Enjeux pour la Recherche & Développement » Errachidia le 29 & 30 Mai 2015.

11- Youssef El Kharrassi, Mouaad Amine Mazri, AchrafMabrouk, Ettaybi Mohamed, Aminata Kane, El Houssine El Mzouri and Boubker Nasser. Biochemical Characterization of Different Cactus Pear Accessions (*Opuntia spp*) from Different Regions of Morocco. 4th International Conference on Food Processing & Technology, London, UK August 10-12, 2015.

12- Youssef El Kharrassi, Mohammad Samadi., Tatiana Lopez, Riad El Kebbaj., Pierre Andreoletti., Hammam I. El Hajj., Joseph Vamecq., Khadija Moustaid., Norbert Latruffe., M'Hammed Saïd El Kebbaj., David Masson., Gérard Lizard., Boubker Nasser and Mustapha Cherkaoui-Malki. Evaluation de l'Activité Biologique des Phytostérols majoritaire de l'Huile d'Argan : Spinastérol et Schotténol sur des cellules microgliale Bv2 de souris. 3eme Congrès International de l'Arganier. 17-18 Decembre 2015, Agadir, Maroc.

Communications Affichées

- 1- El Kharrassi Y., El Mzouri E., Andreoletti P., Latruffe N., El Kebbaj M-S., Lizard G., Cherkaoui-Malki M et Nasser B.** Caractérisation morphoanatomique et phénologique d'espèces d'*Opuntia spp* (figuier de Barbarie) présentes au Maroc, Forum des Jeunes Chercheurs 13-14 juin 2013 Dijon.
- 2- El Kharrassi Y.**, Maata N., Moustaid K., Badreddine A., El Mzouri E., El Kebbaj MS., Essamadi AK., Cherkaoui-Malki M , Nasser B. Comparative study of antioxidants composition of argan and olive oils 13th International conference on Antioxidants 2013, june 26-28 Marrakech Morocco.
- 3- El Kharrassi Y.**, Moustaid K., Maata N., Karym E., A., El MzouriE., El Kebbaj MS., Essamadi AK., Cherkaoui-Malki M , Nasser B. Antioxidant compounds identification and quantification in seed oil and in essential oil from young cladode of the Moroccan cactus, *Opuntia ficus indica*, june 26-28 Marrakech Morocco.
- 4- El Kharrassi Y.**, Samadi M., Lopez T., El Kebbaj R., Andreoletti1 P., Moustaid K., El Hajj H., Latruffe N., Vamecq J., El Kebbaj M-S., Masson D., Savary S., Lizard G., Nasser B and Cherkaoui-Malki M. Aragn oil sterols as potential new LXR agonists. Colloque NutriOX 4-6 septembre Université de Bourgogne Dijon.
- 5- El Kharrassi Y.**, SAMADI M., Lopez T., El Kebbaj R., Andreoletti1 P., Moustaid K., El Hajj H., Latruffe N., Vamecq J., El Kebbaj M-S., Masson D., Savary S., Lizard G., Nasser B and Cherkaoui-Malki M. Aragn oil sterols as potential new LXR agonists. 3rd ENOR symposium 'OXYSTEROLS: Markers and Pathways' Swansea-United Kingdom 19-20 September 2013.
- 6- El kharrassi.Y.**, ELMzouri E., Talha A., Benyahya H., Allai L., Nasser B. Diversité des écotypes du fruit de cactus au Maroc.VIII International International Cactus Pear and Cochineal Symposium 2013, Octobre 27-31 Palermo Italy.
- 7- El Kharrassi Y.**,El Mzouri E .et Nasser B. Répartition géographique de cactus (*Opuntia spp*) au Maroc dans les zones arides et semi arides. Journée national Scientifique Biologie Santé et Environnement du 22 à 23 Mai 2014. Journée national Scientifique Biologie Santé et Environnement du 22 à 23 Mai 2014.

- 8-** El Kebbaj R., El Kamouni S., Andreoletti P., **El Kharrassi Y.**, Mandard S., Latruffe N., Vamecq J., El Kebbaj M.S., Lizard G., Nasser B., and Cherkaoui M.M. L'effet de l'huile d'argan sur la régulation de la β -Oxydation au niveau hépatique chez la souris. Journée nationale Scientifique Biologie Santé et Environnement du 22 à 23 Mai 2014. Journée nationale Scientifique Biologie Santé et Environnement du 22 à 23 Mai 2014.
- 9-** Boubker Nasser., **Youssef El Kharrassi.**, Khadija Moustaid, Abdel Khalid Essamad., El Houssine El Mzouri. Morpho-anatomical and phenological characterization of species of *Opuntia spp* (prickly pear) present in Morocco. Balkan Agricultural Congress 8-11 Septembre 2014 Turquie Edirne.
- 10-** Khadija Moustaid., **Youssef El Kharrassi.**, Nadia Mataa., Abdel Khalid Essamad., El Houssine El Mzouri and Boubker Nasser. Comparative Study of chemical Composition between Seeds Oil of Cactus (*Opuntia ficus indica*) and argan oil (*Argania spinosa*) in Morocco. Balkan Agricultural Congress 8-11 Septembre 2014 Turquie Edirne.
- 11-** **Youssef El Kharrassi**, El Houssine El Mzouri, Meriem. Massoudi, Amina. Nadif, Boubker Nasser. Etude de la variabilité génétique à partir la fleur des écotypes issues de deux espèces de cactus : *Opuntia ficus indica* et *Opuntia megacantha slam dyck* au Maroc. Rencontre Internationale des Jeunes Chercheurs sur les Plantes Aromatiques et Médicinales. Meknès 29-31 Octobre 2014.
- 12-** Asmaa Badreddine, El Mostapha Karym, **Youssef El Kharrassi**, Amira Zarrouk, Thomas Nury, Boubker Nasser, Mustapha Cherkaoui-Malki, Gérard Lizard, Mohammad Samadi. An expeditious synthesis of spinasterol and schottenol, two phytosterols present in argan oil and in cactus pear seed oil, and evaluation of their biological activities on cells of the central nervous system. 4th Enor symposium translational research on oxysterols. Coimbra, Portugal 18-19 September 2014.
- 13-** Asmaa Badreddine, El Mostapha Karym, Amira Zarrouk, **Youssef El Kharrassi**, Thomas Nury, Boubker Nasser, Mustapha Cherkaoui-Malki, Mohammad Samadi, Gérard Lizard. Evaluation of the cytoprotective effects of argan oil and of some of its major compounds (alpha-tocopherol, spinasterol, schottenol, and ferrulic acid) on 7-ketocholesterol-treated 158N murine oligodendrocytes and human neuronal SK-N-BE cells. Workshop NutriOx 2014. 1 – 3 October 2014. Metz Technopôle, France.
- 14-** Asmaa Badreddine, El Mostapha Karym, **Youssef El Kharrassi**, Amira Zarrouk, Thomas Nury, Boubker Nasser, Mustapha Cherkaoui-Malki, Gérard Lizard, Mohammad Samadi. An expeditious synthesis of spinasterol and schottenol, two phytosterols present in argan oil and in cactus pear seed oil, and evaluation of

their biological activities on cells of the central nervous system. Workshop NutriOx 2014. 1 – 3 October 2014. Metz Technopôle, France.

15- Youssef El Kharrassi, El Houssine El Mzouri, Khadija Mostaid, Mustapha Cherkaoui-Malki et Boubker Nasser. Etude comparative de la composition phénolique et lipidique de la fleur de deux espèces de cactus (*Opuntia spp*). 1^{er} Colloque International Santé, Environnement & Entreprise. 21-22 Novembre 2014. Faculté des Sciences et Techniques de Mohammedia.

16- Mazri Mouaad Amine, El Kharrassi Youssef, Meziani Reda, El Mzouri El Houssine, Nasser Boubker. Effet des extraits méthanoliques de 7 espèces du cactus (*Opuntia spp.*) sur la multiplication in vitro du palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) cv. Mejhoul. 3eme Congrès International de la Biodiversité végétale. 9-11 Octobre 2015, Marrakech, Maroc.

17- Youssef El Kharrassi, Nadia Maata, Mouaad Amine Mazri, El-Mostafa Karym, Riad El Kebbaj, El Kamouni Soufiane, Asmaa Badreddine, Pierre Andreoletti, Khadija Moustaid, El Houssine El Mzouri, Gérard Lizard, Cherkaoui-Malki, Mustapha and Boubker Nasser. 3eme Congrès International de l'Arganier. 17-18 Decembre 2015, Agadir, Maroc.

Publications

1- Youssef El Kharrassi, Mohammad Samadi., Tatiana Lopez, Riad El Kebbaj., Pierre Andreoletti., Hammam I. El Hajj., Joseph Vamecq., Khadija Moustaid., Norbert Latruffe., M'Hammed Saïd El Kebbaj., David Masson., Gérard Lizard., Boubker Nasser and Mustapha Cherkaoui-Malki. Biological activities of Schottenol and Spinasterol, two natural phytosterols present in argan oil and in cactus pear seed oil. Biochemical and Biophysical Research Communication. 2014; 446 (3) 798–804. IF= 2.4. Elseiver.

2- Youssef El Kharrassi, Mouaad Amine Mazri., Hamid. Benyahia, Hassan. Benaouda., EL Houssine. EL Mzouri and Boubker Nasser. Fruit and juice characteristics of two cactus pear species (*Opuntia ficus indica* and *O. megacantha*) from different regions of Morocco. LWT-Journal food Science and Technology 65 (2016) 610-617 (Accepté). IF=2, 47 Elseiver.

- 3- Youssef El Kharrassi**, Mouaad Amine Mazri, Achraf Mabrouk, El Houssine El Mzouri and Boubker Nasser. Flowering and fruiting phenology, and physico-chemical characteristics of 2-year-old plants of six species of *Opuntia* from eight regions of Morocco. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* (2015) 90 (6) 682–688 (Accepté). IF= 0, 54. Taylor Francis.
- 4- El-Mostafa, Karym***; **El Kharrassi, Youssef*** .; Badreddine, Asmaa; Andreoletti, Pierre; Vamecq, Joseph; Kebbaj, M'Hammed S.E.; Latruffe, Norbert; Lizard, Gérard; Nasser, Boubker; Cherkaoui-Malki, Mustapha. 2014. "Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a Source of Bioactive Compounds for Nutrition, Health and Disease." *Molecules* 19, no. 9: 14879-14901. IF= 2.09.*Equal Contribution. MDPI.
- 5- El mzouri E ., El kharrassi Y .**, Nasser B . Caractérisation du fruit du cactus (*Opuntia spp*) au Maroc, Proceedings of World Environmental Education Congress (7thWEEC) Marrakech, Morocco 2013 9-14 june. Oral papers. Niche 5 Ecological economics and green economies. 2014 Page: 82-87. ISBN 9788885313361.
- 6- Asmaa Badreddine, Karym El Mostafa, Amira Zarrouk , Thomas Nury , Youssef El Kharrassi**, Boubker Nasser , Mustapha Cherkaoui Malki , Gérard Lizard , Mohammad Samadi. An expeditious synthesis of spinasterol and schottenol, two phytosterols present in argan oil and in cactus pear seed oil, and evaluation of their biological activities on cells of the central nervous system. *Steroids* 99 (2015) 119–124. If= 2.8 Elseiver.
- 7- El Kebbaj R., Andreoletti P., El Hajj H., El Kharrassi Y.**, Vamecq J., Mandard S., Saih FE., Latruffe N., El Kebbaj M-S., Lizard G., Nasser B and Cherkaoui-Malki M. Argan oil prevents down-regulation induced by endotoxin on liver fatty acid oxidation and gluconeogenesis and on Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator-1<alpha>, (PGC-1<alpha>), Peroxisome Proliferator-Activated Receptor <alpha> (PPAR<alpha>) and Estrogen Related Receptor <alpha> (ERR<alpha>). *Biochimie Open* 2016 1-9 (Accepted). If=3 Elseiver.
- 8- Mabrouk Achraf, Abbas Youness, Malika Fakiri, El Kharrassi Youssef**, El Mzouri El Mzouri. Caractérisation phénologique du cactus (*Opuntia spp*) sous les conditions édapho-climatiques de la région de Chaouia-Ouardigha. *Journal of Materials and Environmental Science*, If=1,21 Scopus (Soumis).
- 9- Youssef El Kharrassi**, Mouaad Amine Mazri, My Hassan Sedra, Boubker Nasser and El Houssine El Mzouri. Genetic diversity of *Opuntia spp*. In Morocco as revealed by morphological traits and molecular markers. *Acta Botanica Gallica Journal* 2015. If= 0,4 Taylor Francis (Soumis).