



FACULTÉ DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Numéro d'inscription:.....

Numéro de série .....

# Thèse

Présentée pour l'obtention du diplôme de

**DOCTORAT 3<sup>ème</sup> cycle (LMD)**

Filière : BIOTECHNOLOGIE

Option : Biotechnologie et valorisation des plantes

THEME

**Valorisation de la culture de l'arganier *Argania spinosa* (L)**

**Skeel par voie biotechnologique**

**Présentée par : Mme. HAOUAME Imane**

**Soutenue le 24 Nov 2025**

**Devant le jury composé de:**

| <u>Nom &amp; Prénom</u> | <u>Grade</u> | <u>Etablissement</u>         | <u>Qualité</u> |
|-------------------------|--------------|------------------------------|----------------|
| Mr. Smaili Tahar        | Pr.          | Univ. de M'sila              | Président      |
| Mr.Nadjim Semcheddine   | Dr.          | Univ. de Sétif               | Encadrant      |
| Mr. BENDIF Hamdi        | Pr.          | Univ. de M'sila              | Co-encadrant   |
| Mr.Boukeloua Ahmed      | Pr.          | Université de Oum El Bouaghi | Examinateur    |
| Mme.Guettouchi Ahlem    | Dr.          | Univ. de M'sila              | Examinatrice   |

Année Universitaire : 2024/2025

---

# REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à toutes les personnes qui ont, de près ou de loin, contribué à l'élaboration de cette thèse.

Tout d'abord, je remercie sincèrement mon encadrant, Dr. **Nadjim Semcheddine**, Maître de conférences à l'Université de Sétif, pour nous avoir proposé le sujet et orienté afin de bien mener notre expérimentation

Je souhaite également exprimer toute ma gratitude à mon co-encadrante, Prof. **BENDIF Hamdi**, professeur à l'Université de Msila, pour son orientation, sa gentillesse, sa disponibilité, son attention et ses conseils, et de nous avoir permis de mener ce travail dans de bonnes conditions.

Nous tenons à remercier chaleureusement **Mr. Abdelkader Morsli** professeur à de l'ENSA d'Alger de m'avoir accueilli dans son laboratoire de la culture in vitro, pour son expertise et sa disponibilité, qui ont grandement contribué à la réalisation de ce travail

Mes remerciements vont aussi à Madame BOUREKOUA Hayat pour son aide dans la réalisation d'une partie cruciale de ce travail, notamment l'optimisation de l'extraction des plantes.

Je tiens à remercier Pr. Mehmet Ozturk, de l'université de Mugla –Turquie, de m'avoir accueilli dans son laboratoire et guider pendant mon stage ainsi que sa gentillesse.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Monsieur BENSOUICI Chawki, avec qui j'ai eu l'honneur de collaborer au centre de recherche en biotechnologie de Constantine. Sa contribution et son soutien ont été d'une grande valeur pour l'avancement de mes recherches.

Enfin, je tiens à exprimer ma profonde gratitude aux membres du jury, Pr. Tahar SMAILI président du jury, Pr. Boukeloua Ahmed, Dr. Guettouchi Ahlem pour leur temps, leurs remarques constructives et leur expertise.

Nous exprimons nos remerciements à tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin et encouragé pour la réalisation de ce travail, qu'ils trouvent ici l'expression de nos remerciements les plus sincères.

À vous tous, j'adresse mes remerciements les plus sincères.

# DEDICACES

**Je dédie ce travail à**

**Mes chers parents qui m'ont soutenu tout au long de mes études ;**

**Mes frères ; Mon mari ;**

**Toute ma grande famille ;**

**et ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans les moments les plus difficiles.**

**IMANE**

---

**Résumé :** L'arganier est reconnu pour ses divers avantages, qui incluent des usages médicaux (potentiels bienfaits pour la santé), des rôles écologiques (comme la stabilisation des sols et la fourniture d'habitats) et une valeur économique (particulièrement à travers la production d'huile d'argan). L'étude vise à étudier les extraits d'argan en analysant leur composition chimique et activités biologiques. Deux types d'extraits ont été préparés à partir de l'arganier (feuilles et graines) en utilisant du méthanol et de l'éther de pétrole comme solvants. L'ICP-MS a été utilisé pour analyser la teneur minérale des extraits, révélant des niveaux significatifs de fer et de zinc, alors que l'HPLC-DAD est employé pour identifier et quantifier les composés phénoliques dans les extraits méthanoliques, connus pour leurs propriétés antioxydantes, tandis que la GC-MS est utilisé pour analyser la composition en acides gras des extraits d'éther de pétrole, cette étude constitue la première investigation de la composition volatile de *Argania spinosa* récoltée en Algérie, utilisant l'extraction en phase solide par espace de tête et la chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (HS-SPME-GC/MS). L'étude a trouvé de fortes concentrations de minéraux essentiels, en particulier le fer (79,27 mg/L) et le zinc (74,34 mg/L), avec le potassium étant le macro-élément le plus abondant (0,43 %). Pour les composés Phénoliques, huit composés phénoliques ont été identifiés dans l'extrait méthanolique, avec le rutin et la catéchine étant les plus notables. L'analyse GC-MS a révélé une large gamme d'acides gras dans les feuilles et les graines, avec les acides oléique et linoléique étant les plus prévalents. L'HS-SPME-GC/MSa permis d'identifier 44 composés, représentant 96,9 % des composants totaux. Ces composés appartiennent à diverses classes chimiques, notamment les hydrocarbures sesquiterpéniques (22) et les dérivés non terpéniques (13), en tant que groupes majeurs. De manière remarquable, le profil volatil de *argania spinosa* était dominé par les sesquiterpénoïdes (87,1 %), en particulier les hydrocarbures sesquiterpéniques (83 %). L'analyse du profil aromatique a révélé que les principaux métabolites étaient le  $\beta$ -caryophyllène, l' $\alpha$ -gurjunène et le germacrène D. La capacité antioxydante des extraits a été évaluée à l'aide de trois tests (DPPH, ABTS, CUPRAC), montrant que les extraits méthanoliques des feuilles présentaient une activité antioxydante supérieure par rapport aux extraits d'éther de pétrole. L'étude a également évalué la capacité des extraits à inhiber des enzymes spécifiques (AChE, BChE,  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase), les extraits méthanoliques des feuilles montrant un potentiel d'inhibition significatif. Les résultats indiquent que les extraits d'arganier sont riches en produits chimiques bioactifs, en particulier des composés phénoliques et des acides gras, qui contribuent à leurs propriétés antioxydantes et antidiabétiques. L'étude suggère que ces extraits pourraient être utilisés à des fins thérapeutiques, soulignant leur potentiel dans des applications liées à la santé. Dans l'ensemble, l'étude résume une enquête complète sur les propriétés chimiques et biologiques d'*A. spinosa*, en mettant l'accent sur ses avantages et applications potentiels en santé et médecine. Les résultats de cette étude ont démontré que les milieux de culture jouent un rôle crucial dans la germination et la croissance des explants d'*A. spinosa*. Les graines provenant de Tindouf ont affiché des taux de germination nettement supérieurs à ceux des graines de Mostaganem, atteignant jusqu'à 90 % dans des milieux tels que l'eau gélosée et le milieu MS. En ce qui concerne la micropropagation, le milieu MS sans BAP a donné les meilleurs résultats en termes de taille de la partie aérienne et de nombre de feuilles, tandis que des concentrations faibles de BAP (0 et 0.5 mg/ml) ont favorisé le développement du nombre de nœuds. Ces résultats soulignent l'importance d'optimiser les conditions de culture pour améliorer la germination et la croissance des plants d'arganier, contribuant ainsi à la conservation de cette espèce.

**Mots-clés :** Composés phénoliques, acides gras, *Argania spinosa*, Antioxydant, HPLC-DAD, GC-MS, capacité antidiabétique, Micropropagation, Milieu de culture

---

## المخلص:

يُعرف شجر الأركان بفوائده المتعددة، والتي تشمل الاستخدامات الطبية، والأدوار البيئية (مثل تثبيت التربة وتوفير الموائل)، والقيمة الاقتصادية (خاصة من خلال إنتاج زيت الأركان). تهدف هذه الدراسة إلى تحليل مستخلصات الأركان من خلال دراسة تركيبها الكيميائي وأنشطتها البيولوجية. تم تحضير نوعين من المستخلصات من الأركان (الأوراق والبذور) باستخدام الميثانول وإيثر البترول كمذيبات. تم استخدام ICP-MS لتحليل المحتوى المعدني للمستخلصات، مما كشف عن مستويات مرتفعة من الحديد والزنك، بينما تم استخدام HPLC-DAD لتحديد وقياس المركبات الفينولية في المستخلصات الميثانولية، المعروفة بخصائصها المضادة للأكسدة. أما GC-MS فقد استخدم لتحليل تركيب الأحماض الدهنية في مستخلصات إيثر البترول. تعد هذه الدراسة أول تحقيق في التركيب المتطاير لنبات *spinosa Argania* الذي جُمع من الجزائر، وذلك باستخدام تقنية الاستخلاص الطوري الصلب بالفراغ والرأس (HS-SPME) والتحليل بواسطة كروماتوغرافيا الغاز/مطياف الكتلة (GC-MS). كشفت الدراسة عن تركيزات مرتفعة من المعادن الأساسية، لا سيما الحديد (79.27 ملغم/لتر) (والزنك 74.34 ملغم/لتر)، مع كون البوتاسيوم أكثر العناصر الكبرى وفرة (0.43%) بالنسبة للمركبات الفينولية، تم تحديد ثمانية مركبات فينولية في المستخلص الميثانولي، وكان الروتين والكاتشين الأبرز بينها. أظهر تحليل GC-MS تنوعاً واسعاً في الأحماض الدهنية داخل الأوراق والبذور، حيث كان حمض الأوليك واللينولييك الأكثر انتشاراً. كما أتاح تحليل HS-SPME-GC/MS تحديد 44 مركباً، تمثل 96.9% من المكونات الكلية. تنتمي هذه المركبات إلى فئات كيميائية مختلفة، وأبرزها الهيدروكربونات السيسكويتيربينية (22 مركباً) (والمشتقات غير التربينية 13 مركباً). بشكل ملحوظ، كان الملف المتطاير لنبات *argania spinosa* غنياً بالسيسكويتيربينويدات (87.1%)، وخاصة الهيدروكربونات السيسكويتيربينية (83%). أظهر تحليل المركبات العطرية أن  $\beta$ -كاروفيلين،  $\alpha$ -غورجونين، وجرماكرين D كانت من

المركبات الرئيسية. تم تقييم القدرة المضادة للأكسدة للمستخلصات باستخدام ثلاثة اختبارات DPPH، ABTS، CUPRAC، حيث أظهرت المستخلصات الميثانولية للأوراق نشاطاً مضاداً للأكسدة أعلى مقارنة بمستخلصات إيثر البترول. كما تم تقييم قدرة المستخلصات على تثبيط إنزيمات محددة  $\alpha$ ، BChE، AChE-أميلاز،  $\alpha$ -جلوكوزيداز، وأظهرت المستخلصات الميثانولية للأوراق قدرة تثبيط ملحوظة. تشير النتائج إلى أن مستخلصات الأركان غنية بالمركبات الكيميائية النشطة بيولوجياً، وخاصة المركبات الفينولية والأحماض الدهنية، مما يساهم في خصائصها المضادة للأكسدة والمضادة لمرض السكري. تقترح الدراسة إمكانية استخدام هذه المستخلصات لأغراض علاجية، مما يبرز إمكاناتها في التطبيقات الصحية والطبية بشكل عام، تقدم هذه الدراسة تحليلاً شاملاً للخصائص الكيميائية والبيولوجية لنبات *spinosa*، مع التركيز على فوائده وتطبيقاته الصحية والطبية المحتملة. كما كشفت النتائج أن وسط الزراعة يلعب دوراً رئيسياً في إنبات ونمو الأجزاء النباتية للأركان. أظهرت البذور المأخوذة من منطقة تندوف معدلات إنبات أعلى بكثير مقارنة بتلك القادمة من مستغانم، حيث وصلت نسبة الإنبات إلى 90% في أوساط مثل الماء الجيلاتيني ووسط MS. أما في الإكثار الدقيق، فقد أعطى وسط MS بدون BAP أفضل النتائج من حيث طول الجزء الهوائي وعدد الأوراق، بينما شجعت التراكيز المنخفضة من BAP 0 و 0.5 ملغم/مل على تطور عدد العقد. تسلط هذه النتائج الضوء على أهمية تحسين ظروف الزراعة لتعزيز إنبات ونمو شتلات الأركان، مما يساهم في حماية هذا النوع النباتي المهم.

## الكلمات المفتاحية:

المركبات الفينولية، الأحماض الدهنية، *L. spinosa Argania*، مضاد للأكسدة، GC-MS، HPLC-DAD، النشاط المضاد لمرض السكري، الإكثار الدقيق، تحسين وسط الزراعة.

---

## Abstract

The argan tree is recognized for its various benefits, which include medicinal uses (potential health benefits), ecological roles (such as soil stabilization and habitat provision), and economic value (especially through the production of argan oil). This study aims to investigate argan extracts by analyzing their chemical composition and biological activities. Two types of extracts were prepared from the argan tree (leaves and seeds) using methanol and petroleum ether as solvents. **ICP-MS** was used to analyze the mineral content of the extracts, revealing significant levels of iron and zinc, while **HPLC-DAD** was employed to identify and quantify the phenolic compounds in the methanolic extracts, known for their antioxidant properties. **GC-MS** was used to analyze the fatty acid composition of the petroleum ether extracts. This study represents the first investigation of the volatile composition of *Argania spinosa* harvested in Algeria, using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry (**HS-SPME-GC/MS**). The study found high concentrations of essential minerals, particularly iron (79.27 mg/L) and zinc (74.34 mg/L), with potassium being the most abundant macronutrient (0.43%). Eight phenolic compounds were identified in the methanolic extract, with rutin and catechin being the most notable. **GC-MS** analysis revealed a wide range of fatty acids in the leaves and seeds, with oleic and linoleic acids being the most prevalent. The **HS-SPME-GC/MS** identified 44 compounds, representing 96.9% of the total components. These compounds belong to various chemical classes, notably sesquiterpene hydrocarbons (22) and non-terpenoid derivatives (13) as major groups. Remarkably, the volatile profile of *argania spinosa* was dominated by sesquiterpenoids (87.1%), particularly sesquiterpene hydrocarbons (83%). The aromatic profile analysis revealed that the main metabolites were  $\beta$ -caryophyllene,  $\alpha$ -gurjunene, and germacrene D. The antioxidant capacity of the extracts was evaluated using three tests (DPPH, ABTS, CUPRAC), showing that the methanolic leaf extracts exhibited superior antioxidant activity compared to the petroleum ether extracts. The study also evaluated the extracts' ability to inhibit specific enzymes (AChE, BChE,  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase), with the methanolic leaf extracts showing significant inhibition potential. The results indicate that argan tree extracts are rich in bioactive compounds, particularly phenolic compounds and fatty acids, which contribute to their antioxidant and antidiabetic properties. The study suggests that these extracts could be used for therapeutic purposes, highlighting their potential in health-related applications. Overall, the study provides a comprehensive investigation into the chemical and biological properties of *A. spinosa*, emphasizing its potential health and medicinal benefits and applications. The results demonstrated that culture media play a crucial role in the germination and growth of *A. spinosa* explants. Seeds from Tindouf showed significantly higher germination rates than those from Mostaganem, reaching up to 90% in media such as gelled water and MS medium. In terms of micropropagation, MS medium without BAP gave the best results in terms of shoot length and leaf number, while low concentrations of BAP (0 and 0.5 mg/ml) favored the development of node number. These results underscore the importance of optimizing culture conditions to enhance the germination and growth of argan seedlings, thus contributing to the conservation of this species.

### Keywords:

Phenolic compounds, fatty acids, *Argania spinosa*, Antioxidant, HPLC-DAD, GC-MS, Antidiabetic capacity, Micropropagation, Culture media.



## Sommaire

|                           |   |
|---------------------------|---|
| Résumé                    |   |
| المخلص                    |   |
| Abstract                  |   |
| Liste des figures         |   |
| Liste des tableaux        |   |
| Liste des<br>abréviations |   |
| <b>Introduction</b> ..... | 1 |

### Chapitre I : Revue bibliographique

|   |    |
|---|----|
| <b>1. : Généralité sur l'arganier</b> .....                                       | 4  |
| 1.1. Aspect historique.....   | 4  |
| 1.2. Répartition géographique.....  | 4  |
| 1.3. Description, botanique et taxonomie de l'arganier.....                       | 6  |
| 1.4. Conditions climatiques de l'arganier.....                                    | 12 |
| 1.5. Conditions édaphiques.....   | 12 |
| 1.6. Importance de l'arganier.....  | 14 |
| 1.7. Ravageurs et autres difficultés influant sur l'arganier.....                 | 14 |
| 1.8. Les causes du problème du non régénération de l'arganier.....                | 14 |
| <b>2. Phytochimie et activité biologique de l'arganier</b> .....                  | 15 |
| 2.1. Métabolites secondaires.....   | 15 |
| 2.2. Composition chimique des feuilles d'arganier.....                            | 2  |
| 2.3. Méthodes et instrument d'analyses des extraits de plantes.....               | 21 |
| 2.4. Activités biologiques des extraits de plantes.....                           | 22 |
| <b>3. Culture de l'arganier</b> .....   | 24 |
| 3.1. Régénération de l'arganier.....  | 24 |
| 3.1.1. Méthode classique.....   | 24 |
| 3.1.2. Régénération par voie biotechnologique.....                                | 25 |
| 3.1.3. Applications de la culture <i>in vitro</i> .....                           | 27 |
| 3.2. Travaux antérieurs réalisé sur la culture <i>in vitro</i> de l'arganier..... | 28 |

### Chapitre II : Matériels et Méthodes

|   |    |
|---|----|
| <b>1. Culture <i>in vitro</i></b> .....   | 30 |
| 1.1. Matériel végétal.....  | 30 |
| 1.2. Application.....   | 32 |
| <b>2. Valorisation phytochimique et activité phytochimique d'<i>Argania spinosa</i></b> ..... | 36 |

|   |    |
|---|----|
| 2.1. Produit chimique.....  | 36 |
| 2.2. Matériel végétal.....  | 37 |
| 2.3. Préparation des extraits brut.....                                       | 38 |
| 2.4. Analyse de la teneur minérale par ICP-MS.....                            | 39 |
| 2.5. Analyses par chromatographie liquide à haute performance (HPLC-DAD)..... | 40 |
| 2.6. Analyse des acides gras et des composants volatils par GC-MS.....        | 43 |
| 2.7. Extraction par HS-SPME et analyses GC/MS.....                            | 44 |
| 2.8. Activités biologiques.....   | 45 |
| Activité antioxydantes.....   | 45 |
| Activité inhibitrice enzymatique.....   | 46 |
| 3. Analyses statistiques.....   | 49 |

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. Germination et micro propagation.....</b>                                 | <b>49</b> |
| 1.1. Germination des graines.....   | 49        |
| 1.2. Micro propagation des vitro plants de Tindouf.....                         | 57        |
| 1.3. Micro propagation des cotylédons d' <i>Argania spinosa</i> de Tindouf..... | 61        |
| 1.4. Discussion.....  | 66        |
| <b>2. Etude phytochimique et biologique de <i>Argania Spinosa</i>.....</b>      | <b>70</b> |
| 2.1. Analyses minérales.....  | 70        |
| 2.2. Analyse quantitative des composés phénoliques par HPLC-DAD.....            | 70        |
| 2.3. Composition en acides gras par GC-MS.....                                  | 74        |
| 2.4. Résultats de l'HS-SPME-GC-MS du contenu volatil.....                       | 80        |
| 2.5. Activités biologiques.....   | 83        |
| <b>Conclusion et perspectives.....</b>  | <b>87</b> |
| Références bibliographiques.....  | 89        |

## Liste des figures

| N° | Titres   | Pages |
|----|--|-------|
| 1  | Répartitions géographiques de l'arganier en Algérie  | 5     |
| 2  | Carte des principaux peuplements de l'arganerie  | 6     |
| 3  | Arbre d'arganier   | 7     |
| 4  | Description de l'arganier ; (A) fleur (Nouaim et al., 1991) ; (B) (C) feuille et ramification  | 9     |
| 5  | Racines de l'arganier  | 10    |
| 6  | Fruit d'arganier, (A) (C) graine ; (B) amande et tégument ; (D) amande.  | 11    |
| 7  | Structure de base d'un acide hydroxybenzoïques   | 16    |
| 8  | Structure de base d'un acide cinnamique  | 16    |
| 9  | Structure de base d'un phénylpropane (1) et d'une lignane (2)  | 17    |
| 10 | Structure de base de flavonoïde  | 18    |
| 11 | Structure de base d'un stilbene  | 18    |
| 12 | Structure de base des terpénoides.(isoprène) C <sub>5</sub> H <sub>8</sub>   | 20    |
| 13 | Bouturage de l'arganier  | 25    |
| 14 | Matériel végétal de deux régions différentes (graines et amandes d' <i>A. spinosa</i> )<br>A - graines de Mostaganem ; B- graine de Tindouf ; C- amande de Tindouf ;<br>D- amande de Mostaganem. | 30    |
| 15 | Arbre d'arganier observé dans le forêt de Mostaganem   | 31    |
| 16 | Fruit d'arganier lors de la récolte en juillet 2022.   | 31    |
| 17 | Etapes de stérilisation des amandes d'arganiers  | 32    |
| 18 | Tubes à essais dans une chambre de culture après la mise en culture  | 34    |
| 19 | Disposition du matériel sur la paillasse de la hotte et repiquage des vitro plants   | 35    |
| 20 | Mise en culture des vitro plants et des cotylédons d' <i>argania spinosa</i> ( A-vitro-plant : B-cotylédons )  | 36    |
| 21 | Le matériel végétal, montrant les feuilles et les graines de <i>A. spinosa</i> .   | 38    |
| 22 | Taux de germination des graines d' <i>Argania spinosa</i> en fonction des milieux de culture et de la région   | 51    |
| 23 | Cinétique de germination des graines d' <i>Argania spinosa</i> en fonction des milieux de culture et de la région  | 52    |
| 24 | Germination des graines d' <i>Argania spinosa</i> de Tindouf en fonction des milieux de culture après 4 semaines   | 54    |
| 25 | Germination des graines d' <i>Argania spinosa</i> de Mostaganem en fonction des milieux de culture après 4 semaines  | 54    |
| 26 | Nombre de feuilles après germination des graines d' <i>Argania spinosa</i> en fonction des milieux de culture et de la région  | 55    |
| 27 | Longueur de la partie aérienne (cm) après germination des graines d' <i>Argania spinosa</i> en fonction des milieux de culture et de la région   | 55    |
| 28 | Longueur de racines (cm) après germination des graines d' <i>Argania spinosa</i> en fonction des milieux de culture et de la région  | 56    |
| 29 | Nombre des nœuds après la micro propagation des vitro plants d' <i>Argania spinosa</i> de Tindouf en fonction des milieux de culture (BAP) et du   | 58    |

|    |  |    |
|----|--|----|
|    | temps  |    |
| 30 | Taille de la partie aérienne (cm) après la micro propagation des vitro plants d' <i>Argania spinosa</i> de Tindouf en fonction des milieux de culture (BAP) et du temps  | 59 |
| 31 | Nombre des feuilles après la micro propagation des vitro plants d' <i>Argania spinosa</i> de Tindouf en fonction des milieux de culture (BAP) et du temps  | 59 |
| 32 | micro propagation des vitro plants d' <i>Argania spinosa</i> de Tindouf en fonction des milieux de culture (BAP) et du temps   | 61 |
| 33 | des feuilles après la micro propagation des cotylédons d' <i>Argania spinosa</i> de Tindouf en fonction des milieux de culture (BAP) et du temps   | 62 |
| 34 | Taille de la partie aérienne (cm) après la micro propagation des cotylédons d' <i>Argania spinosa</i> de Tindouf en fonction des milieux de culture (BAP) et du temps  | 63 |
| 35 | Nombre des nœuds après la micro propagation des cotylédons d' <i>Argania spinosa</i> de Tindouf en fonction des milieux de culture (BAP) et du temps   | 64 |
| 36 | Micropropagation des cotylédonesdes cotylédons d' <i>Arganiaspinosa</i> de Tindouf en fonction des milieux de culture (BAP) et du temps  | 65 |
| 37 | Chromatogramme HPLC-DAD des graines d' <i>A. spinosa</i> (extrait méthanolique) à 254 nm (colonne Inertsil ODS-3 (4 µm, 4 mm x 150 mm)). Phase mobile : acide acétique 0,1 % - méthanol (élution en gradient). Débit : 1 mL/min. Détection par réseau de diodes à 254 nm.  | 73 |
| 38 | Chromatogramme HPLC-DAD des feuilles d' <i>A. spinosa</i> (extrait méthanolique) à 254 nm (colonne Inertsil ODS-3 (4 µm, 4 mm x 150 mm)). Phase mobile : acide acétique 0,1 % - méthanol (élution en gradient). Débit : 1 mL/min. Détection par réseau de diodes à 254 nm. | 74 |
| 39 | Chromatogramme GC-MS de la composition en acides gras et en composants volatils dans les feuilles (a) et les graines (b) des extraits d'éther de pétrole d' <i>A. spinosa</i> .  | 77 |

## Liste des tableaux

| <b>N</b> | <b>Titres</b>   | <b>Pages</b> |
|----------|---|--------------|
| 1        | Classification botanique de l'arganier  | 11           |
| 2        | Différents types de terpènes.   | 19           |
| 3        | Applications et travaux réalisés sur de la culture de l'arganier  | 28           |
| 4        | Les composants des milieux utilisés   | 29           |
| 5        | Les composants des milieux utilisés   | 33           |
| 6        | Différentes doses utilisé lors de la multiplication des micro-boutures  | 35           |
| 7        | Conditions opératoires instrumentales de l'ICP-MS.  | 39           |
| 8        | Récapitule les temps de rétention, les courbes d'étalonnage, les coefficients de régression ( $R^2$ ), les plages de linéarité, ainsi que les limites de quantification (LOQ), les limites de détection (LOD) et les taux de récupération des standards phénoliques mesurés à 254 nm. | 42           |
| 9        | Contenu en minéraux des parties aériennes d'A. spinosa  | 71           |
| 10       | Composition phénolique des extraits méthanoliques des graines et des feuilles d'A. spinosa déterminée par HPLC-DAD  | 72           |
| 11       | Micro extraction en phase solide avec espace de tête couplée à GC/MS  | 75           |
| 12       | Composition en acides gras, composés volatils et autres composés apolaires des extraits à l'éther de pétrole des feuilles et des graines d'A. spinosa par GC/MS   | 81           |
| 13       | Activités antioxydantes ( $\pm$ SD) des extraits méthanoliques et à l'éther de pétrole des feuilles et des graines.   | 83           |
| 14       | Activités anticholinestérasés et antidiabétiques (valeurs IC50) des extraits méthanoliques et d'éther de pétrole de A. spinosa.   | 85           |

## Liste des abréviations

- GC-MS chromatographie en phase gazeuse –spectrometrie de masse
- HPLC-DAD chromatographie en phase liquide
- A.spinosa argania spinosa
- DDPH Activité de piégeage des radicaux libres
- ABTS Essai de décoloration du radical cation
- CUPRAC Capacité antioxydante réductrice cuivrique
- ACHE l'acétylcholinestérase
- BCHE butyrylcholinestérase
- HS-SPME- microextraction en phase solide.- (headspace)
- MS Murashige et Skoog
- DTNB dithiobisnitrobenzoate
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> acide sulfurique
- IKA homogénéisateur
- ICP-OES spectrométrie d'émission optique à plasma couplé
- Matériel de référence standard (SRM) NIST-CRM-1203 Eau potable
- LOQ les limites de quantification
- R<sup>2</sup> coefficients de régression
- LOD limites de détection
- DGAC Comité des Directives Alimentaires

---

## Introduction

L'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeel), un arbre endémique de la famille des Sapotacées, est exclusif à la région du sud-ouest de l'Algérie, notamment à Tindouf (**Louati et al., 2019**). Cet arbre, au développement lent, peut atteindre une hauteur de 8 à 10 mètres et vivre entre 300 et 350 ans (**Metougui et al., 2017**). Doté d'un bois dur et dense ainsi que d'une écorce rugueuse, il présente des formes variées, allant de larges et longues à courtes et massives. L'arganier, véritable richesse écologique de l'Algérie, se distingue par sa nature épineuse et persistante, et est considéré comme l'une des espèces les plus emblématiques d'Afrique du Nord. Cet arbre suscite un grand intérêt pour ses multiples usages traditionnels, sa composition chimique riche et ses diverses propriétés biologiques. Il est notamment utilisé dans le traitement du diabète (**Moukal, 2004**), ainsi que pour les soins de la peau, ses propriétés antioxydantes et l'alimentation du bétail (**Bnouham et al., 2008 ; Barkaoui et al., 2022**).

L'usage le plus symbolique de l'arganier réside dans la production de l'huile d'argan, une huile végétale obtenue par pression à froid, tandis que ses fruits fournissent des noyaux destinés à la fabrication d'huile comestible (**Kharbach et al., 2022**). En reconnaissance de ses qualités uniques, l'arganier a fait l'objet d'une législation spéciale dès 1925, et a été désigné comme réserve de biosphère par l'UNESCO en 1998 (**Louati et al., 2019**). Sur le plan chimique, l'extrait hydro-alcoolique des feuilles d'arganier renferme quatre flavonoïdes isolés : la quercétine, la myricétine, la quercitrine et la myricitrine, identifiés par des méthodes chromatographiques (**El Kabouss et al., 2001**). Le tronc de l'arbre, quant à lui, produit divers composés volatils, huiles essentielles et flavonoïdes, ainsi que des substances comme la (+) - catéchine, la (-) -épicatechine, et des acides tels que l'acide p-hydroxybenzoïque et le résorcinol. De plus, des études montrent que les fruits contiennent de faibles quantités de métaux lourds tels que l'arsenic, le mercure, et le cadmium, tandis que l'huile est particulièrement riche en minéraux essentiels comme le calcium, le phosphore, le magnésium et le potassium, ainsi qu'en acide oléique, ce qui lui confère des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes (**Rahmani, 2005**).

Les analyses GC-MS des extraits d'arganier révèlent une diversité de composés chimiques, incluant des acides gras, des triterpènes, des phénols et des stérols. L'acide oléique, l'acide linoléique, et l'acide palmitique sont parmi les acides gras majeurs identifiés, accompagnés de triterpènes tels que l'acide ursolique et l'acide maslinique, ainsi que des stérols comme le  $\beta$ -sitostérol (**Khallouki et al., 2003 ; Charrouf et Guillaume, 2008**). L'analyse HPLC-DAD confirme la présence de composés phénoliques et flavonoïdes, tels que

---

l'acide caféique, l'acide férulique, la quercétine, et le kaempférol (El Monfalouti et al., 2012). Des études récentes ont mis en évidence les propriétés antioxydantes de l'arganier ; El Chakhchar et al. (2016) ont observé une réduction du stress oxydatif et une augmentation de l'activité enzymatique antioxydante chez les sujets traités.

La compréhension des mécanismes de germination et de micropropagation de l'*Argania spinosa*, plus communément appelé l'arganier, est cruciale pour sa conservation et son exploitation durable, notamment dans un contexte où cette espèce endémique du sud-ouest du Maroc joue un rôle écologique et économique essentiel.

L'arganier est réputé pour ses graines difficiles à faire germer. Plusieurs facteurs influencent ce processus, notamment la dormance des graines qui présentent une dormance naturelle, ce qui signifie que même après leur maturation, elles ne germent pas immédiatement. Ce mécanisme permet à l'arbre de se protéger dans un environnement aride, mais il ralentit considérablement la régénération naturelle des peuplements d'arganiers. Pour lever cette dormance, il est essentiel de soumettre les graines à des traitements spécifiques comme la scarification mécanique ou chimique qui peut aider à faciliter la germination. D'autres traitements, tels que le trempage des graines dans l'eau tiède pendant plusieurs jours, peuvent également accélérer la germination. L'humidité, la température et la lumière jouent un rôle crucial dans le succès de la germination. La micropropagation, ou culture in vitro, représente une alternative prometteuse à la régénération naturelle pour garantir la multiplication rapide et contrôlée de l'arganier. La micropropagation permet de produire des plants d'arganier à partir de tissus végétaux. Cette technique présente un avantage majeur pour la conservation de l'espèce. Elle permet de reproduire des plants d'arganiers dans des environnements où la régénération naturelle est difficile en raison de conditions climatiques sévères, de la pression anthropique ou du surpâturage. Bien que la culture in vitro ait montré des résultats prometteurs, les protocoles doivent encore être améliorés pour garantir un taux de survie élevé. En générale, la maîtrise des mécanismes de germination et de micropropagation de l'arganier offre des solutions concrètes pour préserver cette espèce emblématique, tout en garantissant son exploitation durable. Ces techniques doivent s'accompagner de mesures de protection environnementale et d'une sensibilisation accrue pour que l'arganier continue à jouer son rôle écologique et économique au Maroc et au-delà.

L'objectif de cette thèse est :

- D'évaluer l'impact des différents milieux de culture et des concentrations de régulateurs de croissance sur la germination et la micropropagation des graines et des explants d'*A.spinosa*, afin d'identifier les conditions optimales qui favorisent le

---

développement et la croissance de cette espèce précieuse pour la conservation et l'exploitation durable et dans une deuxième partie nos objectifs sont :

- Analyser la composition chimique des extraits méthanoliques et d'éther de pétrole, en identifiant les minéraux, composés phénoliques et acides gras présents dans les feuilles et les graines d'arganier.
- Évaluer les propriétés antioxydantes des extraits à travers des tests spécifiques (DPPH, ABTS, CUPRAC) afin de déterminer leur potentiel en neutralisation des radicaux libres.
- Étudier l'inhibition enzymatique des extraits méthanoliques et d'éther de pétrole sur des enzymes liées aux maladies neurodégénératives et au diabète (AChE, BChE,  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase).
- Caractériser le profil volatil des extraits de feuilles et graines d'arganier en utilisant la méthode HS-SPME-GC/MS, afin d'identifier les composés volatils dominants et leurs classes chimiques.

Cette thèse est constituée de 3 chapitres. En premier lieu une revue bibliographique sur l'arganier, sa composition chimique et sa culture. Le second chapitre est consacré à la présentation du matériel et techniques utilisé durant nos expériences. Le dernier chapitre consacré aux résultats obtenus de notre expérimentation et la discussion. L'étude se termine par une conclusion générale qui tente de répondre aux objectifs de notre thèse.

---

## Chapitre I : Revue bibliographique

- **Généralité sur l'arganier**

- **Aspect historique**

Au fil du temps, de nombreux médecins arabes ont mis en valeur l'arganier et l'importance de son huile. Le médecin égyptien Ibn El Baythar a décrit la technique d'extraction de l'huile dans son ouvrage *Traité des simples* en 1219 (**Charrouf, 2002**). Selon **Radi (2003)**, Hassan El Wazzani, également connu sous le nom de Jean Léon l'Africain, a mentionné l'arganier dans son ouvrage : *La Description de l'Afrique* en 1515, où il décrit l'arbre épineux et l'utilisation de son huile dans l'alimentation. Host a également confirmé, en 1791, l'utilisation de l'arganier dans la fabrication du savon. Les Phéniciens ont aussi exploité l'arganier et son huile dans leurs comptoirs le long de la côte atlantique (**Radi, 2003**).

D'après **Nouaime et al. (1991)** et **Radi (2003)**, un principe actif appelé arginine a été identifié par Cotton en 1906 dans le tourteau du fruit de l'arganier. Battino s'est intéressé à cette découverte et a étudié plusieurs composés de l'arganier en 1929. Plus récemment, **Baumer et Zeraia (1999)** ont déterminé et décrit les peuplements d'arganiers. Une autre publication datant de 1938, rédigée par Emberger et intitulée *Les chèvres de l'arganier*, souligne le danger que représentent ces chèvres pour l'arganeraie.

- **Répartition géographique**

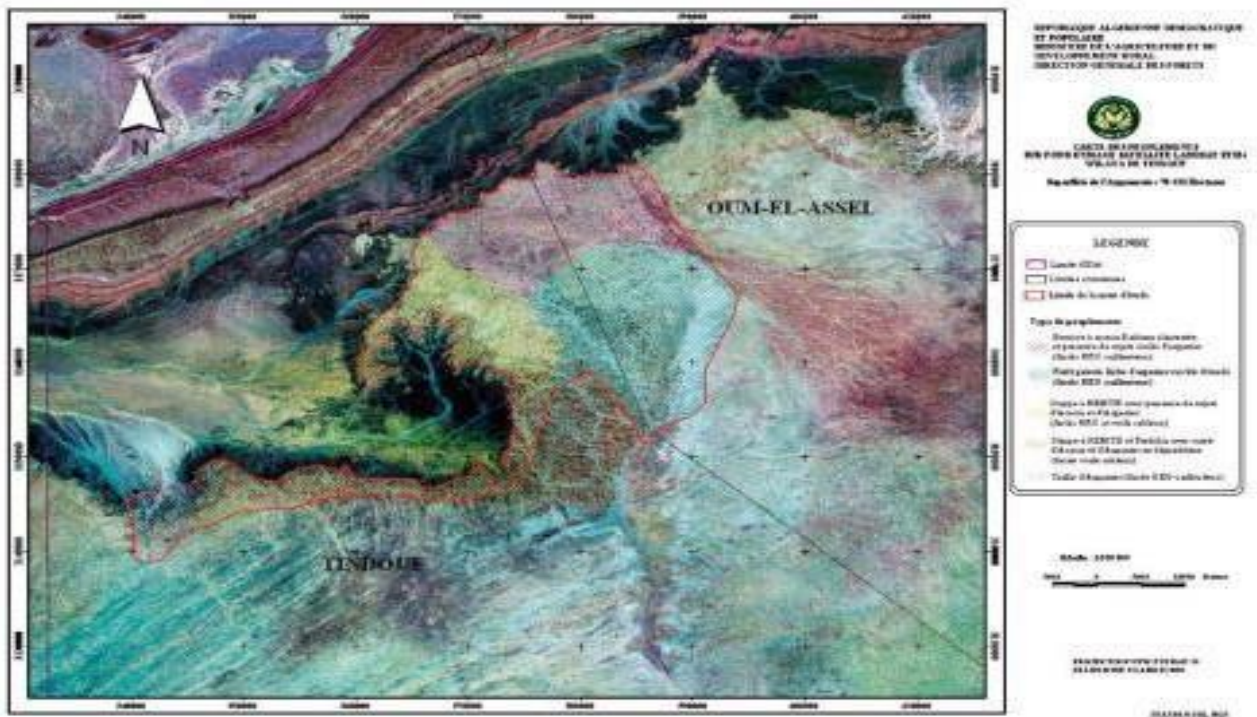
*Argania spinosa*(L.) Skeels est une espèce arborée endémique et menacée, présente principalement en Algérie et au Maroc (**Pumareda et al., 2006**). Elle est le seul représentant de la famille des Sapotacées en Afrique du Nord (**Alfriqui, 2004**) et s'adapte aux températures chaudes et élevées, ce qui en fait une espèce thermo-xérophile. L'arganier tolère des températures comprises entre 3°C et 50°C (**Charrouf et al., 2007**), grâce à son système racinaire particulier, notamment la symbiose racinaire endomycorhizienne, qui joue un rôle clé dans sa résistance (**Nouaim et al., 1999**).

En Algérie, son aire de répartition couvre principalement le nord-ouest de la wilaya de Tindouf, où l'arganier constitue la deuxième essence forestière (**M'hirit et al., 1998**). L'arganeraie de Tindouf formait probablement à l'origine une même unité écologique avec celle du Maroc, qui couvrait de vastes territoires. Cette aire s'étendait sur environ 800 000 hectares (**Msanda et al., 2005**), formant des populations dispersées regroupées le long des berges et des oueds, où se trouvent des compensations hydriques (**Baumer et Zeraia, 1999**).

La répartition des arganiers s'est déplacée vers le sud du Maroc à cause de la période glaciaire de Würm, la dernière glaciation, qui a réduit son aire de répartition (**Bennabid et Fennane, 1994**). L'arganier est reconnu pour sa résistance à la sécheresse et son adaptation à divers types de sols (**Radi, 2003**), ainsi que pour son climat spécifique, caractérisé par des hivers chauds, une humidité élevée et du brouillard.



**Figure 1.** Répartitions géographiques de l'arganier en Algérie (**Oueldsafi,2014**)



**Figure 2.** Carte des principaux peuplements de l'arganeriae Tindouf (Kecheiri, 2009).

○ **Description, botanique et taxonomie de l'arganier**

*Sideroxylon spinosum*L. est le premier nom donné à l'arganier par Linné en 1737, classé à l'époque dans le genre Rhammus (Sapotacées). Par la suite, Roemer et Schultes ont renommé l'arbre

---

*Argania sideroxylon*, d'après son nom arabe et berbère, argan. Le nom Sideroxylon se justifie par la dureté exceptionnelle du bois de l'arbre.

L'arganier (*Argania spinosa*) est un arbre endémique de l'ouest de l'Algérie. Il se présente sous forme de buisson ou d'arbre dressé avec des rameaux épineux et peut atteindre une hauteur de 8 à 10 mètres. Sa croissance est lente et il est la seule espèce de sa famille à se développer dans une zone intertropicale. La structure de l'arganier rend difficile la détermination de son âge (**Boudy, 1950**). Il a un tronc court, tortueux et puissant, ainsi qu'une couronne dense, ronde et étalée. Le port de l'arbre est variable : dressé, pleureur, ou souvent tortueux, avec des tiges entrelacées (**Nouaim et al., 1991**). Le bois de l'arganier est extrêmement dur et très ramifié dès la base (**Figure 3**).



**Figure 3.** Arbre d'arganier (**Benkheira, 2009**)

Les rameaux épineux de l'arganier lui valent son nom scientifique de spinosa. Les épines proviennent de certaines branches qui se transforment en nouvelles ramifications (**M'hirit et al., 1998**). Ces épines jouent également un rôle de défense. Les feuilles de l'arganier sont petites, simples, persistantes, et coriaces, de couleur verte, souvent regroupées en fascicules (**Raammal et**

---

**al., 2009 ; Bellefontaine et al., 2010**). Elles restent sur l'arbre même pendant les périodes de sécheresse, mais en cas de températures très élevées, l'arbre entre dans un processus physiologique et perd ses feuilles. Quelques semaines après, souvent avant la saison hivernale, de nouvelles feuilles apparaissent (**Emberger, 1938**). Les feuilles d'arganier sont riches en flavonoïdes, un type de composé phénolique (**El Kabous et al., 1995**). Les fleurs de l'arganier sont à la base de la formation des fruits. La floraison a lieu en mai-juin, et les fruits mûrissent en septembre. Les fleurs, hermaphrodites, mesurent de 2 à 4 mm et sont de couleur blanche ou jaune verdâtre. Elles se regroupent en glomérules d'une quinzaine de fleurs (**Radi, 2003**) (**Figure 4**).

A



B



(A) fleur (Nouaim et al.,1991) ; (B)(C) feuille et ramification

**Figure 4.** Description de l'arganier (Benkheira,2009 ; khaouid,2021).

L'arganier possède un système racinaire très profond, pouvant atteindre jusqu'à 30 mètres de profondeur. Ce système se compose de racines superficielles et profondes. Les racines de l'arganier sont dépourvues de poils absorbants, appelées racines magniloïdes, ce qui lui permet de vivre en

---

symbiose avec plusieurs types de champignons (**Benkheira, 2009**). Les racines profondes absorbent l'eau située dans les couches souterraines, tandis que les racines superficielles absorbent l'eau condensée en surface (**Nouaim et Chaussod, 2012**). Cette double capacité d'absorption permet à l'arganier de s'adapter aux climats arides et semi-arides, ainsi que de résister à la sécheresse saharienne. En outre, ce système racinaire joue un rôle crucial dans la stabilisation des sols (**Wargret, 1962**), contribuant à prévenir l'érosion dans les zones où



l'arganier est présent (**Figure 5**).

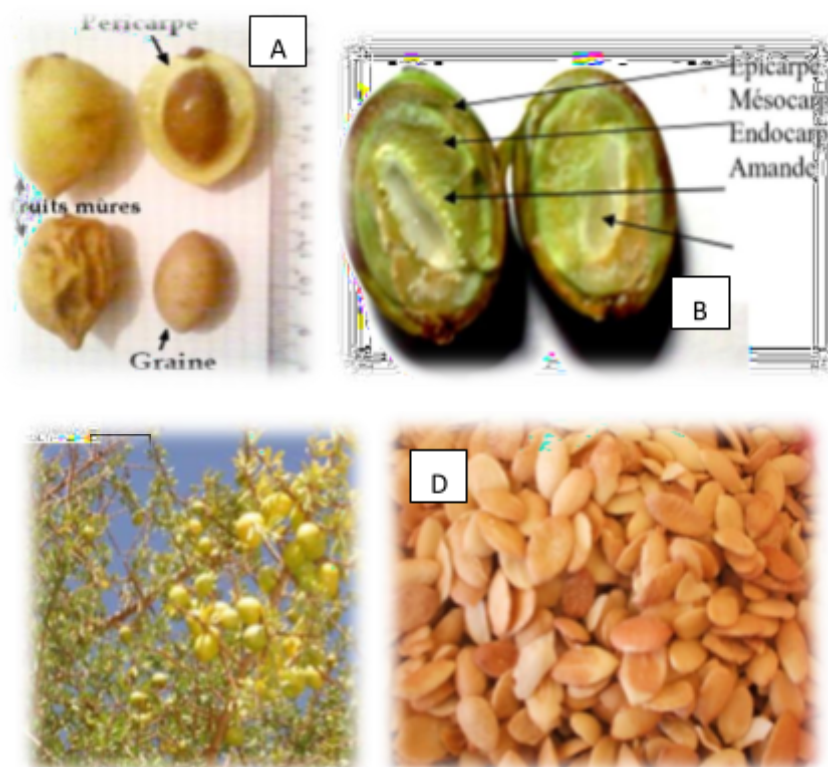
**Figure 5.** Racines de l'arganier (**Benkheira,2009**)

Selon **Rammal et al. (2009)**, le fruit de l'arganier est jaune à l'état jeune et devient brun à maturité. C'est une drupe aux formes variées, pouvant être ovale, glabre, obtuse ou aiguë. Bien que le fruit ressemble à une olive par sa forme, l'huile d'argan est extraite de l'amande, tandis que l'huile d'olive est obtenue à partir du péricarpe (**Radi, 2003**). Selon **Ait Abd (2007)**, le fruit de l'arganier se compose d'une drupe, d'une graine et d'une amande de couleur blanche, entourée par une coque très dure et épaisse formant la graine.

D'après **Radi (2003)**, on peut identifier environ six types de fruits selon leur forme et leur taille

: ovales arrondis, en goutte, globuleux, ovales apiculés ou fusiformes, avec une longueur de 17 à 30 mm et une largeur de 10 à 17 mm. La production de fruits par un seul arganier peut atteindre environ 8 kg, incluant la pulpe et le noyau (amande et coque) (**Figure 6**).

La graine de l'arganier est constituée d'un noyau très dur contenant une ou plusieurs amandes aplaties, qui sont la source de l'huile extraite (Radi, 2003 ; Emberger, 1957). Le pulpe, appelée également péricarpe, la pulpe entoure la graine. D'après Radi (2003), elle est de nature charnue et riche en glucides solubles et hydrosolubles (Figure 6).



**Figure 6.** Fruit d'arganier, (A) (C) graine (kechairi, 2009 ; Benkheira, 2009) ; (B) amande et tégument (OuedSafi, 2014) ; (D) amande (Slimani, 1996).

**Tableau 1.** Classification botanique de l'arganier (Radi, 2003)

|                           |                |
|---------------------------|----------------|
| <b>Règne</b>              | <b>Végétal</b> |
| <b>Embranchement</b>      | Spermaphytes   |
| <b>Sous embranchement</b> | Angiospermes   |
| <b>Classe</b>             | Eudicots       |
| <b>Ordre</b>              | Ebénale        |
| <b>Famille</b>            | Sapotacées     |
| <b>Gernre</b>             | Argania        |

---

|                         |  |
|-------------------------|--|
| <b>Especce</b>          | Argania spinosa L. Skeels              |
| <b>Nom vernaculaire</b> | Argan, أركان, Arganier, ou Bois de Fer |

- **Conditions climatiques de l'arganier**

En ce qui concerne la température, l'arganier peut supporter des températures élevées allant jusqu'à 50°C, ainsi que des températures très basses, jusqu'à 0°C (El Aich et al., 2005). Cela fait de l'arganier une plante à la fois thermophile et xérophile (Boudy, 1950).

L'arganier se développe dans des régions à pluviométrie irrégulière et faible. Selon **Chaussod et Nouaïm (2001)**, la quantité idéale de précipitations pour l'arganier est d'environ 500 mm par an, mais il peut également se développer dans des régions où la pluviométrie est aussi basse que 120 mm par an.

- **Conditions édaphiques**

Selon **Nouaïm et al. (1991)**, l'arganier s'adapte à divers types de sols, quelle que soit leur composition (schistes, roches calcaires, alluvions, sols salins) et leur pH, qui peut varier de 4,6 à 7,5. Il peut ainsi s'installer dans presque tous les types de sols.

D'après **Boughanem (1998)**, les sols de Tindouf sont de nature sableuse, avec une faible teneur en matière organique et en éléments minéraux. Cependant, l'arganier parvient à s'installer et à s'adapter facilement à ces conditions difficiles.

- **Importance de l'arganier**

L'arganier est utilisé comme combustible sous forme de charbon (**De Pontevès et al., 1990**). Il joue également un rôle crucial en tant que fixateur de sols dans les montagnes et contribue à la lutte contre la désertification dans les zones présahariennes de la plaine de Souss (**Benzyane et al., 1991**), sans oublier son rôle dans la prévention de l'érosion pluviale.

---

De plus, il est utilisé par les Berbères pour la clôture des maisons. Le bois de l'arganier est employé comme matériau de charpente et dans la fabrication d'instruments agricoles. Les feuilles servent de fourrage et de nourriture pour les animaux, notamment les chameaux, les moutons et les chèvres. L'huile d'argan, extraite des amandes, est utilisée dans l'alimentation, qu'elle soit fraîche ou cuite, et a un goût agréable. Elle est également très riche en acides gras insaturés et possède des propriétés biologiques importantes, ce qui en fait un ingrédient prisé en cosmétique et en pharmacie (**Radi, 2003**).

Toutes les différentes parties de l'arganier revêtent une importance significative dans leur utilisation et leur production. Cela inclut la production de bois, d'huile et de fourrage (consommation des feuilles par les chèvres, production alimentaire à partir des fruits de l'arganier). Il est largement utilisé comme bois d'œuvre pour la charpente et la construction d'instruments agricoles (araires, rouleaux de puits) ainsi que pour la fabrication de charbon (**Nouaim et al., 1991**).

La production de l'huile d'argan, extraite des amandes par diverses techniques d'extraction traditionnelles ou industrielles, est très utilisée dans plusieurs domaines, tels que l'alimentation (cuisine), les cosmétiques (crèmes, shampoings) et la médecine traditionnelle (**Mezghenni et al., 2014**).

Il existe plusieurs types d'huile d'argan (alimentaire, cosmétique, artisanale), chacune ayant son rôle spécifique. L'huile alimentaire est extraite par pression à froid des amandes torréfiées, tandis que l'huile cosmétique est extraite des amandes non torréfiées. L'huile artisanale, quant à elle, est produite par pressage manuel des amandes torréfiées ou préparée traditionnellement à partir de noix régurgitées par les chèvres, ce qui permet d'obtenir différentes huiles artisanales (**Gharby, 2012**).

L'huile d'argan est utilisée en dermatologie pour traiter : L'acné, L'eczéma, La rougeole, La varicelle, Le nettoyage et la désinfection des blessures. Elle est également employée pour traiter les maladies ORL et respiratoires sous différentes formes (goutte auriculaire ou mélange d'huile d'argan et de thym) et pour les maladies cardiovasculaires (**Radi, 2003**).

En poudre, elle est utilisée en cataplasme sur les pustules. En infusion, elle est efficace contre la diarrhée, la fièvre et les maux de tête (**El Babili et al., 2010**).

---

La disparition de l'arganier peut entraîner plusieurs dégâts écologiques, notamment la perte d'organismes, ce qui peut provoquer un déséquilibre dans l'environnement, un manque de fertilisation, une diminution de la production agricole et la désertification des sols.

En cosmétique : Plusieurs études montrent que l'huile d'argan, riche en acides gras essentiels, revêt une grande importance dans le domaine cosmétique. De nombreux produits cosmétiques sont fabriqués à partir d'huile d'argan, tels que le lait démaquillant, la crème vitalité, le masque antirides et les crèmes hydratantes. Les feuilles de l'arganier possèdent également une activité antioxydante et sont utilisées pour protéger contre les effets du vieillissement cutané, protéger les macromolécules extracellulaires de la peau, telles que le collagène et les glycoprotéines (Stussi et al., 2005).

#### ○ **Ravageurs et autres difficultés influant sur l'arganier**

D'après M'hirite et al. (1998), plusieurs insectes affectent l'arganier en causant des dégâts à toutes les parties de la plante, notamment les feuilles, les jeunes pousses, le bois, le tronc et les fruits. Parmi les insectes cités par l'auteur, on trouve *Xylomedes coronata* Mars, *Bolivarta oculata* Esc., *Pinechora fasciata* Steph., la mouche des fruits de l'arganier, ainsi que des cochenilles.

En plus des insectes, divers facteurs humains contribuent à la dégradation de la densité des arbres et à la régression de la surface des arganeraies. L'utilisation excessive de l'arganier pour le fourrage et comme bois en est l'une des causes principales. Le surpâturage est également considéré comme l'une des principales causes de la détérioration des écosystèmes (Brahim, 2007).

#### ○ **Les causes du problème du non régénération de l'arganier :**

L'arganier, à l'état naturel, se régénère très peu et sa germination est difficile en raison de plusieurs facteurs, tels que la perte de viabilité des semences, la durée de vie des graines qui dépend de l'humidité et des conditions de stockage (Harrington et al., 1972), la dormance des graines, la perte du pouvoir germinatif (Heller, 1982), ainsi que les conditions climatiques (Zahidi et al., 1997).

#### ● **Phytochimie et activité biologique de l'arganier**

---

- **Métabolites secondaires**

Toutes les plantes, ou plus précisément toutes les cellules végétales, contiennent des métabolites primaires (glucides, protides, lipides, acides nucléiques) considérés comme des substances naturelles. En plus de ces métabolites primaires, il existe des métabolites secondaires appartenant à divers groupes chimiques (alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques). Ces métabolites secondaires jouent un rôle important en médecine grâce à leurs propriétés médicinales, telles que des effets antioxydants, antibactériens, antiviraux et anti-inflammatoires (**Munis, 2006**).

On distingue trois grands groupes de métabolites secondaires : les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes.

- **Composés phénoliques**

Selon **Dacota (2003)**, les composés phénoliques sont un ensemble de groupes différents classés en fonction du nombre d'atomes de carbone présents dans leur squelette. Chaque composé phénolique est caractérisé par un cycle aromatique avec un groupement hydroxyle, parfois accompagné d'un groupe fonctionnel (ester, glycoside) (**Brunet, 1999**). Leur squelette est constitué d'une structure C6 ou de formes polymérisées. Un grand nombre de composés phénoliques ont été identifiés, formant un groupe chimique important. Certains sont présents chez les animaux, mais la majorité se trouve chez les végétaux (**Marcheix et al., 2005**). Ces composés se répartissent dans différentes parties de la plante

: les composés hydrophiles sont localisés dans les vacuoles, la lignine dans les parois cellulaires, et les flavonoïdes dans les feuilles (**Gutmann, 1995**). Ils sont souvent synthétisés en réponse à une attaque ou à différents stress, qu'ils soient d'origine environnementale ou physiologique (**Khoddami et al., 2013**).

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans la vie des plantes. Ils interviennent dans la régulation de la croissance, la lignification, ainsi que dans les caractéristiques sensorielles des plantes (couleur, amertume). Ils participent également aux interactions avec les micro-organismes, champignons, bactéries et insectes, jouant ainsi un rôle de défense contre ces derniers. En outre, ils contribuent à la protection des plantes contre d'autres espèces végétales en limitant l'accès à la lumière, aux nutriments et à l'eau, et protègent également contre les rayons UV (**Wink et al., 1999**). Chez

---

l'homme, ces composés ont des propriétés antioxydantes et protègent contre diverses maladies (Marcheix et al., 2005).

### Acides phénoliques simples

Acides hydroxybenzoïques : La structure des acides cinnamiques est représentée par un squelette C<sub>6</sub>C<sub>1</sub>, dérivé de l'acide benzoïque, avec des exemples comme l'acide gallique, benzoïque, salicylique et vanillique (Bellebcir, 2008 ; Rezaine, 2012).

Acides hydroxycinnamiques : Ces composés ont une structure C<sub>6</sub>C<sub>3</sub> et sont dérivés de l'acide cinnamique. Des exemples courants incluent l'acide cinnamique et l'acide caféique (Hesham et al., 2012).

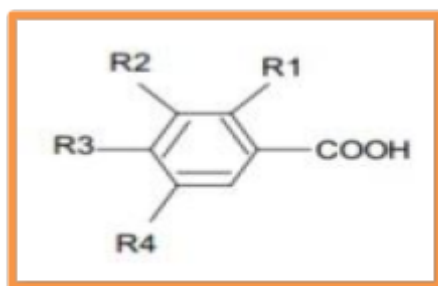


Figure 7. Structure de base d'un acide hydroxybenzoïques(Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

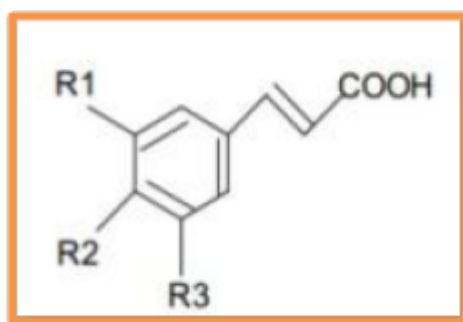


Figure 8. Structure de base d'un acide cinnamique (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

### Quinones :

Ce sont des composés aromatiques dont différents types existent (anthraquinone, paraquinone, orthoquinone, naphthoquinone). Les paraquinones et orthoquinones se forment par oxydation des

---

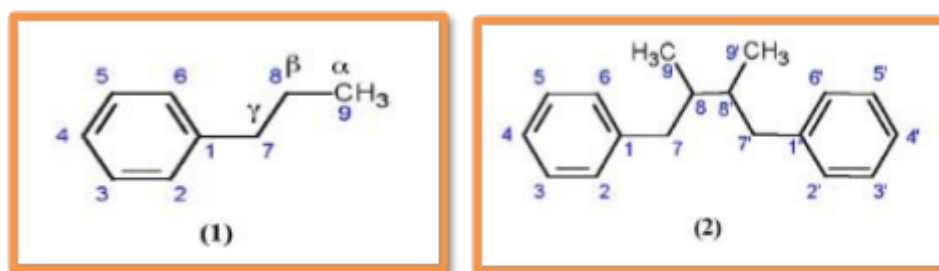
dérivés aromatiques, tandis que les naphthoquinones et anthraquinones sont constituées de diènes liés à des noyaux benzoïques (**Bruneton, 1993**).

### Coumarines :

Les coumarines, qui jouent un rôle de défense lors d'attaques biotiques ou abiotiques, sont des dérivés du C<sub>6</sub>C<sub>3</sub> avec un hydroxyle en position 7 (O'Kennedy et **Thornes, 1997**). Des exemples connus sont la daphnétole et le fraxétole (**Marcheix et al., 2005**).

### Lignanes :

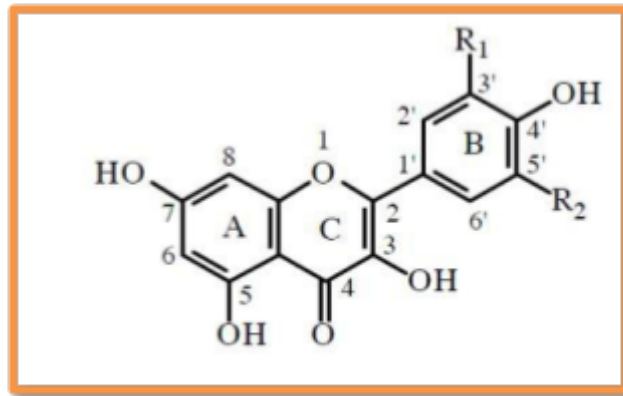
Ces métabolites secondaires se trouvent dans plus de 60 familles végétales, principalement chez les angiospermes et gymnospermes, et dans divers tissus. Les lignanes se forment par la liaison de deux unités C<sub>6</sub>C<sub>3</sub> au niveau de leur carbone central 8 (**Krief, 2003 ; Moss, 2000**).



**Figure9.** Structure de base d'un phénylpropane (1) et d'une lignane (2)

### (Moss,2000) Flavonoïdes :

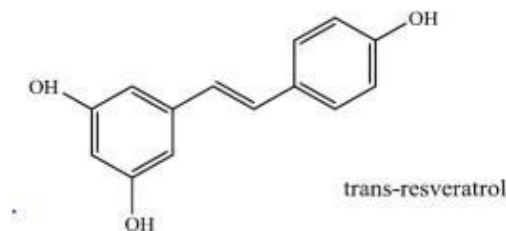
Ces pigments responsables de la coloration chez les végétaux possèdent une structure C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>C<sub>6</sub>, avec deux noyaux aromatiques liés par un hétérocycle oxygéné (**Khoudami et al., 2013**). Ils se trouvent principalement dans les chloroplastes, mais peuvent migrer vers les vacuoles (**Eliiciok- Middleton, 2000**). Les flavonoïdes jouent un rôle important chez l'homme grâce à leurs activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires et à la réduction des risques de maladies cardiovasculaires (**Raskin et al., 2004 ; Bruneton, 1999**). Plusieurs types de flavonoïdes existent, tels que les flavones, flavonols, flavanones, Dihydroflavonols, Flavanes, Flavononols, Flavon-3-ols, Flavylum, Chalcones, Aurones,anthocyanines, Isoflavonoïdes etc. (**Abedini, 2013 ; Bruneton, 2009**).



**Figure 10.** Structure de base de flavonoïde (De Rijke et al., 2006)

### Stilbènes :

Caractérisés par une structure C6C2C6 avec des groupes hydroxyles, les stilbènes sont synthétisés par les plantes en réponse à des menaces microbiennes, jouant ainsi un rôle de défense (Abd El Mohsen et al., 2008 ; Krisa et al., 1997).



**Figure 11.** Structure de base d'un stilbene (Abd El Mohsen et al., 2008)

### Tanins :

Les tanins sont des métabolites secondaires complexes avec une masse moléculaire de 500 à 3000 kDa. Ils sont solubles dans l'eau et l'acétone, mais insolubles dans les solvants organiques (Brillouet et al., 2013). On distingue deux types principaux de tanins : les tanins hydrolysables, présents chez les angiospermes, et les tanins condensés, trouvés dans les plantes vasculaires et

---

herbacées (Bruneton, 2009; Brillouet et al., 2013). Ils jouent un rôle antioxydant, antifongique et inhibiteur enzymatique (Perronny, 2005 ; Wai Mun et al., 2008 ; Bruneton, 1999).

- **Les terpènes**

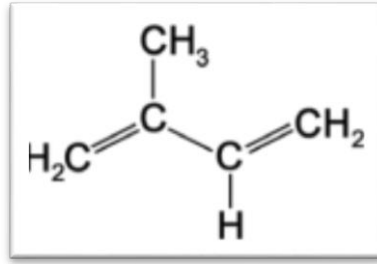
Les terpènes sont des hydrocarbures insaturés, et plus de 55 000 molécules différentes appartiennent à cette famille. Ils incluent des hormones comme les gibbérellines et des vitamines telles que les vitamines A, D, E et K (Iriti et Faoro, 2004).

Les terpènes peuvent avoir une structure simple et linéaire ou être plus complexes (Connolly et Hill, 1991). Leur structure de base est constituée de C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>, dérivée de l'isoprène (Bhat et al., 2005), avec 5 atomes de carbone et des unités de méthylbutadiène (Bakkali et al., 2008).

Les terpènes sont classés en plusieurs groupes selon le nombre d'unités d'isoprène dans leur squelette, et ils sont couramment utilisés dans les parfums, huiles essentielles et arômes (Muniz, 2006).

**Tableau 2.** Différents types de terpènes (Soleine, 2012)

| Type du terpène | Nombre d'isoprène | Structure                                     |
|-----------------|-------------------|---|
| Monoterpene     | 2                 | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>               |
| Sesquiterpenes  | 3                 | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>               |
| Diterpenes      | 4                 | C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>               |
| Sesterpene      | 5                 | (C <sub>25</sub> H <sub>40</sub> )            |
| Triterpenes     | 6                 | (C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> )            |
| Tetraterpene    | 8                 | (C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> ) <sub>8</sub> |
| Polyterpenes    | Plus de 9_30      | (C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> ) <sub>n</sub> |



**Figure12.** Structure de base des terpenoides(isoprène) C<sub>5</sub>H<sub>8</sub> (Solène, 2012)

- **Alcaloïdes**

Des substances naturelles qui contiennent un atome d'azote sont appelées des composés azotés, en raison de leur liaison à un système hétérocyclique (Donatien, 2009).

Ces composés peuvent agir comme principes actifs dans certains médicaments, mais aussi être utilisés comme poisons en raison de leur toxicité. Leur structure peut être simple ou complexe, et ils sont généralement présents dans toutes les parties des plantes (écorce, feuilles, racines, fruits), mais aussi parfois chez certains animaux, comme la coccinelle. Plus de 10 000 molécules ont été isolées des plantes, la morphine étant la première à avoir été identifiée en 1806 à partir de l'opium. Elle est utilisée pour ses effets antalgiques contre les douleurs sévères, ainsi que pour ses propriétés anesthésiques et antiarythmiques (Muniz, 2006 ; Aniszewski, 2007).

On distingue trois types d'alcaloïdes : les alcaloïdes vrais, les protoalcaloïdes et les pseudoalcaloïdes.

- **Composition chimique des feuilles d'arganier**

La composition minérale des feuilles d'arganier montre une forte concentration en calcium (Ca) et en potassium (K), par rapport à d'autres éléments, ce qui indique que ces feuilles sont particulièrement riches en ces deux minéraux. Les études phytochimiques révèlent également la présence d'extraits lipidiques, de polyphénols et d'huiles essentielles dans les feuilles (El Kabous, 2002).

---

Selon **Charrouf (2009)**, les feuilles d'arganier contiennent plusieurs éléments minéraux, chacun ayant une concentration différente :

- Calcium (Ca) : 23,9 g/kg
- Sodium (Na) : 3,2 g/kg
- Phosphore (P) : 2 g/kg
- Potassium (K) : 11,9 g/kg
- Magnésium (Mg) :  $7,6 \times 10^{-3}$  g/kg
- Cuivre (Cu) :  $7,6 \times 10^{-3}$  g/kg
- Zinc (Zn) :  $19 \times 10^{-3}$  g/kg
- Manganèse (Mn) :  $19 \times 10^{-3}$  g/kg
- Fer (Fe) :  $173,7 \times 10^{-3}$  g/kg

Ces données illustrent la richesse minérale des feuilles d'arganier, ce qui contribue à leur importance dans divers domaines, y compris leur utilisation médicinale et nutritionnelle.

#### ○ **Méthodes et instrument d'analyses des extraits de plantes**

Les méthodes et instruments d'analyse des extraits de plantes sont variés et permettent d'évaluer leur composition et leurs effets pharmacologiques. Selon **Lui etLocasale (2017)**, plusieurs techniques rapides sont utilisées.

#### ● **Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :**

Selon **Sailaja et al. (2014)**, est une méthode de séparation et d'analyse de composés naturels non volatils et polaires, permettant leur identification, quantification et purification. Le système HPLC est composé d'un ordinateur, d'un injecteur, d'une colonne et d'un réservoir de solvant. Il existe plusieurs types d'HPLC, comme l'HPLC-RP (phase inversée) et l'HPLC-NP (phase normale), la première étant la plus couramment utilisée en raison de sa simplicité et de sa capacité à traiter des composés complexes (**Prathap et al., 2013**).

---

- **Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) :**

Elle permet la séparation et l'identification de composés volatils et polaires, avec des applications dans l'analyse des métabolites (**Garcia et Barbas, 2011 ; Gilbert et al., 2013**).

Cette technique est composée d'une colonne capillaire, d'une entrée pour les échantillons et d'une sortie pour la détection des composés.

- **Microextraction en phase solide avec espace de tête couplée à GC-MS (HS-SPME) :**

Une autre technique innovante est développée par **Pawliszyn et al. (1990)**. Cette méthode, selon **Bojko et al. (2012)**, permet l'échantillonnage d'analytes dans des matrices gazeuses, liquides et solides, avec un échantillonnage rapide, simple et sans solvant. Elle utilise des fibres de silice enduites d'une phase adsorbante pour capter les composés volatils, et est très sensible lorsqu'elle est couplée à la GC-MS. Le HS-SPME a des applications dans des domaines tels que les analyses chimiques, bioanalytiques, environnementales, alimentaires et pharmaceutiques (**Yang et al., 2021 ; D'Agostino et al., 2022**).

- **Activités biologiques des extraits de plantes**

- **Activité antioxydante**

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la production de pro-oxydants et la capacité de détoxification de l'organisme. Cette capacité peut être enzymatique ou non enzymatique. Les mécanismes enzymatiques sont produits par l'organisme et incluent des enzymes telles que la catalase, la superoxyde dismutase et la glutathion peroxydase. En revanche, les mécanismes non enzymatiques proviennent principalement des nutriments et de l'alimentation, comme la vitamine C, les polyphénols, les protéines et d'autres composés essentiels (**Wong et al., 2003; Bruneton, 1999**).

Lors de l'oxydation, les cellules subissent des déformations et des dommages, notamment au niveau des lipides, des protéines et de l'ADN, entraînant divers types de dégénérescence cellulaire (**Afonso et al., 2007**).

---

### 2.4.2. Activité anti cholinestérase

L'acétylcholine est neurotransmetteur synaptique synthétisé par les cellules nerveuses lors de leur communication et lors de la maladie d'Alzheimer, l'acétylcholine s'exprime par de faibles quantités et pour régler le problème de cette maladie c'est par la diminution de la dégradation d'acétylcholine afin d'augmenter sa quantité et cela par inhibition de l'action ACHE ou BCHE.

### 2.4.3. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne dépend de divers facteurs, notamment le type de micro-organisme et la structure de sa membrane. Les agents antimicrobiens agissent de différentes manières, soit en inhibant l'activité des enzymes microbiennes extracellulaires, soit en bloquant le métabolisme des micro-organismes (Milan, 2004).

Certains antibiotiques, d'origine microbienne (comme ceux produits par des bactéries du genre *Bacillus* ou des moisissures), jouent également un rôle dans l'inhibition de certaines bactéries et champignons (Nauciel, 2000). Selon Le Vison (2004), l'action des antibiotiques varie de manière spécifique en fonction du type de bactérie ciblée. Certains antibiotiques sont efficaces uniquement contre les bactéries à Gram positif, tandis que d'autres agissent contre les bactéries à Gram négatif. Leur efficacité dépend de plusieurs paramètres, tels que la concentration de l'antibiotique et les conditions du milieu, et leur action se spécialise souvent en fonction du type de bactérie, qu'elle soit positive ou négative.

---

- **Culture de l'arganier**

- **Régénération de l'arganier**

L'arganier se reproduit par plusieurs voies telles que par voie classique (semis, germination, greffage, marcottage) et voie biotechnologique culture in vitro.

- **Méthode**

### **classique Germination**

#### **et semis**

Lorsque les graines tombent sur le sol, une germination naturelle peut se produire, mais elle est souvent très faible en raison des conditions écologiques défavorables et d'autres facteurs, tels que la perte du pouvoir germinatif (**Benkheira, 2009**).

Les graines perdent facilement leur capacité à germer lorsqu'elles sont conservées sur une longue période. Plus les graines sont fraîches, plus le taux de germination est élevé (**Berka et al., 2018**). Certaines études ont montré que cette méthode donne de bons résultats lorsque les graines sont trempées dans l'eau avant le semis (**Meslem, 2008**).

#### **Greffage**

Le greffage est la technique la plus adaptée pour la multiplication, car il permet aux porte-greffes de conserver leurs avantages, notamment la capacité à développer des racines profondes tout en maintenant leurs performances. Le porte-greffe doit avoir entre 3 et 6 semaines pour obtenir les meilleurs résultats. Plus ce temps augmente, plus le taux de réussite diminue (**Kechairi et Lakhdari, 2002**).

Les conditions climatiques jouent également un rôle crucial dans la réussite du greffage. Selon **Neggaz (2012)**, une température de 25 °C avec une humidité de 70 % conduit à de bons résultats.

#### **Bouturage**

---

Le bouturage est une technique de multiplication végétative à partir de jeunes pousses. Ces jeunes pousses sont prélevées à partir des rameaux d'un arganier maintenu en serre (Nouaim et al., 1991).



**Figure 13.** Bouturage de l'arganier (Radi, 2003)

#### ■ Régénération par voie biotechnologique

La culture *in vitro* est une technique de culture sur des milieux préparés. Elle permet une propagation plus rapide des plantes, avec un taux de réussite plus élevé (Mezghenni et al., 2014).

Plusieurs facteurs influencent la germination *in vitro*, tels que le matériel végétal utilisé, les graines complètes ne germent généralement pas aussi bien que les embryons, qui présentent un taux de germination plus élevé, car ils ne subissent ni déformations ni infections visibles.

La culture *in vitro* est une méthode de culture d'explants ou de fragments de tissus ou d'organes de plantes dans des milieux nutritifs artificiels, sous des conditions contrôlées (température, humidité, photopériode) et stériles (Zryd, 1988). C'est une forme de reproduction asexuée permettant de produire des milliers de plantules à partir d'un seul fragment végétal. À partir d'une seule cellule d'une plante, celle-ci peut se différencier en cellule œuf (embryogenèse) et devenir un individu complet (Guyot et al., 2003). Cette méthode repose sur trois caractéristiques spécifiques des végétaux. Selon Margara

---

(1989) et George (2008), plusieurs expériences ont été réalisées avec la culture in vitro sur divers types de plantes, démontrant les avantages suivants :

- Création de nouvelles variétés et production de plantes transgéniques avec diverses modifications (feuilles, etc.).
- Amélioration de la résistance des plantes aux maladies et aux facteurs externes.
- Augmentation rapide du nombre de plantes en peu de temps.
- Facilitation de la germination de graines qui, à l'état naturel, germent difficilement (comme l'arganier).
- Conservation des variétés menacées de disparition.

Les facteurs influençant la culture in vitro peuvent être internes ou externes. Les facteurs externes incluent les conditions de culture comme la température et la photopériode. Selon **Kone et al. (2010)**, la température idéale pour la plupart des chambres de culture se situe entre 22 et 25 °C. **Bommineni et Jauhar (2003)** confirment que la lumière n'est pas nécessaire au début de la culture (500-1000 lux), et une photopériode de 12 à 16 heures est idéale. L'obscurité favorise la prolifération des tissus méristématiques grâce à l'action de l'auxine.

Le type d'explant est également important. Selon **Saadi et Hamdani (2007)**, différents organes de la plante peuvent être prélevés et cultivés (fragments de feuille, racines, tiges).

L'âge de l'explant influence également la régénération : plus l'explant est jeune, meilleur sera le résultat. Il est donc préférable d'utiliser de jeunes feuilles ou méristèmes pour obtenir les meilleurs résultats (**Augé et al., 1989**).

La taille de l'explant dépend de son type : pour un organe comme un nœud, le prélèvement doit être complet, tandis que pour un fragment de feuille ou de racine, il suffit d'un morceau de quelques millimètres (5 à 10 mm).

## ■ Applications de la culture in vitro

La culture in vitro permet plusieurs applications différentes : l'embryogenèse somatique, la micro propagation, la culture des méristèmes, l'haplodiploidisation, la culture des protoplastes.

---

- **La micro propagation**

C'est une technique qui permet d'obtenir ou de reproduire un nombre considérable de plante par rapport à la technique traditionnelle et cela à partir d'un seul plant mère, les plants obtenus sont génétiquement identiques (**Ochette, 2005 ; Auge et al, 1989**).

La micro propagation passe par plusieurs étapes, cette technique consiste à proliférer des bourgeons auxiliaire (**Demolle et al, 2008**), au début on commence par la préparation du tissu végétal à partir de la plante donneuse mère (**Cassells et Doyle, 2005**), ensuite la stérilisation d'explant qui est une étape très importantes pour éviter toute contamination ,le désinfectant le plus utilisé pour cette étape est l'hypochlorite de sodium et transfert d'explant vers un milieu nutritif, (**Tilkat et al, 2009 ; Marana et al, 2009**) ensuite la phase de multiplication et d'enracinement (**Koelling, 2017**).

- **Culture des méristèmes**

Les méristèmes sont formés des cellules non différenciés(0.1mm-0.5mm), joue un rôle dans le développement du végétal et son caractère juvénile (**Margara, 1989**), leur culture permet d'obtenir des plantes identiques à la plantes initiale, elle permet d'obtenir rapidement un nombre élevé de plantes identique génétiquement et saines a partie des plantes viroses (**Sama et al, 1998**).

Les méristèmes sont utilisé dans le faite que sont des structures indemne de virus (**Heller et al, 1995**), lorsque une plantes est atteinte d'un virus le méristème reste sain et cela grâce à sa multiplication rapide que le virus.

- **Culture des protoplastes**

C'est une cellule d'une plante, qui a eu une élimination de sa paroi cellulaire à l'aide d'un moyen soit mécanique ou enzymatique(**Boutherin et Bron, 2013**), cette technique permet d'introduire des molécules différentes comme l'and des organites dans une courte période (**Camara et Kessar, 2004**).

- **L'embryogenèse somatique**

C'est une méthode de régénération de plantes à partir d'un embryon somatique à une plante entière génétiquement identique sans fécondation. La production d'embryon a partir des cellules

somatiques peut être direct ou indirect, la meilleure méthode directe c'est sans passer par la phase callogenese (ensemble de cellule) pour obtenir un embryon (**Guedira 1989**)(rarement observé).

Pour la méthode indirecte, l'obtention d'embryon nécessite le passage par la phase callogenese. Certaine cellule se développe en embryon. Cette Méthode augmente le rendement et permet d'obtenir des plantes génétiquement identiques avec un nombre illimité (**Koelling 2017**).

### 3.2. Travaux antérieurs réalisé sur la culture in vitro de l'arganier

Plusieurs travaux ont été réalisé sur la culture in vitro afin d'obtenir ou produire des plants, et cela en passant par plusieurs étape (germination, micro propagation, enracinement et acclimatation). D'après **Aize et al (2019)** et **Mezghenni (2014)**, une fois les graines sont germées, dans des chambres de culture, des vitro-plants sont issu de ses graines, sont découpés en plusieurs micro boutures de 0.5 cm et 2cm et les mise en culture (ce qu'on appelle la micropropagation), et cela se fait dans une chambre de culture avec une température de 25 degrés avec une photopériode de 16/8h.

**Tableau3.** Applications et travaux réalisés sur la culture de l'arganier

| Application   | Milieu utilisé   | Références                     |
|---|--|--------------------------------|
| <b>Multiplication (Culture in vitro des bourgeons et d'embryons zygotiques)</b> | Milieu MS avec la BA (1mg/l)<br>Milieu ms avec la GA3<br>Et la kinétine                  | <b>Benmahioul et al (2006)</b> |
| <b>Germination</b>  | Milieu MS  | <b>Mezghenni et al (2014)</b>  |
| <b>Micro propagation des vitro plants (débourrement)</b>                        | Milieu MS additionner a différentes concentrations de phytohormones (auxine, cytokinine) | <b>Aizer et al (2019)</b>      |
| <b>Micro propagation (élongation)</b>   | Milieu de culture MS additionné a GA3  | <b>Aizer et al (2019)</b>      |

|                      |  |                                 |
|----------------------|--|---------------------------------|
| <b>Enracinement</b>  | (Milieu MS avec 5mg/l d'AIB et d'ANA)<br>Charbon actif substrat de fibre du coco | <b>Bousselmane et al (2001)</b> |
| <b>Acclimatation</b> | Substrat (Argile calcinée saturé en solution nutritive)                          | <b>Nouaim et al (2002)</b>      |
| <b>Acclimatation</b> | Mélange de tourbe perlite  | <b>Justamnate et al (2017)</b>  |
| <b>Acclimatation</b> | Mélange tourbe plus sable  | <b>Lamaoui et al (2019)</b>     |
| <b>Acclimatation</b> | Tourbe seule   | <b>Amghar et al (2021)</b>      |

**Tableau4.** Travaux des prétraitements des graines de l'arganier

| <b>Travaux réalisé</b>                                      | <b>But du prétraitement</b>                              | <b>Auteurs</b>                    |
|---|--|-----------------------------------|
| <b>Prétraitement au frid 4 degré<br/>Acide gibberelique</b> | Diminuer la dormance de l'embryon                        | <b>Beni ameur et alouani 1999</b> |
| <b>Scarification mécanique</b>                              | Faciliter l'entrée de l'eau dans la graine               | <b>Ouallal et al (2013)</b>       |
| <b>Trempage dans l'eau chaude</b>                           | Faciliter l'éclatement du noid et l'arrivée de l'oxygène | <b>Mezghenni et al (2014)</b>     |
| <b>Trempage dans l'acide gibbérellique (GA3)</b>            |  | <b>Amghar et al (2021)</b>        |
| <b>Trempage dans l'eau oxygéné</b>                          | Faciliter l'éclatement du noix et l'arrivée d'oxygène    | <b>Berka et harfouch (2001)</b>   |

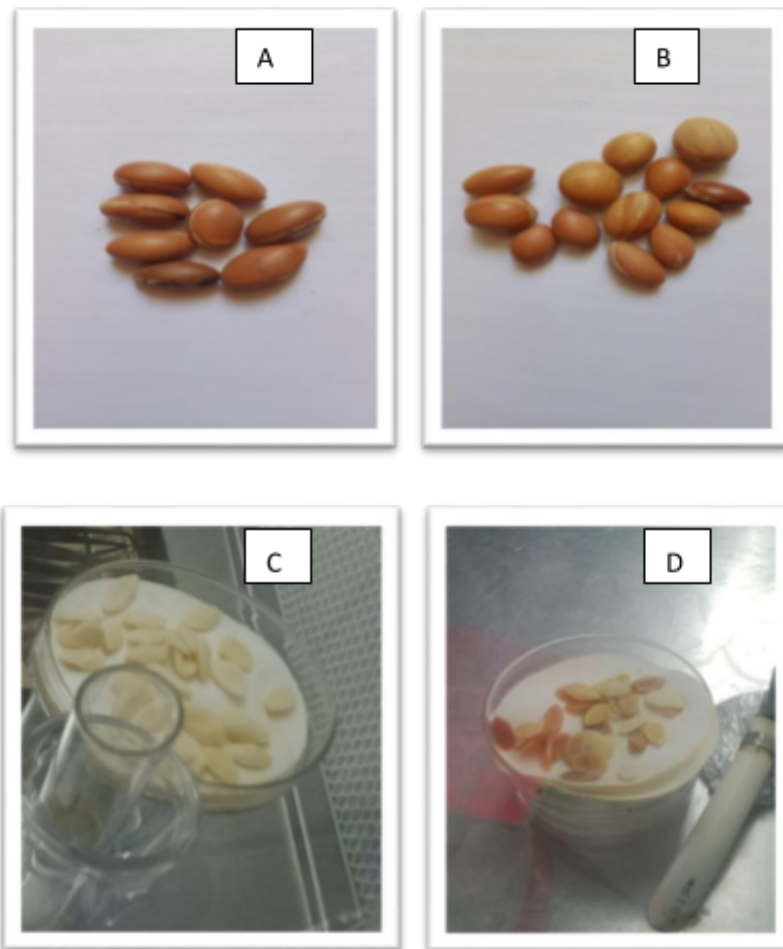
---

## Chapitre II : Matériels et Méthodes

### 1. Culture in vitro

#### 1.1. Matériel végétal

Le matériel utilisé était des amandes de graines d'*Argania spinosa*, récoltées au mois de juillet 2022 lors de la période de récolte. Deux échantillons proviennent de deux régions différentes : la région de Hamada, dans la région de Tindouf au sud-ouest de l'Algérie, et Mostaganem, dans la forêt des dunes de la commune de Stidia, à l'ouest de la wilaya.

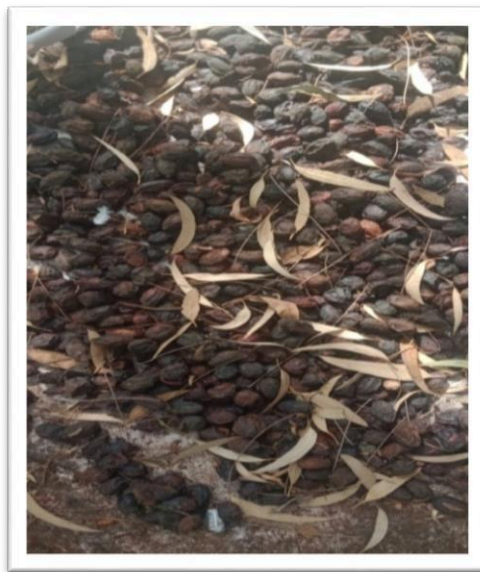


A : graines de Mostaganem ; B : graine de Tindouf ; C : amande de Tindouf ; D : amande de Mostaganem.

**Figure 14.** Matériel végétal de deux régions différentes (graines et amandes d'*A.spinosa*)



**Figure15.**Arbre d'arganier observé dans le foret de Mostaganem



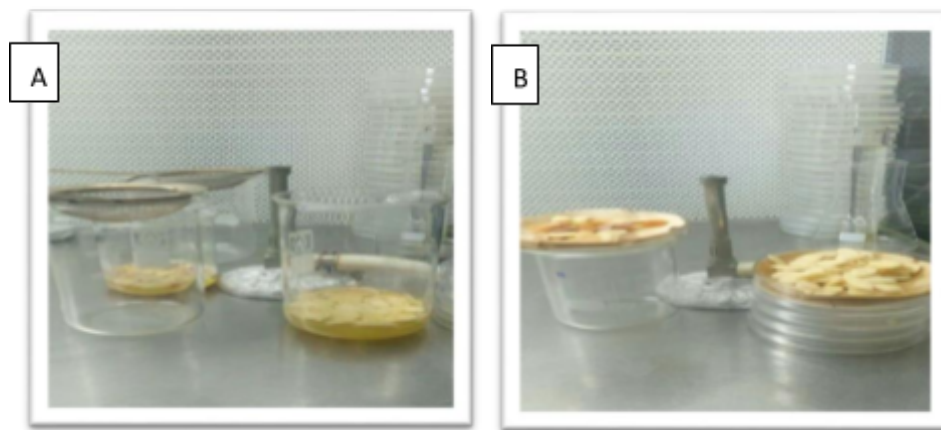
**Figure 16.** Fruit d'arganier lors de la récolte en Juillet2022.

---

## 1.2.Applications

### 1.2.1.Germination des graines

La préparation du matériel végétal est la première étape à suivre, le matériel utilisé dans cette partie est des graines d'amandes de deux régions différentes Mostaganem et Tindouf récolté en mois d'Juillet 2022. Suivie ensuite par une stérilisation du matériel végétal et du matériels a utilisé, la stérilisation du matériel végétal se passe par plusieurs étapes différentes, tout d'abord Trempage et rinçage des amandes d'arganier qui se fait par un Trempage dans l'hypochlorite de sodium 32 pendant 10 minutes puis rinçage des amandes avec de l'eau distillé stérile (autoclave), et ensuite Séchage des amandes à l'aide du papier filtre stérile sur des boites de pétri.



**Figure 17.**Etapes de stérilisation des amandes d'arganiers

#### ➤ Milieu de culture

Les milieux de culture utilisés comprennent :

- Le milieu MS (**Murashige et Skoog, 1962**), largement utilisé pour la culture in vitro en raison de sa composition équilibrée en nutriments.
- La solution **Knop (1865)**, un autre milieu nutritif souvent utilisé pour la culture de plantes.
- L'eau gélosée (**Prendergast, 1991**), qui sert de support simple pour certaines cultures végétales.

Des variantes de ces milieux ont été préparées, notamment :

- Knop avec du charbon actif, qui aide à absorber les composés inhibiteurs ou toxiques présents dans le milieu.
- MS avec du charbon actif, qui joue un rôle similaire en réduisant l'oxydation des phénols et en améliorant la régénération des explants.

Chaque milieu a été préparé individuellement (**Tableau en dessous**) et solidifié avec de l'agar (7 g/L). Le pH de ces milieux a été ajusté à 5,6 avant d'être stérilisé par autoclavage à 120°C pendant 20 minutes pour garantir des conditions aseptiques.

**Tableau 5.** Les composants des milieux utilisés

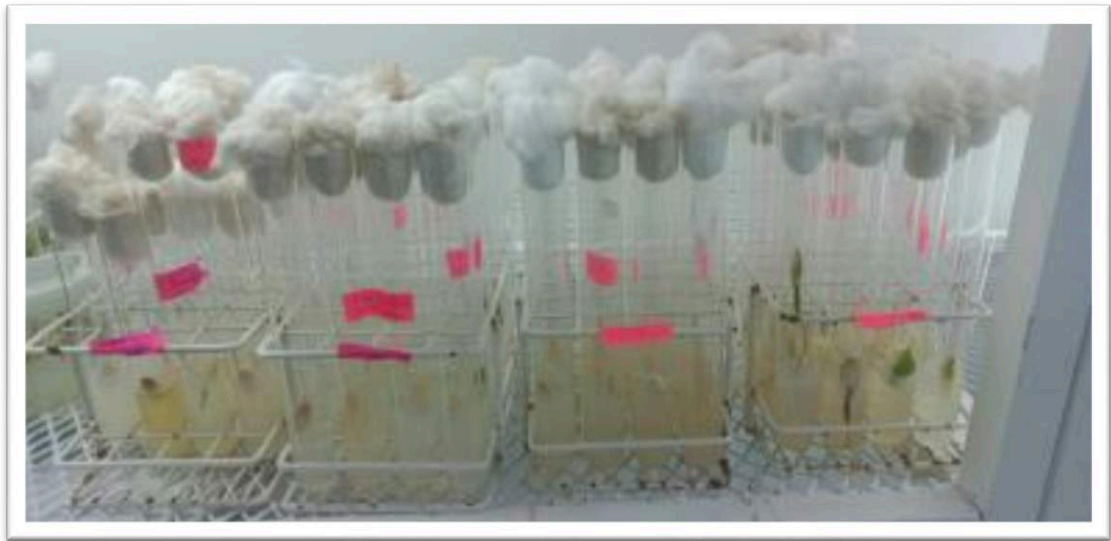
| <b>Milieu</b>               | <b>Composant</b>  |
|-----------------------------|---|
| <b>Ms (Murashigescoog )</b> | 50ml<br>macroélément<br>10ml microélément<br>10ml vitamine<br>10ml fer EDTA<br>Sacharose<br>7,5g d'agar   |
| <b>Knop</b>                 | 1g nitrate de calcium<br>0,25g nitrate de pottassium<br>0,25g sulfate de magnésium<br>0,25g phosphate monopotassique<br>1mg sulfate ferrique<br>1l d'eau distillée<br>7,5g d'agar |
| <b>Eau gélosé</b>           | 500 ml d'eau distillé<br>3,7 g d'agar   |
| <b>Knop avec charbon</b>    | Le même milieu knop avec 1g du charbon  |
| <b>MS avec charbon</b>      | Milieu MS avec 1g charbon et 20g saccharose   |

---

### ➤ Mise en culture

L'expérience a été faite dans des tubes à essai, chaque tube a été rempli par 20ml des solutions préparées et une amande pour chacun d'eux. Nos essais sont déposés dans une chambre de culture d'une photopériode de 16h/8h avec une température de 25 degrés. Notre expérimentation a été suivie pendant

4 semaines pour mesurer les paramètres (longueur de tige, nombre des feuilles, longueur racinaire)(Khelifi, 1996).



**Figure 18.** Tubes à essais dans une chambre de culture après la mise en culture

### 1.2.2. Micro propagation (multiplication)

#### ❖ Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette expérience comprend des vitro plants obtenus après germination, ainsi que leurs cotylédons, récoltés après deux mois de culture. Pour cette étude, des microboutures (bourgeons) de 1 cm de longueur, prélevées sur chaque vitro plant, ont été mises en culture dans des tubes à essai contenant des milieux de culture adaptés. La même procédure a été appliquée aux cotylédons. Toutes ces manipulations ont été réalisées sous une hotte à flux laminaire (**Figure 19**).

### ❖ Milieux de culture

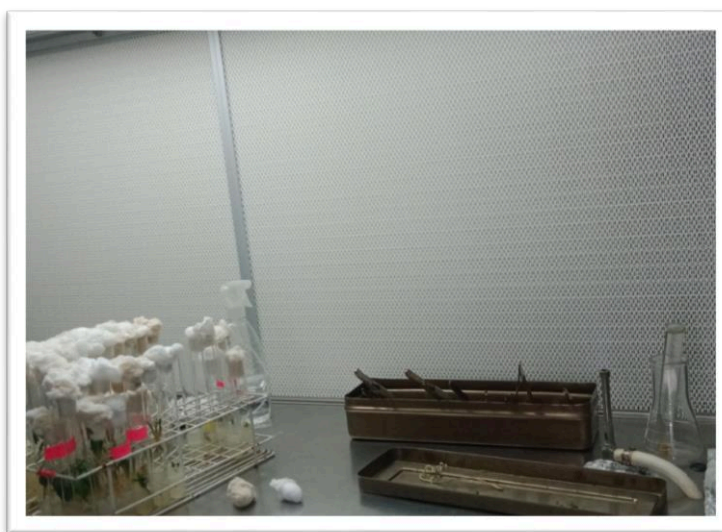
Les milieux utilisés pour la culture étaient composés du milieu Murashige et Skoog (MS) modifié, auquel ont été ajoutées cinq doses différentes de BAP (benzylaminopurine) : 0, 0,5, 3, 4 et 8 mg/L. Trois paramètres ont été étudiés et suivis pendant un mois, à savoir :

- Le nombre de feuilles produites,
- La taille de la partie aérienne,
- Le nombre de bourgeons.

Ces observations ont été faites en fonction du temps écoulé et des doses d'hormones appliquées.

**Tableau6.** Différentes doses utilisées lors de la multiplication des micro-boutures

| Milieu utilisé  | MS (témoin) | MS  | MS | MS | MS |
|-----------------|-------------|-----|----|----|----|
| Dose BAP (mg/L) | 0(témoin)   | 0.5 | 3  | 4  | 8  |



**Figure 19.** Disposition du matériel sur la paillasse de la hotte et repiquage des vitro plants



(A-vitro-plant ; B-cotylédons )

**Figure 20.**Mise en culture des vitro plants et des cotylédons *d'Argania spinosa*

## **2. Valorisation phytochimique et activité phyochimique d'Argania spinosa**

### **2.1. Produit chimique**

Divers produits chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, certains produits étant achetés auprès de Sigma. Aldrich, y compris le réactif Folin-Ciocalteu (FCR), 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 1-butyléhydroxyanisole (BHA), hydroxytoluène butylé (BHT), quercétine et  $\alpha$ - tocophérol. D'autres substances ont été obtenu auprès du DR Mustafa Turk de l'Université de Kinkale en Turquie, comme le 2,20-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline- 6-sulfonique) diammonium, acide

---

trichloroacétique (TCA), diméthylsulfoxyde (DMSO), ferricyanure de potassium ( $K_3Fe(CN)_6$ ), NaOH,  $CHCl_3$ ,  $H_2SO_4$ , KOH, liqueur de Fehling, HCl, alcool iso-amylique, iode, réactif de Dragendorff, magnésium, méthanol, éther de pétrole, néocuproïne, phénanthroline, nitrate d'argent ( $AgNO_3$ ), citrate trisodique ( $Na_3C_6H_5O_7$ ), acétylcholinestérase d'anguille électrique (AChE, Type- VI-S, EC 3.1.1.7, 827,84 U/mg, Sigma), sérum butyrylcholinestérase (BChE, EC 3.1.1.8, 7,8 U/mg, Sigma), iodure d'acétylcholine, iodure de S-butrylthiocholine, 5,5'-dithiobis(acide 2-nitrobenzoïque) (DTNB) et galantamine. De plus, les produits de Chemopharmabiochem, y compris le carbonate de sodium ( $NaCO_3$ ), le nitrate d'aluminium ( $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ ), le chlorure ferrique ( $FeCl_3$ ) et le sodium du bicarbonate ( $NaHCO_3$ ), ont été utilisés. Les tests ont été réalisés à l'aide d'un Lecteur de plaque multimode PerkinElmer à 96 puits.

## **2.2. Matériel végétal**

Le matériel végétal utilisé dans cette étude était constitué de graines et de feuilles de *Argania spinosa*, collectées pendant la période de floraison en juillet 2022, dans la région de Hamada, à Tindouf, située au sud-ouest de l'Algérie.

### **❖ Préparation des graines**

- Les fruits d'*A. spinosa* ont été soigneusement lavés pour éliminer toute saleté ou contaminant externe.
- Après le lavage, les fruits ont été pelés, retirant la couche externe, et écrasés pour en extraire les graines.
- Les graines ont ensuite été broyées mécaniquement pour faciliter les étapes de traitement suivantes.
- Enfin, les graines broyées ont été séchées à une température contrôlée de 25 °C, afin de réduire leur teneur en humidité. Une fois séchées, elles ont été réduites en une fine poudre, indispensable pour les extractions et analyses à venir.

### **❖ Préparation des feuilles**

- De manière similaire aux graines, les feuilles d'*A. spinosa* ont été soigneusement lavées pour assurer leur propreté.

- 
- Après le lavage, les feuilles ont été écrasées afin de les préparer aux futures étapes d'extraction.

Ces préparations ont été réalisées pour garantir des échantillons propres et adaptés aux analyses biochimiques et phytochimiques prévues dans l'étude.



A : partie aérienne ; B : poudre de graines ; C : poudre de feuilles ; D : fruits et graines.

**Figure 21.** Le matériel végétal, montrant les feuilles et les graines d'*A. Spinosa*.

### **2.3. Préparation des extraits brut**

#### **❖ Extraction des polyphénols**

Les polyphénols ont été extraits à température ambiante en utilisant la méthode décrite par Ertas et al. (2021). Plus précisément, 200mL de méthanol ont été mélangés avec 20 g de poudre de plante, puis le mélange a été filtré. Les filtrats obtenus ont été conservés à 4 °C pour une utilisation future.

---

## ❖ Extraction des acides gras et des composants volatils

Pour l'extraction des acides gras, la procédure décrite par Ertas et al. (2021) a été suivie en utilisant un appareil Soxhlet. Dans ce processus, 20 g de matière végétale ont été extraits avec 1 L d'éther de pétrole, et les composés lipophiles ont été obtenus après évaporation du solvant.

### 2.4. Analyse de la teneur minérale par ICP-MS

La préparation des échantillons a été réalisée selon le protocole modifié de Cicero et al. (2022). Dans un premier temps, les échantillons collectés ont été nettoyés, tranchés et séchés pendant 24 heures à 105 °C dans un four Nüve (Istanbul, Turquie). Une fois secs, les échantillons ont été homogénéisés à l'aide d'un homogénéisateur IKA (Staufen, Allemagne), passés à travers un tamis de 10 mailles pour obtenir des particules de 1600 µm, et stockés dans des bouteilles en polyéthylène nettoyées. De l'eau déionisée (18,2 MΩ.cm<sup>-1</sup>) provenant d'un système Milli-Q® (Human Power I Plus, Sejong-si, République de Corée) a été utilisée pour l'analyse.

**Tableau 7.** Conditions opératoires instrumentales de l'ICP-MS.

|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| <b>Instrument</b>                   | Agilent™ 7700x ICP-MS   |
| <b>Puissance RF</b>                 | 1600 W  |
| <b>Accord RF</b>                    | 2.10 V  |
| <b>Profondeur d'échantillonnage</b> | 10.0 nm   |
| <b>Gaz de nébulisation</b>          | 0.57 L/min  |
| <b>Température du S/C</b>           | 2 °C  |
| <b>Type de nébuliseur</b>           | MicroMist   |
| <b>Chambre de pulvérisation</b>     | Double passage de type Scott  |
| <b>Débit</b>                        | Plasma : 15 L/min ; Auxiliaire : 0.9 L/min ; Nébuliseur : 1.0–1.1 L/min |
| <b>Taux d'absorption</b>            | 1.8 mL/min  |

---

| <b>de la solution</b>          |  |
|--------------------------------|--|
| <b>Interface à vide</b>        | 4 torr, quadrupole: 2 105 torr   |
| <b>Acquisition des données</b> | Saut de pic ; Temps de réplique 200 ms ; Temps de résidence 200 ms ; Balayages / lecture 3 ; Lectures/réplique 3 ; Nombre de répliques 3 |

---

Tous les ustensiles ont été soigneusement nettoyés avec de l'acide nitrique à 10 % suivi d'eau déionisée. Pour la digestion, un système fermé à micro-ondes CEM-Mars 5 (CEM, Matthews, NC, USA) a été utilisé. Un poids sec de 0,5 g de matière végétale a été broyé et digéré avec 6 mL d'acide nitrique à 65 % (HNO<sub>3</sub>) et 2 mL de peroxyde d'hydrogène à 30 % (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Le digestor Ethos 1 (Milestone, Bergamo, Italie) a été utilisé pour minéraliser les échantillons à 1000 W, avec une montée en température de 150 à 200 °C pendant 20 minutes, suivie d'un maintien de 2 minutes à pleine puissance. Après refroidissement, les échantillons ont été filtrés, dilués avec 100 mL d'eau ultra-pure, et stockés à 4 °C.

Les concentrations minérales ont été évaluées par spectrométrie d'émission optique à plasma couplé (ICP-OES). L'exactitude des mesures a été vérifiée à l'aide de matériel de référence standard (SRM) NIST-CRM-1203 Eau potable, avec des écarts-types relatifs (RSD%) systématiquement inférieurs à 8 %.

Les concentrations métalliques ont été analysées sur une base de poids sec à l'aide de l'ICP-MS Agilent 7700x, avec des échantillons témoins inclus pour surveiller une éventuelle contamination. Les conditions de fonctionnement de l'ICP-MS sont détaillées dans le **tableau 7**.

## **2.5. Analyses par chromatographie liquide à haute performance (HPLC-DAD)**

L'extrait méthanolique d'A. Spinosa, ainsi que 29 composés phénoliques standards, a été analysé à l'aide d'un système de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) de la marque Shimadzu (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japon), selon les méthodes décrites par **Barros et al. (2009)** et **Tel, Ozturk et al. (2015)**.

---

Ce système comprend une pompe Shimadzu LC-20AT et un détecteur à réseau de diodes (DAD) SPD-M20A, tous deux pilotés par le logiciel LC-solution v.5.96 (Contrôleur de système CBM- 20A Shimadzu).

Les conditions opératoires ont été définies avec une température de colonne de 35 °C. La séparation chromatographique a été réalisée sur une colonne Inertsil ODS-3 (4 µm, 4,0 mm × 150 mm) couplée à une colonne de garde Inertsil ODS-3. La phase mobile était constituée de 0,1 % d'acide acétique dans l'eau (A) et de 0,1 % d'acide acétique dans le méthanol (B), avec un débit de 1,0 mL/min. Les solutions mères des échantillons ont été préparées dans du méthanol à une concentration de 8 mg/mL, puis filtrées à l'aide d'un filtre Agilent de 0,45 µm, avant l'injection de 20 µL de chaque échantillon.

La détection des composés a été effectuée à une longueur d'onde de 254 nm grâce au détecteur DAD. L'identification des composés phénoliques s'est faite par comparaison des temps de rétention, et les résultats ont été exprimés en milligrammes par gramme de poids sec d'extrait (mg/g d'extrait).

**Tableau 8** : récapitule les temps de rétention, les courbes d'étalonnage, les coefficients de régression ( $R^2$ ), les plages de linéarité, ainsi que les limites de quantification (LOQ), les limites de détection (LOD) et les taux de récupération des standards phénoliques mesurés à 254 nm.

| N°  | Composés phénoliques   | RT <sup>a</sup> | Équation de calibration | R2 <sup>b</sup> | Plage linéaire (µg/mL) | λ <sub>max</sub> nm | LOD <sup>c</sup> (µg/mL) | LOQ <sup>c</sup> (µg/mL) | Récupération (%) | RSD <sup>d</sup> dans la journée (n = 7) |
|-----|------------------------|-----------------|-------------------------|-----------------|------------------------|---------------------|--------------------------|--------------------------|------------------|--|
| 1.  | Acide gallique         | 15.22           | $y = 45540x - 84708$    | 0.9995          | 5.00-62.5              | 254                 | 4.64                     | 14.06                    | 108.00           | 2.35                                     |
| 2.  | Acide protocatéchuique | 24.62           | $y = 65753x - 6932.1$   | 0.9993          | 0.57-290               | 254                 | 0.26                     | 0.79                     | 100.22           | 1.22                                     |
| 3.  | Pyrocatechol           | 24.65           | $y = 3772.8x + 23692$   | 0.9940          | 7.8-250                | 254                 | 4.72                     | 14.32                    | 100.35           | 3.51                                     |
| 4.  | Catéchine              | 30.27           | $y = 2611.2x + 74392$   | 0.9998          | 3.80-1950              | 254                 | 1.20                     | 3.63                     | 96.14            | 3.78                                     |
| 5.  | p-Hydroxybenzaldéhyde  | 33.36           | $y = 34376x + 4239.6$   | 0.9880          | 1.25-50                | 280                 | 1.33                     | 4.44                     | 99.01            | 4.76                                     |
| 6.  | Acide vanillique       | 34.75           | $y = 66764x + 46508$    | 0.9998          | 0.39-200               | 254                 | 0.29                     | 0.88                     | 100.16           | 5.06                                     |
| 7.  | Épicatéchine           | 35.27           | $y = 2097.6x + 7998.2$  | 0.9999          | 3.9-500                | 254                 | 0.95                     | 2.86                     | 101.25           | 4.00                                     |
| 8.  | Coumarine              | 45.17           | $y = 81802x + 153471$   | 0.9999          | 1.42-45.5              | 254                 | 1.02                     | 3.09                     | 96.30            | 3.59                                     |
| 9.  | Propylgallate          | 46.98           | $y = 29731x - 12781$    | 0.9996          | 1.86-952.5             | 254                 | 1.46                     | 4.44                     | 95.44            | 3.83                                     |
| 10. | Rutine                 | 47.52           | $y = 47899x + 56096$    | 0.9995          | 0.46-235               | 254                 | 0.43                     | 1.29                     | 99.28            | 3.01                                     |
| 11. | Myricétine             | 50.36           | $y = 119666x + 161404$  | 0.9993          | 0.35-22.5              | 254                 | 0.35                     | 1.07                     | 97.41            | 3.16                                     |

<sup>a</sup> RT : Temps de rétention du composé en minutes ; <sup>b</sup> R2 : linéarité du graphique d'étalonnage ; <sup>c</sup> LOD : Limite de détection en µg/mL ; LOQ : Limite de quantification en µg/mL ; <sup>d</sup> RSD : Pourcentage de l'écart type relatif.

---

---

## 2.6. Analyse des acides gras et des composants volatils par GC-MS

### ❖ Préparation des esters méthyliques des acides gras (FAMES)

Pour préparer les esters méthyliques, 25 mg d'extrait d'éther de pétrole ont été décongelés dans un flacon de 2 mL contenant de la soude (NaOH) 0,5 N. Le mélange a été chauffé dans un bain de vapeur à deux reprises : d'abord pendant 5 minutes, après quoi il a été refroidi avant d'ajouter 2 mL de trifluorure de bore-méthanol (BF<sub>3</sub> MeOH). Le second chauffage a duré 3 minutes, suivi d'un refroidissement, de l'ajout de 5 mL de solution saturée de NaCl et d'une extraction avec du n-hexane (Öztürk et al, 2013 ; Gülşen&Gülenay, 2014 ; Duru et al, 2011 ; Tokul-Olmez et al, 2018).

### ❖ Analyse GC-MS des esters méthyliques des acides gras et des composants volatils

Dans un flacon de 25 mL, 25 mg d'extrait d'éther de pétrole d'A. Spinosa ont été dissous dans 2 mL de soude (NaOH) 0,5 N. Le flacon a été scellé et placé dans un bain-marie bouillant pendant 5 minutes, puis retiré et laissé refroidir. Après refroidissement, 2 mL de BF<sub>3</sub>-MeOH ont été ajoutés, et le mélange a de nouveau été chauffé dans un bain-marie bouillant à 80 °C pendant 3 minutes avant d'être refroidi. Ensuite, 5 mL de solution saturée de NaCl ont été ajoutés et le mélange a été agité. L'extraction a été réalisée deux fois avec 20 mL de n-hexane (Tokul-Olmez et al, 2018).

Pour l'analyse qualitative et quantitative des acides gras, une chromatographie en phase gazeuse (GC) a été réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Shimadzu GC-17 AAF, V3, 230V, fabriqué au Japon. Un détecteur à ionisation de flamme (FID) et une colonne capillaire en silice fondue non polaire DB-1 (30 m × 0,25 mm ID, épaisseur de film 0,25 µm) ont été utilisés pour analyser les dérivés méthyliques des acides gras. Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été réglées respectivement à 250 °C et 270 °C. L'hélium a servi de gaz porteur à un débit de 1,2 mL/min, avec un volume d'injection d'échantillon de 1,0 µL et un ratio de division de 20:1.

La température du four a été maintenue à 100 °C pendant 5 minutes, puis augmentée à 238 °C à un taux de 3 °C/min et maintenue pendant 9 minutes. Les compositions en pourcentage des dérivés méthyliques des acides gras ont été déterminées à l'aide du logiciel GC Solution. Un mélange standard

---

d'ester méthylique d'acide gras (FAME Supelco™ 37, Catalog no : 47885-U) a été utilisé pour la comparaison et la quantification.

## **2.7.Extraction par HS-SPME et analyses GC/MS**

Nous avons utilisé une microextraction en phase solide par espace de tête (HS-SPME) avec une fibre Supelco SPME (revêtement DVB/CAR/PDMS 50/30 µm, St. Louis, MO, USA), équipée avec le port d'injection du système de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS). Les analyses GC/MS ont été réalisées avec un chromatographe en phase gazeuse Agilent (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) équipé d'une colonne capillaire Agilent HP-5MS (30 m x 0,25 mm ; épaisseur du revêtement 0,25 µm ; Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, USA) et couplé à un détecteur sélectif de masse à quadrupôle simple Agilent 5977B (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, USA).

Les composés volatils émis spontanément ont été échantillonnés par HS-SPME, avec une fibre préconditionnée selon les instructions du fabricant, puis exposée à l'espace de tête pendant 30 minutes après un temps d'équilibrage de 30 minutes. Une fois l'échantillonnage terminé, la fibre a été transférée dans le port d'injection du système GC/MS pour analyse. Les analyses GC/MS ont été effectuées avec les mêmes conditions chromatographiques et de spectrométrie de masse que celles décrites par **Bianchi et al. (2023)**.

En résumé, la température du four a été programmée de 60 à 240°C avec un gradient de 3°C/min et un débit d'hélium de 1 mL/min en mode injection sans division (splitless). Les températures de l'injecteur et de la ligne de transfert étaient respectivement de 250 et 240°C. Les composés volatils ont été identifiés en comparant leurs temps de rétention avec ceux d'échantillons standards (lorsqu'ils étaient disponibles) et leurs indices de rétention linéaire (IRL) par rapport à une série d'n- hydrocarbures. Les spectres de masse expérimentaux ont été comparés aux bibliothèques commerciales (**NIST 2014 et ADAMS 2007**) ainsi qu'à des bibliothèques maison établies à partir de substances pures ou de mélanges connus.

---

## 2.8. Activités biologiques

### ● **Activité antioxydante**

Les propriétés antioxydantes des extraits d'*A. Spinosa* ont été évaluées en utilisant les tests DPPH, ABTS et CUPRAC, à l'aide d'un lecteur de microplaques SpectraMax 340PC384 (MolecularDevices, Silicon Valley, CA, USA) avec un format de microplaques à 96 puits. Les calculs et mesures des données de bioactivité ont été effectués avec le logiciel Softmax PRO v5.2 (MolecularDevices, Silicon Valley). Les solutions mères des échantillons ont été préparées à une concentration de 4000 µg/mL.

Les résultats ont été exprimés sous forme de concentration inhibitrice médiane (IC<sub>50</sub>, en µg/mL), indiquant la concentration d'extrait nécessaire pour inhiber DPPH ou ABTS à 50 %. A<sub>0.5</sub> (µg/mL) correspond à la concentration qui donne une intensité d'absorbance de 0,50 pour le test CUPRAC. Le butylhydroxyanisole (BHA) a été utilisé comme standard antioxydant pour l'évaluation comparative. Chaque échantillon a été mesuré en triplicata.

#### ○ **Activité de piégeage des radicaux libres - Test DPPH**

Le test DPPH, tel que décrit par **Blois (1958)**, a été utilisé pour évaluer l'activité de piégeage des radicaux libres. Un total de 39,4 mg de DPPH a été dissous dans du méthanol pour créer une solution à 0,1 mM. Ensuite, 40 µL de chaque extrait à différentes concentrations ont été ajoutés à 160 µL de la solution de DPPH (0,1 mM dans du méthanol).

Le mélange a été bien agité, et son absorbance a été mesurée à 517 nm après une heure d'incubation dans l'obscurité à température ambiante. L'activité de piégeage a été calculée en utilisant la formule suivante :  $\text{Activité de piégeage \%} = [\text{Abs (témoin)} - \text{Abs (échantillon)}] / \text{Abs (témoin)} \times 100$ , où Abs témoin représente la concentration initiale de DPPH, et Abs échantillon désigne l'absorbance de la concentration restante de DPPH en présence de l'extrait et du témoin positif.

#### ○ **Essai de décoloration du radical cation ABTS**

---

L'activité de piégeage du radical ABTS a été déterminée en suivant la méthode décrite par **Re et al. (1999)**. Pour préparer la solution d'ABTS, 7 mM d'ABTS ont été mélangés avec 2,45 mM de persulfate de potassium et incubés dans l'obscurité à température ambiante pendant 12 heures. Avant utilisation, la solution a été diluée avec de l'eau distillée pour obtenir une absorbance de 0,70 ( $\pm 0,01$ ) à 734 nm, mesurée avec un spectrophotomètre Shimadzu 1601.

Dans chaque puits d'une microplaque, 160  $\mu$ L de la solution ABTS ont été combinés avec 40  $\mu$ L de l'échantillon à différentes concentrations, avec le méthanol servant de contrôle négatif. L'absorbance a été mesurée à 734 nm après une incubation de 10 minutes à température ambiante.

- **Capacité antioxydante réductrice cuivrique (CUPRAC)**

L'activité CUPRAC a été évaluée selon la méthode **d'Apak et al. (2008)**, modifiée par Lahmadi et al. (2019). Ce test repose sur la réduction des ions  $\text{Cu}^{2+}$  en  $\text{Cu}^+$ , qui réagissent ensuite avec le réactif chromogène Neocuproïne (NC) (2,9-diméthyl-1,10-phénanthroline) en présence de groupes phénoliques hydroxyles, formant un complexe stable absorbant à 450 nm. Pour lancer le test, un mélange a été préparé avec 60  $\mu$ L d'acétate d'ammonium 1M ( $\text{NH}_4\text{Ac}$ ) à pH 7.0, 50  $\mu$ L de néocuproïne 7,5 mM et 50  $\mu$ L de chlorure de cuivre 10 mM ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ).

Ensuite, 40  $\mu$ L de solution d'échantillon à différentes concentrations ont été ajoutés. Après une incubation d'une heure à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 450 nm.

- **Activité inhibitrice enzymatique**

- **Activité anticholinestérase**

Des essais spectrophotométriques *in vitro* ont été réalisés pour évaluer les effets inhibiteurs des extraits d'*A. Spinosa* sur les activités de l'acétylcholinestérase (AChE) et de la butyrylcholinestérase (BChE), suivant les protocoles établis par **Ellman et al. (1961)** et **Topal (2020)**.

Ces essais ont été réalisés à l'aide d'un lecteur de microplaques SpectraMax 340PC384 (MolecularDevices, Silicon Valley, CA, USA), avec analyse des données effectuée via le logiciel

---

Softmax PRO v5.2. Les solutions mères des échantillons ont été préparées à une concentration de 2000 µg/mL. Le test d'Ellman, une méthode standard pour la détermination des thiols, a été utilisé.

Il consiste en la dégradation de l'acétylthiocholine par l'AChE et de la butyrylthiocholine par la BChE pour produire du thiocholine, qui réagit avec le 5,5'-dithiobisnitrobenzoate (DTNB) pour former un anion 5-thio-2-nitrobenzoate jaune. Cela permet d'évaluer la cinétique d'inhibition enzymatique et de déterminer les valeurs IC<sub>50</sub> (la concentration qui entraîne une diminution de 50 % de l'activité enzymatique). Les substrats principaux comprenaient l'acétylthiocholine iodée et le chlorure de butyrylthiocholine, avec de l'AChE extraite d'anguilles électriques et de la BChE de sérum de cheval. En résumé, 20 µL d'enzyme AChE ( $5,32 \times 10^{-3}$  U) ou BChE ( $6,85 \times 10^{-3}$  U) ont été incubés pendant 15 minutes à 25 °C avec 150 µL de tampon contenant 0,1 M de phosphate de sodium (pH 8,0) et 10 µL d'échantillon à différentes concentrations. La réaction a été initiée en ajoutant 10 µL d'acétylthiocholine iodée ( $7,1 \times 10^{-4}$  M) ou de chlorure de butyrylthiocholine ( $2 \times 10^{-4}$  M) et 10 µL de DTNB ( $5 \times 10^{-4}$  M).

L'absorbance de l'anion jaune résultant, le 5-thio-2-nitrobenzoate, a été mesurée à 412 nm toutes les cinq minutes pendant 15 minutes. La galanthamine a été utilisée comme contrôle positif à des concentrations équivalentes aux échantillons. Le pourcentage d'inhibition de l'AChE et de la BChE a été calculé par rapport au blanc (méthanol avec tampon phosphate pH 8) en utilisant la formule suivante :

Inhibition = [(Activité enzymatique sans extrait – Activité enzymatique avec l'extrait) / Activité enzymatique sans extrait] × 100.

#### ○ **Activités inhibitrices de l'α-amylase et l'α-glucosidase**

Les effets inhibiteurs des extraits d'A. Spinosa sur l'α-amylase et l'α-glucosidase ont été évalués par spectrophotométrie, à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits, SpectraMax 340PC384 (MolecularDevices, Silicon Valley, CA, USA). L'analyse et la mesure des données de bioactivité ont été réalisées avec le logiciel Softmax PRO v5.2 (MolecularDevices, Silicon Valley).

---

L'acarbose a été utilisé comme contrôle positif, à une concentration égale à celle des échantillons. La valeur IC50, représentant la concentration d'échantillon nécessaire pour obtenir 50 % d'activité inhibitrice, a été déterminée à partir de la courbe représentant l'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase ou de l' $\alpha$ -glucosidase en fonction des concentrations des échantillons.

Le pourcentage d'activité inhibitrice est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'activité inhibitrice} = ((\text{DO control} - \text{DO Test}) / \text{DO contrôle}) \times 100$$

La concentration des échantillons inhibant 50 % de l'activité enzymatique de l' $\alpha$ -amylase ou de l' $\alpha$ -glucosidase (IC50) est déterminée graphiquement selon la fonction :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = f(\log \text{ concentration de l'échantillon}).$$

L'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase a été évaluée selon la méthode décrite par **Van Quan et al. (2019)**, avec quelques ajustements mineurs concernant le temps d'incubation, les réactifs et les quantités.

Dans une microplaque à 96 puits, 25  $\mu\text{L}$  de solution d'échantillon (plage de concentration : 50 - 400  $\mu\text{g/mL}$ ) et 50  $\mu\text{L}$  de solution d' $\alpha$ -amylase (0,1 unité/mL) dans un tampon phosphate (20 mM, pH 6,9, préparé avec 6 mM de NaCl) ont été mélangés. Le mélange a été pré-incubé pendant 10 minutes à 37°C. Ensuite, 50  $\mu\text{L}$  de solution d'amidon (0,05 %) ont été ajoutés, suivis d'une nouvelle incubation de 10 minutes à 37°C. La réaction a été stoppée par l'ajout de 25  $\mu\text{L}$  de HCl (0,1 M) et 100  $\mu\text{L}$  de solution de Lugol. L'absorbance a été mesurée à 565 nm.

L'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -glucosidase a été évaluée selon la méthode de **Kim et al. (2010)**, avec quelques adaptations concernant le temps d'incubation, les réactifs et leurs quantités respectives. Dans une microplaque à 96 puits, un mélange contenant 50  $\mu\text{L}$  de tampon phosphate (0,01 M, pH 6,9), 25  $\mu\text{L}$  de PNPG (4-N-nitrophényl- $\alpha$ -D-glucoopyranoside) dans du tampon phosphate (0,01 M, pH 6,9), 10  $\mu\text{L}$  de solution d'échantillon (plage de concentration : 25-200  $\mu\text{g/mL}$ ), et 25  $\mu\text{L}$  d' $\alpha$ -glucosidase (0,1 unité/mL) dans du tampon phosphate (0,01 M, pH 6,0) a été préparé. Le mélange a ensuite été incubé pendant 20 minutes à 37°C. Après cela, 90  $\mu\text{L}$  de carbonate de sodium (0,1 M) ont été ajoutés pour stopper la réaction, et l'absorbance a été mesurée à 400 nm.

---

### 3. Analyse statistique

Les résultats de toutes les évaluations biologiques sont exprimés sous forme de moyenne de trois répétitions indépendantes, présentés en moyenne  $\pm$  écart-type (ET). Une analyse de variance à un facteur (ANOVA à un facteur) a d'abord été réalisée pour tester les différences globales. Lorsque les valeurs  $p$  étaient inférieures à 0,05, le test HSD de Tukey a été utilisé pour évaluer la signification des différences entre les standards et les extraits, en effectuant des comparaisons multiples des moyennes. Toutes les analyses statistiques ont été considérées comme significatives pour  $p < 0,05$ .

## Chapitre III : Résultats et discussion

### 1. Germination et micro propagation

#### 1.1. Germination des graines

##### ❖ Taux et vitesse de germination

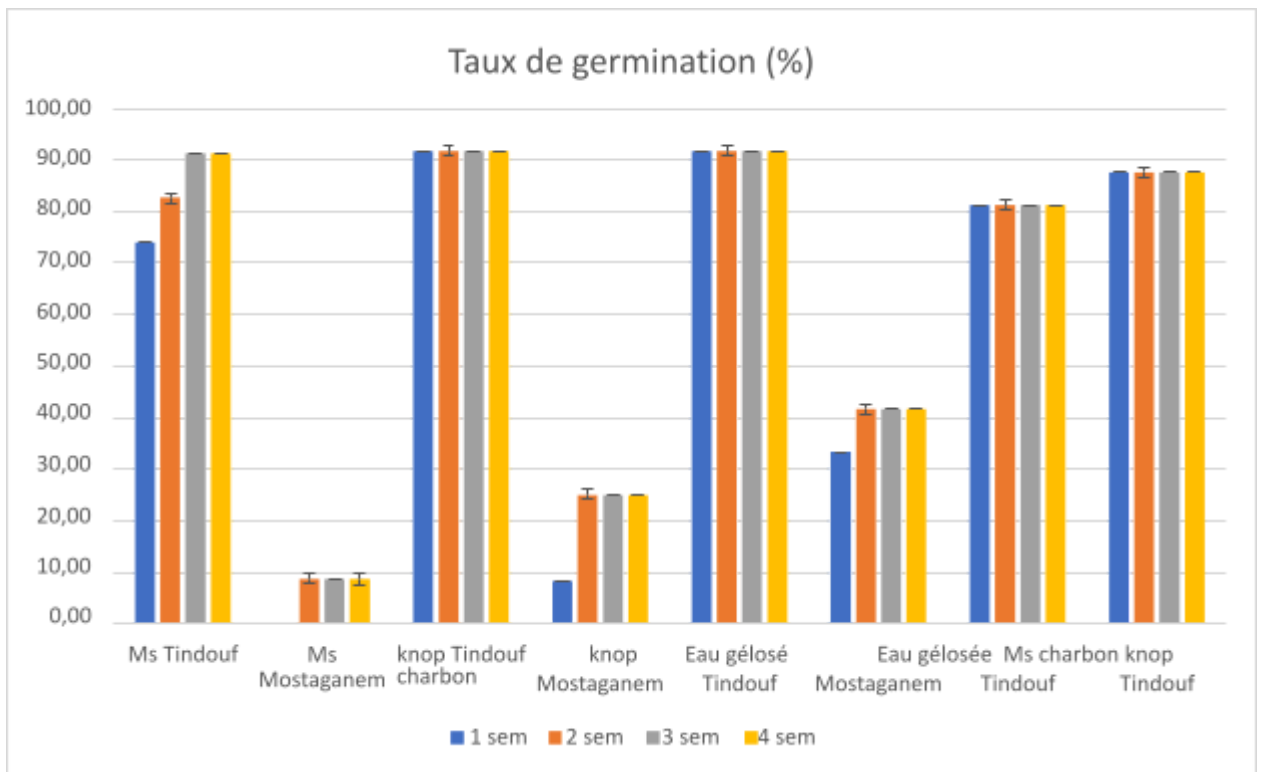
Les taux de germination en fonction des milieux de culture des graines d'*Arganiaspinosa* de Tindouf sont présentés dans la **figure22**. Le taux de germination augmente progressivement au fil des semaines, mais le plus élevé est obtenu avec l'eau gélosée, le milieu MS et Knop, avec un ordre de germination atteignant près de 92%. Ensuite, vient le milieu Knop avec charbon et MS avec charbon en tenant des capacités de germination de 87,5% et 81%, respectivement (**Figure 24 et 25**). Alors que, le taux de germination des graines d'*Argania spinosa* de Mostaganem en fonction des milieux de culture ont représenté le milieu d'eau gélosée donnant les meilleurs taux avec 41%, suivi du milieu Knop avec un taux de germination de 25%, et enfin le milieu MS avec un taux de 6%.

Dans le but de déterminer l'effet de la "Provenance des graines", nous avons cultivé des graines d'*Argania spinosa* prélevées de deux régions différentes (Tindouf et Mostaganem). Les résultats obtenus après 4 semaines de culture (**Figure 24 et 25**) montrent une différence de réactivité entre les graines des deux provenances testées. Nous avons enregistré un taux de germination de 90% pour les trois milieux testés, chez les embryons de provenance "Tindouf", contre des taux de germination de 6% pour MS, 25% pour Knop et 41% pour l'eau gélosée chez ceux provenant de Mostaganem (**Figure22 et 23**).

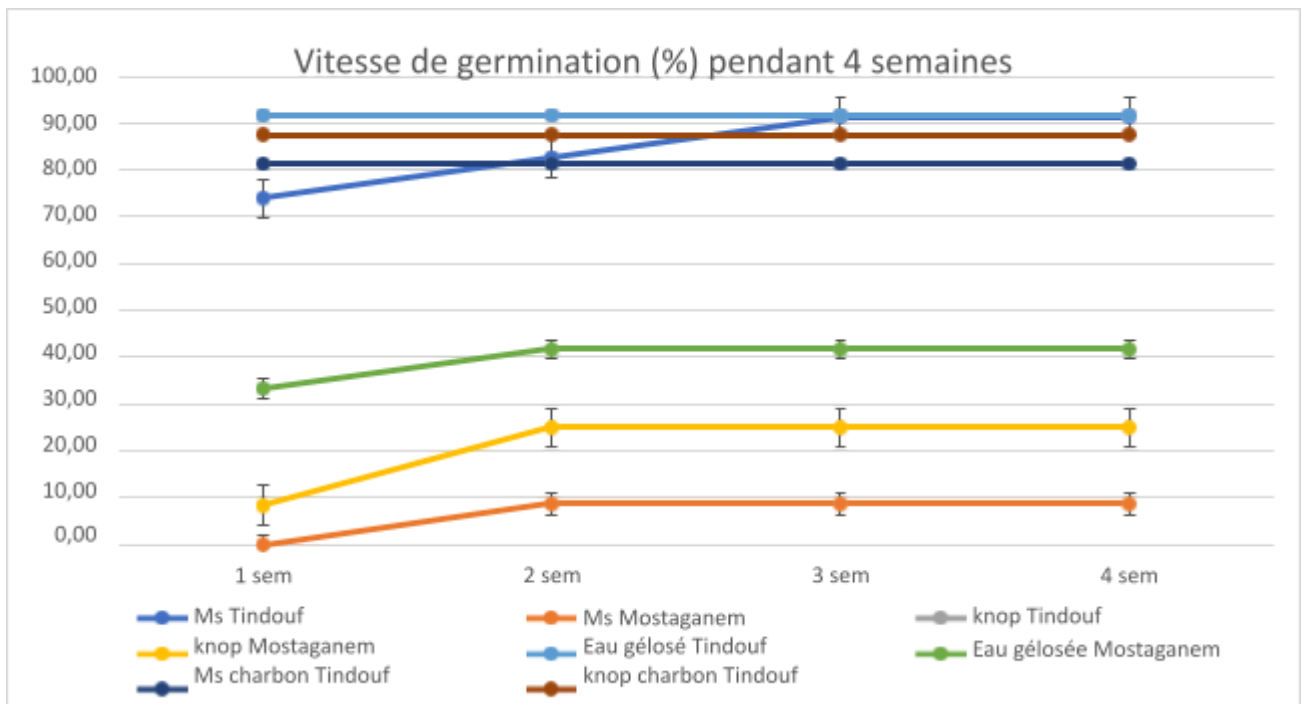
---

La germination est une étape végétative clé dans le cycle de développement de la plante. D'après nos résultats, la germination *in vitro* de l'arganier est influencée par la provenance du matériel végétal utilisé : dans notre étude, les graines de Tindouf germent mieux que celles de Mostaganem, tandis que, les taux de germination des graines de même provenance changent en fonction du milieu de culture. Les graines des deux provenances étudiées (Tindouf et Mostaganem) semblent différentes. Les graines de Tindouf sont plus germinatives que celles de Mostaganem, mais la composition du milieu de culture n'influence pas la germination *in vitro* de l'arganier. La solution Knop et l'eau gélosée, bien qu'elles ne soient pas riches en minéraux, permettent d'obtenir de bons résultats.

Afin d'étudier l'effet de la provenance et le milieu de culture, nous avons germés des graines prélevées dans deux régions différentes (Tindouf et Mostaganem). Les milieux de culture utilisés étaient ceux de Murashige et Skoog (1962), Knop et l'eau gélosée et MS et Knop avec charbon. Après quatre semaines de culture (**figure 23**), nous avons observé une différence de réactivité dans la vitesse de germination des graines des deux provenances. Les graines de Tindouf ont montré la meilleure vitesse de germination dans les milieux Knop et l'eau gélosée, avec un taux de germination de 90 % dès la première semaine, suivi par les graines de Tindouf dans le milieu MS avec un taux de germination de 73 %. En revanche, les graines de Mostaganem ont présenté une vitesse de germination plus faible, avec un taux de germination compris entre 0 et 33 % au cours de la première semaine, atteignant un maximum de 10 à 40 % au cours de la deuxième semaine pour les trois milieux étudiés.



**Figure 22.** Taux de germination des graines d'*Arganiaspinosa* en fonction des milieux de culture et de la région



**Figure 23.** Cinétique de germination des graines d'Arganiaspinosa en fonction des milieux de culture et de la région



MS

Knop

Eau gélosé

Knop charbon

Ms charbon

**Figure 24.** Germination des graines d'*Argania spinosa* de Tindouf en fonction des milieux de

culture après 4 semaines



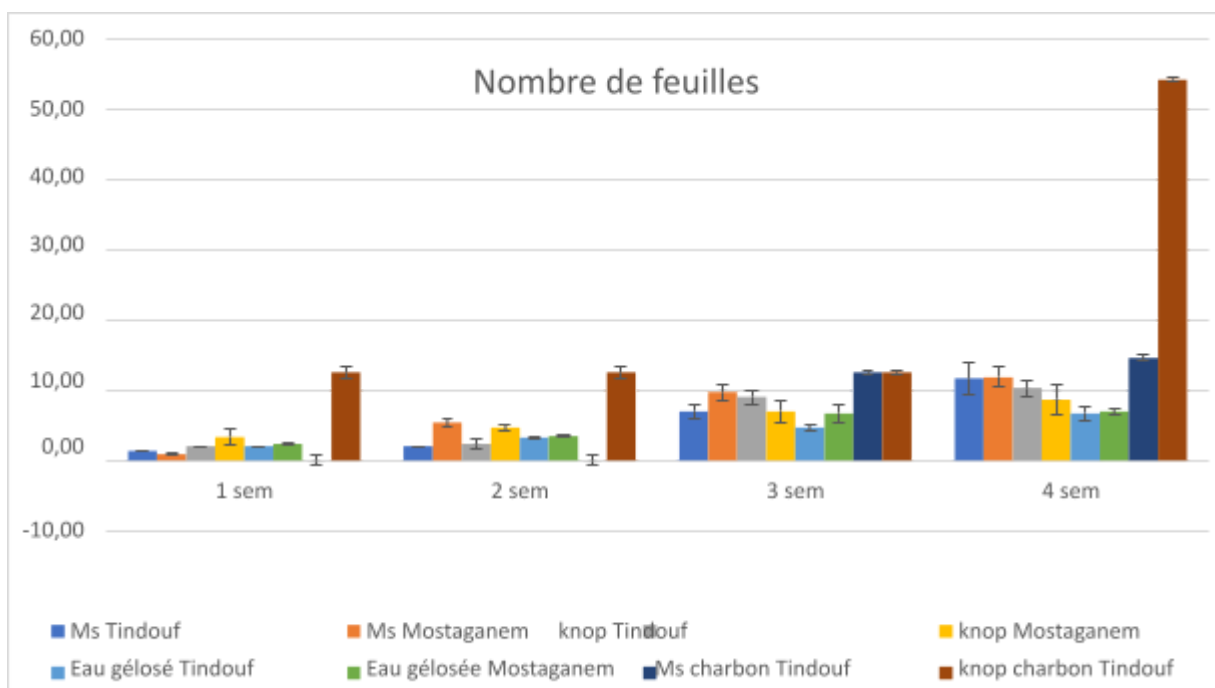
**MS**

**Knop**

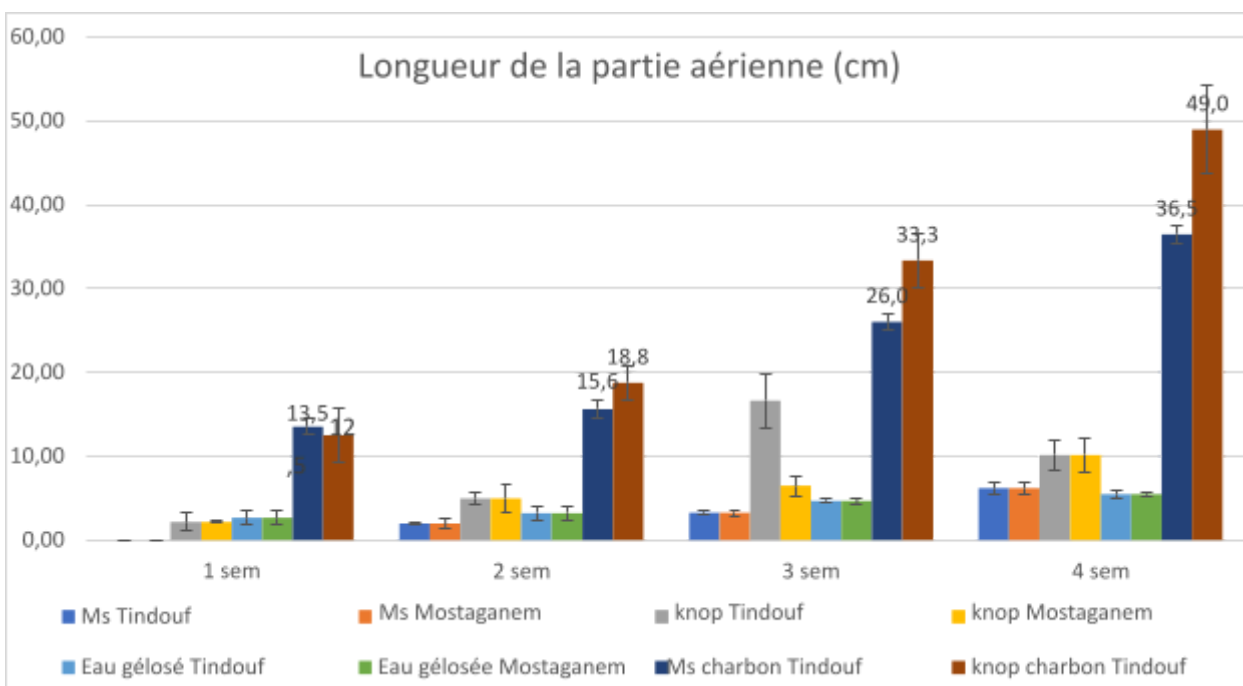
**Eau gélosé**

**Figure 25.** Germination des graines d'*Argania spinosa* de Mostaganem En fonction des milieux de culture après 4 semaines

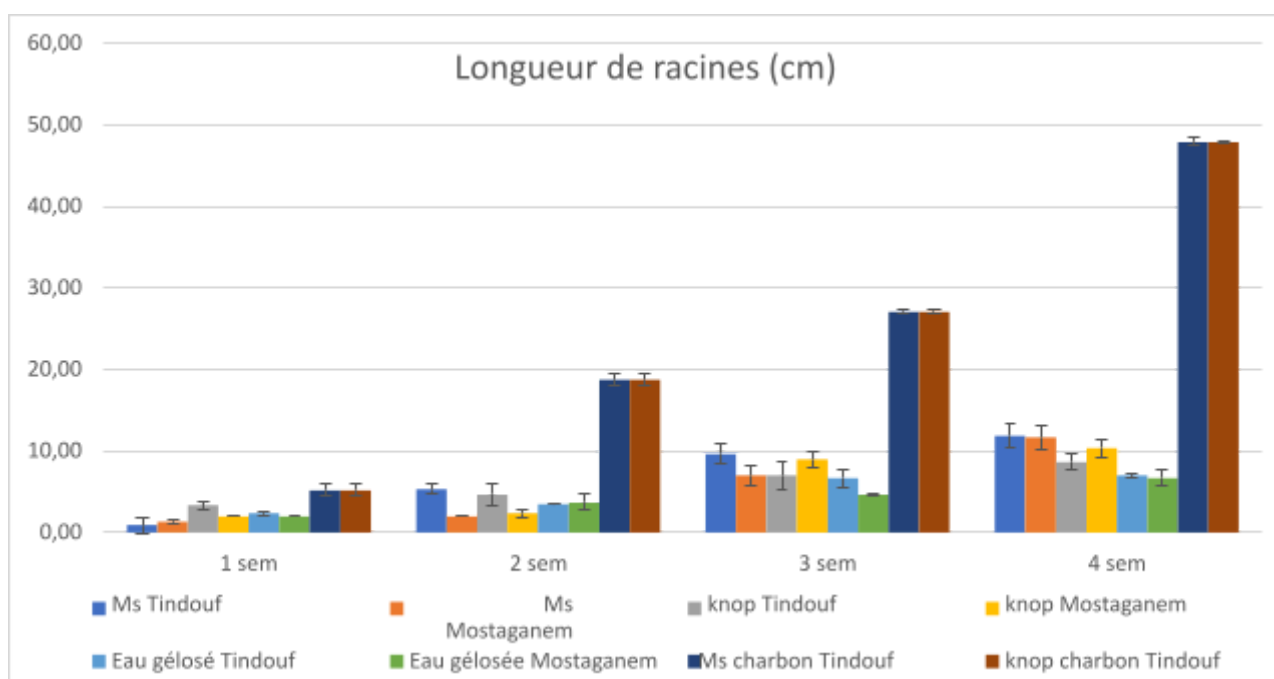
**1.1. Nombre de feuilles, longueur de la partie aérienne et longueur des racines**



**Figure 26.** Nombre de feuilles après germination des graines d'Arganiaspinosa en fonction des milieux de culture et de la région



**Figure 27.** Longueur de la partie aérienne (cm) après germination des graines d'Arganiaspinosa en fonction des milieux de culture et de la région



**Figure 28.** Longueur de racines (cm) après germination des graines d'Arganiaspinosa en fonction des milieux de culture et de la région

Après l'analyse des résultats relatif au nombre de feuilles après la germination des graines d'Arganiaspinosa de Tindouf en fonction des milieux de culture (**figure 26**), il n'y a pas de réactions significativement différentes du comportement des graines en fonction des milieux utilisés, à l'exception du milieu MS et du knop avec charbon, où, un nombre élevé de feuilles est observé après 3 et 4 semaines (**Figure 24**). Néanmoins, pour ce qui est de la provenance des graines, les deux régions (Mostaganem et Tindouf) ont montré des réactions similaires du comportement des explants.

En ce qui concerne la longueur des racines, les résultats remportés (**figure 27**) ont révélé des réactions différentes du comportement des explants en fonction du type de milieu de culture et de la présence de charbon actif. La longueur des racines a été significativement affectée par la présence du charbon actif, indépendamment du milieu de culture utilisé.

Les données montrent que l'addition de charbon actif, que ce soit dans le milieu MS ou knop, a un effet positif sur la longueur des racines (**Figure 24**). Ainsi, la longueur des racines après la germination des graines de Mostaganem et de Tindouf a augmenté avec le temps pour tous les milieux utilisés, bien que la provenance des graines n'ait pas eu d'effet significatif sur la longueur des

---

racines. L'adjonction de charbon actif au milieu de culture (MS et Knop) améliore de manière significative la croissance aérienne des graines de Tindouf. En présence de charbon actif, la longueur de la partie aérienne atteint en moyenne 26 et 33 cm, contre 36 et 49 cm pour MS et Knop après 3 et 4 semaines respectivement.

En ce qui concerne la longueur de la partie aérienne, les milieux MS et Knop avec charbon montrent une croissance élevée après 3 et 4 semaines pour les graines de Tindouf (**Figure 28**).

En revanche, pour les autres milieux, les graines des deux régions (Mostaganem et Tindouf) ont montré une croissance faible de la partie aérienne, tant pour les graines de Tindouf que pour celles de Mostaganem (**Figure 24 et 25**). Ces résultats confirment l'effet bénéfique du charbon actif par rapport aux autres milieux, favorisant considérablement le développement de la partie aérienne

## 1.2. Micro propagation des vitro plants de Tindouf

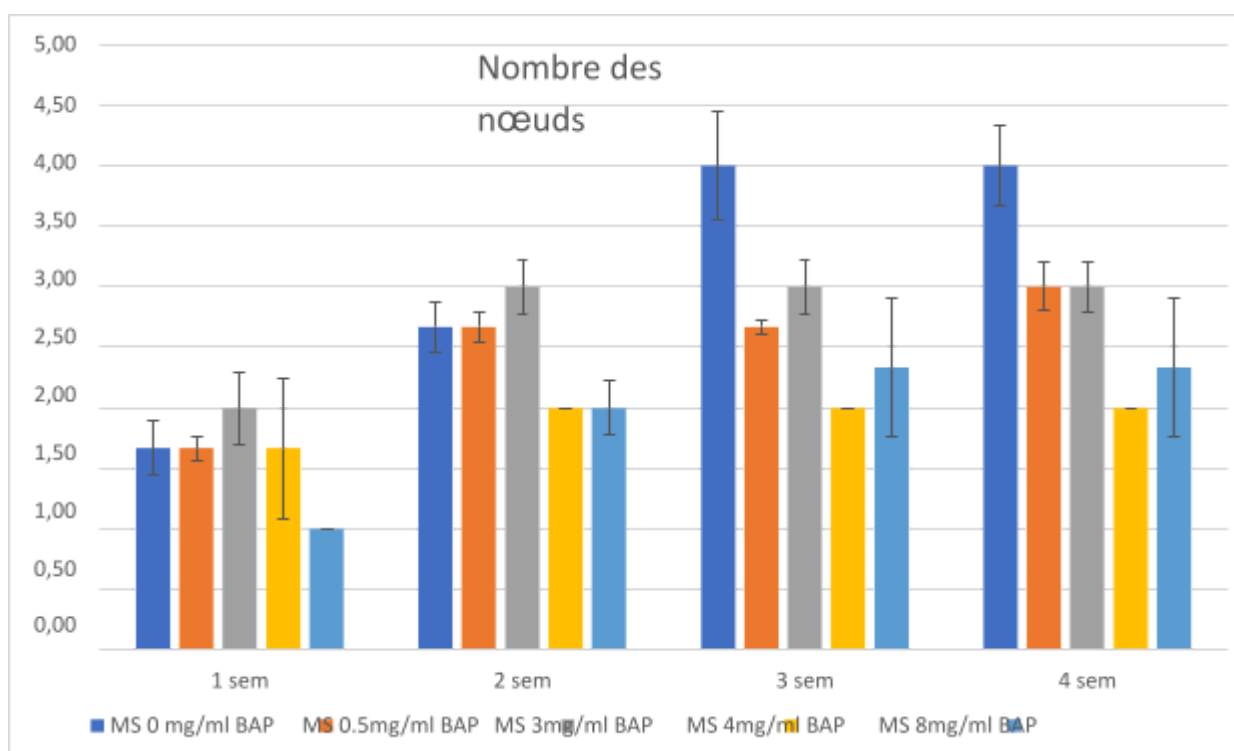
La présente étude a été entreprise afin d'améliorer la qualité et la fonctionnalité du système aérienne des plantules d'arganier produites in vitro. Les vitro plants collectés après germinations des graines ont été cultivés sur un milieu MS impliquant un régulateur de croissance, La 6-benzylaminopurine ou (BAP) ( $C_{12}H_{11}N_5$ ) qui est une hormone végétale appartenant aux groupes des cytokinines.

Afin de déterminer le meilleur traitement hormonal, nous avons testé le phytohormone (BAP) à différentes doses allant de 0 ; 0.5, 3 ; 4 et 8 mg/ml. Le milieu de base est constitué de MS. L'analyse des **figure 29, 30 et 31** montre l'effet de la dose hormonale et le temps sur la réactivité des explants introduits in vitro. En effet, le meilleur nombre des nœuds obtenu (**Figure 29**) a été en présence de la BAP à la dose de 3 mg/ml, cependant le pourcentage de réactivité (Nombre des nœuds) diminue en présence des doses supérieures ou inférieures à 3 mg/l pendant les 4 semaines. Alors que, référant au temps le nombre des nœuds reste constant presque à partir la deuxième semaine.

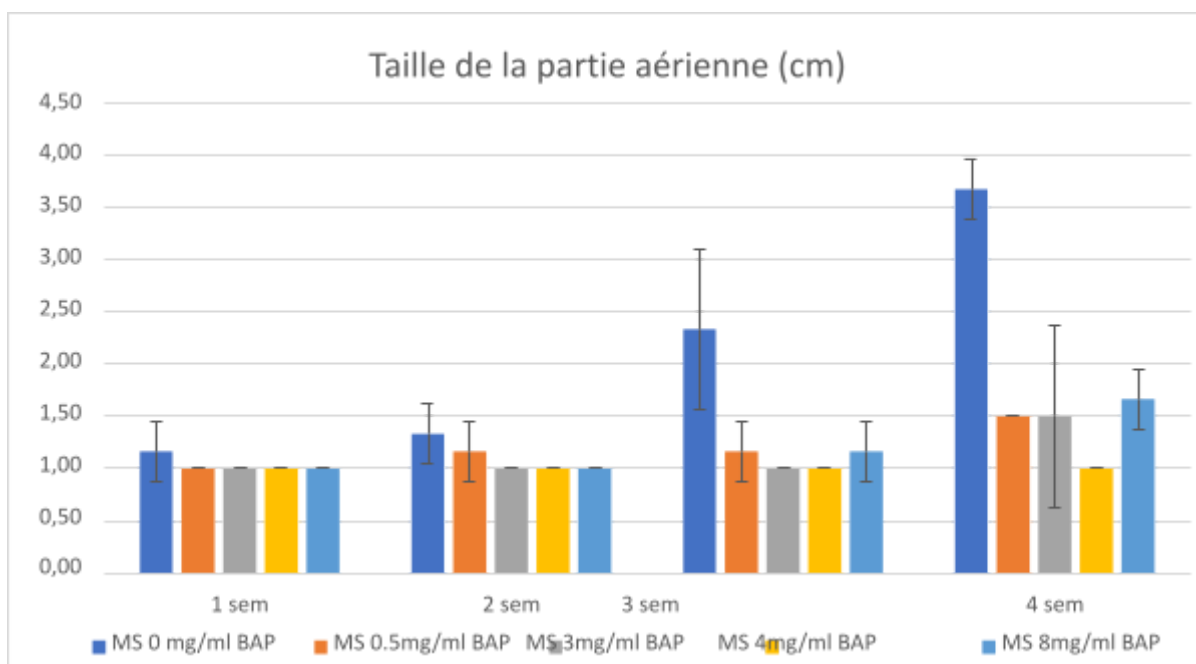
En présence de la même formulation minérale et organique de milieu nutritif employé, une phytohormone (BAP) a été étudiée à la dose de 0 ; 0.5 ; 3 ; 4 et 8 mg/ml. Comme le montre la **figure 30**, MS sans BAP nous a permis d'obtenir un meilleur taux de croissance (Taille de la partie aérienne) qui atteint 3.7cm, cependant l'ajout de cette phytohormone n'améliore pas le taux de croissance (Taille de

la partie aérienne) sauf pour la concentration de 0.5 mg/ml après deux et trois semaines ou 8mg/ml après 3 et 4 semaines.

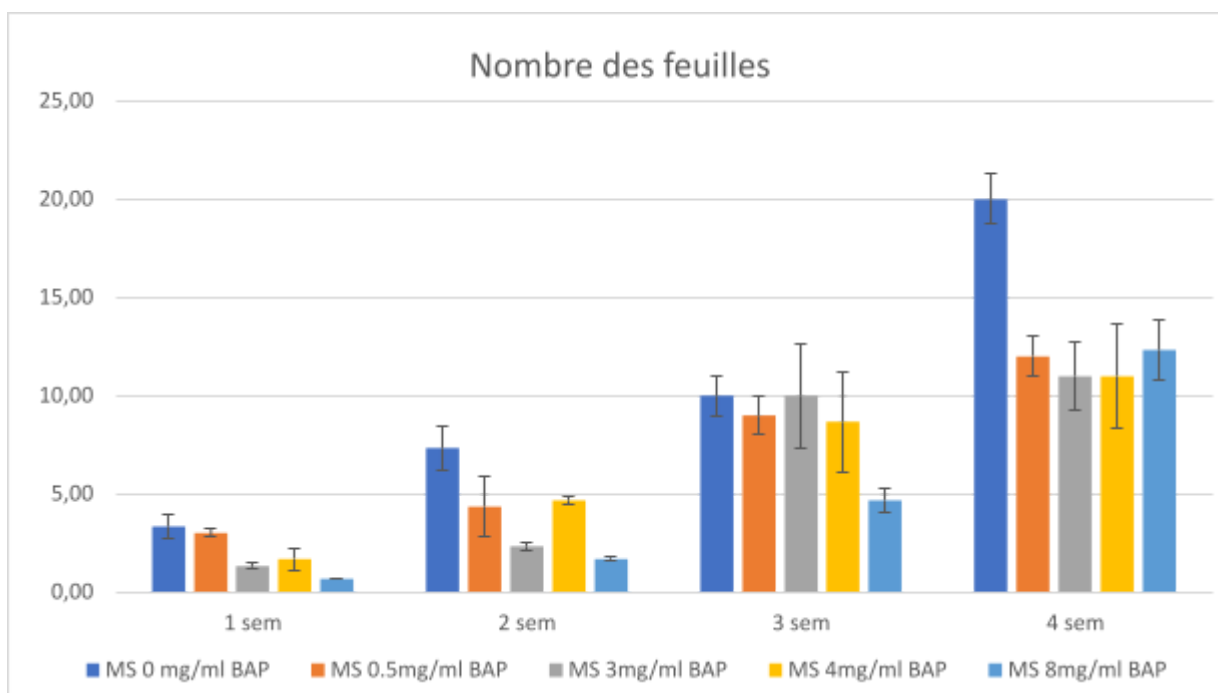
Afin de déterminer le meilleur traitement hormonal, nous avons aussi testé 5 concentrations du la phytohormone (BAP) à différentes doses allant de 0 ;0,5 ;3 ;4 ; et 8 mg/ml. Le milieu de base est constitué de MS. L'analyse de la **figure 31**, montre l'effet de la dose hormonale sur la réactivité des explants introduits in vitro. En effet, le meilleur taux de réactivités (nombre des feuilles) a été obtenu en l'absence de la BAP (0mg/ml) après 4 semaines (**Figure 32**) avec 20 feuilles. Cependant le nombres des feuilles diminue en augmentation des doses du BAP testé.



**Figure 29.** Nombre des nœuds après la micro propagation des vitro plants d'Arganiaspinosa de Tindouf en fonction des milieux de culture (BAP) et du temps



**Figure 30.** Taille de la partie aérienne (cm) après la micro propagation des vitro plants d'Arganiaspinosa de Tindouf en fonction des milieux de culture (BAP) et du temps



**Figure 31.** Nombre des feuilles après la micro propagation des vitro plants d'Arganiaspinosa de Tindouf en fonction des milieux de culture (BAP) et du temps

---

1 ère semaine



Après 15 jour



---

Après un mois



Ms témoin (0)   Ms+0.5 mg/ml   Ms+3 mg/ml   Ms+4 mg/ml   Ms+8  
mg/ml Milieu de culture

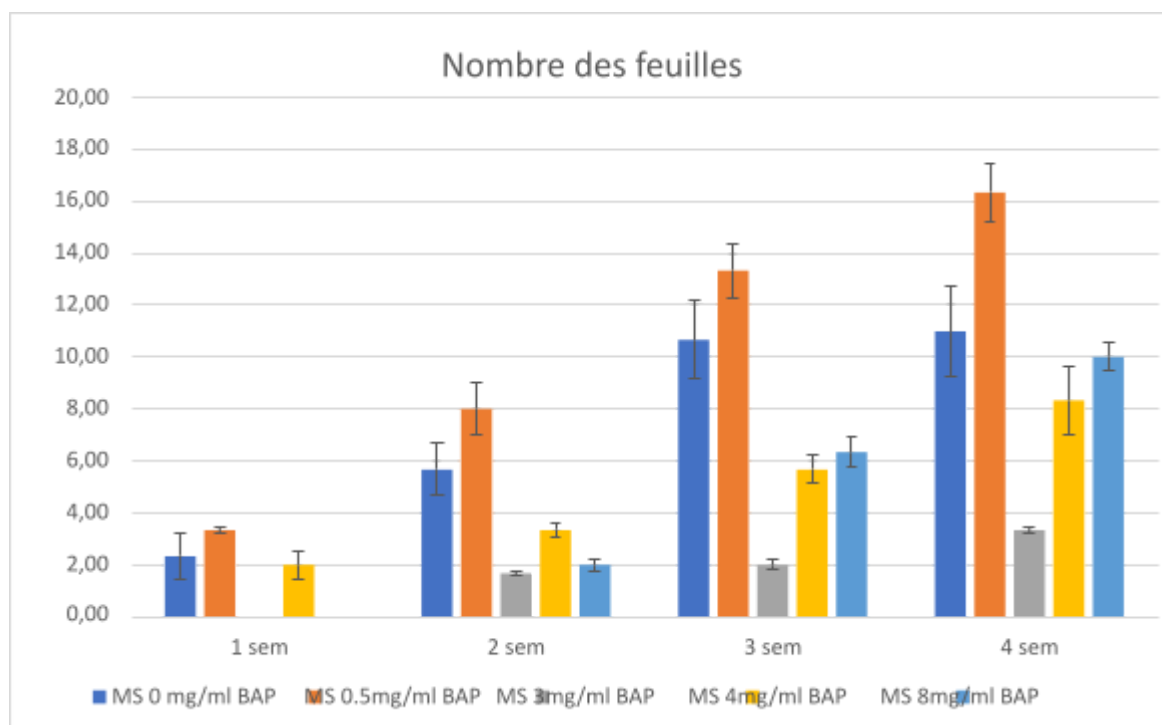
**Figure 32.** Micro propagation des vitro plants d'*Argania spinosa* de Tindoufen fonction des milieux de culture (BAP) et du temps

### 1.3. Micro propagation des cotylédons d'*Argania spinosa* de Tindouf

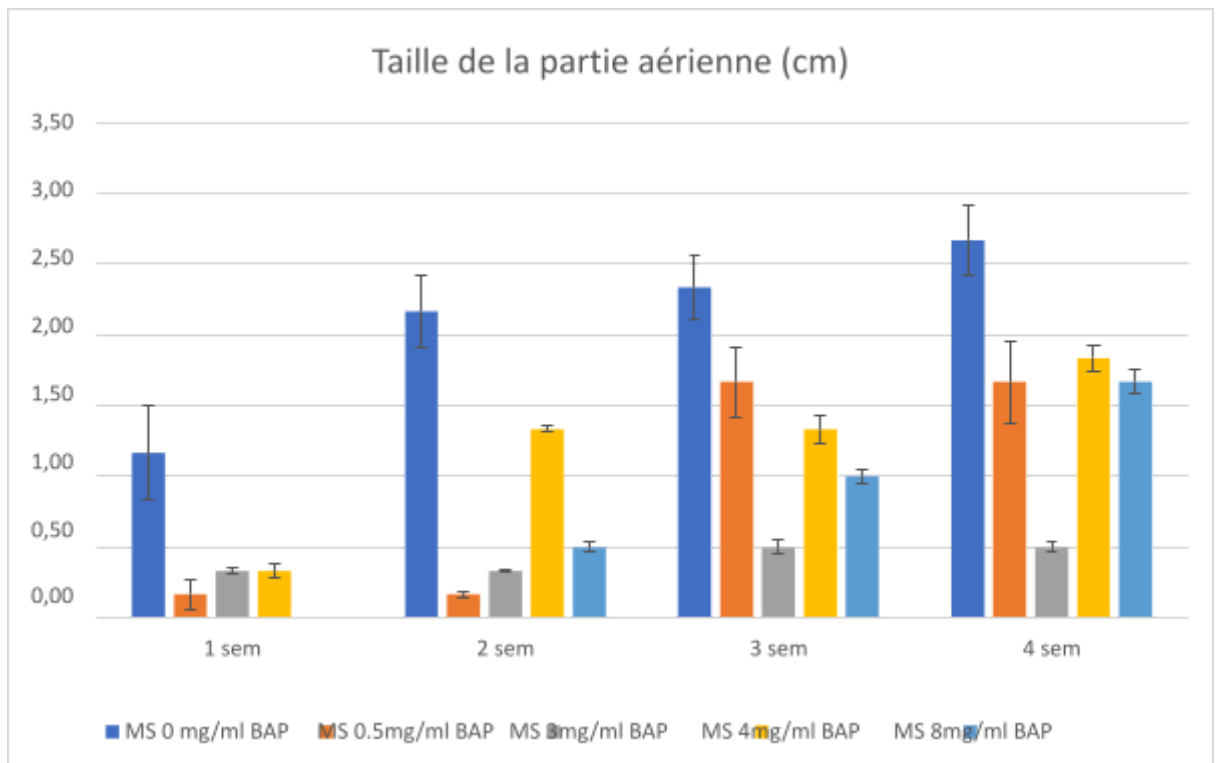
Visant l'examen du nombre des feuilles après la micro propagation des cotylédons d'*Argania spinosa* de Tindouf en fonction des milieux de culture (BAP) et du temps, la **figure 33** montre les résultats obtenus, l'apparition des feuilles a été obtenue pendant la première semaine (**Figure 36**) pour toutes les doses hormonales, avec une augmentation proportionnelle du nombre des feuilles vis à vis le temps qui est enregistré après 4 semaine (**Figure 36**). Les concentrations 0.5 mg/ml montrent le meilleur résultat par rapport aux autres concentrations.

Concernant la taille de la partie aérienne (cm) après la micro propagation des cotylédons d'*Argania spinosa* de Tindouf en fonction des milieux de culture (BAP) et du temps (**figure 34**), le milieu MS sans BAP donne toujours les meilleurs résultats. Et cela pendant les 4 semaines de suivi.

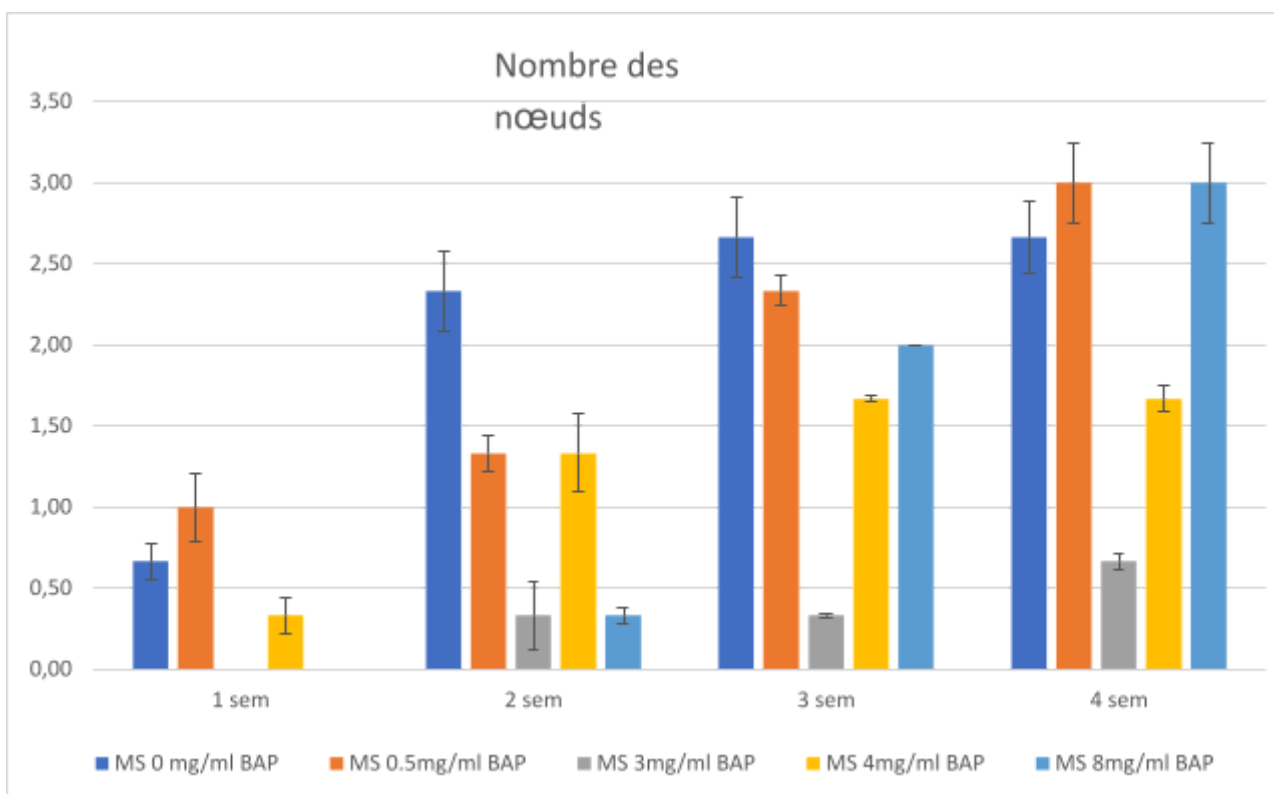
Les résultats de l'effet des doses de régulateurs de croissance (BAP) sur la formation des nœuds sont présentés dans la **figure 35**. Les faibles concentrations de BAP (0 et 0.5 mg/ml) améliore significativement le nombre des nœuds qui a atteint 3 après 4 semaines et cela pour 0.5 mg/ml de BAP. Le nombre de nœuds par plant est significativement plus élevé en présence de ces concentrations (0 et 0.5 mg/ml). De plus, le développement le nombre augmente avec le temps d'une semaine à l'autre.



**Figure 33.** Nombre des feuilles après la micro propagation des cotylédons d'Arganiaspinosa de Tindouf en fonction des milieux de culture (BAP) et du temps

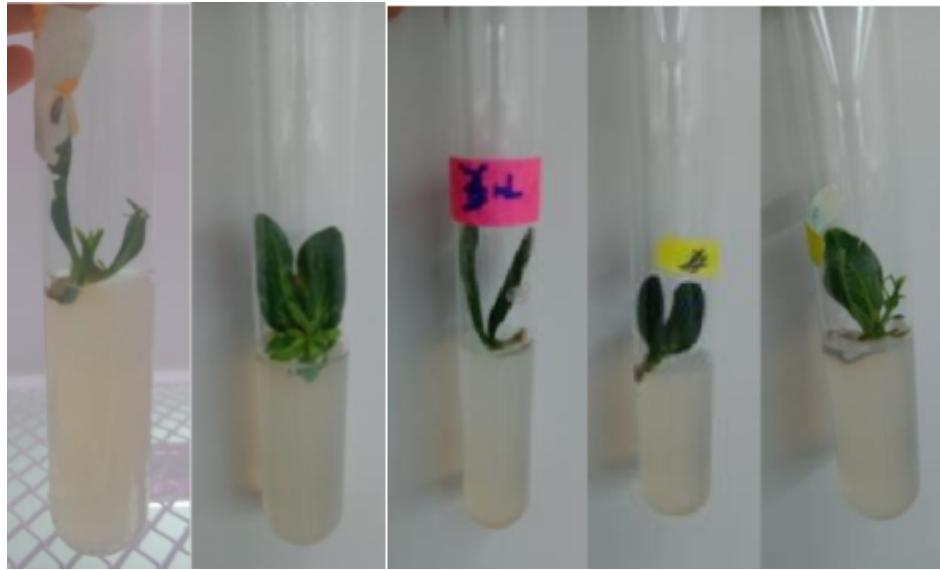


**Figure 34.** Taille de la partie aérienne (cm) après la micro propagation des cotylédons d'*Arganiaspinosa* de Tindouf en fonction des milieux de culture (BAP) et du temps



**Figure 35.** Nombre des nœuds après la micro propagation des cotylédons d'*Arganiaspinosa* de Tindouf en fonction des milieux de culture (BAP) et du temps

Après 1 semaine



Après Un Mois



0 mg/ml BAP 0.5mg/ml BAP 3 mg/ml BAP 4 mg/ml BAP 8 mg/ml BAP

Milieu de culture

**Figure 36.** Micropropagation des cotylédons des cotylédons d'*Argania spinosa* de Tindoufen fonction des milieux de culture (BAP) et du temps

---

#### 1.4. Discussion

Nos résultats indiquent que le taux de germination le plus élevé est observé dans les milieux d'eau gélosée, MS et Knop, suivi par les milieux Knop avec charbon et MS avec charbon. En particulier, les graines d'*Arganiaspinosa* de Mostaganem montrent les meilleurs taux de germination dans le milieu d'eau gélosée.

Les essais de germination démontrent que les graines de Tindouf ont une vitesse germinative supérieure à celles de Mostaganem, quel que soit le milieu utilisé.

Concernant le nombre de feuilles après la germination des graines d'*Arganiaspinosa* de Tindouf, les différents milieux de culture n'ont pas montré de réactions significativement différentes, à l'exception du milieu MS et Knop avec charbon, où un nombre accru de feuilles est observé après 3 et 4 semaines.

Toutefois, indépendamment de la provenance des graines, les régions de Mostaganem et Tindouf présentent des comportements similaires.

En ce qui concerne la longueur des racines, les explants montrent des réactions variables selon le type de milieu de culture et la présence de charbon actif. L'ajout de charbon actif améliore significativement la croissance aérienne des graines.

Suite la littérature, aucune étude s'est intéressée à l'étude de la germination et la micropropagation in vitro des graines de l'arganier de différentes régions. Les effets de régulateurs de croissance, l'ajout du charbon actif au milieu de culture sur le taux et la vitesse de la germination, la croissance, l'induction et l'élongation caulinaire. Sauf, celle de **Ziani, (2014)** qui a utilisé des graines d'arganier ramenées de la région de Mostaganem par l'étude de multiplication par vitro semis, microbouturage, microgreffage, organogenèse et/ou embryogenèse somatique. De plus, **Zohra et al. (2014)** ont réalisé des tests de germination de graines provenant de deux sources différentes de l'arganier dans la région semi-aride de l'ouest algérien.

La germination d'une graine est l'étape initiale, et dans certaines circonstances, cruciale pour le reboisement par des moyens naturels ou artificiels. Les graines de différentes espèces et de la même espèce provenant de différents endroits présentent des réponses de germination différentes. La connaissance de cela est essentielle pour comprendre les programmes de plantation. De même, une

---

espèce peut être présente dans une grande variété de régions climatiques, mais le comportement de germination peut différer selon l'endroit (**Masoodi et al., 2014**).

D'après la bibliographie le problème de la non germination des graines revient aux plusieurs facteurs comme l'espèce, la variété, les conditions de culture, la génétique. La taille et le poids des graines sont parmi les facteurs génétiques qui peuvent avoir une influence sur la qualité germinative des graines (**Chaussat et Chapon,1981**). L'âge des graines peut aussi modifier les conditions nécessaires à leur germination (**Barton, 1936**). Les facteurs externes limitant la germination, c'est à dire ceux qui interviennent au moment de la germination sont nombreux. Les plus couramment étudiés sont la température, l'oxygène et la lumière. Ainsi, la présence d'eau est obligatoire, mais pas suffisante car il faut aussi que la température soit convenable et que l'embryon soit correctement oxygéné. Le taux de réussite de la germination dépend du type de traitement et de la nature des graines et de la provenance (**Mezghenniet al., 2014**). Les taux de germination des graines de même provenance peuvent changer en fonction du prétraitement appliqué, de l'état de la graine et la condition photopériodique testée (**Ziani, 2014**).

La micro propagation c'est une technique visant à régénérer une plante entière à partir de cellules ou de tissus végétaux en milieu nutritif, en utilisant des techniques modernes de culture cellulaires de l'arganier est plus élevée et plus rapide que celle observée *ex vitro*. Les travaux ayant porté sur le bouturage et le marcottage, ont montré la difficulté d'enracinement acquise chez l'arganier (**Mokhtari et Zakri, 1998**). De plus, le semis de graines pose le problème d'hétérogénéité due au mode de reproduction essentiellement allogame (**Msanda, 1993**). La multiplication *in vitro*, en particulier le microbouturage à partir de pieds adultes, a été proposée comme une alternative intéressante soit à des fins de recherche, soit pour une production accélérée et en masse d'arganiers sélectionnés. Les résultats rapportés par **Thewys (1987)**, **Aaouine et Bazagra (1990)** ont montré, lors du microbouturage de l'arganier à partir de matériel juvénile, un arrêt de croissance des microboutures dès les premiers stades de culture. Le microbouturage de l'arganier à partir d'arbres adultes est caractérisé par un faible taux d'enracinement n'excédant pas 30 % (**Bakkali-Kacimi, 1997**). De plus, les racines secondaires ne se développent pas ; par conséquent, aucun vitroplant n'a pu être acclimaté en serre.

---

La présence du charbon actif dans le milieu a eu également un effet favorable sur la croissance de la partie aérienne. Le charbon actif adsorbe les polyphénols et les produits de leur synthèse, qui sont des inhibiteurs de la croissance racinaire (**Maene et Debergh, 1985**).

**Bani-Aameur et al. (2001)** ont constaté qu'une augmentation de la concentration en sel ne retardait pas le début de la germination mais réduisait le taux de germination et diminuait le pourcentage final de germination. **Alouani et al. (2003)** ont observé que la germination dans l'obscurité retardait le début de la germination, réduisait le taux de germination et entraînait un pourcentage final de germination plus faible par rapport aux conditions lumineuses. De plus, **Alouani et al. (2004)** ont étudié l'effet du stockage à froid, de l'acide gibbérellique et du génotype de l'arbre mère sur la germination des graines d'arganier en pépinière. **Nouaim et al. (2004)** ont évalué différentes méthodes de propagation pour l'arganier, y compris les semis, les boutures et la micropropagation in vitro. **Zunzunegui et al. (2013)** ont étudié le succès de la germination et le développement des semis d'*Argania spinosa* dans différentes conditions climatiques et intensités de broutage. **Berka et al. (2018)** ont contribué à l'étude de la germination et de la conservation des graines d'*Argania spinosa* dans la région de Tindouf en Algérie, montrant un taux de germination élevé des graines fraîchement récoltées mais une perte significative de capacité de germination après trois ans de stockage. **Koufan et al. (2020)** ont constaté que le temps de stockage affecte significativement la capacité de germination des graines, les graines cultivées immédiatement après la récolte présentant le pourcentage de germination le plus élevé. Dans l'ensemble, ces études soulignent l'importance des conditions environnementales, de l'exposition à la lumière, de la concentration en sel, du temps de stockage et des méthodes de propagation dans le processus de germination des graines d'*Argania spinosa*.

Diverses méthodes de propagation ont été explorées pour propager efficacement cette espèce. **Koufan et al. (2020)** ont introduit un nouveau système de régénération par microgreffe pour l'*Arganiaspinosa* en utilisant la technique du coin. Cette méthode permet une union réussie entre le porte-greffe et le greffon, comme confirmé par l'analyse histologique. **Nouaim et al. (2004)** ont étudié la dépendance mycorhizienne des arbres d'argan micropropagés. L'indice de dépendance mycorhizienne relative était élevé, ce qui indique que l'arganier est parmi les plantes les plus

---

dépendantes de la symbiose mycorhizienne. Le rapport racine/tige était réduit par l'inoculation, démontrant l'efficacité d'un système racinaire mycorhizien. L'induction de racines in vitro à partir de pousses d'argan a également été réussie, conduisant au développement de racines vigoureuses. Dans l'ensemble, la micropropagation de l'*Argania spinosa* est une technique prometteuse pour propager efficacement cette précieuse espèce d'arbre.

---

## 2. Etude phytochimique et biologique de *Argania spinosa*

### 2.1. Analyses minérales

D'après les résultats présentés dans le **tableau 9**, les parties aériennes (feuilles) d'*A. spinosa* ont montré des niveaux variables d'oligo-éléments, avec le fer et le zinc étant les plus abondants (différence significative selon le test HSD de Tukey :  $p < 0,05$ ), suivis par le manganèse, le cuivre et le bore, mesurés respectivement à  $79,27 \pm 0,02$ ,  $74,24 \pm 0,03$ ,  $42,73 \pm 0,04$ ,  $12,61 \pm 0,05$ , et  $10,53 \pm 0,02$  mg/mL. Parmi les macro-éléments, le potassium s'est révélé être le plus présent (également significatif à  $p < 0,05$ ), suivi du phosphore, du calcium et du magnésium, avec des concentrations respectives de  $0,43 \pm 0,03$  %,  $0,29 \pm 0,01$  %,  $0,24 \pm 0,1$  % et  $0,21 \pm 0,08$  %. Ces minéraux remplissent diverses fonctions essentielles dans l'organisme ; par exemple, le zinc est vital pour l'immunité, la fonction cellulaire, la régulation hormonale, l'activité musculaire, les processus enzymatiques et la synthèse de l'hémoglobine, tandis que le potassium est crucial pour le maintien de l'équilibre hydrique cellulaire, la fonction musculaire et la régulation de la pression artérielle.

De plus, ces éléments activent des enzymes indispensables au métabolisme cellulaire et aux systèmes antioxydants. Une augmentation de la consommation de potassium, de magnésium et de calcium est associée à un risque réduit d'accident vasculaire cérébral, d'hypertension et d'ostéoporose. Le fer et d'autres oligo-éléments jouent un rôle majeur dans le transport et le stockage de l'oxygène, en tant que cofacteurs pour diverses enzymes.

### 2.2. Analyse quantitative des composés phénoliques par HPLC-DAD

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires essentiels présents dans les plantes, jouant un rôle crucial dans la détermination des attributs sensoriels, tels que la couleur et la saveur des aliments et boissons d'origine végétale. De plus, ces composés améliorent la valeur nutritionnelle des fruits et légumes (Tapas et al., 2008). Dans cette étude, la composition phénolique a été analysée à l'aide de la méthode HPLC-DAD. Au total, onze composés distincts ont été identifiés dans les extraits méthanoliques des graines et des feuilles d'*A. spinosa*, comme indiqué dans le **Tableau 10**.

**Tableau 9.** Contenu en minéraux des parties aériennes d'*A. spinosa*

| Contenu en minéraux | Plante <i>A. spinosa</i> | Certified and experimental values of studied metals in NIST-CRM 1203 drinking water (mg/kg) [a] |                                  |        | Taux de récupération (%) |
|---------------------|--------------------------|---|----------------------------------|--------|--------------------------|
|                     |                          | Valeurs certifiées (mg/kg)  | Valeur expérimentale (mg/kg) [b] |        |                          |
| Phosphore (%)       | 0.29 ± 0.01              | -   | -                                | -      |                          |
| Potassium (%)       | 0.43 ± 0.03              | -   | -                                | -      |                          |
| Calcium (%)         | 0.24 ± 0.1               | 99.78 ± 0.50  | 100.42 ± 0.95                    | 100.64 |                          |
| Magnésium (%)       | 0.21 ± 0.08              | 99.77 ± 0.50  | 100.68 ± 1.02                    | 100.23 |                          |
| Fer (mg/L)          | 79.27 ± 0.02             | 200.3 ± 1.0   | 199.89 ± 2.05                    | 99.94  |                          |
| Cuivre (mg/L)       | 12.61 ± 0.05             | 2000 ± 10   | 202.9 ± 0.12                     | 101.45 |                          |
| Manganèse (mg/L)    | 42.73 ± 0.04             | 50.17 ± 0.25  | 50.02 ± 0.75                     | 99.67  |                          |
| Zinc (mg/L)         | 74.24 ± 0.03             | 1000 ± 5  | 1003.1 ± 7.8                     | 102.59 |                          |
| Bore (mg/L)         | 10.53 ± 0.02             | -   | -                                | -      |                          |

Les valeurs exprimées ici sont la moyenne (± SD) de trois mesures parallèles. [a] Dilution dix fois de l'eau potable certifiée NIST-CRM 1203 ; [b] Moyenne des mesures en triplicat du matériel certifié ( $p < 0,05$ ).

Les chromatogrammes issus de l'analyse HPLC-DAD de ces extraits sont illustrés dans les **Figures 37 et 38**.

La composition phénolique des extraits d'*A. spinosa* varie de manière significative entre les feuilles et les graines. L'analyse a permis d'identifier 11 composés phénoliques au total, dont huit présents dans les feuilles : l'acide gallique, le pyrocatechol, la catéchine, le p-hydroxybenzaldéhyde, l'épicatéchine, la coumarine, la rutine et la myricétine. En revanche, les graines ont révélé la présence de seulement trois composés : l'acide protocatéchique, l'acide vanillique et le propylgallate. Il est particulièrement notable que l'extrait méthanolique des feuilles présente une teneur élevée en rutine

(8,85 mg/g), suivi de la catéchine (6,05 mg/g), tandis que d'autres composés sont présents en plus faibles concentrations, avec la coumarine détectée uniquement en trace. À l'inverse, les graines ne contiennent que deux composés phénoliques, à savoir l'acide protocatéchique et le propylgallate, avec une concentration ne dépassant pas 0,09 mg/g. Globalement, les concentrations des composés dans les feuilles sont plus élevées, variant de 1 à 8 mg/g.

**Tableau 10.** Composition phénolique des extraits méthanoliques des graines et des feuilles d'*A. spinosa* déterminée par HPLC-DAD.

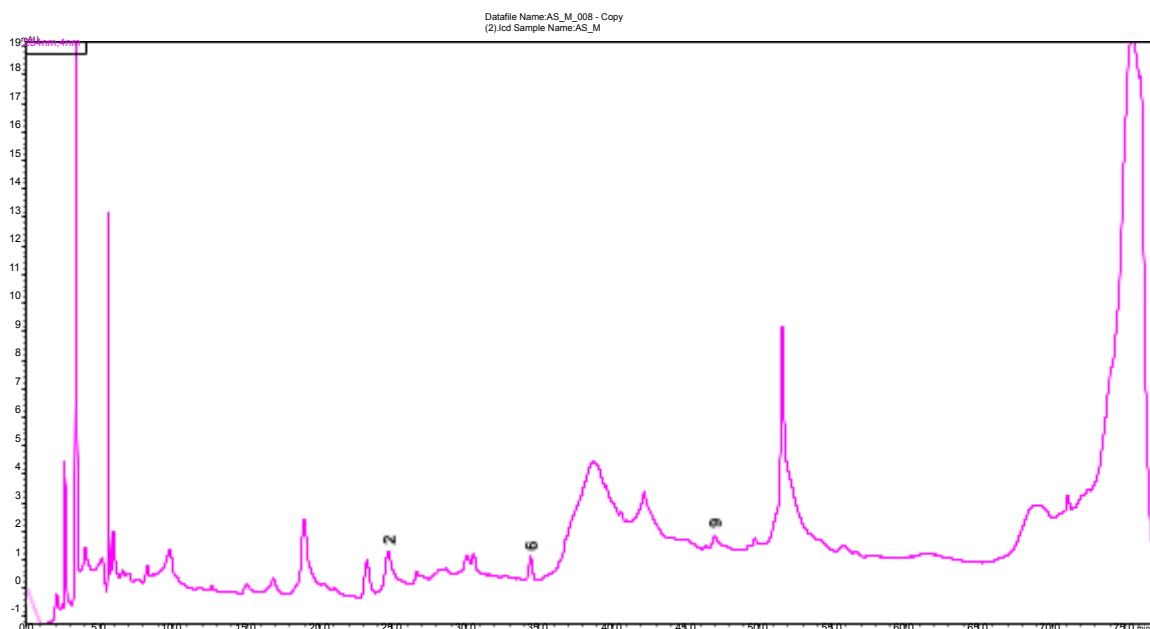
| N°  | Composés phénoliques  | RT     | Extraits secs (mg/g) |              |
|-----|-----------------------|--------|----------------------|--------------|
|     |                       |        | Feuilles             | Grains       |
| 1.  | Acide gallique        | 15.225 | 1.01 ± 0.02          | -            |
| 2.  | Acide protocatéchique | 24.625 | -                    | 0.09 ± 0.002 |
| 3.  | Pyrocatechol          | 24.658 | 4.26 ± 0.10          | -            |
| 4.  | Catéchine             | 30.274 | 6.05 ± 0.15          | -            |
| 5.  | p-Hydroxybenzaldéhyde | 33.367 | 0.15 ± 0.003         | -            |
| 6.  | Acide vanillique      | 34.758 | -                    | Tr           |
| 7.  | Épicatéchine          | 35.278 | 0.76 ± 0.019         | -            |
| 8.  | Coumarine             | 45.178 | Tr                   | -            |
| 9.  | Gallate de propyle    | 46.984 | -                    | 0.09 ± 0.002 |
| 10. | Rutine                | 47.527 | 8.85 ± 0.22          | -            |
| 11. | Myricétine            | 50.368 | 2.85 ± 0.07          | -            |

"Tr" indique une présence en trace.

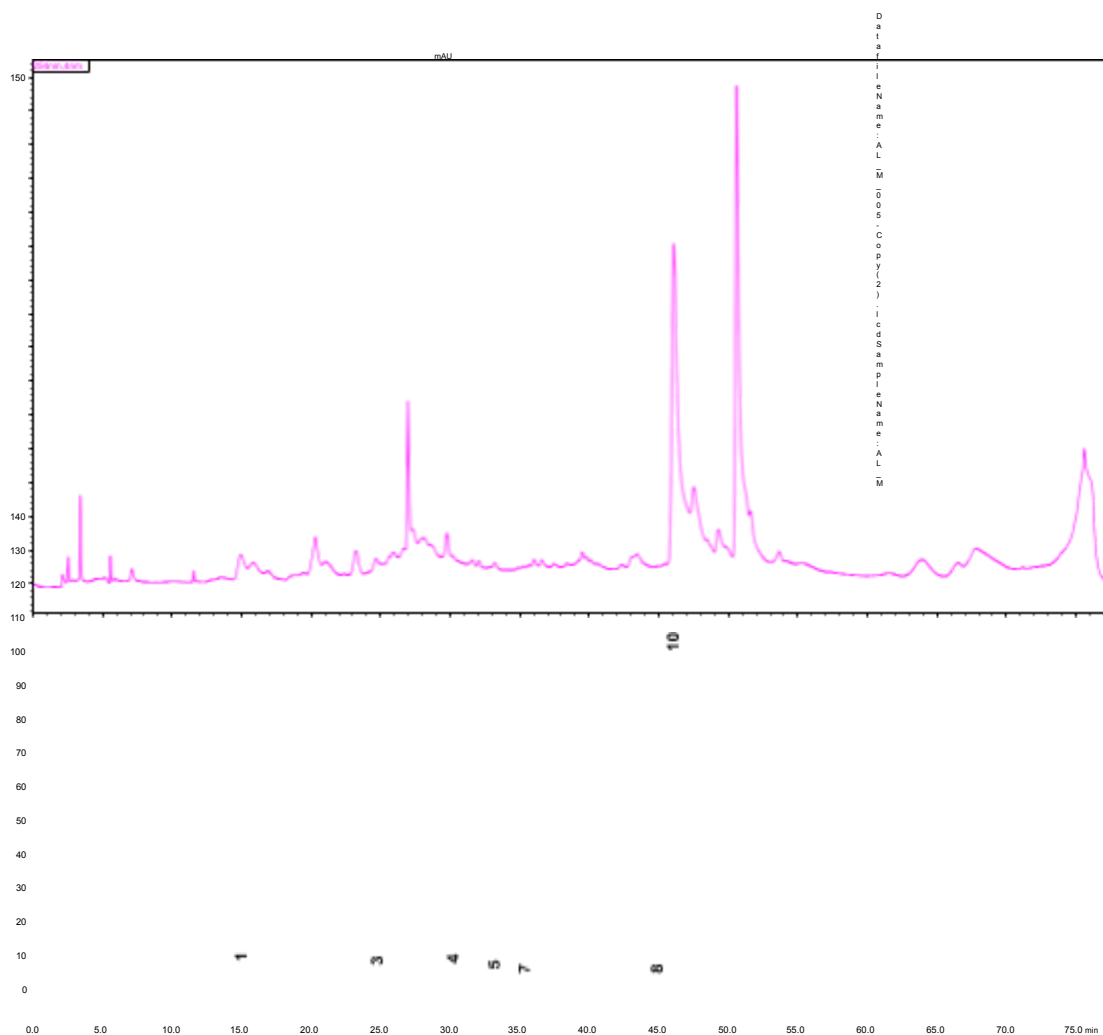
Des études antérieures ont souligné la richesse de l'huile d'argan en divers éléments et composés naturels, notamment les polyphénols, l'acide gallique, les flavonoïdes et les tanins (**Kamal et al., 2019**). **Khallouki et al. (2003)** ont analysé les composés phénoliques dans l'huile d'argan, identifiant quatre polyphénols par GC-MS : l'acide férulique, l'acide vanillique, l'acide syringique et le tyrosol. Des recherches supplémentaires ont révélé des différences marquées dans la composition phénolique des différentes parties du fruit de l'argan, avec 11 composés identifiés, tels que l'hydrate de catéchine, l'épicatéchine, l'épigallocatechine gallate et la rutine (**El Monfalouti et al., 2012**). Une étude

approfondie de **Khallouki et al. (2015)** a mis en évidence 32 composés polyphénoliques dans la pulpe du fruit d'argan, incluant des catéchines, flavonoïdes et procyanidines. Une autre étude par **Mercolini et al. (2016)** a identifié des composés tels que l'hyperoside, la quercétine et la myricétine, parmi d'autres.

L'analyse HPLC-DAD-MS des huiles d'argan a révélé la présence de 10 composés phénoliques majeurs, notamment l'acide gallique, l'acide vanillique, l'acide férulique et la quercétine (**Kamal et al., 2017**). Les principaux composés identifiés dans les feuilles d'*A. spinosa* sont la catéchine et la rutine, deux flavonoïdes bien connus pour leurs propriétés antioxydantes. La rutine, en particulier, est reconnue pour ses effets bénéfiques sur la santé cardiovasculaire, ainsi que ses propriétés anti- inflammatoires et antidiabétiques.



**Figure 37.** Chromatogramme HPLC-DAD des graines d'*A. spinosa* (extrait méthanolique) à 254 nm (colonne Inertsil ODS-3 (4  $\mu$ m, 4 mm x 150 mm)). Phase mobile : acide acétique 0,1 % - méthanol (élution en gradient). Débit : 1 mL/min. Détection par réseau de diodes à 254 nm.



**Figure 38.** Chromatogramme HPLC-DAD des feuilles d'*A. spinosa* (extrait méthanolique) à 254 nm (colonne Inertsil ODS-3 (4  $\mu$ m, 4 mm x 150 mm)). Phase mobile : acide acétique 0,1 % - méthanol (élution en gradient). Débit : 1 mL/min. Détection par réseau de diodes à 254 nm.

### 2.3.Composition en acides gras par GC-MS

L'analyse de la composition en acides gras et en composés volatils a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). Les acides gras représentent les composants dominants dans le profil des extraits. Les concentrations en acides gras et les composés volatils des extraits d'éther de pétrole des feuilles et des graines d'*A. spinosa* sont détaillées dans le **Tableau11** et la **Figure39**.

**Tableau 11.** Composition en acides gras, composés volatils et autres composés apolaires des extraits à l'éther de pétrole des feuilles et des graines d'*A. spinosa* par GC/MS.

| N°  | RT (min) | RI a | RI b   | Nom du composé                    | Concentration (%) |      | Référence                   |
|-----|----------|------|--------|-----------------------------------|-------------------|------|-----------------------------|
|     |          |      |        |                                   | Leaves            | Seed |                             |
| 1.  | 2.479    | 942  | 942    | trans-2-Heptenal (Volatil)        | 0.08              | -    | Ziegenbein et al., 2006[26] |
| 2.  | 4.498    | 1103 | 1082   | Nonanal (Volatil)                 | 0.08              | 0.02 | Paolini et al., 2007[27]    |
| 3.  | 4.909    | 1112 | 1109   | Acide caprylique (C8:0)           | 0.23              | -    | Pino et al., 2003[28]       |
| 4.  | 9.126    | 1161 | 1130   | trans-2-Nonenal (Volatil)         | 0.17              | 0.00 | Iraqi et al., 2005[29]      |
| 5.  | 11.17    | 1216 | 1188   | 2(Z),4(Z)-Nonadienal              | 0.09              | -    | Ziegenbein et al., 2006[26] |
| 6.  | 11.769   | 1226 | 1206   | Acide nonanoïque                  | 0.10              | -    | Peng et al., 2000[30]       |
| 7.  | 15.855   | 1429 | 1439   | Méthyl 9-oxodécanoate             | 1.30              | 0.03 | Elmore et al., 2002[31]     |
| 8.  | 16.709   | 1431 | 1457   | Diméthyl phtalate (Volatil)       | 0.65              | -    | Babu-Rajendran, 2018[32]    |
| 9.  | 19.012   | 1443 | 1448   | Hydroxytoluène butylé (Volatil)   |                   | 0.08 | Yasuhara et al., 1997[33]   |
| 10. | 20.475   | 1540 | 1511   | Acide azélaïque (Acide)           | 0.49              | 0.00 | Johnson, 1997[34]           |
| 11. | 22.107   | 1577 | 1585.5 | Tridécanol (Alcool gras)          | 0.00              | 0.04 | Didaoui et al., 1997[35]    |
| 12. | 22.258   | 1592 | 1592   | Méthyl 10-oxo-8-décénoate         | 0.78              | -    | Tressl et al., 1982[36]     |
| 13. | 25.25    | 1689 | 1689   | Isobutyl méthyl phtalate (Esters) | 2.03              | 0.00 | Liang and Lucy, 2010[37]    |
| 14. | 27.239   | 1725 | 1713   | Acide myristique (C14:0)          | 0.32              | 0.12 | Senatore et al. 2003[38]    |
| 15. | 29.68    | 1810 | 1864   | 1-Hexadécanol (Alcool gras)       | -                 | 0.06 | Pino and Marbot, 2001[39]   |

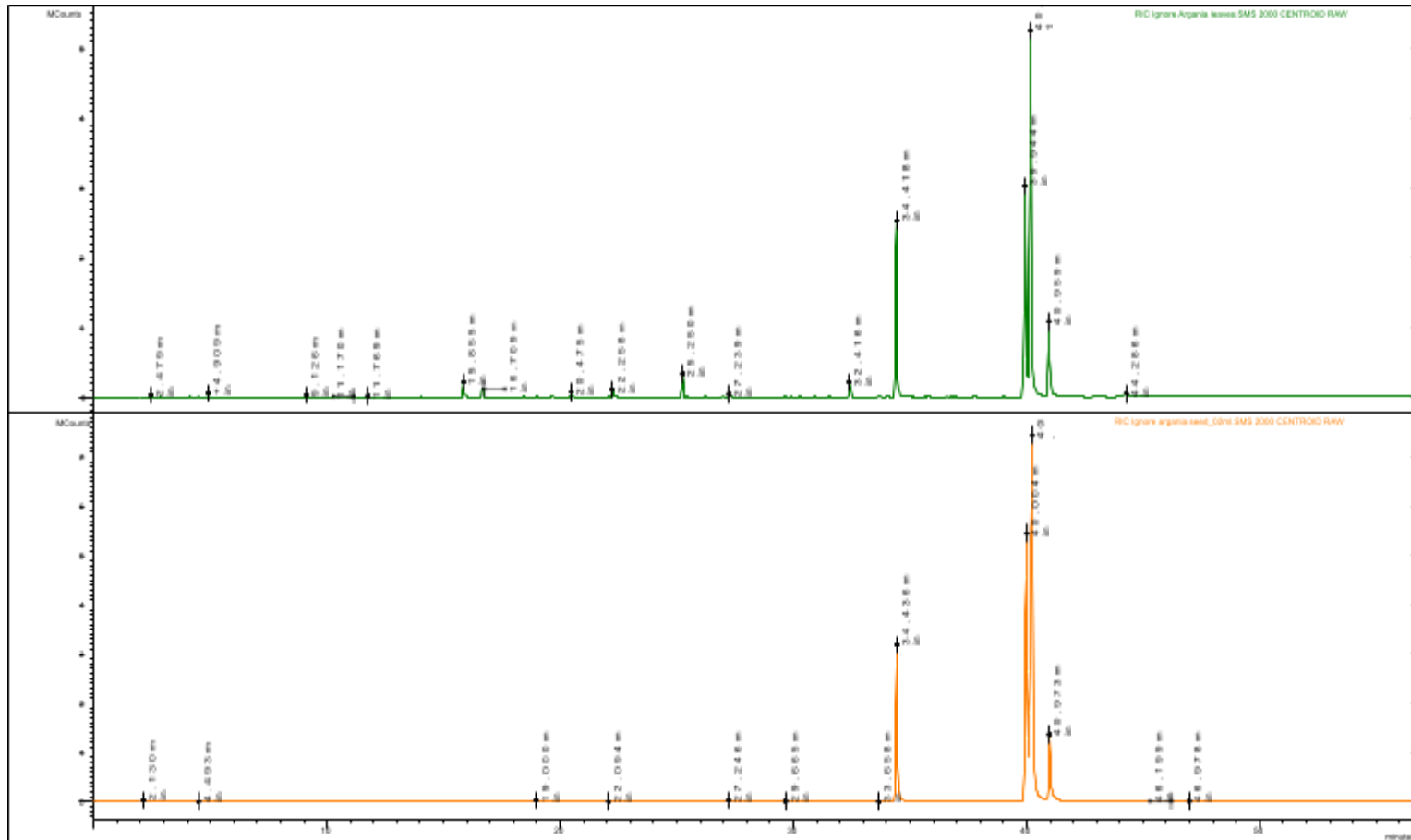


|     |        |      |      |                                      |       |       |                             |
|-----|--------|------|------|--------------------------------------|-------|-------|-----------------------------|
| 16. | 30.925 | 1815 | 1807 | Acide pentadécanoïque (C15:0)        | -     | 0.03  | Johnson, 1997[34]           |
| 17. | 32.416 | 1862 | 1860 | Diisobutyl phtalate (ester phtalate) | 1.31  | -     | Ramsey et al., 1980[40]     |
| 18. | 33.675 | 1875 | 1885 | Acide palmitoléique (C16:1)          | -     | 0.05  | Richmond et al., 1997[41]   |
| 19. | 34.418 | 1938 | 1908 | Acide palmitique (C16:0)             | 16.90 | 12.91 | Blagojevic et al., 1997[42] |
| 20. | 36.611 | 1968 | 1948 | 1-Heptadécanol (Alcool gras)         | -     | 0.03  | Paolini et al., 2007[27]    |
| 21. | 37.765 | 2028 | 2008 | Acide margarique (C17:0)             | -     | 0.03  | Peng et al., 2000[30]       |
| 22. | 39.944 | 2090 | 2071 | Acide linoléique (C18:2)             | 21.58 | 30.28 | Blagojević et al., 2006[42] |
| 23. | 40.172 | 2095 | 2077 | Acide oléique (C18:1)                | 45.22 | 49.07 | Ziegenbein et al., 2006[26] |
| 24. | 40.959 | 2128 | 2133 | Acide stéarique (C18:0)              | 8.34  | 7.17  | Senatore et al. 2003 [38]   |
| 27. | 46.212 | 2279 | 2278 | Acide 11-eicosénoïque (C20:1)        | -     | 0.05  | Okumura, 1999[43]           |
| 28. | 46.978 | 2248 | 2310 | Acide eicosanoïque (C20:0)           | 0.00  | 0.02  | Peng et al. 2000[30]        |

a : indice de Kovats sur colonne de silice fondue DB-5 ; b : indice de Kovats sur colonne de silice fondue DB-5 dans la littérature.

### Chromatogram Plots

Plot 1: ...an-mehmetnaceral/metilelem/argania leaves.sms RIC Ignore Plot 2:  
...mehmetnaceral/metilelem/argania seed\_02ml.sms RIC Ignore



**Figure 39.** Chromatogramme GC-MS de la composition en acides gras et en composants volatils dans les feuilles (a) et les graines (b) des extraits d'éther de pétrole d'*A. spinosa*.

---

Bien que souvent perçu négativement pour son lien avec les maladies cardiovasculaires, l'acide palmitique, lorsqu'il est consommé avec modération, possède des propriétés antioxydantes et anti-athérosclérotiques légères (Hanana et al., 2018). Contrairement aux idées reçues, combiné à l'acide linoléique, il n'augmente pas les niveaux de cholestérol. Son utilisation en cosmétique a été reconnue par la FDA pour des produits de soins de la peau, du maquillage, des préparations de rasage, des savons et lotions, ainsi que pour des soins capillaires et des ongles (FDA, 2017). L'acide stéarique, contrairement à d'autres acides gras saturés, a été trouvé pour abaisser le cholestérol LDL et maintenir un effet neutre sur le cholestérol HDL, contribuant ainsi à un ratio favorable entre le cholestérol total et le cholestérol HDL (Mensink, 2005). Comparé aux acides gras insaturés, il tend à avoir des effets moins prononcés sur les taux de cholestérol, ce qui en fait une alternative appropriée dans les graisses solides, remplaçant des AGS tels que l'acide laurique, myristique et palmitique (Hunter et al., 2016).

Parmi les 28 composés quantifiés, 19 ont été identifiés dans les extraits de feuilles, avec des concentrations variant de 0,08 % à 45 %. L'acide oléique était le plus abondant à 45,22 %, suivi de l'acide linoléique (21,58 %), de l'acide palmitique (16,9 %) et de l'acide stéarique (8,34 %). En outre, de faibles quantités d'acide caprylique et divers composés volatils ont été détectés, notamment l'isobutyl méthyl phtalate (esters), le trans-2-heptenal (volatile), le nonanal (volatile), le trans-2-nonénal (volatile), le diméthyl phtalate (volatile), l'acide azélaïque (acide), le tridécanol (alcool gras) et le diisobutyl phtalate (ester phtalate). Dans les extraits de graines, 17 acides gras et composés volatils ont été identifiés, avec des concentrations allant de 0,02 % à 49 %. L'acide oléique était également le composé prédominant avec 49,07 %, suivi de l'acide linoléique (30,28 %), de l'acide palmitique (12,91 %) et de l'acide stéarique (7,17 %). Parmi les autres composés identifiés figurent le nonanal (volatile), le trans-2-nonénal (volatile), l'hydroxytoluène butylé (volatile), l'acide azélaïque (acide), le tridécanol (alcool gras), l'isobutyl méthyl phtalate (esters), le 1-hexadécanol (alcool gras) et le 1-heptadécanol (alcool gras).

Les extraits de feuilles et de graines contenaient des quantités significatives d'acide oléique (45,22 % et 49,07 %, respectivement) et d'acide linoléique (21,58 % et 30,28 %). Comparativement, des études sur l'huile d'argan algérienne de Koudri et al. (2015) et tunisienne de Hanana et al. (2018) ont montré que l'acide oléique était présent en proportions plus élevées que l'acide linoléique. Bien que les niveaux

---

d'acide palmitique dans nos échantillons soient similaires à ceux des résultats de Hanana, l'acide stéarique (5,2 %) n'a pas été détecté dans leur analyse. **Dakiche et al. (2017)** ont rapporté que l'*A. spinosa* présente des niveaux élevés d'acides oléique et linoléique, représentant respectivement 44 % et 35 % de l'huile de ses graines, avec des quantités significatives d'acide palmitique (14,16 %) et d'acide stéarique (4,16 %). **Hilali et al. (2020)** ont trouvé que l'huile d'argan contient environ 80 % d'acides gras insaturés, principalement des acides oléique et linoléique, qui sont essentiels pour la régulation du cholestérol. Les acides gras sont vitaux pour la santé humaine, car ils ne peuvent pas être synthétisés par le corps et doivent être obtenus par l'alimentation (**Pham-Huy et al., 2022**). L'huile d'argan contient généralement un niveau élevé d'acides gras insaturés (AGI), représentant environ 75 à 85 % de sa composition, les acides oléique et linoléique étant les plus prévalents. Les 15 à 25 % restants sont constitués d'acides gras saturés (AGS), principalement d'acides stéarique et palmitique. Il est à noter que la teneur en acide oléique dans l'huile d'argan tunisienne est comparable à celle de l'huile d'olive (**Hanana et al., 2018**). L'acide oléique, un acide gras monoinsaturé, présente de nombreux bienfaits pour la santé humaine. Il protège les cellules du stress oxydatif grâce à ses propriétés antioxydantes, améliore le métabolisme des graisses, ce qui favorise la gestion du poids, et contribue à prévenir le diabète de type 2 tout en réduisant la résistance à l'insuline. Il joue également un rôle dans la régulation de la pression artérielle, soutient la santé circulatoire, prévient les ulcères d'estomac, soulage les symptômes de l'arthrite et stimule la production de myéline cérébrale. De plus, il est reconnu pour ses propriétés hydratantes pour la peau, ses effets bénéfiques sur les cheveux, ainsi que pour ses qualités anti-rides et anti-âge (**Hanana et al., 2018**). Initialement reconnu pour ses propriétés anticancéreuses, l'acide linoléique offre également divers avantages pour la santé, notamment la prévention de l'athérosclérose, la réduction de la graisse corporelle tout en favorisant la masse maigre, et la modulation des réponses immunitaires et inflammatoires (**Kim et al., 2016**). Ses effets incluent des propriétés antidiabétiques, antihypertensives, anti-obésité et anticancéreuses, suggérant que l'huile d'argan pourrait efficacement lutter contre les maladies liées au mode de vie et les syndromes métaboliques (**Koba et al., 2014**). L'acide linoléique contribue également à l'absorption des vitamines A et D et à la régulation de la croissance cellulaire.

La composition des acides gras et le rapport entre les acides gras insaturés et saturés sont des facteurs essentiels pour évaluer la qualité nutritionnelle des huiles. Les huiles et graisses présentant un

---

indice Polyinsaturés/Saturés (P/S) supérieur à 1, comme les huiles d'argan analysées, sont considérées comme ayant une valeur nutritionnelle élevée. De nombreuses études ont montré qu'un indice P/S plus élevé est associé à une réduction de l'accumulation de lipides dans le corps. Le Comité des Directives Alimentaires pour les Américains 2015-2020 (DGAC) a souligné l'importance de privilégier la qualité des graisses plutôt que de simplement réduire l'apport total en graisses. Étant donné les effets potentiellement néfastes d'une consommation excessive de graisses saturées, le DGAC recommande de diminuer l'apport en graisses saturées et de les remplacer par des graisses insaturées, en particulier des acides gras polyinsaturés. Pour améliorer le profil nutritionnel des aliments, il est conseillé d'atteindre un meilleur ratio entre les graisses polyinsaturées et les graisses saturées. Les indices P/S et UFA/SFA (Acides Gras Insaturés/Saturés) des huiles d'argan analysées ont montré des valeurs équilibrées, conformes aux recommandations du DGAC.

#### **2.4.Résultats de l'HS-SPME-GC-MS du contenu volatil**

Le **tableau 12** présente les résultats de l'analyse des constituants volatils des feuilles et des graines d'*Arganiaspinosa* à l'aide de la micro-extraction en phase solide (SPME) couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (GC/MS). Les composés sont classés en différentes catégories, notamment les hydrocarbures monoterpéniques, les sesquiterpènes, les dérivés oxygénés, et les composés phénylpropanoïdes. Les pourcentages montrent l'abondance des composés volatils dans les échantillons. Par exemple, le composé (E)-2-undecenal a une abondance de 14.9% dans les graines, tandis que dans les feuilles, il est à 12.7%. Les composés comme l'eugénol (12.5% dans les feuilles et 14.9% dans les graines) et le  $\beta$ -caryophyllène (1.6% dans les feuilles et 1.7% dans les graines) sont également notables pour leur présence significative. Il y a des différences notables dans la composition chimique entre les feuilles et les graines. Par exemple, les graines semblent contenir une plus grande diversité de composés, comme le limonène et le p-cymène, qui sont présents en plus grande quantité par rapport aux feuilles. Les feuilles montrent une plus grande concentration de certains acides gras, comme l'acide hexanoïque (1.5% dans les feuilles). Les composés volatils identifiés peuvent avoir des applications dans l'industrie alimentaire, cosmétique, et pharmaceutique. Par exemple, l'eugénol est connu pour ses propriétés antiseptiques et aromatiques. La présence de composés comme le limonène et le p-cymène suggère également un potentiel pour des

applications en tant qu'agents aromatisants ou conservateurs naturels. Les différences dans la composition chimique entre les feuilles et les graines peuvent être attribuées à leurs rôles biologiques distincts. Les feuilles, étant responsables de la photosynthèse, peuvent contenir des composés qui aident à la protection contre les herbivores, tandis que les graines peuvent être plus riches en composés qui favorisent la germination et la protection des embryons. Ces résultats ouvrent la voie à des études plus approfondies sur les propriétés bioactives des composés identifiés. Des recherches supplémentaires pourraient explorer les effets de ces composés sur la santé humaine ou leur potentiel en tant que biopesticides.

**Tableau 12.** Micro extraction en phase solide avec espace de tête couplée à GC/MS

| Constituents                 | SPME <i>Arganiaspinosa</i> |          |         |
|------------------------------|----------------------------|----------|---------|
|                              | l.r.i.                     | Feuilles | Graines |
| Heptanal                     | 902                        | 6.0      |         |
| $\alpha$ -pinène             | 941                        | 0.3      |         |
| Camphène                     | 955                        | 0.9      |         |
| Benzaldéhyde                 | 962                        | 0.4      |         |
| Acide hexanoïque             | 986                        | 1.5      |         |
| 6-méthyl-5-heptén-2-one      | 987                        | 1.3      |         |
| 2-pentylfuran                | 993                        | 1.2      |         |
| Octanal                      | 1001                       | 6.8      |         |
| p-cymène                     | 1028                       | 0.4      | 4.5     |
| Limonène                     | 1032                       | 0.5      | 1.0     |
| 1,8-cinéole                  | 1034                       | 1.2      |         |
| 2,2,6-triméthylcyclohexanone | 1036                       | 0.8      |         |
| 5-méthyldécane               | 1057                       | 1.7      | 0.8     |
| 4-méthyldécane               | 1059                       | 0.6      |         |
| $\gamma$ -terpinène          | 1062                       |          | 4.1     |
| (E,E)-3,5-octadién-2-one     | 1071                       | 0.9      |         |
| 1-octanol                    | 1072                       | 1.0      |         |
| 2-nonanone                   | 1092                       | 1.1      |         |
| n-undécane                   | 1100                       |          | 1.9     |
| Nonanal                      | 1104                       | 7.7      | 11.1    |
| 2,5-diméthyldécane           | 1112                       | 3.9      |         |

|                                 |      |      |      |
|---------------------------------|------|------|------|
| Camphre                         | 1145 | 0.5  |      |
| (E)-2-nonéal                    | 1163 | 3.0  | 2.9  |
| Acide octanoïque                | 1182 | 1.6  | 3.5  |
| Naphtalène                      | 1183 |      | 0.4  |
| Safranal                        | 1197 |      | 1.4  |
| n-dodécane                      | 1200 | 0.7  | 1.4  |
| Décanal                         | 1206 | 2.4  | 1.9  |
| 2,6-diméthylundécane            | 1214 |      | 0.5  |
| $\beta$ -cyclocitral            | 1222 | 1.0  |      |
| Pulégone                        | 1240 |      | 9.2  |
| (Z)-2-décéal                    | 1253 | 2.4  | 2.0  |
| (E)-2-décéal                    | 1263 | 9.2  | 11.4 |
| Acide nonanoïque                | 1272 | 1.1  | 3.1  |
| 2,6,11-triméthylododécane       | 1277 | 2.4  | 0.4  |
| (E)-anéthol                     | 1283 |      | 1.1  |
| n-tridécane                     | 1300 |      | 1.4  |
| Undécanal                       | 1306 |      | 0.7  |
| 2-undécanol                     | 1309 | 1.0  |      |
| (E,E)-2,4-décadiéal             | 1316 | 0.6  | 1.2  |
| 3,7-diméthylododécane           | 1326 | 0.5  |      |
| 4-méthyltridécane               | 1355 | 0.6  | 0.6  |
| Eugénol                         | 1357 | 12.5 | 14.9 |
| (E)-2-undécéal                  | 1364 | 14.9 | 12.7 |
| n-tétradécane                   | 1400 | 0.5  | 0.7  |
| Dodécanal                       | 1407 | 0.7  | 0.9  |
| $\beta$ -caryophyllène          | 1419 | 1.6  | 1.7  |
| (E)-géranylacétone              | 1456 | 0.8  |      |
| (E)-2-dodécéal                  | 1466 | 1.1  | 1.4  |
| $\beta$ -sélinène               | 1487 |      |      |
|                                 |      | 40   | 29   |
| Hydrocarbures monoterpéniques   |      | 2.1  | 9.6  |
| Hydrocarbures sesquiterpéniques |      | 1.6  | 1.7  |
| Monoterpènes oxygénés           |      | 1.7  | 9.2  |
| Phénylpropanoïdes               |      | 12.5 | 16.0 |
| Apocaroténoïdes                 |      | 1.8  | 1.4  |
| Dérivés azotés                  |      | 0.0  | 0.0  |

|                         |      |      |
|-------------------------|------|------|
| Dérivés non terpéniques | 77.6 | 60.9 |
| Total identifié         | 97.3 | 98.8 |

## 2.5. Activités biologiques

Pour évaluer l'efficacité antiradicale des extraits méthanoliques et à l'éther de pétrole des feuilles et des graines de *A. spinosa*, le BHA a été utilisé comme témoin positif pour l'activité antioxydante.

**Tableau 13.** Activités antioxydantes ( $\pm$  SD) des extraits méthanoliques et à l'éther de pétrole des feuilles et des graines.

| Extraits & composés   |          | Activité antioxydante IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ ) |                  |                  |
|---|----------|---|------------------|------------------|
|   |          | Essai DPPH                                      | Essai ABTS+      | Essai CUPRAC     |
| <b>Concentrations testées (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b> |          | 25-200  | 25-200           | 25-200           |
| <b>Extrait méthanolique</b>                                 | Feuilles | 11,80 $\pm$ 0,23 (*)                            | 3,411 $\pm$ 2,59 | 20,91 $\pm$ 0,80 |
|   | Graines  | >400 (NA)                                       | 301,6 $\pm$ 5,66 | >400             |
| <b>Extrait à l'éther de pétrole</b>                         | Feuilles | 436,13 $\pm$ 32,5 (****)                        | 1,88 $\pm$ 0,06  | 5,62 $\pm$ 0,08  |
|   | Graines  | 97,45 $\pm$ 2,15 (***)                          | NT               | NT               |
| <b>Standard</b>   | BHA      | 3,44 $\pm$ 0,09                                 | NT               | NT               |

BHA (composés de référence) : 2-tert-Butyl-4-hydroxyanisole et 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole. Les valeurs indiquées correspondent à la moyenne de trois mesures répétées. Les étoiles signalent les différences significatives par rapport au BHA (test HSD de Tukey) :  $p < 0,05$  (\*);  $p < 0,001$  (\*\*);  $p < 0,0001$  (\*\*\*\*); NA : comparaison statistique non applicable avec le standard ; NT : Non testé.

Les tests DPPH, ABTS et CUPRAC ont révélé les capacités antioxydantes des quatre extraits étudiés. Les résultats ont montré une activité particulièrement intéressante, avec des valeurs IC50

---

significativement plus faibles (test DPPH : test HSD de Tukey ( $p < 0,05$ )) pour l'extrait méthanolique des feuilles par rapport à celui des graines, qui n'a montré qu'une activité minimale.

Cela suggère que les composés présents dans les feuilles pourraient jouer un rôle plus important dans la neutralisation des radicaux libres et la protection contre les dommages oxydatifs. Une tendance inverse a été observée avec l'extrait d'éther de pétrole (Tableau 5). Ce résultat pourrait être attribué à la polarité plus élevée du méthanol par rapport à l'éther de pétrole, qui est principalement non polaire. D'autres études, telles que celles menées par **Fadila & Meriem (2019)**, ont évalué l'extrait de feuilles utilisant des solvants de différentes polarités provenant d'arganiers récoltés à Tindouf, montrant une activité antioxydante significative avec des tests de  $\beta$ -carotène/acide linoléique, DPPH, oxydation de la phénanthroline-Fe (II) et tests de pouvoir réducteur, obtenant des résultats de 90 %, 0,014 mg/ml, 0,13 mg/ml et  $1,859 \pm 0,037$ , respectivement.

Dans une autre étude par **El Oumari et al. (2022)**, les extraits d'éthanol, d'acétone et de méthanol à 70 % de *A. spinosa* du Maroc ont montré des résultats similaires, avec un pourcentage d'inhibition de  $77,87 \pm 4,21$  pour la méthode DPPH. Le potentiel pharmacologique de l'huile d'argan est généralement associé à ses antioxydants, en particulier les composés polyphénoliques (**El Monfalouti et al., 2012**).

#### ➤ **Capacité d'inhibition enzymatique**

Le potentiel d'inhibition enzymatique de *A. spinosa* contre les cholinestérases, l' $\alpha$ -glucosidase et l' $\alpha$ -amylase a été évalué. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 14**.

Les résultats obtenus pour les extraits méthanoliques et d'éther de pétrole des feuilles et des graines sont les suivants : pour l'extrait méthanolique des feuilles, les valeurs IC<sub>50</sub> étaient de  $74,90 \pm 3,81$   $\mu$ g/mL pour l'AChE et de  $15,69 \pm 0,40$   $\mu$ g/mL pour la BChE. En revanche, les extraits d'éther de pétrole des feuilles et des graines n'ont montré aucune activité significative contre l'AChE et la BChE ( $>200$   $\mu$ g/mL).

Ces résultats indiquent une activité anticholinestérase significative dans les feuilles, avec des valeurs IC<sub>50</sub> inférieures à celles des standards de galantamine ( $4,44 \pm 1,57$   $\mu$ g/mL pour l'AChE et

30,79 ± 0,13 µg/mL pour la BChE) (test HSD de Tukey : p < 0,05). L'extrait méthanolique des graines a montré une activité faible, tandis que l'extrait d'éther de pétrole n'a révélé qu'une activité très limitée.

**Tableau 14.** Activités anticholinestérasiques et antidiabétiques (valeurs IC50) des extraits méthanoliques et d'éther de pétrole de *A. spinosa*.

| <b>Extraits et composés</b>                    | <b>Activités anticholinestérasiques</b> | <b>Activités antidiabétiques</b> |
|--|---|----------------------------------|
|  | <b>IC50 (µg/mL)</b>                     | <b>IC50 (µg/mL)</b>              |
|  | Test AChE                               | Test BChE                        |
| <b>Concentrations testées (µg/mL)</b>          | 25-200                                  | 25-200                           |
| <b>Extrait méthanolique des feuilles</b>       | 74.90 ± 3.81 (***)                      | 15.96 ± 0.40 (*)                 |
| <b>Extrait méthanolique des graines</b>        | >200 (NA)                               | >200 (NA)                        |
| <b>Extrait d'éther de pétrole des feuilles</b> | NT                                      | NT                               |
| <b>Extrait d'éther de pétrole des graines</b>  | >200 (NA)                               | >200 (NA)                        |
| <b>Galantamine</b>                             | 4.44 ± 1.57                             | 30.79 ± 0.13                     |
| <b>Acarbose</b>                                | NT                                      | NT                               |

Les étoiles indiquent les niveaux de signification statistique par rapport aux contrôles standards : p < 0,05 (\*); p < 0,001 (\*\*); p < 0,0001 (\*\*\*\*); NA : comparaison statistique non applicable ; NT : Non testé.

---

Les tests d'AChE et de BChE, pertinents pour la recherche sur la maladie d'Alzheimer, ont été réalisés pour évaluer l'activité anticholinestérase des extraits. Le traitement de la maladie d'Alzheimer repose souvent sur l'inhibition des principales cholinestérases (BChE et AChE), mesurée par la méthode colorimétrique **d'Ellman (1961)**.

Cette méthode utilise des substrats hydrolysés par les enzymes pour produire un ion jaune détectable à 412 nm, ce qui aide à évaluer l'activité inhibitrice contre l'acétylcholinestérase, une enzyme dont l'activité réduite est liée à la maladie (**Ullah et al., 2022**). Aucune étude antérieure n'a examiné l'activité anticholinestérase des extraits d'argan.

Les études précédentes sur *A. spinosa* n'ont pas abordé l'action de ces extraits sur l'AChE et la BChE. L'activité observée pourrait être due à la présence de composés phénoliques comme la rutine, la catéchine et la coumarine dans l'extrait méthanolique des feuilles. Le Tableau 6 montre que les extraits méthanoliques des feuilles ont inhibé l' $\alpha$ -glucosidase avec une valeur IC<sub>50</sub> de 48,98  $\pm$  5,58  $\mu$ g/mL mais n'ont montré aucune activité contre l' $\alpha$ -amylase.

Les extraits méthanoliques des graines ont donné des valeurs IC<sub>50</sub> de 868,16  $\pm$  0,95  $\mu$ g/mL pour l' $\alpha$ -amylase et de 51,67  $\pm$  6,63  $\mu$ g/mL pour l' $\alpha$ -glucosidase, tandis que l'acarbose, utilisé comme contrôle positif, a présenté des valeurs IC<sub>50</sub> de 36,74  $\pm$  4,50  $\mu$ g/mL pour l' $\alpha$ -amylase et de 22,28  $\pm$  2,03  $\mu$ g/mL pour l' $\alpha$ -glucosidase.

Récemment, **Daoudi et al. (2020)** ont révélé que l'huile d'*A. spinosa* avait un effet inhibiteur puissant sur l' $\alpha$ -amylase, comparable à celui de l'acarbose.

Cette inhibition pourrait être attribuée aux composants chimiques des huiles. Des recherches ont montré que certains acides gras, tels que l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide palmitique, peuvent inhiber les enzymes associées au diabète de type 2 (**Teng & Chen, 2017**).

---

## Conclusion

La micropropagation des cotylédons d'*A.spinosa* a révélé des résultats significatifs concernant l'effet des milieux de culture et des concentrations de BAP sur la croissance des explants. Les données montrent que le milieu MS sans BAP a produit les meilleurs résultats en termes de taille de la partie aérienne et de nombre de feuilles au cours des quatre semaines d'observation. Les faibles concentrations de BAP (0 et 0.5 mg/ml) ont également favorisé le développement du nombre de nœuds, indiquant une réponse positive des explants à ces conditions.

En ce qui concerne la germination des graines, les résultats ont montré que la présence de charbon actif dans les milieux de culture a eu un impact positif sur la longueur des racines, bien que la provenance des graines (Tindouf vs Mostaganem) n'ait pas montré de différences significatives dans leur comportement général. Cela suggère que les conditions de culture, plutôt que la provenance des graines, jouent un rôle crucial dans le succès de la germination et de la croissance des plants d'*A.spinosa*. En fin, l'optimisation des milieux de culture et des régulateurs de croissance est essentielle pour améliorer la micropropagation et la germination des graines d'*A. spinosa*, ce qui pourrait avoir des implications importantes pour la conservation et la culture de cette espèce précieuse.

La vaste gamme de composés phytochimiques bioactifs présents dans les plantes médicinales représente une ressource naturelle précieuse, notre étude a spécifiquement examiné la composition phytochimique, les propriétés antioxydantes et les capacités d'inhibition enzymatique des extraits des feuilles et des graines d'*Arganiaspinosa*, une plante native d'Algérie. Les extraits méthanoliques des feuilles et des graines d'*A. spinosa* se sont révélés riches en composés bioactifs, notamment en rutine (8,85 %) et en catéchine (6,05 %). Ces composés sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et leurs bénéfices potentiels pour la santé. Les extraits contiennent également un taux élevé de minéraux, ce qui est bénéfique pour diverses fonctions physiologiques du corps. Les extraits d'éther de pétrole ont révélé un profil diversifié d'acides gras, avec 19 acides gras dans les feuilles et 17 dans les graines. L'acide oléique a été identifié comme l'acide gras prédominant, représentant 45,22 % dans les feuilles et 49,07 % dans les graines. L'acide oléique est connu pour ses bienfaits pour la santé, y compris ses propriétés anti-inflammatoires. L'analyse HSPME fournit une vue d'ensemble précieuse de la diversité chimique des constituants volatils d'*A.spinosa*. L'analyse des données révèle non seulement la richesse

---

de cette plante, mais aussi son potentiel pour des applications variées dans différents secteurs. Les différences entre les feuilles et les graines soulignent l'importance de la recherche sur les différentes parties de la plante pour une compréhension complète de ses propriétés. Les extraits méthanoliques ont montré une activité antioxydante supérieure et des effets antidiabétiques potentiels par rapport aux extraits d'éther de pétrole. Cela suggère que les extraits méthanoliques pourraient être plus efficaces pour neutraliser les radicaux libres et inhiber les enzymes liées au diabète. Les résultats soulignent la nécessité de recherches supplémentaires pour isoler et purifier les composants bioactifs individuels responsables des effets observés. De plus, explorer leur potentiel pour une activité biologique *in vivo* pourrait conduire à de nouvelles applications thérapeutiques. Dans l'ensemble, on souligne le riche profil de composés bioactifs d'*A. spinosa* et son potentiel pour des applications liées à la santé, encourageant une exploration plus approfondie de ses propriétés médicinales.

---

## Références bibliographiques

1. Aaouine, M., & Bazagra, B. (1990). Capacité de régénération du cal de différents explants d'arganier. *Act Inst Agron Vet*, 10(3), 13-17. Abedini, A. (2013). Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes (Doctoral dissertation, Université du Droit et de la Santé-Lille II).
2. Ait Abd, N. (2007). Développement du gamétophyte mâle et femelle chez *Argania spinosa* (L.) Skeels Agadir, Univ. Ibn Zohr, Diplôme des Études Supérieures Approfondies (DESA), 31 p
3. Aizer N., Abdellatif N., Saidi F. et Chaouia C. 2019. Initiation à la micropropagation par microbouturage de l'arganier (*argania spinosa* L. Skeels). *Revue Agrobiologia*, 9(2): 1628-1635 pp.
4. Al-Dhabi, N. A., Arasu, M. V., Park, C. H., & Park, S. U. (2015). An up-to-date review of rutin and its biological and pharmacological activities. *EXCLI journal*, 14, 59.
5. Alouani, M., & Bani-Aameur, F. (2003). Effect of light on germination of Argan (*Argania spinosa* (L.) Skeels) seeds. *Acta botanica gallica*, 150(1), 59-64.
6. Alouani, M., & Bani-Aameur, F. (2004). Argan (*Argania spinosa* (L.) Skeels) seed germination under nursery conditions : Effect of cold storage, gibberellic acid and mother-tree genotype. *Annals of Forest Science*, 61(2), 191-194.
7. Amghar, I., Diria, G., Boumlik, I., Gaboun, F., Iraqi, D., Labhilili, M., ... & Abdelwahd, R. (2021). An efficient regeneration pathway through adventitious organogenesis for the endangered *Argania spinosa* (L.) Skeels. *Vegetos*, 34, 355-367.
8. Apak, R. ; Güçlü, K. ; Özyürek, M. ; Çelik, S.E. (2008). Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microch. Acta*. 160, 413-419.
9. Arthur, C.L. ; Pawliszyn, J. Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers. *Anal. Chem.* 1990, 62, 2145-2148.
10. Augé R., Beauchesne G., Boccon-Gibod J., Decourtye L., Digat B., Jalouzot R., Minier R., Morand J Cl, Reynoird J.P et Strullu D. G. et Vidalie H. 1989. La culture in vitro et ces applications horticoles. 3ème édition revue. Ed Tec et Doc. Lavoisier. 225p
11. Babu-Rajendran, R. ; Preethi, G. ; Poopal, R.K. ; Nikhil, N.P. ; Vimalkumar, K. ; Subramanian, A.; Krishna-Kumar, S. (2018). GC-MS determination of phthalate esters in human urine : a potential biomarker for phthalate bio-monitoring. *J. Chromatogra. V. phy. B.* 1079, 15-24.
12. Bakkali, K. M. (1997). Contribution à la nutrition minérale in vitro de l'arganier (*Arganiaspinosa* L.). Marrakech Thèse de Doctorat, Université Caddy-Ayyade.

- 
13. Barkaoui, M.; Msanda, F.; Boubaker, H.; EL-Boullani, R.; Asri, O. E.; Chokri, A.; ... & Chahboune, M. (2022). Ethnobotany, traditional knowledge, and nutritional value of Argan (*Argania spinosa* (L.) Skeels) in Western Anti-Atlas of Morocco. *Brazil. J. Biol.* 84, e260477.
  14. Barros, L.; Dueñas, M.; Ferreira, I.C.; Baptista, P.; Santos-Buelga, C. (2009). Phenolic acids determination by HPLC–DAD–ESI/MS in sixteen different Portuguese wild mushrooms species. *Food Chem. Toxicol.* 47(6), 1076-1079.
  15. Barton, L. V. (1936). Germination of some desert seeds.
  16. Belcadi-Haloui, R.; Zekhnini, A.; EL Hadek, M.; Hatimi, A. (2015). Effect of Light and Oxygen on Argan Oil Stability during a Long-Term Storage. *International J. Innova. Res. Sci. Eng. Technol.* 4(2), 8-14. [www.jocpr.com](http://www.jocpr.com)
  17. Bellebcir, L. (2008). Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales. Mémoire de Magiste, Université Mentouri de Constantine, 119.
  18. Bellefontaine R., Ferradous A., Alifriqui M et Monteuuis O. 2010. Multiplication végétative e l'arganier (*Argania spinosa*) au Maroc : le projet Jhon Goelet. *Bois et Forêts des Tropiques*, 304 (2) : 47-59 p
  19. Benkheira, A. (2009). L'arganeraie algérienne. Bulletin d'information, conservation de la biodiversité et gestion durable des ressources naturelles, publication du projet. *ALG*, 35, 15p.
  20. Berka, S., & Harfouche, A. (2001). Effets de quelques traitements physico-chimiques et de la température sur la faculté germinative de la graine d'Arganier. *Revue forestière française*, 53(2), 125-130.
  21. Berka, S., Hacene, H., Taguemount, D., Tabet, M., & Aïd, F. (2018). Contribution à l'étude de la germination et de la conservation des graines d'*Arganiaspinosa* (L.) Skeels de la région de Tindouf (Algérie). *Revue d'Écologie (La Terre et La Vie)*, 73(3), 309-317.
  22. Bianchi, A., Taglieri, I., Macaluso, M., Sanmartin, C., Zinnai, A., & Venturi, F. (2023). Effect of Different Packaging Strategies on the Secondary Shelf Life of Young and Structured Red Wine. *Foods*, 12(14), 2719.
  23. Blagojevic, P.; Radulovic, N.; Palic, R.; Stojanovic, G. (2006). Chemical composition of the essential oils of Serbian wild-growing *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*. *J. Agric. Food Chem.* 54(13), 4780-4789.
  24. BLOIS, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181(4617), 1199-1200.
  25. Bnouham, M.; Bellahcen, S.; Benalla, W.; Legssyer, A.; Ziyat, A.; & Mekhfi, H. (2008). Antidiabetic activity assessment of *Argania spinosa* oil. *J. Complement Integrat. Med.* 5(1).
  26. Bojko, B., Cudjoe, E., Gómez-Ríos, G. A., Gorynski, K., Jiang, R., Reyes-Garcés, N., ... & Pawliszyn, J. (2012). SPME–Quo vadis?. *Analytica Chimica Acta*, 750, 132-151.
  27. Boudy, P. L. J. (1950). Économie forestière nord-africaine : Monographies et traitements des essences forestières. Éditions Larose.

- 
28. Bommineni, U. R., & Jauhar, P. P. (2003). Regeneration of plant through isolated scirtelum culture of durum. Wheat. Plant sci. p, 116, 197.
  29. Bousselmime, F., Kenny, L., & Chlyah, H. (2001). Optimisation des conditions de culture pour l'enracinement in vitro de l'arganier (*Argania spinosa* L.). Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series III-Sciences de la Vie, 324(11), 995-1000.
  30. Boutherein, D., & Bron, G. (1989). Multiplication des plantes horticoles.
  31. Brillouet, J. M., Romieu, C., Schoefs, B., Solymosi, K., Cheynier, V., Fulcrand, H., Verdeil, J. L., & Conéjéro, G. (2013). The tannosome is an organelle forming condensed tannins in the chlorophyllous organs of Tracheophyta. Annals of botany, 112(6), 1003–1014.
  32. Bruneton J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 2ème Ed. Paris: Tec &Doc Lavoisier, P. 268-277.
  33. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie des Plantes Médicinales. 3rd Edition, Revue et Augmentée, Tec & Doc, Paris, Lavoisier 418-419.
  34. Bruneton J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème Ed. Paris: Tec &Doc Lavoisier
  35. Camara M., Kessar., 2004. Micropropagation et préservation de deux cépages autochtones de vigne *Vitis vinefera*.L (Torki et Aneb El kabyle). Thèse Ing, Biologie, Blida. 57p.
  36. Carpenter, R.; O'Grady, M.N.; O'callaghan, Y.C.; O'brien, N.M.; Kerry, J.P. (2007). Evaluation of the antioxidant potential of grape seed and bearberry extracts in raw and cooked pork. Meat. Sci. 76(4), 604-610.
  37. Chakhchar, A.; Lamaoui, M.; Aissam, S.; Ferradous, A.; Wahbi, S.; EL Mousadik, A.; ... & EL Modafar, C. (2016). Differential physiological and antioxidative responses to drought stress and recovery among four contrasting *Argania spinosa* ecotypes. J. Plant Interac. 11(1), 30-40.
  38. Charrouf, Z., Hilali, M., Jauregui, O., Soufiaoui, M., & Guillaume, D. (2007). Separation and characterization of phenolic compounds in argan fruit pulp using liquid chromatography– negative electrospray ionization tandem mass spectroscopy. Food Chemistry, 100(4), 1398- 1401.
  39. Charrouf, Z.; Guillaume, D. (2008). Argan oil: occurrence, composition and impact on human health. Eur J LipidSciTechnol. 110(7), 632-636.
  40. Chaussat, R., & Chapon, M. (1981). Etude comparative des poids et des propriétés germinatives des grains de l'épillet de quelques *Triticum* sauvages et cultivés. Bulletin de la Société d'Ecophysiologie, 6.
  41. Chaussod, R., & Nouaïm, R. (2001). Matières organiques et activités biologiques des sols cultivés. Des indicateurs d'intérêt agronomique. Perspectives agricoles, 272, 46-48.

- 
42. Cooke, D., Fitzpatrick, B., O’Kennedy, R., McCormack, T., & Egan, D. (1997). Coumarins– Multifaceted Molecules with Many Analytical and Other Applications. *Coumarins: Biology, Applications and Mode of Action*. Chichester : John Wiley & Sons, 303-332.
  43. Cicero, N.; Gervasi, T.; Durazzo, A.; Lucarini, M.; Macri, A.; Nava, V.; ... Santini, A. (2022). Mineral and microbiological analysis of spices and aromatic herbs. *Foods*. 11(4), 548.
  44. D’Agostino, M.F.; Sicari, V.; Giuffrè, A.M.; Soria, A.C. Blackberries (*Rubus ulmifolius* Schott) from Calabria (Italy): A comprehensive characterisation. *Eur. Food Res. Technol.* 2022, 248, 905–916. [Google Scholar].
  45. Dakiche, H.; Khali, M.; Boutoumi, H. (2017). Phytochemical Characterization and in vivo Anti-inflammatory and Wound-healing Activities of *Argania spinosa* (L.) Skeels Seed Oil. *Rec. Nat. Prod.* 11(2).
  46. Daoudi, N.E.; Bouhrim, M.; Ouassou, H.; Legssyer, A.; Mekhfi, H.; Ziyat, A.; ... Bnouham, M. (2020). Inhibitory effect of roasted/unroasted *Argania spinosa* seeds oil on  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase and intestinal glucose absorption activities. *S. Afr. J. Bot.* 135, 413-420.
  47. Demol, J., & Otoul, É. (2002). *Amélioration des plantes: application aux principales espèces cultivées en régions tropicales*. Presses Agronomiques de Gembloux.
  48. Didaoui, L.; Touabet, A.; Meklati, B.Y. (1997). Comparison of mathematical methods for the calculation of retention indices at high temperature in gas chromatography, *J. Hi. Res. Chromatogr.* 20, 605-610.
  49. Dietary Guidelines Advisory Committee. (2020). *Scientific Report of the 2020 Dietary Guidelines Advisory Committee: Advisory Report to the Secretary of Agriculture and the Secretary of Health and Human Services*; Dietary Guidelines Advisory Committee: Washington, DC, USA.
  50. Duru, M.E.; Kivrak, Ş.; Mercan-Doğan, N.; Türkoglu, A.; Özler, M.A. (2011). In vitro antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents: A comparative study on the three most edible mushrooms. *Food Chem. Toxicol.* 49(6), 1353–1360.
  51. Elicoh-Middleton J.R., Chithan K. and Theoharis C. (2000). Effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart diseases and cancer. *Pharmacology and Experimental therapeutics*, 4(52), 673-751.
  52. El Aïch, A., Bourbouze, A., & Morand-Fehr, P. (2005). *La chèvre dans l’arganeraie*. Rabat: Institut Agronomique et Vétérinaire.
  53. 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(2), 157-160.
  54. EL Kabouss, A.; Charrouf Z.; Oumzil, H.; Faid M.; Lamnaouer, D.; Miyata, Y.; & Miyahara, K. (2001). Caractérisation des flavonoïdes des feuilles d'Arganier (*Arganiaspinosa* (L.)

- 
- Skeels, Sapotaceae) et étude de leur activité antimicrobienne. *Rev. Maroc. Sci. Agro. Vétér.* 21(3), 157-162.
55. EL Monfalouti, H.; Charrouf, Z.; Belviso, S.; Ghirardello, D.; Scursatone, B.; Guillaume, D.; ... Zeppa, G. (2012). Analysis and antioxidant capacity of the phenolic compounds from argan fruit (*Argania spinosa* (L.) Skeels). *Europ. J. Lipid. Sci. Technol.* 114(4), 446-452.
  56. El Oumari, F.E.; Mammate, N.; Imtara, H.; Lahrichi, A.; Elhabbani, R.; EL Mouhri, G.; ... Sqalli Houssaini, T. (2022). Chemical Composition, Antioxidant Potentials, and Calcium Oxalate Anticrystallization Activity of Polyphenol and Saponin Fractions from *Argania spinosa* L. *Press Cake Plants.* 11(14), 1852.
  57. Ellman, G.L.; Courtney, K.D.; Andres, V.; Featherstone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7(2), 88– 95.
  58. Elmore, J.S.; Campo, M.M.; Enser, M.; Mottram, D.S. (2002). Effect of lipid composition on meat-like model systems containing cysteine, ribose, and polyunsaturated fatty acids, *J. Agric. Food Chem.* 50, 1126-1132.
  59. Ertas, A.; Firat, M.; Yener, I.; Akdeniz, M.; Yigitkan, S.; Bakir, D.; Cakir, C.; Abdullah, Yilmaz, M.; Ozturk, M.; Kolak, U. (2021). Phytochemical Fingerprints and Bioactivities of Ripe Disseminules (Fruit-Seeds) of Seventeen *Gundelia* (*Kenger-KerengDikeni*) Species from Anatolia with Chemometric Approach. *Chem. & Biodiv.* 18(8): e2100207.
  60. Fadila, C., & Meriem, K. H. (2019). Evaluation of leaf extracts from Algerian *Argania spinosa*. L. Skeels. (Sapotaceae) trees: Total phenol content, protein content, and Antibacterial activities against six against clinical phytopathogenic bacteria. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 9(3).
  61. Food and Drug Administration. *Cosmetics.*
  62. George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G. J. (Eds.). (2007). *Plant propagation by tissue culture: volume 1. the background* (Vol. 1). Springer Science & Business Media.
  63. Gharby Said., (2012). Contribution à la valorisation de l'huile d'Argane, influence de l'origine du fruit (terroir, forme) et de la méthode d'extraction sur la composition chimique, les caractéristiques organoleptiques et la stabilité de l'huile d'Argane. Thèse de Doctorat en phytochimie, Université Mohammed V- Agdal, Rabat
  64. Guedira, M., Dubois-Tylski, T., Vasseur, J., & Dubois, J. (1989). Embryogenèse somatique directe à partir de cultures d'anthères du *Cichorium* (Asteraceae). *Canadian journal of botany*, 67(4), 970-976
  65. Gülşen, C.; Gülenay, G.B. (2014). The principal and healthy school climate. *Soc. Behav. Person. Int. J.* 42(1), 93S-100S. [www.acgpubs.org/RNP](http://www.acgpubs.org/RNP)
  66. Guyot, M.J., Segulier-Guis, M et D Duris. (2003). *Terre des cafés*, Ed Cirad, 141p.
  67. Hanana, M.; Mezghenni, H.; Ben Ayed, R.; Ben Dhiab, A.; Jarradi, S.; Jamoussi, B.; Hamrouni, L. (2018). Nutraceutical potentialities of Tunisian Argan oil based on its

- 
- physicochemical properties and fatty acid content as assessed through Bayesian network analyses. *Lipids Health Dis.* 17(1), 1-10.
68. Heller, R., Masson. (1982). Paris New York Barcelone Milan Mexico Rio de Janeiro, 214 p.
  69. Heller R, F. and M. E. Evans. (1995). loess magnetism, *Rev. geophys.*, 33, 211-240
  70. Hilali, M.; Monfalouti, H.E.; Kartah, B.E. (2020). Evaluation of the chemical composition of Argan (*Argania spinosa* L.) oil according to its extraction method, origin of production and altitude. *Online J. Anim. Feed Res.* 10(3), 111-118.
  71. Hunter, J.E.; Dionisi, F.; Fleith, M. (2016). Health Effects of Individual Saturated Fatty Acids: Report of Health & Nutrition Division Session at the 106th AOCS Annual Meeting Inform. 27(3).
  72. I. Johnson. Review of GC-MS data, (1997) 1 of 3.
  73. Iraqi, R.; Vermeulen, C.; Benzekri, A.; Bouseta, A.; Collin, S. (2005). Screening for key odorants in Moroccan green olives by gas chromatography-olfactometry/aroma extract dilution analysis, *J. Agric. Food Chem.* 53, 1179-1184.
  74. Kamal, R., Kharbach, M., Imig, J. D., Eljmel, M., Doukkali, Z., Mrabti, H. N., ... & Alaoui, K. (2017). Antioxidant activities, total polyphenolic compounds and Hplc/Dad/Ms phenolic profile of argan oil derived from two different methods of extractions. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 8(4), 1320-7.
  75. Kamal, R.; Kharbach, M.; Vander Heyden, Y.; Doukkali, Z.; Ghchime, R.; Bouklouze, A.; ... Alaoui, K. (2019). In vivo anti-inflammatory response and bioactive compounds' profile of polyphenolic extracts from edible Argan oil (*Argania spinosa* L.), obtained by two extraction methods. *J. Food. Biochem.* 43(12), e13066.
  76. Kamal, R.; Kharbach, M.; Heyden, Y.V.; Yu, H.; Bouklouze, A.; Cherrah, Y.; Alaoui, K. (2021). In vitro & in vivo anti-hyperglycemic potential of saponins cake and argan oil from *Argania spinosa*. *Foods*. 10(5), 1078.
  77. Kéchaïri, R., & Lakhdari, I. (2002). Contribution à l'étude de l'arganier *Argania spinosa* (L.) Skeels. Essais de multiplication par semis au laboratoire Mascara (Doctoral dissertation, Thèse Ing. D'État en Biologie. Option : EVE. CU de Mascara. 67p).
  78. Khallouki, F.; Haubner, R.; Ricarte, I.; Erben, G.; Klika, K.; Ulrich, C.M.; Owen, R.W. (2015). Identification of polyphenolic compounds in the flesh of Argan (Morocco) fruits. *Food Chem.* 179, 191-198.
  79. Khallouki, F.; Younos, C.; Soulimani, R.; Oster, T.; Charrouf, Z.; Spiegelhalder, B.; ... 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. *Europ. J. Cancer Prev.* 67-75.
  80. Kharbach, M.; Yu, H.; Kamal, R.; Marmouzi, I.; Alaoui, K.; Vercammen, J.; ... & Vander Heyden, Y. (2022). Authentication of extra virgin Argan oil by selected-ion flow-tube mass- spectrometry fingerprinting and chemometrics. *Food Chem.* 383, 132565.

- 
81. Khoddami, A., Meredith, A. W. and Thomas, H. R. (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, 18: 2328-2375.
  82. Kim, J.H.; Kim, Y.; Kim, Y.J.; Park, Y. (2016). Conjugated Linoleic Acid: Potential Health Benefits as a Functional Food Ingredient. *Ann. Rev. Food Sci. Technol.* 7(1), 221–44.
  83. Kim, J.S.; Kwon, Y.S.; Chun, W.J.; Kim, T.Y.; Sun, J.; Yu C.Y.; Kim, M.J. (2010). *Rhus verniciflua* Stokes flavonoid extracts have anti-oxidant, anti-microbial and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effect. *Food Chem.* 120(2), 539-543.
  84. Knop P., 1865-contitative water suchnger uber den ernahrungsprozess der pflanzen. *landw versuchs stat vol.7* , pp :93-107
  85. Koba, k.; yanagita, T. (2014). Health benefits of conjugated linoleic acid (CLA). *Obes. Res. Amp;ClinicalPract.* 8(6), e525–32.
  86. Koelling C., 2017. *New Frontiers in Plant In Vitro Culture*. Academic Pages, New York, 332p
  87. Koné, T., Koné, M., Koné, D., Kouakou, T. H., Traoré, S., & Kouadio, Y. J. (2010). Effet de la photopériode et des vitamines sur la micropropagation du bananier plantain (*Musa AAB*) à partir de rejets écaillés de rang1. *Journal of Applied Biosciences*, 26, 1675-1686.
  88. Koufan, M., Mazri, M. A., Essatte, A., Moussafir, S., Belkoura, I., El Rhaffari, L., & Toufik, I. (2020). A novel regeneration system through micrografting for *Argania spinosa* (L.) Skeels, and confirmation of successful rootstock-scion union by histological analysis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 142, 369-378.
  89. Kouidri, m.; saadi, a. K.; noui, a., & medjahed, F. (2015). The chemical composition of argan oil. *International Journal of Advanced Studies in Computers, Sci. Engineer.* 4(1), 24.
  90. Krief S. (2003). *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillancesanitaire etobservations de l'alimentation de chimpanzés (pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda, activités biologiques et étude chimique de plantes consommées*. Thèse de doctorat. Brunoy, 237 p
  91. Lahmadi, s.; belhamra, m.; karoune, s.; kechebar, m.s.a.; bensouici, c.; kashi, i.; ... & ksouri, R. (2019). In vitro antioxidant capacity of *Euphorbia retusa* Forssk. from Algerian desert. *J. Pharm. Pharmacogn. Res.* 7(5), 356-366.
  92. Lamaoui, M., Chakhchar, A., El Kharrassi, Y., Wahbi, S., Ferradous, A., El Mousadik, A., ... & El Modafar, C. (2019). Selection and multiplication of argan (*Argania spinosa* L.) superior clones for conservation purposes. *Acta Sci Agric*, 3(1), 116-123.
  93. Levison, M. E. (2004). Pharmacodynamics of antimicrobial drugs. *Infectious Disease Clinics*, 18(3), 451-465.
  94. Liang, C.;& LUCY, C. A. (2010). Characterization of ion chromatography columns based on hydrophobicity and hydroxide eluent strength. *Journal of Chromatography A*, 1217(52), 8154- 8160.
  95. Linné, C.V., 1737. *Flora Lapponica*. S. Schouten. Amsterdam, Netherlands

- 
96. Liu, X., & Locasale, J. W. (2017). Metabolomics: a primer. *Trends in biochemical sciences*, 42(4), 274-284.
  97. Lord, H.; Pawliszyn, J. Evolution of solid-phase microextraction technology. *J. Chromatogr. A* 2000, 885, 153–193.
  98. Louati, m.; ucarli, c.; arikan, b.; ghada, b.; salhi, hannachi, a.; & turgut-kara, N. (2019). Genetic morphological and biochemical diversity of argan tree (*Argania spinosa* L.) (sapotaceae) in Tunisia. *Plants*. 8(9), 319.
  99. Maene, L., & Debergh, P. (1985). Liquid medium additions to established tissue cultures to improve elongation and rooting in vivo. *Plant cell, tissue and organ culture*, 5, 23-33.
  100. Margara J., 1989. Bases de la multiplication végétative : les méristèmes et l'organogénèse. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, 260p
  101. Masoodi, H. U. R., Thapliyal, M., & Singh, V. R. (2014). Studies on the variation in germination and seedling growth of *Abies pindrow* Spach. (Royle) in Garhwal region of Uttarakhand, India. *Journal of Applied and Natural Science*, 6(2), 711-715.
  102. Mensink, R.P. (2005). Effects of stearic acid on plasma lipid and lipoproteins in humans. *Lipids*. 40(12), 1201-1205.
  103. Mercolini, L.; Protti, M.; Saracino, M.A.; Mandrone, M.; Antognoni, F.; Poli, F. (2016). Analytical profiling of bioactive phenolic compounds in Argan (*Argania spinosa*) Leaves by Combined Microextraction by Packed Sorbent (MEPS) and LC-DAD-MS/MS. *Phytochem. Analysis*. 27(1), 41-49.
  104. Metougui, M.L.; Mokhtari, M.; Maughan, P.J.; Jellen, E.N.; & Benlhabib, O. (2017). Morphological variability, heritability and correlation studies within an argan tree population (*Argania spinosa* (L.) Skeels) preserved in situ. *Int. J. Agric. For.* 7, 42-51.
  105. Mezghenni, H., Hamrouni, L., Hanana, M., Jamoussi, B., Bouzid, S., & Khouja, M. L. (2014). Multiplication de l'arganier *Argania spinosa* (L.) Skeels. *Journal of New Sciences*, 10(2), 1-12.
  106. M'hirit O., Benzyane M., Benchakroune F., EL Yousfi S.M et Bendaanoun M., 1998. L'arganier une espèce fruitière forestière à usage multiple. Margada, (Sprimont) Belgique., 150 p.
  107. Mokhtari, M., & Zakri, B. (1998, April). Limites phytotechniques et physiologiques au bouturage, marcottage et greffage de l'arganier (*Arganiaspinosa* L.). In Colloque international sur les ressources végétales « L'arganier et les plantes des zones arides et semis arides », Agadir (pp. 23-25).
  108. Moukal, A. (2004). L'arganier, *Arganiaspinosa* L. (Skeels), usage thérapeutique, cosmétique et alimentaire. *Phytothérapie*. 2(5), 135-141.
  109. Msanda, F. (1993). Ecologie et cartographie des groupements végétaux d'Anzi (Anti-Atlas occidental, Maroc) et contribution à l'étude de la diversité génétique de l'arganier

- 
- (*Arganiaspinosa* (L.) Skeels) (Doctoral dissertation, Université Joseph Fourier (Grenoble ; 1971- 2015)).
110. Msanda, F., El Aboudi, A., & Peltier, J. P. (2005). Biodiversité et biogéographie de l'arganeraie marocaine. *Cahiers Agricultures*, 14(4), 357-364.
  111. Muniz, M.N. (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+) - anatoxine-a et la (±) - camptothécine. Thèse de doctorat en chimie. Université Joseph-Fourier - Grenoble I. France. 195p.
  112. Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497.
  113. Nauciel, C. (2000). *Microbiologie médicale*, 3<sup>ème</sup> édition. Masson, 272p.
  114. Nouaim, R., Chaussod, R., El Aboudi, A., Schnabel, C., Peltier, J.-P. (1991). L'arganier. Essai de synthèse des connaissances sur cet arbre, *Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi arides*. John Libbey Eurotext, Paris, Francia., 373-388.
  115. Nouaim, R. (1994). *Ecologie microbienne des sols d'arganeraies (S-W marocain) : Activité microbiologique des sols et rôle des endomycorhizes dans la croissance et la nutrition de l'arganier*. Thèse d'état, Agadir : Université Ibn Zohr., 193p.
  116. Nouaim, R., Mangin, G., Breuil, M. C., & Chaussod, R. (2002). The argan tree (*Argania spinosa*) in Morocco: Propagation by seeds, cuttings and in-vitro techniques. *Agroforestry systems*, 54, 71-81.
  117. Ochette, C. (2005). *Growth, quality and biotechnology*.
  118. OKUMURA, T. (1999). Retention indices of environmental chemicals on methyl silicone capillary column, *J. Env. Chem. (Japan)* 1(2), 333-358.
  119. Ouallal I., Hmouni D., Zidane L., ElYacoubi H., Abbas Y et Rochdi A., 2013. *Gemination In Vivo de l'arganier (Argania Spinosa L. Skeels) : effets de l'écotype, la température de l'eau d'imbibition et le type de substrat*. Actes du 2<sup>ème</sup> congrès international de l'arganier : 205- 208pp
  120. Ould Mohamedou, M.M.; Zouirech, K.; EL Messal, M.; EL Kebbaj, 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. *Inter. J. Endocrinol.*
  121. Öztürk, M.; Duru, M.E.; Doğan, B.; Harmandar, M. (2013). Fatty Acid Composition, Antioxidant, Anticholinesterase and Tyrosinase Inhibitory Activities of Four *Serratula* Species from Anatolia, *Rec. Nat. Prod.* 7(2), 86-95.
  122. Paolini, J. ; Muselli, A.; Bernardini, A.-F.; Bighelli, A.; Casanova, J.; Costa, J. (2007). Thymol derivatives from essential oil of *Doronicum corsicum* L. *Flavour Fragr. J.* 22, 479- 487.
  123. Peng, C.T. (2000). Prediction of retention indices: V. Influence of electronic effects and column polarity on retention index. *J. Chromatogr. A.* 903, 117-143.
  124. Perk, A.A.; Shatynska-Mytsyk, I.; Gerçek, Y.C.; Boztaş, K.; Yazgan, M.; Fayyaz, S.;

- 
- Farooqi, A.A. (2014). Rutin mediated targeting of signaling machinery in cancer cells. *Cancer Cell Inter.* 14(1),1-5.
125. Pham-Huy, C.; Pham Huy, B. (2022). Free Radicals and Antioxidants. *Food Life style in Health and Disease.* 109–55.
126. Piccardi, M.; Congiu, D.; Squassina, A.; Manconi, F.; Putzu, P.F.; Mereu, R.M.; ...Del Zompo, M. (2007). Alzheimer's disease: Case-control association study of polymorphisms in ACHE, CHAT, and BCHE genes in a Sardinian sample. *Am J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 144(7), 895-899.
127. Pino, J.; Almora, K.; Marbot, R. (2003). Volatile components of papaya (*Carica papaya* L., maradol variety) fruit, *Flavour Fragr J.* 18, 492-496.
128. Pino, J.A.; Marbot, R. (2001). Volatile flavor constituents of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit, *J. Agric. Food Chem.* 49, 5880-5882.
129. Prathap, S., Rajesh, H., Vinitha, A. Bloor, Anupama, S. Rao. (2013). Extrinsic stains and management: A new insight. *Acad. Indus. Res.*1(8): 435-442.
130. Prendergast H.D.V,1991- conservation a long terme des semences de l'arganier. *Argania spinosa*,in colloque international « l'arganierrecherche et perspectives » Agadir(maroc),pp11-15,mars 1991.
131. Pumareda, L., Henry, F., Charrouf, Z., Pauly, G., & Falconnet, G. (2006). Valorisation des feuilles d'Arganier : impacto ambiental. *Bois & Forêts des Tropiques*, 287, 35-44.
132. Quezel, P.; Santa, S. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie: et des regions desertiques méridionales.*
133. Radi, N. (2003). *L'arganier : arbre du sud-ouest Marocain, en péril, à protéger (Doctoral dissertation).*
134. RAHMANI M. (2005). *Composition Chimique de L'huile d'argane Vierge. Cahier Agricultures.* 14 (5), 461-465.  
file:///C:/Users/Accro%20Informatique/Downloads/CIRADjournals,+2270%20(1).pdf
135. Rammal, H., Bouayed, J., Younos, C., & Soulimani, R. (2009). Notes ethnobotanique et phytopharmacologique d'*Argania spinosa* L. *Phytothérapie*, 7, 157-160.
136. Ramsey, J.D.; Lee, T.D.; Osselton, M.D.; Moffat, A.C. (1980). Gas-liquid chromatographic retention indices of 296 non-drug substances on SE-30 or OV-1 likely to be encountered in toxicological analyses. *J Chromatogr.* 184, 185-206.
137. Re, R. ; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.* 26(9-10), 1231-1237.
138. Richmond, R.; Pombo-Villar, E. (1997). Gas chromatography-mass spectrometry coupled with pseudo-Sadtler retention indices, for the identification of components in the essential oil of *Curcuma longa* L. *J. Chromatogr.A.* 760(2), 303–8.
139. Saadi, A., & Hamdani, F. Z. (2007). Régénération in vitro du *Scorpiurus muricatus* ssp.

- 
- subvillosus via la caulogenèse. BASE.
140. Sarni-Manchad, P., & Cheynier, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire, Éd Tec & Doc. Coll. Sci. & Techn. Agroaliment., Lavoisier, Paris.
  141. Sebaa, H. S., & Bokhari, H. (2021). Programmed cell death in *Argania spinosa* fruit endocarp development.
  142. Senatore, F.; Rigano, D.; DE Fusco, R.; Bruno, M. (2003). Volatile components of *Centaurea cineraria* L. subsp. *umbrosa* (Iacaita) Pign. and *Centaurea napifolia* L. (Asteraceae), two species growing wild in Sicily. *FlavourFragr. J.* 18, 248-251.
  143. Singh, U. K., & Kumar, B. (2017). Pathways of heavy metals contamination and associated human health risk in Ajay River basin, India. *Chemosphere*, 174, 183-199.
  144. Stussi, I., Henry, F., Moser, P., Danoux, L. O. U. I. S., Jeanmaire, C., Gillon, V., ... & Pauly, G. I. L. L. E. S. (2005). *Argania spinosa*— How ecological farming, fair trade and sustainability can drive the research for new cosmetic active ingredients. *Söfw-Journal*, 131, 46-58
  145. Tapas, A.R.; Sakarkar, D.M.; Kakde, R.B. (2008). Flavonoids as nutraceuticals: a review. *Trop. J. Pharma. Res.* 7(3), 1089-1099. 10.4314/tjpr.v7i3.14693
  146. Tel, G.; Ozturk, M.; Duru, M.E.; Turkoglu, A. (2015). Antioxidant and anticholinesterase activities of five wild mushroom species with total bioactive contents. *Pharm Biol.* 53(6), 824-830.
  147. Teng, H.; Chen, L. (2017).  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitors from seed oil: A review of liposoluble substance to treat diabetes. *Crit Rev. Food Sci. Nutr.* 57(16),3438-3448.
  148. Thewys B., Connaissances générales de l'arganier et participation aux possibilités de multiplication in vitro, Graduat en agronomie, travail de fin d'études, Inst. Sup. Indust. De l'État Huy-Gembloux-Verviers, Belgique, 1987, 60 p.
  149. Tokul-Olmez, O.; Kaplaner, E.; Ozturk, M.; Ullah, Z.; Duru, M.E. (2018). Fatty acid profile of four *Ganoderma* species collected from various host trees with chemometric approach. *Biochem. System Ecol.* 78, 91-97.
  150. Topal, M. (2020). Secondary metabolites of ethanol extracts of *Pinus sylvestris* cones from Eastern Anatolia and their antioxidant, cholinesterase and  $\alpha$ -glucosidase activities. *Rec. Nat. Prod.* 14(2), 129-138.
  151. Tressl, R.; Bahri, D.; Engel, K.H. (1982). Formation of eight-carbon and ten-carbon components in mushrooms (*Agaricus campestris*). *J. Agricul. Food Chem.* 30(1),89–93.
  152. Ullah, A.; Zeb, A.; Saqib, S.E.; Kächele, H. (2022). Landscape co-management and livelihood sustainability: lessons learned from the billion trees afforestation project in Pakistan. *Land Use Policy.* 115, 106034
  153. Van Quan, N.; Xuan, T.D.; Tran, H.D.; Ahmad, A.; Khanh, T.D.; DAT, T.D. (2019). Contribution of momilactones A and B to diabetes inhibitory potential of rice bran: Evidence from in vitro assays. *Saudi Pharma. J.* 27(5), 643-649.

- 
154. Yang, S.B.; Meng, Z.P.; Fan, J.; Yan, L.Y.; Yang, Y.Z.; Zhao, Z.Y. Evaluation of the volatile profiles in pulp of 85 apple cultivars (*Malus domestica*) by HS–SPME combined with GC–MS. *J. Food Meas. Charact.* 2021, 15, 4215–4225.
  155. Yasuhara, A.; Shiraishi, H.; Nishikawa, M.; Yamamoto, T.; Uehiro, T.; Nakasugi, O.; Okumura, T.; Kenmotsu, K.; Fukui, H.; Nagase, M.; Ono, Y.; Kawagoshi, Y.; Baba, K.; Noma, Y. (1997). Determination of organic components in leachates from hazardous waste disposal sites in Japan by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 774(1- 2), 321-332.
  156. Zahidi, A., & Bani-Aameur, F. (1997). Germination des amandes d'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels): effet du génotype, de la date de semis et de l'année de récolte. *Ann. Rech. For. Maroc*, 30, 2-16.
  157. Ziani, S. (2014). Multiplication de l'Arganier (*Arganiaspinosa* L. Skeels) par vitro semis, microbouturage, microgreffage, organogenèse et/ou embryogenèse somatique (Doctoral dissertation, SAADI A). Université Hassiba Ben Bouali Chlef Institut des Sciences Agronomiques
  158. Ziegenbein, H.P. Hanssen, W.A.Konig,(2006), 67, 202-211.
  159. Zimmer, N., & Cordesse, R. (1996). Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *INRAE Productions Animales*, 9(3), 167-179.
  160. Zryd, J. P., & Brettell, R. (1988). Culture of vegetables cells, tissues, and organs. Presses polytechniques romandes.
  161. Zunzunegui, M., Jáuregui, J., Ain-Lhout, F., Boutaled, S., Álvarez-Cansino, L., & Esquivias, M. (2013). Germination success and seedling development of *Argania spinosa* under different climatic conditions and browsing intensity. *Natural Product Communications*, 8(1), 1934578X1300800104.