République Tunisienne

Ministère de l'Agriculture

Institution de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur Agricoles



Ministère de l'Enseignement

Supérieur et de la Recherche Scientifique Université de Carthage

Institut National Agronomique de Tunisie

THÈSE DE DOCTORAT

en Sciences Agronomiques

(Spécialité : Génie Rural, Eaux et Forêts)

Titre : Suivi de la phénologie et caractéristion morpho-chimique comparés de quatre écotypes de *Ziziphus jujuba* (Miller) dans la station expérimentale de Rouhia (Tunisie) (semi-aride supérieur)



Présentée par

Meriem EL ALOUI-KEFI

Soutenue publiquement le : 18 avril 2013 devant le Jury d'examen composé de :
- Pr. Ali FERCHICHI : Président
- Pr. Brahim HASNAOUI : Directeur de Thèse
- Pr. Ali ALBOUCHI : Rapporteur
- Pr. Houcine SEBEI : Rapporteur
- Pr. Zouheir Nasr : Examinateur

- Dr. Abdelwehed Laamouri.....: Invité

Laboratoire des Ressources Sylvo-Pastorales de Tabarka

Dédicace

A la mémoire de mon père

 ${\cal A}$ mon cher mari Wannes, merci pour ta dévotion, tes encouragements, merci d'avoir confiance en ce que je suis.

A mon fils Youssef, qu'il me pardonne pour toute mon absence, qu'il trouve ici mon amour éternel.

A ma chère maman

Avec toute mon infinie reconnaissance

 ${\cal A}$ ma sœur Aïcha , merci pour tous ce que tu as fait pour moi, que Dieu te protège et te donne tous ce que tu espères.

 ${\mathcal A}$ ma sœur Nabila et mes frères qui m'ont toujours encouragés, aucun

mot ne peut exprimer mon amour et ma reconnaissance à leur égard.

A mon très cher neveu Oubaïd

 \mathcal{A} tous mes ami (e) s.

A tous ceux qui me sont cher (e)

Remerciements

e voudrais remercier tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à la

réalisation de mon travail :

Je tiens à remercier sincèrement le Professeur **Brahim HASNAOUI**, mon directeur de thèse, pour sa disponibilité, son soutien et son encadrement efficace, pour les nombreuses corrections et les bons conseils qui m'ont permis de m'améliorer. Je lui suis reconnaissante de

m'avoir fait confiance tout au long de ce travail.

Je tiens à remercier vivement Monsieur **Abdelwhed LAAMOURI**, Maître de recherche à l'INRGREF, qui a bien voulu co-encadrer cette thèse. C'est grâce à ses conseils, son encouragement inlassable et son appui humain que j'ai pu achever ce travail. Je suis très reconnaissante à tous ses soutiens aussi bien scientifiques que moraux.

Je remercie également Monsieur **Ali FERCHICHI**, Professeur à l'INAT, pour avoir bien voulu présider le jury de ma thèse.

Mes vifs remerciements s'adressent également à Monsieur **Ali ALBOUCHI**, Directeur de recherche à l'INRGREF et à Monsieur **Houcine SEBEI**, Maître de conférence à l'ESA Mograne, qui ont accepté d'évaluer ce travail et apporter les corrections jugées nécessaires. Leurs critiques très appréciables m'ont permis d'améliorer le manuscrit tant sur le plan forme que fond.

Je remercie également Monsieur **Zouheir NASR**, Maître de recherche à l'INRGREF, d'avoir accepté d'examiner et juger cette thèse.

Je tiens à remercier sincèrement Monsieur Gerard VILAREM, Ingénieur de Recherche à INPT, qui m'a accueilli chaleureusement au sein de son Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle de l'Ecole Nationale Supérieure des Ingénieurs en Arts Chimiques et Technologiques de Toulouse, en France, et m'a donné l'opportunité d'effectuer mes stage dans les meilleurs conditions. Ces stages n'auraient pas pu être réalisés sans l'encadrement de Celine MATHIEU et Muriel CERNY, Ingénieurs du même laboratoire. Je tiens à leur exprimer ma plus profonde gratitude pour m'avoir aidé dans la recherche bibliographique et l'achèvement des différentes analyses chimiques, malgré leur emploi du temps surchargé. Merci tout particulièrement pour vos soutiens scientifiques mais aussi humains.

Je tiens à remercier également Monsieur **Ahmed MILIKI**, responsable du laboratoire au Centre Biotechnologie de Borj Cedria de Tunis, qui m'a permis d'effectuer l'analyse des protéines.

Je remercie vivement **Dr. Hassan NAHDI** et **Dr. Jazia SRITI** de m'avoir aidés dans le traitement statistique des données.

Tout le long de ce travail, j'ai pu bénéficier de l'aide accordée par le Ministère d'Enseignement Supérieur de Tunis et du Laboratoire des Ressources Sylvo-Pastorales de Tabarka pour effectuer deux stages nécessaires à l'avancement de mes recherches. Je remercie leurs personnels infiniment.

Je remercie également Monsieur **Mohamed Néjib REJEB** l'ex-Directeur de l'INRGREF qui a mis à ma disposition les moyens de déplacement nécessaires pour effectuer des nombreuses sorties sur terrain.

A tous mes amis (es) qui par leur gentillesse ont su criée une excellence ambiance de travail et je m'adresse à Ghaith BOUZAIEN, Hager OTHMANI, Khaled MGUIS et Jean pierre KALALA.

J'exprime mes vifs remerciements à tous mes amis du LCA de Toulouse pour toute l'aide qui m'ont apporté et je m'adresse particulièrement à Jean-François FABRE, Sébastien HOLMIERE, Jazia SRITI, Anthony GUILLON, Christian NGAKEGNI LIMBILI, Veronica LICEA MORENO, Mamadou FAYE et Isabelle. Ils m'ont permis de découvrir certaines localités et certains aspects de la culture française ; je pense aux sorties de week end et aux visites à Paris, Bordeaux, Albi, etc.

Je ne saurai jamais oublier tous les chauffeurs et les techniciens qui m'ont accompagné lors de mes déplacements : FERJENI A., SOLTANI A., KRIFI R., DHAHRI M., HACHANA R., FEZZANI S., SALAH A., El MAY R., BEN ASSINE M., etc...

Je remercie également les techniciens et les ouvriers de la station expérimentale de Rouhia qui m'ont aidé à réaliser la récolte du matériel végétal et je m'adresse particulièrement à GTARI M^{ed} CH.

SOMMAIRE

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des photos	
Liste des chromatogrammes	
Liste des cartes	
ملخَّص	
Résumé	
Abstract	
Introduction générale	1
Première partie : Revue bibliographique	
1.1. Rappel sur les jujubiers	3
1.1. Rupper sur les jujuoiers	3
1.2. Présentation de l'espèce étudiée	3
1.2.1. Classification de <i>Z. jujuba</i>	3
1.2.2. Description botanique	3
1.2.3. Répartition géographique	7
1.2.4. Ecologie	8
1.3. Etude phénologique	9
1.3.1. Définition	9
1.3.2. Intérêt	9
1.3.3. Phénologie de <i>Z. jujuba</i>	10
1.4. Etude morphologique	11
1.4.1. Introduction	11
1.4.2. Morphologie de Z. jujuba	11
1.5. Composition chimique	13
1.5.1. Composition en protéines	13
1.5.2. Composition en lipides	15
1.5.2.1. Les acides gras	16

1.5.2.2. Les stérols et les triterpènes	17
1.5.2.3. Les tocophérols.	17
	18
1.5.4. Composition en éléments minéraux.	18
1.5.5. Les polyphénols.	19
	21
	21
	21
· ·	22
	22
ů ů	22
1.6.6. Utilisation des racines de <i>Z. jujuba</i>	22
Deuxième partie : Station d'étude, Matériel et méthodes	
Deuxienie partie : Station d'étude, Materiel et methodes	
2.1. Station d'étude	24
2.1.1. Conditions climatiques	
	26 26
	20 27
	28
2.3.1. Analysa du sol	
2.3.1.1. Prélèvements	28
	28
2.3.1.2. Analyses	28
2.3.2. Etude de la variabilité morphologique	29
2.3.2.1. Etude de la variabilité morphologique des structures végétatives	29
2.3.2.2. Etude de la variabilité morphologique des structures de	
production	31
2.3.3. Déroulement des cycles phénologiques de quatre écotypes de	
Z. jujuba	33
	33
232 Phasa raproductrica	33
2.3.4. Analyses biochimiques des organes de 7. jujuha	35
2.3.4.1 Echantillonnage	35
2242 Decree de V. E. Coat Manageland Abada de calcination	36

2.3.4.3. Dosage de la matière azotée totale (MAT) par la méthode de	
Kjeldhal	36
2.3.4.4. Dosage et analyse des protéines.	37
2.3.4.5. Analyse des Acides aminés.	39
2.3.4.5.1. Préparation des Etalons	39
2.3.4.5.2. Préparation des échantillons	39
2.3.4.5.3. Méthode d'analyse	
2.3.4.6. Analyse des composants pariétaux (NDF, ADF et lignine)	40 41
2.3.4.7. Extraction et analyse des composés lipidiques par la méthode	
CPG	43
2.3.4.7.1. Extraction	43
2.3.4.7.2. Analyses	46
2.3.4.8. Analyse des composés phénoliques par la méthode HPLC	47
2.3.4.8.1. Extraction	47
2.3.4.8.2. Dosage des polyphénols totaux	47
2.3.4.8.3. Identification des composés phénoliques	48
2.3.4.9. Analyse des sucres par la méthode HPLC	50
2.3.5. Analyse statistique	51
Troisième partie : Résultats et discussions	
3.1. Caractérisation morphologique	53
3.1.1. Caractérisation dendrométrique	53
3.1.2. Caractérisation des rameaux.	54
3.1.3. Caractérisation des feuilles	54
3.1.4. Caractérisation des fruits	57

3.2. Déroulement des cycles phénologiques	62
3.2.1. Ecotype Sfax	62
3.2.2. Ecotype Mahres	65
3.2.3. Ecotype Choutrana.	66
3.2.4. Ecotype Mahdia	66
3.3. Caractérisation chimique des organes	72
3.3.1. Compositions en matières grasses	72
3.3.1.1. Composition en acides gras libres	72
3.3.1.1.1. Acides gras des graines	72
3.3.1.1.1. Rendement d'extraction	72
3.3.1.1.2. Profil des acides gras	73
3.3.1.1.2. Acides gras de la pulpe	76
3.3.1.1.2.1. Rendement d'extraction.	76
3.3.1.1.2.2. Profil des acides gras	77
3.3.1.1.3. Acides gras des feuilles	80
3.3.1.1.3.1. Rendement d'extraction	80
3.3.1.1.3.2. Profil des acides gras	81
3.3.1.2. Composition en tocophérols (Vitamine E)	85
3.3.1.3. Composition en stérols	87
3.3.1.3.1. Stérols des graines	88
3.3.1.3.2. Stérols des pulpes	90
3.3.1.3.3. Stérols des feuilles	92
3.3.1.4. Composition en alcools triterpéniques et méthylstérols	95
3.3.1.4.1. Alcools triterpéniques de <i>Z. jujuba</i>	95
3.3.1.4.2. Méthylstérols de <i>Z. jujuba</i>	96
3.3.2. Composés phénoliques	98
3.3.2.1. Dosage des composés phénoliques	98
3.3.2.2. Identification des composés phénoliques	101

3.3.3. Composition en sucres et rendement d'extraction	109
3.3.3.1. Profil des sucres	110
3.3.3.1.1. Dans les feuilles	111
3.3.3.1.2. Dans les pulpes	111
3.3.3.1.3. Dans les graines	112
3.3.4. Analyses des protéines	113
3.3.4.1. Rendement d'extraction	113
3.3.4.2. Profils des acides aminés	115
3.3.4.2.1. Acides aminés des pulpes	115
3.3.4.2.2. Acides aminés des feuilles	117
3.3.4.2.3. Acides aminés des graines	119
3.3.5. Caractérisation minérale de <i>Z. jujuba</i>	
3.3.6. Analyse ADF/NDF	122 124
3.3.6.1. Dans la pulpe	124
3.3.6.2. Dans les feuilles	125
3.3.6.3. Dans les graines	126
Conclusion générale	128
Références bibliographiques	130
Annexes	141

Liste des abréviations

°C : Degré Celsius

Fig. : Figure

g : gramme

mg: milligramme

Kg: kilogramme

Kcal: kilocalorie

L: litre

mL: millilitre

 μL : microlitre

m : mètre

mm : millimètre

cm : centimètre

μm : micromètre

min: minute

mM: millimolaire

M : molaire

MS: matière sèche

Pa: pascale

V: volume

NaOH : Hydroxyde de sodium

N: Normale

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales caractéristiques morphologiques des différents organes de Z. jujuba	
(Miller) selon Edward et al. (1994).	9
Tableau 2 : Les données écologiques relatives aux trois espèces de Ziziphus (Azam-Ali et al.,	
2006)	9
Tableau 3 : Les différentes phases phénologiques	10
Tableau 4: Caractéristiques de quelques espèces de <i>Ziziphus</i> selon les auteurs (Azam-Ali et al., 2006) ¹ et (Laamouri, 2009) ²	12
Tableau 5 : Compositions des graines de Z. jujuba en acides aminés (Li et al., 2007)	14
Tableau 6 : Compositions de quelques espèces végétales en acides gras	16
Tableau 7: Compositions en acides gras dans les graines (Zhao et al. 2006) et les pulpes de Z.	
jujuba (Gusakova et al. 1999)	17
Tableau 8: Teneurs moyennes en sucres solubles et en amidon (mg/g MS) des fruits de trois	
espèces de jujubiers étudiées (Laamouri, 2009)	18
Tableau 9: Composition de la jujube en certains éléments minéraux selon Ansari et al.	
(2004)	19
Tableau 10: Compositions chimiques des organes végétaux de Z. jujuba	20
Tableau 11: Composition en polyphénols des feuilles et des pulpes de Z. jujuba (San et al.	
2010)	21
Tableau 12 : Caractérisation écologique des stations d'origine des quatre éctypes de Z. jujuba	
étudiés	25
Tableau 13 : Résultat des analyses des échantillons du sol de la station expérimentale de	
Rouhia	27
Tableau 14: Différentes étapes de la phase végétative de des quatre écotypes Z. jujuba	
étudiés	33
	33
Tableau 15 : Suivi de la floraison des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés	34
Tableau 16 : Conditions d'analyse des tocophérols des graines de Z. jujuba	
étudiés	47
Tableau 17 : Paramètres morphologiques liés aux jeunes arbres des quatre écotypes de Z.	
jujuba étudiés (n = 3, moy ± ET)	53

Tableau 18: Paramètres morphologiques liés aux rameaux des quatre écotypes de Z. jujuba	
étudiés (n = 3, moy \pm ET)	54
Tableau 19: Paramètres morphologiques liés aux feuilles des quatre écotypes de Z. jujuba	
étudiés (n = 3, moy \pm ET)	55
Tableau 20 : Différents paramètres morphologiques mesurés sur les noyaux des quatre	
écotypes de Z . $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	61
Tableau 21 : Suivi de la phénologie des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés	63
Tableau 22 : Effectifs moyens des feuilles des 50 rameaux étudiés en fonction du temps au cours de l'année 2008.	68
Tableau 23 : Effectifs moyens des feuilles des 50 rameaux étudiés en fonction du temps au	00
cours de l'année 2009	68
Tableau 24 : Effectifs moyens des feuilles des 50 rameaux étudiés en fonction du temps au	00
cours de l'année 2010	69
Tableau 25 : Effectifs moyens des fleurs des 50 rameaux étudiés en fonction du temps au	
cours de l'année 2008	70
Tableau 26: Effectifs moyens des fleurs des 50 branches étudiées en fonction du temps au	
cours de 2009	70
Tableau 27 : Effectifs moyens des fleurs des 50 rameaux étudiés en fonction du temps au	
cours de 2010.	71
Tableau 28 : Distribution de la composition en acides gras (%) de la fraction lipidique des	
graines des quatre écotypes de Z . $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	74
Tableau 29 : Distribution de la composition en acides gras de la fraction lipidique des pulpes	
de Z. $jujuba$ étudiés. (n = 3, moy \pm ET)	79
Tableau 30 : Distribution de la composition en acides gras de la fraction lipidique des feuilles	
de Z. $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	83
Tableau 31: Composition tocophérolique (mg/100g huile) dans les graines des quatre	
écotypes de Z . $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	86
Tableau 32: Stérols des graines de Z . $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	88
Tableau 33: Stérols des pulpes de Z . $jujuba$ étudiés ($n = 3 \text{ moy} \pm ET$)	91
Tableau 34: Les stérols des feuilles de Z . $jujuba$ étudiées (n = 3, moy \pm ET)	93

Tableau 35 : Méthylstérols présents dans les graines de Z. jujuba étudiés (n =3, moy ±	
ET)	97
Tableau 36: Méthylstérols présents dans les feuilles de Z . $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	97
Tableau 37: Méthylstérols présents dans les pulpes de Z . $jujuba$ étudiés ($n = 3$, moy \pm ET)	98
Tableau 38 : Programme «publi_053bis3» appliqué aux standards et aux trois organes de	
jujuba étudiés.	102
Tableau 39: Composition des graines de Z. jujuba étudiés en rutine	107
Tableau 40 : Composition en sucres (mg/L) des feuilles des quatre écotypes de Z. jujuba	
étudiés	111
Tableau 41 : Teneurs en sucres (mg/L) des pulpes des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n	
$= 3$, moy \pm ET)	112
Tableau 42 : Teneurs en sucres (mg/L) des graines des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés(n	
$= 3$, moy \pm ET)	113
Tableau 43 : Teneurs moyennes (en % de la matière sèche) des principaux éléments minéraux	
des feuilles des quatre écotypes de Z . $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	122
Tableau 44 : Teneurs moyennes (en % de la matière sèche) des principaux éléments minéraux	
des pulpes des quatre écotypes étudiés (n = 3, moy \pm ET).	123
Tableau 45 : Répartition des composés pariétaux (celluloses, hémicelluloses et lignines) dans	
les pulpe des quatre écotypes de Z . $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	125
Tableau 46: Répartition des composés pariétaux (celluloses, hémicelluloses et lignines) dans	
les feuilles de Z . $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	126
Tableau 47: Répartition des composés pariétaux (celluloses, hémicelluloses et lignines) dans	
les graines de Z . $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	127

Liste des figures

Figure 1: Classification des lipides selon El Atyky (2007)	15
Figure 2 : Dispositif expérimental des individus de Z. jujuba répartis aléatoirement	
dans la station expérimentale de Rouhia.	28
Figure 3 : Différentes analyses chimiques effectuées sur les organes de Z. jujuba	20
	35
Figure 4: Principe des différentes attaques ADF/NDF réalisées dans Tecator Fibertec	33
	41
Figure 5 : Protocole d'analyse des tocophérols présents dans les différents organes de	
-	45
Figure 6 : Différents paramètres morphologiques mesurés sur les fruits des quatre	7.5
	60
	60
Figure 7 : Evolution avec le temps du nombre de feuilles par écotype (n= 3; moy \pm	
ET)	64
Figure 8 : Evolution avec le temps du nombre de fleurs par écotype (n= 3; moy \pm	
ET)	65
Figure 9 : Rendement d'extraction des huiles des graines des quatre écotypes de Z.	
jujuba étudiés (n = 3, moy ± ET)	73
Figure 10: Rendement d'extraction (%) des huiles de la pulpe des quatre écotypes de	
Z. $jujuba$ étudiés. (n = 3, moy \pm ET)	77
Figure 11: Rendements d'extraction des huiles issues des feuilles des quatre écotypes	
de Z. $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	81
Figure 12 : Bilan de la composition des différents organes de Z. jujuba en Acides	
Gras (AG)	84
Figure 13 : Composition tocophérolique (en %) des huiles extraites des graines des	
quatre écotypes de Z. $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	87
Figure 14 : Bilan de la composition des différents organes de Z. jujuba en	
stérols	94
Figure 15 : Composition en squalène des graines, des feuilles et des pulpes des quatre	
écotypes de Z. $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	95

Figure 16 : Composition en méthylène cycloartanol des graines, des feuilles et des	
pulpes des quatre écotypes de Z . $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	96
Figure 17 : Variation du pourcentage des polyphénols en équivalent acide gallique	
dans les graines des quatre écotypes de Z zizyphus étudiés (n = 3, moy \pm ET)	99
Figure 18: Variation du pourcentage des polyphénols en équivalent acide gallique	
dans les pulpes des quatre écotypes de Z . $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	99
Figure 19 : Variation du pourcentage des polyphénols en équivalent acide gallique	
dans les feuilles des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés ($n = 3$, moy \pm ET)	100
Figure 20 : Courbe d'étalonnage de la rutine	105
Figure 21 : Taux de la rutine (mg/100g) dans les feuilles des quatre écotypes de Z.	
jujuba étudiés (n = 3, moy ± ET)	105
Figure 22 : Taux de la rutine (mg/100g) dans les pulpes des quatre écotypes de Z.	
jujuba étudiés (n = 3, moy ± ET)	106
Figure 23 : Rendement d'extraction (%) des sucres à partir des graines, des feuilles et	
des pulpes des quatre écotypes de Z . $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	109
Figure 24 : Teneurs en protéines (%) dans les feuilles, les graines et les pulpes des	
quatre écotypes de Z. $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	114
Figure 25 : Profil des acides aminés dans les pulpes des quatre écotypes de Z. jujuba	
étudiés (n = 3, moy \pm ET)	115
Figure 26 : Profil des acides aminés distribués dans les feuilles des quatre écotypes	
de Z. $jujuba$ étudiés (n = 3, moy \pm ET)	119
Figure 27 : Profil des acides aminés dans les graines des quatre écotypes de Z. jujuba	
étudiés (n = 3 moy \pm ET).	121

Liste des chromatogrammes

Chromatogramme 1 : Profil des acides gras dans les graines de Z. jujuba étudiés	75
Chromatogramme 2 : Profil des acides gras dans les pulpes de Z. jujuba étudiés	78
Chromatogramme 3 : Profil des acides gras dans les feuilles de Z. jujuba étudiés.	82
Chromatogramme 4 : Fraction tocophérolique des graines de Z. jujuba étudiés.	85
Chromatogramme 5 : Profil des stérols dans les graines de Z. jujuba étudiés.	90
Chromatogramme 6 : Profil des stérols dans les pulpes de Z. jujuba étudiés.	91
Chromatogramme 7 : Profil des stérols dans les feuilles de Z. jujuba étudiés	92
Chromatogramme 8 : Pics de la rutine injectés détectés par la chaine HPLC	103
Chromatogramme 9 : Pics détectés dans les extraits des feuilles (a) et des pulpes (b)	
de Z. jujuba injectés à la chaine HPLC	104
injectés à la chaîne HPLC	108
étudiés	110
Chromatogramme 12 : Profil des acides aminés (a) et en proline (b) des pulpes des	
quatre écotypes de Z. jujuba étudiés.	116
Chromatogramme 13 : Composition en proline (a) et en acides aminées (b) des	
feuilles de <i>Z. jujuba</i> étudiés	118
Chromatogramme 14 : Profil du proline (a) et des acides aminés (b) et des graines de	
Z. jujuba étudiés	120

Liste des cartes

Carte 1 : Répartition des stations mères de Z. jujuba (étoiles) sur une carte	
des bioclimats de la Tunisie (Laamouri, 2009)	24
Carte 2 : Carte de situation de notre station dans le Gouvernorat de	
Siliana	25

ملخُّص

تنتمي شجرة العنّاب إلى عائلة السّدريات وتتواجد ببعض الحدائق النّونسيّة و الجهات كالمهديّة، أريانة و صفاقس. يمكن أن يصل إرتفاع هذه الشّجرة إلى 10أمتارا و قطرها ما بين 50 و 60 صم، وتعتبر من بين الأشجار التي تستخدم في أغراض طبيّة و هي غنيّة بالزّيوت و البولييفينول والفيتامينات لا براز قيمة هذه الشجرة، التي عرفت تقهقرا كبيرا، إلتجأنا لتحليل مرفولوجي، فينولوجي و كميائي لأربع نماذج متأتية من المهدية، صفاقس ، شطرانة و المحرص إن دراسة المعلومات الفينويولوجيّة المرتبطة بالأوراق و الأزهار و النّمار تبيّن لنا وجود إختلاف بين مختلف النّماذج الأربعة المدروسة.

وقد مكَّنتنا الدّراسة المرفولوجيَّة من تقسيم هذه النَّماذج إلى:

مجموعة تتكوّن أساسا من الأشجار المتأتّية من شطرانة و هي الأكبر إرتفاع (1.48 م) و المعروفة بأوراقها الصّغيرة (2.7).

مجموعة تتكون أساسا من الأشجار المتأتية من صفاقس و هي متوسطة الارتفاع (1.21 م) و معروفة بأوراقها الكبيرة (5.8 صم 2)

إن الزيوت المستخلصة من بذور و ثمار و أوراق العنَّاب تتميَّز على التَّوالي:

√الحامض الاؤوليك بنسبة 46.55 % لدى البذور و 50.68 % لدى الثَّمار و 13.08 % لدى الأوراق.

◄"البتا ستوسترول" بنسب 214.32 مغ/100 غ لدى البذور و 10.65 مغ/100 غ لدى الثّمار و 40.36 مغ/100 غ
 لدى الأوراق.

و قد بينت التَّحاليل الكيمائية لمختلف النّماذج أن البذور هي الأعضاء الأكثر أهمَّية نظرا لاحتوائها على أوفر كميَّة من الفينول تتراوح بين 23.28 مغ/ل و 3.6 مغ/ل، بينما تحتوي الأوراق على أقل كميَّة من الفينول (2.3 مغ/ل و 3.6 مغ/ل)، في حين تتراوح هذه الكميَّة بين 10.43 مغ/ل و 15.85 مغ/ل في المغلال.

من ناحية اخرى ، باعتمادنا تتقنيّة HPLC ، تبين أنَّه و بحسب التَّركيبة البوليفينولية لمختلف النَّماذج المدروسة أنَّ الأوراق تتَّخر أكبر كميَّة من الرَّوتين (191.12 مغ/100 غ). أمّا الثَّمار فهي غنيّة بالسّكريات (كليكوز،

فركتوز،...) و الأملاح المعدنيّة (الحديد، الكلسيوم،...) و البروتينات (الحامض الاسبرتيكي، البرولين، المتيونين،...) . مما يجعلها مميزة على نطاق الاستهلاك والإستعمال في مجال الصّناعة الصّيدلية.

وقد بيّنت هذه المقارنة تميز الأشجار المتأتية من المهديّة عن بقية النّماذج المدروسة بما تدّخره من مواد كميائيّة . عموما أفضت النتائج المتحصّل عليها من إيجاد معلومات علمية و جدًّ مهمّة لثمرة العنَّاب الذي يمكن إعتمادها في غذائنا الصّحي.

Résumé

Z. jujuba ou «Anneb», espèce de la famille des Rhamnacées, se trouve dans quelques jardins tunisiens. Cet arbre fruitier de 10 m de hauteur et de 50 à 60 cm de diamètre du tronc, peut être utilisé comme source de substances naturelles (huiles végétales, polyphénols, vitamines, etc...). Dans le but de contribuer à une meilleure connaissance des conditions de régénération de Z. jujuba en Tunisie et afin de valoriser cette espèce menacée, une caractérisation phénologique, morphologique et chimique de quatre écotypes de Z. jujuba plantés dans la station expérimentale de Rouhia est abordée. Ces écotypes proviennent des régions de Sfax, Mahres, Mahdia et Choutrana. Ils sont respectivement désignés : 'ES', 'EH', 'EM' et 'EC'. Le suivi phénologique de la feuillaison, la floraison et la maturation des fruits montre un décalage entre les quatre écotypes étudiés. La caractérisation morphologique a permis de distinguer entre (i) des individus plus hauts (1,48 m) relevant de «EC», possédant des petites feuilles (2,7 cm²) et (ii) des individus moins hauts (1,21 m), avec des feuilles bien développées (5,8 cm²). L'huile extraite des graines, des pulpes et des feuilles de Z. jujuba est caractérisée respectivement par la dominance de l'acide oléique avec des taux respectifs de 46,55 %, 50,68 % et 13,08 % et du β-Sitostérol (214,32, 10,65 et 40,36 mg/ 100g). L'étude de la composition phénolique des quatre écotypes indique que les graines sont les meilleures sources de polyphénols dont la concentration varie de 23,28 mg/L à 31,14 mg/L et que les feuilles sont les organes les plus pauvres en polyphénols (2,3 et 3,6 mg/L). Les taux des polyphénols dans les pulpes de Z. jujuba varient de 10,43 mg/L à 15,85 mg/L. L'analyse par la méthode de la HPLC montre que la quasi-totalité de la rutine est stockée dans les feuilles de ES (191,12 mg/100g). La richesse des fruits de Z. jujuba en sucres (glucose, fructose,...) en éléments minéraux (fer, calcium,...), en protéines (méthionine, proline, acide aspartique,...) pourrait justifier sa consommation mais aussi son utilisation dans l'industrie pharmaceutique. La comparaison entre les écotypes étudiés démontre le meilleur comportement de EM. Les résultats obtenus soulignent l'importance de la préservation des ressources génétiques de Z. jujuba dont les fruits peuvent être exploités pour le développement des divers aliments et jouer un rôle important dans la nutrition humaine.

Abstract

Z. jujuba also known as "Anneb" belonging to the family Rhamnaceae, is present in private tunisian gardens: Mahdia, Ariana, Sfax.... This tree can reach 8 m or more in height and 50 to 60 cm of diameter. It is commonly used as a nutritional plant and produces oils, polyphenols, vitamins... The study of the phenological parameters related to leaves, flowers and fruits shows a great diversity between four Z. jujuba ecotypes [ecotype Sfax (ES), ecotype Mahdia (EM), ecotype Choutrana (EC) and ecotype Mahres (EH)] in order to know the optimal condition of regeneration of Ziziphus in Tunisa. The morphological study shows: (i) the first group includes EC characterized by the highest trees (1,48 m) and the smallest leaves (2,7 cm²) (ii) the second group include the lowest trees (1,21 m) and the largest leaves (5,8cm²). Oils extracted from seeds, pulps and leaves of Z. jujuba are especially respectively dominated by oleic acid with 46,55 %, 50,68 % et 13,08 % and β-Sitosterol (214,32, 10,65 et 40,36 mg/ 100g). The total phenol contents of the ecotypes studied lets us conclude that seeds are the richest organs of polyphenols (23,28 mg/L à 31,14 mg/L). The lowest amounts are showed in leaves (2,3 and 3,6 mg/L). The fruits total phenols contents range from 10,43 mg/L to 15,85 mg/L. The determination of rutin in Z. jujuba, studied by means of High Performance Liquid Chromatog-raphy (HPLC), shows that the highest amount are stoked in ES leaves (191,12 mg/100g) with the superiority of EM ecotype. The richness of Z. jujuba fruits of sugars (glucose, fructose,...), minerals (copper, calcium,...) and proteins, (methionine, proline, aspartic acid,...) justify its use in human nutrition and industrial pharmacy.

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis longtemps dans la médicine. En Tunisie, plus de 500 espèces sont connues comme plantes à vertus médicinales (Le Floc'h, 1983; Boukef, 1986). En effet, outre le fait qu'elles constituent des réserves fourragères, ils participent à la protection des sols contre l'érosion éolienne et hydrique. Ces espèces, à vertus médicinales, peuvent être utilisées comme source de substances naturelles (huiles végétales, polyphénols, vitamines, etc...). Ainsi la valorisation de ces plantes à des fins thérapeutiques, pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques a fait l'objet de plusieurs recherches. Parmi ces espèces, on peut citer, *Pistacias atlantica* (Desf.), *Crataegus azarolus* (L.), *Ceratonia siliqua* (L.), *Acacia tortilis* (Forsk.) etc...

Le genre Ziziphus, arbre médicinal menacé, est présent, en Tunisie, sous forme de trois espèces : Ziziphus lotus (L.) (Sedra), Ziziphus jujuba Miller (ex: Ziziphus zizyphus (L.)) (Anneb), et Ziziphus spina-christi (L.) (Nebga). Z. jujuba est l'espèce la plus connue par ses fruits ayant la grosseur d'une belle olive. C'est une espèce polyvalente : ses fruits, ses feuilles et ses racines présentent plusieurs intérêts sur le plan nutritif, cosmétique et médicinal.

Les graines de Z. jujuba présentent plusieurs applications immunitaires et cosmétiques et on en extrait des huiles à plusieurs activités industrielles et pharmaceutiques. Les feuilles, utilisées dans la tisane, sont connues comme régulatrices de l'activité du système nerveux central en diminuant l'anxiété, favorisant le sommeil et réduisant l'obésité (Azam-Ali, 2006). Malgré ces vertus industrielles, économiques et thérapeutiques, cette espèce, très rare, connaît une dégradation accrue à cause de l'impact des facteurs anthropozoogènes (surpâturage, arrachage en vue de changer la vocation des terrains, etc.). Elle est souvent ignorée voire oubliée. Elle est arrachée pour planter d'autres espèces encore plus connues. Ainsi sa répartition, en Tunisie, se limite à certains jardins privés de l'Ariana, Sfax et Mahdia... De plus, la multiplication par voie sexuée constitue un handicap devant l'introduction de cette espèce (Laamouri, 2009). Selon le même auteur, les fruits de Z. jujuba craignent plusieurs parasites dont le plus grave est la cératite surtout pendant les années de sécheresse. Certaines maladies entraînent la chute des jeunes fruits comme l'oïdium (Pareek, 2001) ou des feuilles, cas du mildiou, alors que les viroses déforment les rameaux. La période de la récolte ainsi que le mode du stockage des fruits des jujubiers constituent aussi l'un de grands problèmes. Les fruits des jujubiers sont abimés ou lésés lors de la récolte ou au cours du transport et ils seront vulnérables aux différents parasites et champignons.

Une amélioration des connaissances de la morphologie, la phénologie et la composition chimique de *Z. jujuba*, est nécessaire pour sa réintroduction et sa valorisation en Tunisie. Dans le présent travail, nous nous proposons d'atteindre cet objectif à travers une

comparaison de la phénologie et de l'analyse morpho-chimiques de quatre écotypes de *Z. jujuba* plantés dans les mêmes conditions (température, pluviométrie, type du sol...).

Notre travail est structuré en trois principales parties :

Dans une première partie, nous avons présenté une synthèse bibliographique se rapportant à la biologie, l'écologie et aux ennemis du «Anneb». Nous avons consacré la deuxième partie à la présentation du matériel végétal et des méthodes utilisées. Dans la troisième partie, nous avons exposé et discuté les résultats des différentes expérimentations :

- -Caractérisation morphologique,
- -Suivi phénologique,
- -Caractérisation chimique des différents organes de chacun des écotypes étudiés tout en insistant sur leurs valorisations médicinales et nutritionnelles.

Une conclusion générale termine ce travail.

Première partie : Revue bibliographique

Revue bibliographique

1.1 Rappel sur les jujubiers

Les jujubiers (Zizyphus spp.) appartiennent à la famille des Rhamnacées qui regroupe environ

86 espèces (Evreinoff, 1964), mais selon Bhansali (1975), le nombre d'espèces est de l'ordre

de 135 et il pourrait même atteindre 170 (Liu et al., 1995 : in Laamouri, 2009). Découvert en

1767, le nom de Ziziphus dérive de l'appellation Berbère «Zizoufou Zuzaifo» (Laamouri,

2009). Cette appellation est reliée à l'ancien nom Persique « Zizfum ou Zizafun», alors que

les grecs utilisent le mot «Ziziphon» (Kirkbride et al., 2006).

Ce genre regroupe plusieurs espèces comme Z. spina-christ (L.), Z. vulgaris (Mill.), Z. lotus

(L.), Z. mauritiana (Lam.). Parmi ces espèces, Z. mauritiania et Z. jujuba sont les plus connus

(San et al., 2009). Z. jujuba est l'espèce la plus populaire (Vines, 1960). En 1977, une

nouvelle nomination «Z. jujuba (Miller) a été adoptée. Elle est devenue de plus en plus

populaire pour ses vastes adaptations et ses multiples usages (Kirkbride et al., 2006).

1.2. Présentation de l'espèce étudiée

1.2.1. Classification de Z. jujuba

La classification de Z. jujuba n'est pas claire. En effet, plusieurs auteurs ont attribué les

mêmes noms à plusieurs espèces (Edward et al., 1994) et plusieurs synonymes ont été

accordés à Z. jujuba. Parmi ces appellations on cite : Z. sativa Gaertn, Z. vulgaris Lam., Z.

flexuosa Wall., Z. nitida Roxb., Z. sinensis Lam., Z. mairei Dode, Z. officinarum Med., Z.

chinensis D.C., Z. chinensis Watt. (Kirkbride et al., 2006: in Laamouri, 2009). Actuellement,

la classification adoptée est celle de Laamouri (2009) :

Embranchement: Spermatophytes.

Sous embranchement: Angiospermes.

Sous classe: Dicotylédone.

Ordre: Rhamnales

Famille: Rhamnacées.

Genre: Ziziphus.

Espèce: Ziziphus jujuba Miller.

1.2.2. Description botanique

Z. jujuba est un arbre ou arbuste épineux à croissance lente qui peut atteindre 10 m de hauteur

et 50 à 60 cm de diamètre du tronc (Mahajan, 2009). Il est à port arrondi, à ramure tortueuse,

3

à branches vertes épineuses et à écorce fissurée. Les branches présentent une croissance en zigzag. Les brindilles sont grêles, effilées et généralement épineuses. Il existe deux types d'épines associées en paires. Certaines sont longues de 2,5 cm. D'autres sont courtes et peuvent se recourber facilement (Mahajan, 2009).

Z. jujuba est une espèce à feuilles caduques glabres, dentées et ovales-lancéolées. Chaque feuilles, de 8 à 10 folioles, ayant une longueur de 2,5 cm à 5 cm et une largeur de 3 cm (Dinarvand et al., 2006).

Elles sont attachées aux rameaux par un pétiole de 2,5 cm. Leurs faces supérieures d'un vert vif sont brillantes et portent trois nervures qui convergent vers l'extrémité (Dawd et *al.*, 2003). Les rameaux fertiles de *Z. jujuba* fleurissent et donnent de petites fleurs actinomorphes, cymeuses vertes à jaunâtres et hermaphrodites à pollinisation anémogame (photo 1). Ces fleurs sont pentamères à androcée épipétale avec un disque intrastaminal plus ou moins développé (Azam-Ali et *al.*, 2006; Laamouri, 2009 et Mahajan, 2009).

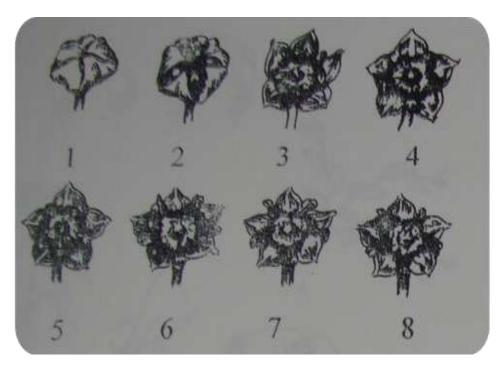


Photo 1: Fleurs de *Z. jujuba* (Miller) selon Mengjun (2006)

Le fruit de *Z. jujuba* appelé aussi «jujube» est une drupe ovale, charnue et consommable. D'abord verdâtre puis devient rouge noir et ridé à maturité, il présente la saveur et l'arôme d'une pomme (Mahajan, 2009). Il est ovoïde-oblong, de 1,5 à 2,3 cm de long avec un court pétiole et peut être pendant. Chaque fruit peut contenir une ou deux graines selon l'écotype (photo 2). Les noyaux, plus souvent détachables des pulpes, peuvent atteindre 1,05 cm de long (El Aloui et *al.*, 2010).

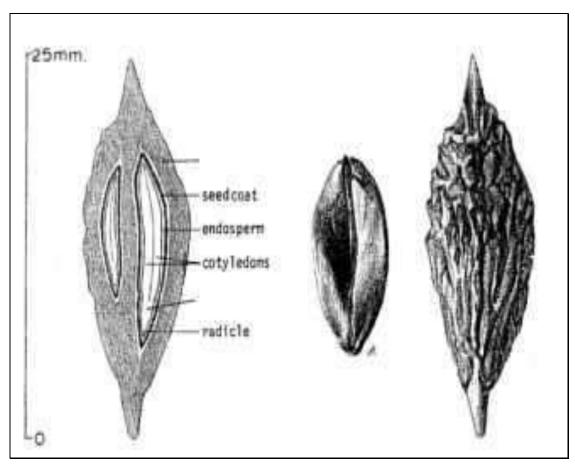


Photo 2: Graines de Z. jujuba (Miller.) selon Mengjun (2006)

Z. jujuba possède un système racinaire plus clairsemé que le pommier ou le pêcher (Mengjun, 2006). Une telle caractéristique lui confère l'aptitude de résister à la sécheresse (Zhang et al., 2010).

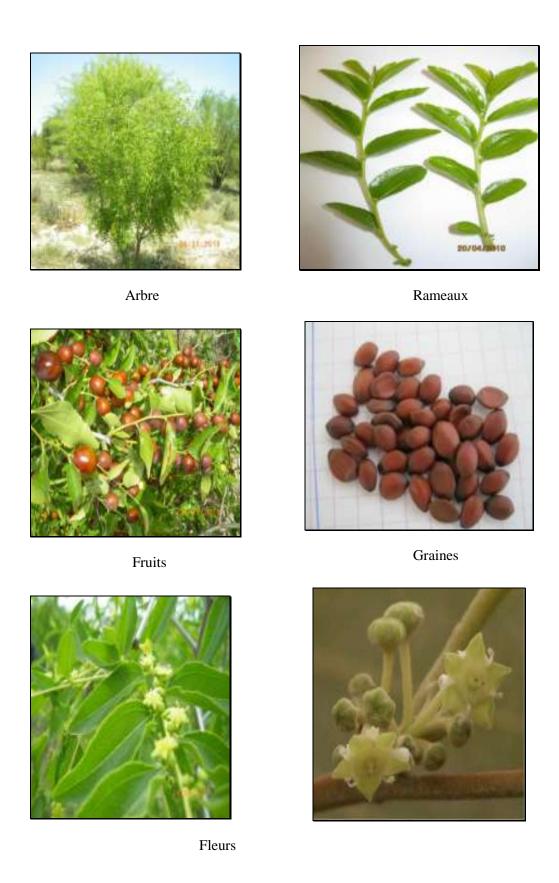


Photo 3 : Différentes parties de Z. jujuba (Miller) (Rouhia, 2010)

Edward et al., 1994 ont résumé les principales caractéristiques de Z. jujuba sur le tableau 1.

Tableau 1 : Principales caractéristiques morphologiques des différents organes de *Z. jujuba* (M.) selon Edward et *al.* (1994).

	Hauteur	5 à 10 m		
	Croissance	Irrégulière		
Arbres	Forme	Ovale, arrondie		
7110103	Tronc	Développement en longueur avec un, deux,		
		voire trois troncs.		
		Les épines se trouvent aussi bien au niveau		
	Epines	des branches que sur le tronc.		
	Arrangement	Alterné		
	Туре	Simple denté		
	Contour	Dentée		
Feuilles	Forme	Ovale-lancéolée		
	Type et persistance :	Caduque		
	Longueur	Inférieurs à 3,5 cm		
	Couleur	Verte		
	Couleur à la sénescence	Jaune		
Fleurs	Couleur	Jaune		
	Forme	Ovale à arrondie		
Fruits	Longueur	1,75 à 3,5 cm		
Tiulto	Couleur	Rouge noir		

1.2.3. Répartition géographique

Originaire de Chine (Li, 2006) avec 12 espèces (dont six sont endémiques), le genre *Ziziphus* est répandu dans tout le bassin méditerranéen. Les espèces de ce genre ont été introduites dans plus de 30 pays (Mengjun et *al.*, 2003a). Elles sont devenues de plus en plus répandues grâce à leurs capacités d'adaptation à des conditions écologiques variées (Liu et *al.*, 2003a).

Elles sont localisées dans des régions tropicales et subtropicales de l'Asie et de l'Amérique du Nord (Lui et Cheng, 1995). On en trouve quelques espèces en Afrique (Egypte, Maroc,

Sénégal et Tunisie) et en Australie (Huang et *al.*, 2008). Laamouri (2009) affirme que l'Afghanistan pourrait être considéré comme le pays d'origine de *Z. jujuba*.

En Tunisie, *Z. jujuba* se présente sous forme résiduelle dans certains jardins privés du Nord de la Tunisie jusqu'au Sud. Laamouri (2009) a dénombré 249 arbres de *Z. jujuba* répartis sur toute la Tunisie comme suit :

*Ariana: 30 arbres

*Choutrana: 60 arbres

*Manouba (principalement à Tebourba) : 10 arbres

*Dj. Abderrahmane: 6 arbres

*Menzel Bouzelfa: 6 arbres

*Menzel Temime: 10 arbres

*Hammem Sousse: 5 arbres

*Khniss (Monastir) : 5 arbres

*Sfax: 30 arbres

*El Mahres 5 arbres

*Gafsa: 10 arbres

*Tozeur: 4 arbres

*Kébili: 15 arbres

*Mahdia: 50

*Nefta: 3 arbres

1.2.4. Ecologie

Le genre *Ziziphus* est connu par sa tolérance à la sécheresse et sa grande résistance à la chaleur (Paroda et al., 1989). Il peut être rencontré dans des zones désertiques avec des précipitations très faibles (Jawanda et al., 1978). Kim et al. (1989) ont signalé que 42 % des explants peuvent se développer dans les plaines alluviales, 23 % dans les montagnes, 22 % dans les vallées et 13 % dans les collines.

Plusieurs travaux se sont intéressés à l'étude de l'écologie de *Z. jujuba*. Une comparaison entre les trois espèces de *Ziziphus* (*Z. mauritiana*, *Z. jujuba* et *Z. spina christi*) a été effectuée par Azam-Ali et *al.* (2006). Le tableau 2 résume cette comparaison et montre que *Z. jujuba* présente la plus vaste amplitude écologique. En effet, cette espèce est capable de se développer sur tout type de sol et elle est indifférente à la salinité modérée. En plus, elle peut supporter une large gamme de température.

Indifférente au sol, *Z. jujuba* peut se développer sur des altitudes pouvant atteindre les 1550 m (El Rhouat, 2002).

Tableau 2 : Les données écologiques relatives aux trois espèces de Ziziphus (Azam-Ali et al., 2006)

Espèce	Z. mauritiana	Z. jujuba	Z. spina christi
Latitude	30° N à 30°S	30° S à 51°N	0° à 20°N
Altitude (m)	Inférieure à 1500	Jusqu'à 2800	Inférieure à 1000
Climat	Climat chaud de plaine	Méditerranéen	Méditerranéen
Amplitude thermique	4°C à 12°C	-10°C à 20°C	-5 à 2°C
Type de sol	Aridisols	Alluvial	Sol pauvre et Aridisol
Salinité du sol	Indifférente à NaCl	Très tolérante	Peu tolérante

1.3. Etude phénologique

1.3.1. Définition

Le terme phénologie a été utilisé, pour la première fois, en 1735 par Réaumur. La phénologie est définie comme étant l'étude de l'influence du climat sur les phénomènes biologiques saisonniers observables à l'œil nu chez les végétaux (débourrement, feuillaison, floraison, fructification...). Ce terme, dérivé du mot grec *«phaino»* qui signifie *«montrer»* ou *«apparaître»*, caractérise ainsi la progression temporelle et spatiale de la réapparition des plantes afin de sélectionner les essences ou les provenances les mieux adaptées à un contexte climatique (Lebourgeois, 2002).

1.3.2. Intérêt

L'étude phénologique, souvent délaissée, enrichit la connaissance des cultivateurs. En effet, en précisant les dates exactes du débourrement des écotypes, on définit ainsi leurs réponses aux modifications climatiques et principalement à l'échauffement climatique. De tels changements peuvent se répercuter sur leurs cycles phénologiques. D'autre part, la phénologie constitue un outil pour le reboisement, dans la mesure où on doit choisir le moment opportun pour les provenances tardives qui craignent les gelées.

1.3.3. Phénologie de Z. jujuba

Les botanistes subdivisent la phénologie en deux principales phases : la phase végétative et la phase reproductrice (tableau 3).

Tableau 3: Les différentes phases phénologiques

	Phase végétative		Phase reproductrice	
Phases	Caractéristiques	Phases	Caractéristiques	
Débourrement	Gonflement puis épanouissement des bourgeons.	Floraison	Apparition puis épanouissement de nouvelles fleurs.	
Feuillaison	Appariation puis développement des feuilles jusqu'au stade adulte.]	Cette phase commence par la	
Défoliation (sénescence)	Virage de la coloration des feuilles du vert vers le jaune puis au marron et chute des feuilles. Cette phase marque la fin du cycle annuel de croissance et de fonctionnement des feuilles.	Fructification	nouaison puis l'augmentation en taille et en volume des fruits et s'achève par la maturation des fruits.	

Les phases phénologiques de *Z. jujuba* varient selon l'année, l'emplacement et l'écotype. En comparaison avec d'autres arbres fruitiers, cette espèce commence sa croissance plus tard au printemps. Elle débourre au mois de mars (Laamouri, 2009). La feuillaison a lieu au cours du mois d'avril. La chute des feuilles commence au début de l'automne (Mengjun, 2006 et Laamouri, 2009).

La floraison s'étend du mois de mai au mois de juin et se prolonge jusqu'au mois de juillet. La fructification commence à partir du mois de juillet et les fruits arrivent à maturité aux mois d'août-septembre et même jusqu'au début octobre, dépendant des régions (El Rhouat, 2002).

La dormance hivernale commence par la chute des feuilles à la fin du mois d'octobre (Grice, 1998). Elle se poursuit jusqu'à la fin du mois de janvier (Kim et *al.*, 1982a). En Espagne, la récolte des fruits commence au mois de septembre. En Inde, la maturation des fruits commence entre les mois de février et d'avril (Bakhshi et *al.*, 1974).

1.4. Etude morphologique

1.4.1. Introduction

Les scientifiques subdivisent les paramètres morphologiques en deux principaux groupes : les paramètres végétatifs et les paramètres reproducteurs (Yann, 2009).

*Paramètres végétatifs

Ces paramètres intéressent essentiellement la description de l'arbre (longueur, hauteur et diamètre), des rameaux (longueur, nombre des nœuds...), des feuilles (longueur, largeur, surface foliaire, longueur du pétiole...), des épines (nombre, position...)

*Paramètres reproducteurs

Les paramètres reproducteurs intéressent principalement la morphologie des fleurs, des fruits (longueur, largeur), des gousses, des graines...

1.4.2. Morphologie de Z. jujuba

Ziziphus (sp.) a fait l'objet de plusieurs études morphologiques. Parmi les espèces étudiées, on cite Z. lotus, Z. jujuba, Z. mauritiana, Z. spina-christi etc... Les résultats sont résumés sur le tableau 4.

Tableau 4 : Caractéristiques de quelques espèces de *Ziziphus* selon les auteurs (Azam-Ali et *al.*, 2006) 1 et (Laamouri, 2009) 2

	Z. jujuba	Z. mauritiana	Z. spina christi	Z. lotus
Arbre	*(l'arbre peut atteindre de 8 à 10 m de hauteur) 1 *(2 tiges principales de \$\phi 1 = 0,21 m et \$\phi 1 = 0,18m\$ respectivement à 1,30 m) 2	*(Peut atteindre de 10 à 16 m et rarement 20 m) ¹	*(C'est un arbre de 10 à 15 m de hauteur.) ¹	*(Cet arbre pousse jusqu'à 1,5 m de hauteur.) 1 *(Cet arbre se développe sous forme de touffes buissonnantes. Chaque touffe comprend plusieurs rejets.) 2
Feuilles	*(Les feuilles crénelées-dentées à 3 nervures dont la longueur est de 2,5 à 5 cm Les pétioles sont 2,5-7,5 cm de long.) 1. *(les Feuilles sont de 5 cm de long. et 2 cm de largeur avec 3 nervures principales) 2.	*(Z. mauritiana présente des feuilles de 3 à 8 cm de long et de 1,5 à 6,5 cm de large) 1.	*(Ayant une forme ovales-lancéolées ou ovales-elliptiques, ces feuilles sont de 2 à 8 cm de long et de 2 à 3 cm de large) 1. *(les Feuilles sont épineuses, composées de 5 à 6 folioles dentées, -foliole à 3 nervures principales) 2.	Chaque feuille a une longueur de 0,5 à 1,2 cm et une largeur de 0,4 à 1 cm) *(Les feuilles portent 3 nervures principales sur le côté supérieur, presque parallèles, saillantes) ² .

Fruits	*(Le fruit est une drupe ovoïde- oblongue comestible de 1,5 à 2,3 cm de long, brun rougeâtre à noir) 1. *(Fruits arrondis, à moyen calibre) 2.	*(Le fruit est une drupe ovale qui peut atteindre jusqu'à 1,5 cm du diamètre) ¹	*(Le fruit est une drupe de 2 cm long et de 1 cm de large.) ¹ *(Les fruits sont des drupes, à noyaux plus ou moins rugueux, ayant 1 à 3 graines, de 10 mm du diamètre	*(Le fruit est une drupe qui peut atteindre 1 cm du diamètre) ¹ .
	calibre) ² .		diamètre environ) ² .	

1.5. Compositions chimiques

Les fruits de *Z. jujuba* constituent les parties les plus suivies et étudiées (Pareek, 2001). Plusieurs études ont affirmé sa richesse en alcaloïdes, en flavonoïdes, en stérols, en tanins et en saponines triterpénoïdes (Ikram et *al.*, 1981; Nawwar et *al.*, 1984).

Les jujubes sont très demandés dans les repas chinois (Shen et *al.*, 2009). Ainsi les analyses chimiques (des lipides, des protéines, des sucres, des éléments minéraux, etc.) effectuées sur les feuilles, les épines et les fruits (Su et *al.*, 2002; Han et *al.*, 1986) montrent que les fruits contiennent 80,86 à 85 % de carbohydrates; 0,57 % à 2,79 % de fibres solubles; 5,24 % à 7,18 % de fibres insolubles; 192 à 359 mg/100 de vitamine C; 0,04 à 0,08/100 mg de thiamine et 0,05 à 0,09 mg/100 mg de riboflavine (Li et *al.*, 2007).

1.5.1. Composition en protéines

Le taux des protéines solubles varie de 25,40 à 56,98 mg / g de matière fraiche dans les feuilles de *Z. mauritiana*. Alors que ce taux n'est qu'entre 9,37et 26,90 mg /g de matière fraiche dans les fruits de la même espèce (Sudhir et *al.*, 1999).

Les fruits de *Z. jujuba* contiennent 0,46 % de protéines soit une quantité double que chez ceux de *Z. lotus* (0,19 %) (Laamouri, 2009).

Les graines de *Z. jujuba* contiennent de 4,75 à 6,86 % de protéines. Les données résumées par Li et *al.* (2007) ont montré une grande diversité en acides aminés dont la thréonine constitue l'acide aminé majoritaire avec un taux qui tourne autour de 31 mol (%) (tableau 5).

Tableau 5 : Compositions des graines de Z. jujuba en acides aminés (Li et al., 2007)

Compositions (mol %)
4,23
2,87
6,38
0,55
10,02
3,46
1,51
2,55
5,52
4,42
0,50
2,82
3,56
15,49
30,98
1,59
3,55

1.5.2. Composition en lipides

Les lipides sont généralement présents dans tous les tissus en tant que constituants de la membrane et s'accumulent dans les organes de stockage. Ces entités chimiquement inertes et non toxiques sont stockées sous forme de triglycérides (substance énergétique et mobilisable pour la cellule). En effet, 1 g de lipide fournit 9,3 kcal. De plus, ils entrent dans la composition de certains composés comme les phospholipides (responsables de l'élasticité et la viscosité de la membrane). Les graines du jujubier sont riches en lipides. Elles en contiennent de 0,37 % à 1,02 % (San et *al.*, 2010). L'analyse chimique des différentes parties de *Z. jujuba* a fait l'objet de plusieurs études via la composition des fruits, des feuilles et des graines en stérols, en acides gras et en triterpènes (Kim et *al.*, 1998, Lee et *al.*, 2003).

Selon leurs chaînes aliphatiques, les lipides sont classés en acides gras, stérols, triglycérides et tocophérols (fig. 1).

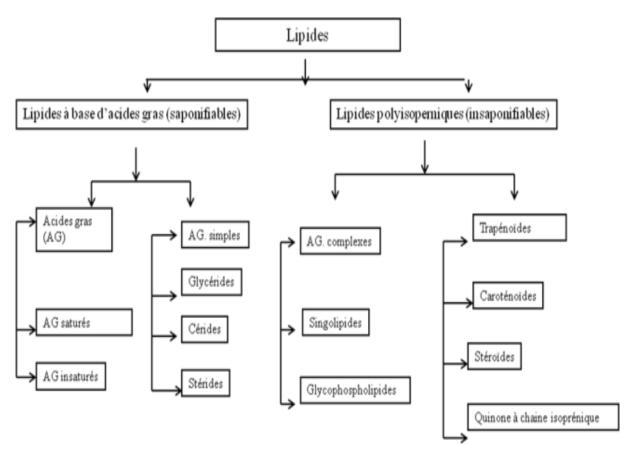


Fig. 1: Classification des lipides selon El Atyky (2007)

1.5.2.1. Les acides gras

Les acides gras sont des composés organiques présentant une fonction acide carboxylique à l'une de ses extrémités. On distingue des acides gras saturés et des acides gras insaturés (contenant une ou plusieurs doubles liaisons). La composition relative en acides gras des huiles diffère d'une espèce à une autre. Les huiles végétales sont principalement riches en acide oléique comme l'huile de colza et l'huile de palme. D'autres huiles comme l'huile de soja, de tournesol et d'arachide sont riches en acide linoléique. La composition de quelques espèces en acides gras est résumée dans le tableau 6.

Tableau 6 : Compositions de quelques espèces végétales en acides gras

Acides gras	Colza	Arachide	Tournesol	Soja	Olive	Argan
Myristique	0,1	nd	0,3	0,1	0,1	9
Palmitique	6,8	10	12,8	10,8	10,1	18,7
Palmitoléique	0,3	0,1	0,6	0,2	0,4	9,3
Oléique	1,3	4	3	3,6	2,4	3,5
Linoléique	23,3	19,1	54,3	54,3	10,4	1,5
Linolénique (oméga-6)	8,5	nd	7,5	7,5	0,9	1
Arachidique	0,3	2	0,2	0,2	nd	0,5

nd: non déterminé

Une étude faite sur les graines et les pulpes de *Z. jujuba* fait ressortir sept principaux acides gras. Le profil résumé dans le tableau 7 montre la prédominance de l'acide oléique dans les graines (Zhao et *al.*, 2006) et d'acide palmitoléique dans les pulpes (Gusakova et *al.*, 1999). D'autres études faites sur les graines de *Z. jujuba* tunisien, ont signalé que les taux des acides gras insaturés varient de 40,4 % à 44,4 % (El Aloui et *al.*, 2012).

Tableau 7 : Compositions en acides gras dans les graines (Zhao et *al.*, 2006) et les pulpes de *Z. jujuba* (Gusakova et *al.*, 1999).

Acides gras	Graines (mg/g Ms)	Pulpes (%)
Acide stéarique	0,6 à 2,9	3,5
Acide myristique	0,13 à 0,7	0,4
Acide oléique	8,45 à 50,2	4,4
Acide palmitique	1,5 à 2,5	12,4
Acide palmitoléique	0,3 à 1,7	15,9
Acide arachidique	0,2 à 0,7	nd
Acide docosanoique	2,8 à 7,2	nd

nd: non déterminé

1.5.2.2. Les stérols et les triterpènes

Les stérols végétaux appelés aussi les phytostérols, fraction majoritaire des insaponifiables, tiennent une place primordiale dans la nutrition humaine (Brufau et al., 2008). En effet, ces composés, à faible teneur cytotoxique, agissent en diminuant le taux du cholestérol dans le sang (Hachicha et al., 2006). De plus, ils jouent plusieurs rôles sur le plan médicinal (anti6-inflammatoire, formation des hormones sexuelles (Smadi, 2007)). Parmi ces phytostérols, on cite le campestérol, le stigmastérol, le β -sitostérol, le Δ -5 avénastérol etc. En 2004, Drissa et al. ont signalé la présence des triterpènes et des stérols dans les feuilles de Z. mauritiana.

Les graines de *Z. jujuba* sont riches principalement en β -sitostérol, campestérol, stigmastérol et Δ -5 avenastérol. Cette composition est dominée par le β -sitosterol dont le taux est de 214,3 mg/100 g (EL Aloui et *al.*, 2012).

1.5.2.3. Les tocophérols

Les tocophérols ou vitamine E sont connus principalement pour leurs propriétés antioxydantes. Parmi ces entités, on cite l'alpha (α), le gamma (γ), le delta tocophérols (δ)... Ces composés, anticancéreux, sont utilisés à plusieurs fins médicinales et cosmétiques. Ils peuvent traiter les maladies cardiovasculaires et immunitaires (Daood et al., 1996).

San et *al.* (2010) ont détecté l'alpha-tocophérol à des taux de 0,04 à 0,07 mg/100 g MS dans les fruits de *Z. jujuba*.

1.5.3. Composition en sucres

La jujube est très demandée sur le marché chinois. En effet la pulpe consommable contient de 9,6 à 33 % de sucres (Pareek, 2001) dont 57,61 à 78 % sont des sucres réducteurs (Jawanda et *al.* 1980). Parmi ces sucres, on trouve le saccharose (5,6 %), le glucose (1,5 %), le fructose (2,1 %) (Singh et *al.*, 1983). Les fruits de *Z. jujuba* sont plus riches en sucres totaux (18 mg/g MS) que la pomme (12 à 13mg/g MS) et l'orange (15 mg/g MS) (Laamouri, 2009).

La composition en sucres solubles et en amidons de trois espèces de *Ziziphus* existants en Tunisie (*Z. jujuba*, *Z. spina-christi* et *Z. lotus*) est résumé dans le tableau 8.

Tableau 8: Teneurs moyennes en sucres solubles et en amidon (mg/g MS) des fruits de trois espèces de jujubiers étudiées (Laamouri, 2009).

Espèces	Teneur en Sucres solubles (mg/g MS)	Teneur en Amidon (mg/g MS)
Z. jujuba	18,3	5,6
Z. spina-christi	9,0	8,2
Z. lotus	24,8	6,5

1.5.4. Composition en éléments minéraux

Plusieurs intérêts sont accordés aux feuilles de *Z. jujuba*. En effet, du fait qu'elles soient appréciées par le bétail et qu'elles sont utilisées en médecine locale, une analyse relative à la valeur nutritive de cette espèce serait utile (Laamouri, 2009).

La pulpe de *Z. jujuba* est également riche en éléments minéraux essentiellement le potassium (K), le calcium (Ca), le magnésium (Mg), l'azote (N) et le fer (Fe). Cette idée a été confirmée par Laamouri (2009). Li et *al.* (2007) ont prouvé que cet organe contiennent 458 mg/100g de potassium, 118 mg/100g de calcium et 51,2 mg/100g de manganèse. En 2009, San et *al.* ont ajouté que 93 % de la fraction minérale est formée par l'azote, le potassium, le calcium et le magnésium (15,77 mg à 20,87 mg).

La jujube peut contenir également d'autres éléments minéraux comme le fer, le cuivre et le zinc. Ansari et *al.* (2004) ont résumé cette composition dans le tableau 9.

Tableau 9: Composition de la jujube en certains éléments minéraux selon Ansari et al. (2004)

Elément minéral	Concentration (µg/g de matière sèche)
Zn	7,5
Mn	67
Cu	146
Fe	384

1.5.5. Les polyphénols

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique. Ces molécules biologiquement actives (King et *al.*, 1999) jouent un rôle physiologique important essentiellement dans la maturation des fruits, la respiration, la photosynthèse et la protection contre certaines maladies (Bahorum, 1997; Cetkovic et *al.*, 2008).

Les polyphénols peuvent être classés en deux groupes (Sarni-Manchado et al., 2007):

*Les flavonoïdes: C'est le groupe le plus répandu constitué de deux noyaux benzéniques reliés par une chaine C₃. Ces composés présentent plusieurs intérêts thérapeutiques importants (antioxydant, anti-inflammatoire et anti-stressant) (Li et *al.*, 2007; San et *al.*, 2010).

*Les tanins : Ce sont des polymères naturels souvent utilisés pour le tannisage du cuir. En 1997, Malik et *al.* ont démontré que les feuilles de *Z. jujuba* ainsi que les épines contiennent du tanin avec des proportions de 6 % et de 10 à 15 % respectivement. Souvent rencontrée dans les feuilles, les fruits, les racines et les écorces, cette composition varie selon l'organe et l'écotype (tableau 10).

Tableau 10: Compositions chimiques des organes végétaux de Z. jujuba

Composés chimiques	Organes	Références
Flavonoïdes	feuilles et	San et al. (2010)
	fruits	
6feruloylspinosin, apigénine-6-C-β - D-	graines	Cheng et al. (2000)
glucopyranoside, spinosine, 6-		
feruloylisospinosine, isospinosine et		
isovitexine-2 - $O-\beta$ - D		
proanthocyanidine	écorces	Malik et <i>al</i> . (2002)

Plusieurs études ont été faites sur les différents organes de *Z. jujuba*. Ces études mettent en relief une large gamme de polyphénols comme la quercetine, la rutine, l'apéginine, etc. San et *al.* (2010) ont résumé cette composition dans le tableau 11.

Tableau 11 : Composition en polyphénols des feuilles et des pulpes de Z. jujuba (San et al., 2010).

Polyphénols	Quantité (mg/100g MS) dans les fruits	Quantité (mg/100g MS) dans les feuilles
Catéchine	1,41 à 3,04	2,46 à 3,74
Acide caféique	3,42 à 5,3	0,23 à 0,57
Quercétine	0,86 à 1, 05	nd
Rutine	269 à 367	0,88 à 3,60
Apigenin-7-glucoside	27 à 49,4	nd

D'autres auteurs comme He-Long et *al.* (2010) ont pu isoler quelques flavonoïdes à partir des graines de *Z. jujuba*. Ils ont prouvé aussi leurs rôles sédatif, cognitif et inhibiteur de la libération d'histamine.

1.6. Utilisations de Z. jujuba

Z. jujuba est une espèce polyvalente. Ses fruits, ses feuilles et ses racines présentent plusieurs intérêts sur le plan nutritif (Li et al., 2006). Ainsi sa demande en médecine et en industrie pharmaceutique ne cesse d'augmenter ce qui explique que la production de jujube a diminué en Chine dans les 10 dernières années (Li et al., 2006). Les fruits, les feuilles, les graines, les racines et les épines sont utilisés en médecine traditionnelle (Belford, 1994; Croueour et al., 2002; Abdel-Zaher et al., 2005 et Li et al., 2006).

1.6.1. Utilisations des graines de Z. jujuba

Les graines de *Z. jujuba*, sous forme de poudres, assurent la purification du sang et facilite la digestion (Tripathi et *al.*, 2001; Su et *al.*, 2002). Plusieurs études leur accordent d'autres activités (hypnotique, sédative, hypotensive et hypothermique). Elles peuvent aussi agir comme tranquillisantes des muscles (Goncharova et *al.*, 1990; Peng et *al.*, 2000 et Zhao et *al.*, 2006). De ces graines, on extrait des huiles à plusieurs activités industrielles et pharmaceutiques (Li et *al.*, 2006). En 2006, Zhao et *al.* ajoutent d'autres applications immunitaires et cosmétiques à ces organes qui peuvent être utilisés aussi dans le traitement des maladies des yeux (Oudhia, 2001-3).

1.6.2. Utilisations des fruits de Z. jujuba

Les fruits secs du jujubier sont fréquemment utilisés contre les maladies immunitaires et anti-infectieuses. Ils présentent plusieurs activités biologiques anti-microbiennes et anti-HIV (Guo et al., 2010). Ces jujubes sont aussi utilisés traditionnellement dans la pharmacopée pour ses propriétés antalgiques, anti-inflammatoires, broncho-dilatatrices et ils protègent contre les caries dentaires (Gusakova et al., 1999). Ils sont utilisés dans le traitement des maladies hépatiques (Yamaoka et al., 1996; Guo et al., 2010). Riche en vitamines (A, C et B complexe), la pulpe est souvent utilisée dans l'industrie pharmaceutique et entre dans la composition de nombreuses pâtes pectorales (El Raout, 2002). Elle contient des ingrédients actifs et diminue le taux du cholestérol (Mood et al., 2008).

En Chine comme en Corée, cet arbre fruitier produit une grande quantité de fruits délicieux qui sont recommandés pour le traitement des infections inflammatoires de la gorge, des voies respiratoires, des inflammations intestinales, urinaires ainsi que pour traiter la constipation (Zhao et *al.*, 2006). En 2001, Pareek a signalé que la pulpe est riche en certaines substances nutritives tel que les protéines, le phosphore, le calcium, le carotène, etc.

Les jujubiers tunisien offrent des graines dont le rapport des acides poly-insaturés/saturés (P/S) varie de 9,6 à 10,1 (EL Aloui et *al.*, 2012). Ce taux élevé (10/1) est capable de diminuer le taux du cholestérol dans le sang (Grundy, 1986; Clark et *al.*, 1997).

1.6.3. Utilisation des feuilles de Z. jujuba

Les feuilles de *Z. jujuba* peuvent être utilisées dans la préparation du thé sous forme d'infusion (Zhao et *al.*, 2008). Elles contiennent plusieurs alcaloïdes comme la coclaurine, l'isoboldine, la norisoboldine, l'asimilobine, l'iusiphine et l'iusirine. Ces substances ont été le point d'intérêt de plusieurs études (Erenmemisoglu et *al.*, 1995) qui ont montré l'utilisation des ces feuilles comme agent hypoglycémiant pour les diabétiques dans certaines régions de la Turquie. D'autres études ont prouvé les effets hypnotiques et sédatifs des feuilles, connues comme régulatrices de l'activité du système nerveux central en réduisant l'anxiété en favorisant le sommeil et en réduisant l'obésité (Azam-Ali, 2006).

1.6.4. Utilisation des fleurs de Z. jujuba

Outre le fait qu'elles présentent un nectar de bonne qualité (Zhao et *al.*, 2008), les fleurs de Z. jujuba peuvent traiter quelques maladies (Azam-Ali, 2006).

1.6.5. Utilisation du bois de Z. jujuba

Le jujubier produit un bois de bonne qualité très recherché pour l'ébénisterie. Il est commercialisé sous le nom d'acajou d'Afrique. Il est utilisé localement comme combustible et produit 4900 kcal Kg⁻¹ et un charbon de bonne qualité (Bouet, 1998 et Laamouri, 2009) Abdul-Galil et El Jissary (1991) ont signalé que les cendres du bois de jujubier soignent les piqûres de serpents.

1.6.6. Utilisation des racines de Z. jujuba

Z. jujuba est connu par ses racines trop développées lui conférant ainsi une résistance à la sécheresse. Plusieurs auteurs ont signalé l'intérêt médicinal et pharmaceutique de ces organes. En effet, outre leurs effets tonifiants, ces racines apaisent les maux de l'estomac et du foie. Elles sont utilisées comme décoction puis bues comme un thé. Elles sont aussi utilisées en médecine traditionnelle sous forme de poudres pour cicatriser les blessures (Laamouri, 2009).







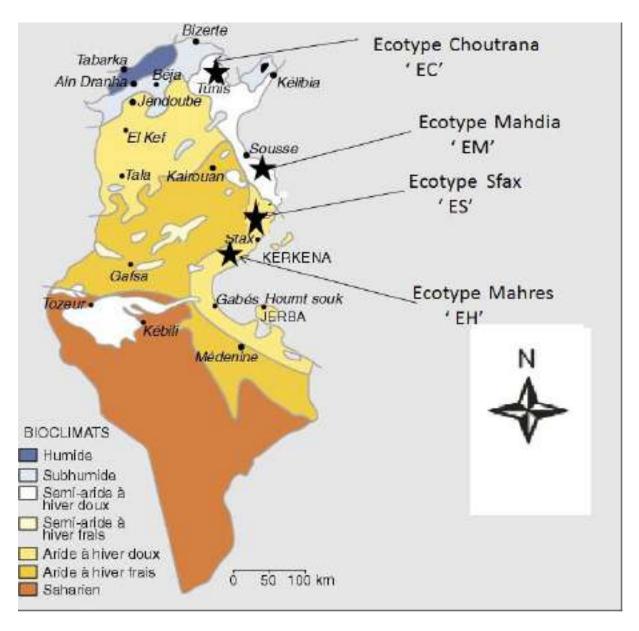


Photo 4: Quelques utilisations artisanales du bois de Z. jujuba (Schirarend, 1991).

Deuxième partie : Station d'étude, Matériel et méthodes

2.1. Station d'étude

Les individus sur lesquels a été effectuée l'expérimentation ont été collectés sur des pieds mères provenant de Sfax, Mahres, Mahdia et Choutrana (carte 1).



Carte 1 : Répartition des stations mères de *Z. jujuba* sur la carte des bioclimats de la Tunisie (Laamouri, 2009)

Les sujets ont été transportés sous forme de drageons à partir des stations d'origine vers la région Rouhia (située à 55 Km au Sud Ouest de la ville de Siliana (36° 18N 9°08 E). Ils ont été plantés dans la station expérimentale de Rouhia. Cette station, située à 2 km au Nord Est de la ville de Rouhia, occupe une superficie de 2 hectares. Elle est exposée au Sud avec une pente de 7% (carte 2).



¥

Emplacement de la station expérimentale (à 2 km au Nord Est de la ville de Rouhia) Carte 2 : Carte de situation de notre station dans le Gouvernorat de Siliana.

Les caractérisations écologiques des stations d'origine sont résumées dans le tableau 12.

Tableau 12 : Caractérisation écologique des stations d'origine des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés

	Sfax	Mahres	Choutrana	Mahdia
Type du sol	Sols sablonneux			
D' I'	A . 1 . C/			G : :1
Bioclimat	Aride infé	rieur	Semi aride	Semi aride
			supérieur	inférieur
Pluviométrie	100 < P <	200 40	00 < P< 500	300 > P> 200
Végétation	Dominée par les arbres fruitiers tels que l'olivier, le			
associée	figuier, le pêcher, le pommier et l'amandier.			

2.1.1. Conditions climatiques

Les données météorologiques de la station de Rouhia, la plus proche, permettent d'accorder à la station expérimentale un bioclimat semi-aride supérieur à hiver frais. Il est caractérisé par l'irrégularité des précipitations avec des pluies tombant surtout durant la période hivernale (janvier- février). La température maximale moyenne du mois le plus chaud (juillet- août) est de 33,4°C. Celle minimale du mois le plus froid (janvier) est de 4°C. Les caractéristiques climatiques de la station sont représentées en annexe 1.

2.1.2. Conditions édaphiques

La prospection du terrain et l'analyse granulométrique du sol au laboratoire de pédologie de l'INRGREF ont permis de caractériser le type du sol dominant dans cette station. Il s'agit d'un sol lourd récent d'apport alluvial présentant une bonne évolution.

L'observation de l'unique profil pédologique réalisé, dont les résultats figurent sur le tableau 13, montre essentiellement deux horizons bien différenciés représentés comme suit :

-0 à 20 cm : Horizon argilo-limoneux, couleur ocre, matrice fine avec absence totale de cailloutis.

-20 à 60 cm : Horizon assez argileux, couleur brune, matrice fine à structure massive.

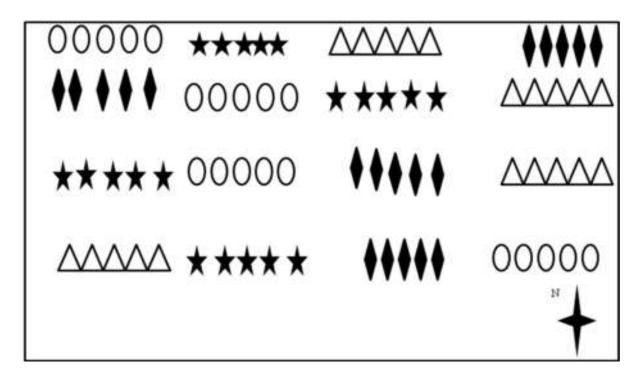
Le sol est alcalin avec un pH de 8,5 sa texture est essentiellement limono- argileuse. Les teneurs en calcaires total et actif sont assez élevés.

Tableau 13 : Résultat des analyses des échantillons du sol de la station expérimentale de Rouhia.

		P	Profondeurs
Cara	Caractéristiques		20 – 60 cm
	Argile (%)	33	35
Granulométrie	Limons fins (%)	44	32
	Limons grossiers (%)	5	11
	Sables fins (%)	12	15
	Sables grossiers (%)	2	5
pH		8,5	
Conductivité électrique (nmho/ cm)		2,4	1,4
Calcaire total (%)		47	51
Calcaire actif (%)		33	19
Matière organique (%)		1,7	1,3
Carbone (%)		0,8	1,3
K ₂ O assimilé/1000		0,5	0,25

2.2. Matériel végétal

Le matériel végétal est formé de quatre écotypes de *Z. jujuba* plantés dans la station expérimentale de Rouhia. Ces écotypes proviennent des régions de Sfax, Mahres, Mahdia et Choutrana. Ils sont respectivement désignés : 'ES', 'EH', 'EM' et 'EC'. Les arbres sont disposés en lignes (L1 à L4). Chaque ligne comprend 20 individus à raison de cinq individus par écotype (Fig. 2). Âgé de 5 ans, ces plantes sont transportées sous forme de drageons jusqu'à la station Rouhia. Ils sont irrigués régulièrement durant les trois premières années. A partir du quatrième an, l'irrigation n'est réalisée que pendant l'été pour récompenser les pertes.



◆EM : Mahdia △ EH : Mahres OES : Sfax

★EC : Choutrana

Fig. 2 : Dispositif expérimental des individus de *Z. jujuba* répartis aléatoirement dans la station expérimentale de Rouhia.

2.3. Méthodologie

2.3.1. Analyse du sol

2.3.1.1. Prélèvements

Dix-huit échantillons ont été prélevés systématiquement sur trois lignes parallèles orientées Nord-Sud (trois prélèvements en surface et trois à 10 cm de profondeur par ligne). Les prélèvements de chaque niveau ont été mélangés et homogénéisés pour en garder un seul échantillon à analyser.

2.3.1.2. Analyses

L'analyse du sol a concerné principalement les matières organiques et minérales, le pH, la conductivité électrique.

*matière organique : La matière organique est déterminée selon la méthode Anne (1945), par incinération d'un gramme de matière fine du sol à l'état sec dans un four à moufle durant cinq heures à une température de 550°C.

Elle est calculée selon la formule suivante :

$$MO = Qi - Qf$$

Avec Qi : la quantité initiale

Qf : la quantité finale

*pH: 50 g de terre fine à l'état sec ont été écrasés puis mélangés dans 125 ml d'eau distillée. La suspension obtenue est agitée pendant 2 heures à l'aide d'un agitateur magnétique. Après décantation pendant 24h, la mesure du pH du surnageant a été effectuée par un pH-mètre électronique.

2.3.2. Etude de la variabilité morphologique

Cette étude a été réalisée en 2008 et s'intéresse aussi bien pour les structures végétatives (arbre, rameau et feuille) que pour les structures reproductrices (pulpe, noyau et graine).

2.3.2.1. Etude de la variabilité morphologique des structures végétatives

*Arbre

Les paramètres dendrométriques étudiés pour tous les arbres de la station (photo 5) sont la hauteur et le diamètre du tronc (à 30 cm du sol (d_1) , au milieu (d_2) à l'extrémité (d_3)). Une règle a été utilisée pour mesurer la hauteur et un compas forestier pour les diamètres. Ces mesures ont été effectuées en plein débourrement (entre la mi-avril et la fin mai 2008).



Photo 5 : Arbre de Z. jujuba existant dans la station expérimentale de Rouhia.

*Rameaux

Dans le but d'évaluer la variabilité morphologique des quatre écotypes choisis, cinq rameaux ont été prélevés pour chaque individu en prenant en considération les quatre directions (nord, sud, est et ouest) et au milieu de la couronne afin d'homogénéiser le choix au sein d'un même arbre. Sur ces rameaux (photo 6), les trois diamètres (à la base (d_1) , au milieu (d_2) et à l'extrémité (d_3)) ainsi que la longueur ont été mesurés.



Photo 6 : Rameaux provenant des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés.

* Feuilles:

Deux feuilles de la partie médiane de chaque rameau ont été récoltées, soit 10 feuilles par individu. Elles ont été transportées dans des glacières au laboratoire de l'INRGREF. La description de la forme est déterminée selon la technique suivante : les feuilles (photo 7) sont collées sur un papier puis à l'aide d'un crayon, on trace leurs contours. Un pied à coulisse sert pour mesurer la longueur du pétiole et les dimensions des feuilles (longueur et largeur). La surface foliaire est traitée par un logiciel OPTIMAS 6 suite au scannage des feuilles.

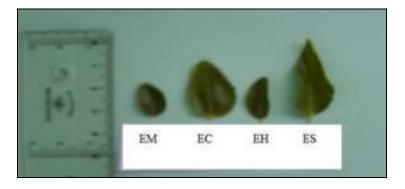


Photo 7 : Feuilles des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés.

2.3.2.2. Etude de la variabilité morphologique des structures de production

*Fruits

La description des critères organoleptiques (changement des couleurs, calibre des fruits...) a été déterminée par observation directe et par mesure à l'aide d'un pied à coulisse (photo 8). La description a été appliquée à un échantillon de 100 fruits par écotype (photo 9). Les noyaux ont été dépulpés, la longueur et la largeur des noyaux ont été mesurées (photo 10). Les graines (photo 11) ont été dégagées et comptées après cassage des noyaux.

Les descripteurs étudiés sont les suivants :

LMF: Longueur moyenne d'un fruit (en cm);

DMF: Diamètre moyen d'un fruit (en cm);

LMF/ DMF: Rapport longueur / diamètre d'un fruit;

LMN: Longueur moyenne d'un noyau (en cm);

DMN: diamètre moyen d'un noyau (en cm);

Nb.: Nombre des graines par 100 noyaux;





Photo 8: Mensurations des jujubes

Photo 9 : Récolte des jujubes mûrs



Photo 10 : Noyaux de jujubes



Photo 11 : Graines de jujubes.

2.3.3. Déroulement des cycles phénologiques des quatre écotypes de Z. jujuba

Nous nous proposons dans cette partie de préciser le déroulement temporel moyen du développement de chaque organe (feuilles, fleurs et fruits) en précisant la date exacte de son apparition, de son épanouissement et de son déclin. Les observations ont été menées régulièrement tous les 15 jours sur dix arbres par écotype et ont été poursuivies sur trois années : 2008, 2009 et 2010.

En s'inspirant des travaux de Le Floc'h (1969), nous avons pu caractériser les différentes phases du cycle phénologique des quatre écotypes étudiés. Ces phases ont été ensuite classées en stades végétatifs et stades reproducteurs.

2.3.3.1. Phase végétative

La phase végétative se caractérise par le gonflement, l'ouverture d'un bourgeon puis l'apparition des jeunes feuilles ou aiguilles. Cette phase s'achève par la sénescence (tableau 14).

Tableau 14: Différentes étapes de la phase végétative de Z. jujuba étudié.

Phase	1	2	3	4	5
Date					

- 1- Formation des bourgeons végétatifs (débourrement);
- 2- Apparition de la première feuille (feuillaison);
- 3- Déploiement complet des feuilles ;
- 4- Changement de couleur et sénescence ;
- 5- Chute des feuilles ;

2.3.3.2. Phase reproductrice

*La floraison

La floraison s'étend de l'apparition des bourgeons floraux jusqu'au flétrissement des fleurs. La période de la floraison est déterminée par des observations directes portant sur la fréquence et l'emplacement des fleurs au sein de l'arbre. Le suivi a lieu d'une façon périodique, soit une fois par quinzaine, et les caractères concernant la floraison de chaque écotype sont récapitulés sur le tableau 15.

Tableau 15 : Suivi de la floraison des quatre écotypes de Z jujuba étudiés

Ecotypes	Début de la	Pleine	Fin de la	Nombre de fleurs /
	floraison	floraison	floraison	pousse
EC				
EM				
ES				
EH				

EC: Choutrana; EM: Mahdia; ES: Sfax; EH: Mahres

Ces observations ont porté sur les critères d'évaluations quantitative et qualitative. Les données ont permis de dresser un calendrier de la floraison des quatre écotypes.

*La fructification

Cette phase commence par la nouaison (photo 12) puis le changement de couleur des fruits jusqu'à leur dissémination ou maturation.

Le nombre des fruits par écotype a été déterminé.

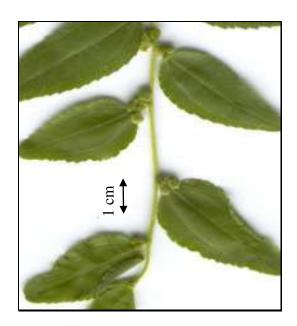




Photo 12 : Nouaison et épanouissement des fleurs de Z. jujuba.

2.3.4. Analyses biochimiques des organes de Z. jujuba

L'objectif de ce chapitre est de caractériser les principaux constituants des différents organes de chaque écotype de *Z. jujuba*. Cette étude a porté sur la distribution des principaux composants (matière sèche, matière minérale, matière azotée, protéine, huile, rutine, etc.) dans la graine, la pulpe et la feuille, et sur les caractéristiques de l'huile (composition en acides gras, stérols, tocophérols). Elle est réalisée durant les années 2009 et 2010.

2.3.4.1. Echantillonnage

Le matériel végétal (pulpes, feuilles et graines) est recueilli sur 8 arbres de chaque écotype de *Z. jujuba*. Le prélèvement des feuilles s'effectue en plein débourrement (entre la mi-mars et la fin mai). La récolte des fruits s'effectue durant la période allant de septembre à novembre. Chaque échantillon est ensuite placé dans une glacière, à une température d'environ 5°C afin de minimiser les modifications de leurs compositions chimiques. Ils sont transportés jusqu'au laboratoire de l'INRGREF. Après dépulpage des fruits puis concassage de la coque à l'aide d'un marteau, les graines ainsi dégagées sont stockées dans des piluliers jusqu'aux analyses chimiques (fig. 3). Les feuilles ainsi que les pulpes sont réparties en deux parties : une partie est séchée à l'air puis broyée et conservée dans des piluliers. La seconde partie est stockée dans des sachets numérotés selon les écotypes puis conservée au congélateur à -80 °C.

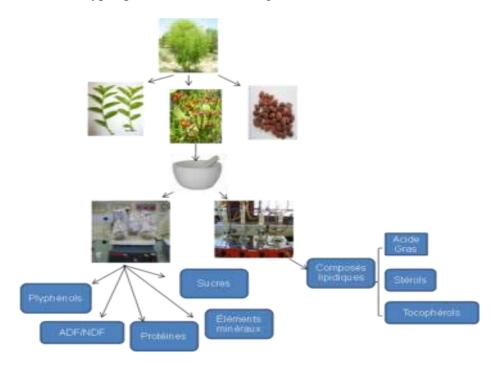


Fig. 3 : Différentes analyses chimiques effectuées sur les organes de Z. jujuba étudiés.

2.3.4.2. Dosage du K, Fe, Ca et Mg par la méthode de calcination

La composition minérale (K, Fe, Ca et Mg) est déterminée par la méthode de calcination. La matière végétale (0,5 g de poudre végétale) est calcinée au four à 550°C pendant 4 heures.

La cendre, déjà refroidie, est humectée avec quelques gouttes de H₂O distillée (3 mL). Elle a été additionnée de 10 mL d'acide chlorhydrique puis filtrée dans des fioles à jauge de 50 mL. La solution ainsi obtenue est stockée dans des flacons jusqu'au dosage. Les éléments minéraux ont été déterminés à l'aide d'un spectrophotométre à flamme (Genway, Modèle PSP7).

2.3.4.3. Dosage de la matière azotée totale (MAT) par la méthode de Kjeldhal

La teneur en protéines est déterminée par la méthode de Kjeldhal selon la norme Française NF V 18-100. Cette méthode consiste en la minéralisation de l'azote organique de l'échantillon traité en azote minéral (ammoniac) puis le dosage acido-basique de cet ammoniac.

La minéralisation de la prise d'essai (de 0,5 à 1,5 grammes de poudre végétale) est effectuée par l'acide sulfurique concentré (12,5 mL à 95 %) en présence de deux pastilles de catalyseur (CuSO₄). Menée à 400°C à l'aide d'un appareil Tecator Digestor 2020, cette réaction dure environ deux heures. Les produits de la réaction sont alors alcalinisés par une solution de soude (NaOH) à 40 % (voir bilan des réactions ci-apres).

Minéralisation avec l'acide sulfurique

CHON (protéine) +
$$H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_2SO_4 + H_2O + CO_2$$

Réaction d'alcalinisation par la soude

$$(NH_4)_2SO_4 + 2 NaOH \rightarrow 2 NH_3 + Na_2SO_4 + 2 H_2O$$

Après refroidissement, l'ammoniac produit est entraîné de façon automatique par distillation à la vapeur. Afin de déterminer la teneur en azote total de la matière organique, l'ammoniac est ensuite titrée par une solution d'acide chlorhydrique à 0,1 N. Le volume équivalent est obtenu quand la solution du distillat (contenu dans l'erlenmeyer) passe du bleu-vert au rose orangé. La teneur en azote total est obtenue par la formule suivante:

$$\%N = 100 \times \frac{(V_E - V_B) \times N \times Mn}{m \times \frac{MS}{100}}$$

%N: Teneur de l'azote

Mn: Masse molaire de l'azote (Mn = 14,007 g/mol);

N: Normalité (égale à 0,1 mol. L⁻¹);

VB : Volume utilisé de la solution d'acide chlorhydrique sur un échantillon blanc (en mL);

VE : Volume utilisé de la solution d'acide chlorhydrique (en mL);

m: Masse de la prise d'essai (en g);

MS: Teneur en matière sèche dans l'échantillon (en %);

2.3.4.4. Dosage et analyse des protéines

Les concentrations des protéines ont été déterminées par la lecture de la densité optique (DO) sur le spectro-colorimètre à une longueur d'onde de 595 nm, basée sur le réactif de Bradford (1976).

i. Extraction

Des poudres végétales (feuilles fraîches, fruits fraîs et graines) finement broyées au mortier ont été utilisées puis conservées dans le congélateur à -80°C. L'extraction se fait selon la méthode décrite par Hurkman et Tanatra (1986). Chaque échantillon est dissout par un bouillon appelé bouillon d'extraction Hurkman à base d'un tampon Tris-HCl 0,1M (pH 7,5) contenant du β -mercaptoéthanol (98 %) (Annexe 2).

Cette méthode consiste à introduire 1 mL du bouillon d'extraction Hurkman dans chaque tube de 50 mL contenant 1 g du matériel végétal gelé. Le tout est agité pendant 30 secondes jusqu'à la dissolution totale de la poudre végétale. Le mélange ainsi obtenu est conservé pendant 10 min à 4°C tout en agitant au fur et à mesure. Les broyats, additionnés de 10 mL du phénol-tris-saturé (pH 7,9) et agités, ont été centrifugés à 5000 g pendant 20min à 4°C et les surnageants phénoliques (7 mL) ont été récupérés. Un volume du bouillon d'extraction Hurkman (égal au volume du phénol prélevé) a été rajouté. Après une agitation durant 30 secondes, la solution obtenue est conservée à 4°C pendant une demi-heure en tournant toutes les 10min. Après centrifugation, on récupère la phase surnageante (5 mL du phénol) dans un troisième tube à laquelle on ajoute 5 volumes d'acétate-ammonium-méthanol congelé (soit 35 mL). Les solutions ainsi agitées pendant 30 secondes sont soumises à un repos de 3 à 12 heures à -20°C (en tournant

toutes les 10min). On jette le surnageant et on ajoute 5 mL d'acétate-ammonium-méthanol congelé (100mM) à chaque échantillon.

Cette dernière étape se répète deux fois tout en utilisant l'acétone congelée à la place de l'acétate-ammonium-méthanol (photo 13a). Le dernier lavage avec l'acétone se fait après transfert du résidu dans des tubes eppendorfs préalablement pesés (m₁). Les résidus protéiques sont séchés à l'air libre sous la hotte jusqu'à l'évaporation totale de l'acétone.

Le contenu des tubes eppendorfs est mis en suspension dans 2 ml du bouillon IEF Saravanan (100 μ l/mg). Après un repos de 2 heures à - 4°C tout en agitant au fur et à mesure, les échantillons sont conservés à -80°C jusqu'à l'utilisation.

Cette extraction aboutit à un résidu protéique qui présente un aspect poudreux de couleur blanche pour les graines et les feuilles (photo 13b) et un aspect pateux de couleur miel pour les fruits (photo 13c).



a





c

Photo 13 : Extraction (a) et suspension des protéines à partir des graines, des feuilles (b) et des pulpes (c) de *Z. jujuba* étudiés.

ii. Dosage

Le dosage des protéines a été effectué par la méthode de Bradford (1976) en présence d'une gamme étalon de sérum d'albumine bovine.

Préparation d'une gamme étalon

Pour tracer la courbe d'étalonnage, le sérum d'albumine bovine a été utilisé comme étalon. Des solutions du sérum albumine à différentes concentrations ont été préparées.

A chaque tube, 800 μL d'H₂O et 200 μL (1 mg/mL) du réactif de Bradford ont été ajoutés en mélangeant doucement. Avec les valeurs d'absorbance ainsi fournies, la courbe d'étalonnage de l'albumine a été tracée (annexe 3).

Préparation des échantillons

La quantité des protéines dans chaque échantillon a été déterminée en s'inspirant de la même démarche déjà décrite pour la préparation de la gamme étalon. On prélève 1 μ L de chaque échantillon auquel on ajoute 800 μ L d'H₂O et 200 μ L du réactif Bradford.

La lecture de la densité optique se fait après 15min d'incubation à l'obscurité.

Lecture de la densité optique (Do).

La lecture de la densité optique est déterminée à une longueur d'onde égale à 590 nm à l'aide d'un spectromètre UV-visible de type Varion. La même cuve a été utilisée pour la gamme étalon en commençant par la concentration la plus faible.

Le traçage de la courbe (annex 4) permet de quantifier les teneurs en protéines (exprimées mg/g) dans les différents échantillions.

2.3.4.5. Analyse des acides aminés

2.3.4.5.1. Préparation des Etalons

On peut utiliser un étalonnage interne, l'isoleucine ou norleucine ou un étalonnage externe avec une solution d'étalons.

Une solution de norleucine (étalon externe) avec de l'eau UHQ a été préparée de façon à ce que 1 mL de cette solution diluée à 25 mL contienne 5 nmol/20 µL.

2.3.4.5.2. Préparation des échantillons

On considère qu'il faut 10 mL d'acide chlorhydrique 5,7N pour 100 mg de protéines.

Sur un échantillon sec ou de matière sèche connue, on verse 10 mL d'acide. On fait buller de l'azote dans ce dernier avant de le fermer hermétiquement et le placer à l'étuve à 103°C.

On laisse l'ensemble s'hydrolyser pendant 24 heures. Une fois l'hydrolyse terminée, on peut:

- Soit sécher l'échantillon par évaporation rotative avant de le dissoudre dans le tampon pH 2,2.
- Soit sécher l'échantillon par lyophilisation avant de le dissoudre dans le tampon pH
 2,2.
- Soit le mettre directement à pH 2,2 avec de la soude 30 %.

On dilue ensuite l'échantillon à 25 mL en ajoutant (ou pas) 1 mL de la solution de Norleucine.

On filtre à 0,2µm avant de mettre la solution dans un vial.

2.3.4.5.3. Méthode d'analyse

L'analyse des acides aminés a été effectuée à l'aide d'un appareil biochrome 30 (photo 14) dans les conditions suivantes :

- *La pression est aux alentours de 0,3-0,4 Pa.
- *La colonne est à une pression de 40 à 70 bars.
- *La prewash column est désamorçable.
- *La température de la colonne va changer pendant le programme.
- *Boucle 500µL.

Après une séparation par force ionique, les acides aminés ont été détectés par révélation avec de la nihydrine qui se colore en violet à 440 nm pour la proline et à 570 nm pour les autres acides aminés.



Photo 14 : Utilisation de Biochrome 30 pour analyser les acides aminés des différents organes de Z. *jujuba* étudiés.

2.3.4.6. Analyse des composants pariétaux (NDF, ADF et lignine)

Les composants pariétaux ont été évalués par la méthode de Van Soest (1967) et Wine (1968) appelée encore dosage ADF/NDF. Le principe de cette attaque est résumé par la fig. 4.

Le NDF (Neutral Detergent Fiber) correspond à l'attaque de la matière première par la solution NDF (détergent à base d'EDTA) qui solubilise les contenus cellulaires non pariétaux (protéines, pectines...). Il en résulte la formation d'une fraction pariétale constituée d'hémicellulose (Hc), de lignine (L) et de cellulose (C).

L'ADF (Acid Detergent Fiber) ; détergent à base de CTAB et d'acide sulfurique dilué ; correspond à la première attaque du résidu obtenu par NDF avec un détergent acide. Il permet de solubiliser l'ensemble des composés non pariétaux ainsi que les hémicelluloses.

Cette hydrolyse donne un deuxième résidu constitué de cellulose et de lignine (L+C).

Ce résidu est attaqué par le permanganate de potassium (KMnO₄). Il en résulte la formation d'un «Detergent Lignin» qui correspond à la lignine (% L).

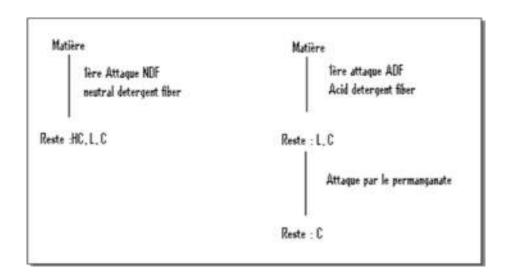
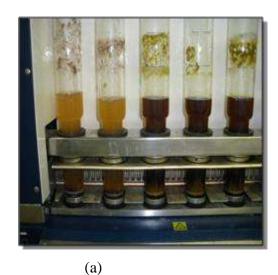


Fig. 4 : Principe des différentes attaques ADF/NDF réalisées dans Tecator Fibertec M1017 sur les différents organes de *Z. jujuba* étudiés.

Les dosages NDF et ADF marchent en paire et ont été réalisés par l'ajout de 100 mL de la solution ADF ou NDF. Après une heure à l'ébullition, les réactifs sont éliminés par aspiration et le résidu est abondamment rincé à l'eau bouillante jusqu'à la disparition de la mousse. Ils se réalisent par Fibertec System M – cold & Hot extractor dans des frittés spéciaux, de porosité 2 mm et prévus pour s'adapter sur un système Fibertec M1017. Ce dernier est équipé d'un dispositif de chauffage et de reflux (photo 15).



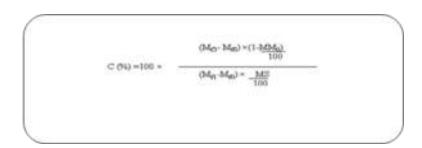


(b)

Photo15 : Dosages NDF et ADF marchant en paire et réalisés par Fibertec System M – cold (a) & Hot extractor (b).

En ce qui concerne l'attaque au permanganate de potassium, les frittés contenant les échantillons sont remplis de 25 mL d'un mélange d'une solution saturée de permanganate de potassium et d'une solution tampon (2V/V). Après une heure et trente minutes de contact et d'agitation, les réactifs sont éliminés par aspiration et le résidu est rincé d'abord à l'aide d'une solution déminéralisante jusqu'à l'obtention de fibres de couleur blanche, ensuite par deux lavages à l'éthanol et deux rinçages à l'acétone. Toutes les expériences ont été réalisées en double.

Les teneurs en celluloses, lignines et hémicelluloses sont déterminées après séchage des échantillons (déjà attaqués par ADF et NDF) à l'étuve à 103°C selon les formules suivantes :



Avec:

C: Teneur en celluloses par rapport à la matière sèche (%);

M_{f0}: Masse du fritté vide (g);

Mf1: Masse du fritté contenant l'échantillon (g);

M₆₃:Masse du fritté sec après l'attaque de la lignine au permanganate de potassium (g);

MS: Teneur en matière sèche de l'échantillon de départ (%);

MM₀: Teneur en matière minérale du résidu ADF (%);

$$L (\%) = 100 \times \frac{(M_{\Omega} - M_{\Omega})}{(M_{\Omega} - M_{\Omega}) \times \frac{MS}{100}}$$

L: Teneur en lignines par rapport à la matière sèche (%);

M_{f2}: Masse du fritté sec après la réaction ADF (g) ;

$$(M_{\Omega}, M_{\Omega}) \times \underbrace{\frac{(MS)}{100}} \times (M_{\Omega}, M_{\Omega}) \times \underbrace{\frac{(MM_{\Omega} + C + L)}{100}}_{100}$$

$$HC (\%) = 100 \times \underbrace{\frac{(M_{\Omega}, M_{\Omega})}{100}}_{(M_{\Omega}, M_{\Omega})} \times \underbrace{\frac{(MS)}{100}}_{100}$$

HC: Teneur en hémicelluloses par rapport à la matière sèche de l'échantillon (%);

MM_n: Teneur en matière minérale du résidu NDF (%);

2.3.4.7. Extraction et analyse des composés lipidiques par la méthode CPG

Pour quantifier les différents composés lipidiques présents dans les tissus végétaux (feuilles, fruits et graines) de *Z. jujuba*, nous avons recours à l'analyse par CPG selon la norme NF ISO 5508. Ces analyses ont été traitées au laboratoire de Chimie Agro-industrielle à l'E.N.S.I.A.C.E.T (Ecole Nationale Supérieure des Ingénieurs en Arts Chimiques et Technologiques) de Toulouse.

2.3.4.7.1. Extraction

Tous les solvants utilisés dans ces analyses et dans les analyses suivantes sur les stérols et tocophérols (tert-butyl-méthyl-éther (TBME), cyclohexane, KOH; N-méthyl-N-trimethylethylsilyl-heptafluorobutyramide (MSHFBA)); ont été achetés chez Sigma Aldrich (Steinheim, Allemagne).

Extraction des acides gras

La poudre végétale de *Ziziphus* (de 8 à 10 g) dont la taille des particules est de l'ordre de 1mm a été disposée dans une cartouche cellulosique. Cette dernière a été extraite selon la norme NF ISO 734-1 par un extracteur du type Soxhlet équipé à sa base d'un ballon de 250 mL dans lequel nous avons introduit 120 mL de cyclohexane (photo 16). L'extraction dure au minimum six heures. L'extrait a été concentré sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif à 60°C. L'huile extraite a été stockée à l'obscurité à -4°C jusqu'à l'analyse qualitative et quantitative. Toutes les expériences ont été réalisées en double. Le rendement d'extraction est calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = 100_{x} \frac{(M_{x2} - M_{e1}) \times Vt}{V \times M_{ech}}$$

R: Rendement d'extraction;

M_{c1}: Masse initiale du creuset à vide (g);

M_{c2}: Masse finale du creuset contenant l'extrait lipidique (g);

M_{ech}: Masse de l'échantillon contenue dans la cartouche (g);

Vt : Volume total de l'extrait égal à 50 mL;

V : Volume prélevé égal à 5 mL;

Extractions des stérols

Un mélange a été préparé par addition de 100 mg de dihydrocholestérol (étalon interne dissous dans le chloroforme) à 140 mg d'huile et additionné à 3 mL d'une solution de KOH (1 mL/L dans l'éthanol). Après chauffage du mélange à 75°C pendant 30min, 1 mL d'eau et 6 mL de cyclohexane ont été ajoutés. Pour silylation, 160 μ L de la phase organique contenant l'échantillon a été ajouté à 40 μ L de réactif de silylation (1 mL de N-méthyl-N-triméthylsilylheptafluorobutyramide (MSHFBA) mélangé avec 50 μ L de 1-méthylimidazole) et chauffé pendant 5 min à 103°C avant l'analyse par GC.



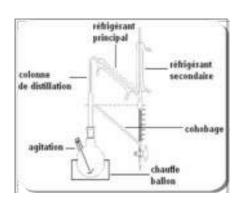
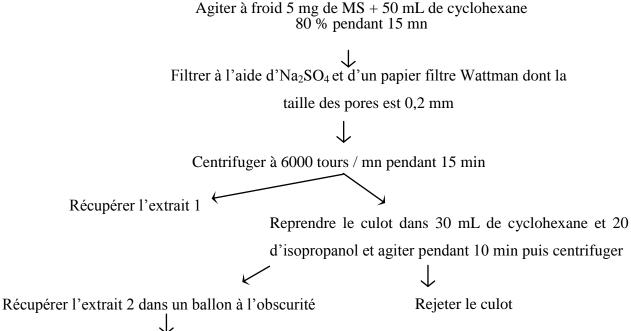


Photo 16: Extraction des acides gras des différents organes de *Z. jujuba* étudiés au Soxhlet (à 60°C) en utilisant le cyclohexane comme solvant organique (équipement du laboratoire de l'ENSIACET, Toulouse).

Extraction des tocophérols

Les tocophérols dans les différents organes sont analysés selon le protocole suivant :



Concentrer les extraits (1 et 2) à l'aide d'un évaporateur rotatif à 35°C

Sécher les solvants résiduels avec l'azote et conserver l'extrait concentré dans le réfrigérateur jusqu'aux analyses,

Fig. 5 : Protocole d'analyse des tocophérols présents dans les différents organes de *Z. jujuba* existants dans la station expérimentale de Rouhia.

2.3.4.7.2. Analyses

Analyse des acides gras

Pour les analyses des acides gras (AG), 20 mg d'huile ont été stabilisés avec 1 mL de TBME (Tert Butyl Ether Méthylique). Puis, les AG ont été dérivés sous la forme de leurs esters méthyliques correspondants (EMAG) par l'adjonction de 50 μL TMSH (Triméthyl Sulfonium Hydroxyde à 0,5 M dans le méthanol). Les analyses ont été effectuées sur CPG Varian, équipée d'une colonne en silice fondue (longueur 50 m, diamètre intérieur 0,25 mm et épaisseur du film 0,25 μm) de type CB –select WCOT FAME. L'injection est du type split 1:100 à 250°C. La température est de 185°C pendant 40 min, puis monte jusqu'à 250°C à raison de 15°C / min pendant 10 min. Le temps d'analyse est de 55 min. Le détecteur est de type FID. Le gaz vecteur est l'hélium (H_e) avec un débit de 1 mL min⁻¹.

Analyse des stérols

L'analyse des stérols a été effectuée par chromatographie gazeuse en utilisant un Détecteur à Ionisation de Flamme (FID) équipé par un chromatographe du type Perkin Elmer (Waltham, MA, USA). Une colonne capillaire du type CP-SIL 8 CB (30 m; 0,25 mm; 0,25 μm) a été utilisée. Le chromatographe a été programmé comme suit : dans un premier temps à 160 ° C pendant 0,5 mn, puis avec des augmentations successives à 260 ° C, puis 300 °C, puis 350 °C à raison de 20 ° C min⁻¹, 2 ° C min⁻¹ et 45 ° C min⁻¹ respectivement. Le gaz vecteur est l'Hélium avec un débit de 1 ml min⁻¹. Le détecteur est à 360 ° C. Le volume d'injection est de 1 μL. Les acides gras ont été identifiés selon leurs temps de rétention en se référant à des standards purs qui ont été injectés dans les mêmes conditions.

Analyse des tocophérols

On pèse environ 10 mg d'huile dans un vial auxquels on ajoute exactement 1 mL de cyclohexane. Cette solution a été injectée sur une chaine HPLC Dionex de type P680. Les caractéristiques de l'appareil sont résumées dans le tableau 16 :

Tableau 16 : Conditions d'analyse des tocophérols des différents organes de Z. jujuba étudiés.

Composants	Caractéristiques
colonne	Kromasil 100SIL 5 μ (250*4 mm)
éluant	Isooctane 99,5 et Isopropanol 0,5 %
débit	1,1 mL/min
détecteur	Fluorimètre : 290 nm et 317 nm

2.3.4.8. Analyse des composés phénoliques par la méthode HPLC

2.3.4.8.1. Extraction:

Un mélange a été préparé par addition de 2,5 mg de pulpe (fraîche), ou de poudre végétale (feuilles ou graines) dans un Erlenmeyer contenant 25 mL de la solution d'extraction acétone-eau (80 : 20). Après une macération, la solution contenant les polyphénols est filtrée. On applique ensuite une deuxième extraction identique sur le culot. Les surnageants totaux sont récupérés avant d'être concentrés sous flux d'azote.

2.3.4.8.2. Dosage des polyphénols totaux

Principe

Le dosage des polyphénols totaux pour chaque organe (feuilles, fruits et graines) a été effectué en s'inspirant de la méthode de Folin Ciocalteu Montreau (1972). Ce dosage repose sur le réactif de Folin Ciocalteu (de couleur jaune). C'est un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Au cours de cette réaction, il y a oxydation des phénols et réduction du réactif de Folin Ciocalteu. Il en résulte la formation d'un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène (Ribereau, 1968) dont l'intensité de la couleur augmente proportionnellement avec le taux des polyphénols présents dans nos extraits (Ghazi et Sahraoui, 2005).

Méthode

On prépare, à partir d'une solution d'acide gallique (2 g / L), les dilutions pour la gamme étalon de 0 mg / L à 100 mg / L.

Le dosage comporte les six étapes suivantes :

- 1) Verser 0,5 mL du réactif de Folin Ciocalteu (coloration verte) dans un tube à essai,
- 2) Ajouter 1 mL d'extrait à doser ou de la solution étalon,
- 3) Ajouter 7,5 mL d'eau distillée et mélanger,
- 4) Ajouter, après 3 min, 1 mL d'une solution de Na₂CO₃ anhydre à 20 % (coloration bleue),
- 5) Mélanger et chauffer les tubes dans le bain-marie pendant 10 min à 70 °C,
- 6) Laisser refroidir dans l'eau froide jusqu'à température ambiante,

Le dosage et la lecture ont été réalisés en triplicata à l'aide d'un spectrophotomètre à UV visible à double faisceau de type SHIMADZU UV-1800.

2.3.4.8.3. Identification des composés phénoliques

Programme

Les composés phénoliques (solutés) ont été analysés à une longueur d'onde égale à 278 nm. Les solvants d'élution choisis (phase mobile) correspondent à 3 % (dans l'eau) d'acide acétique (A) et 100 % de méthanol (B). Les échantillons ont été extraits selon le gradient commençant par 20 % en B pendant 10min comme condition initiale. Puis on augmente la concentration de cet éluant (B) de 60 % pendant 28 min, à 80 % en B pendant 7 min et à 95 % en B pendant 3 min. En fin d'élution, le taux de méthanol est maintenu à 95 % pendant 1 min pour stabiliser la colonne. Les standards ont été injectés d'abord et ensuite les échantillons, avec un débit d'élution de 0,8 mL / min.

Un rinçage de la colonne avec le méthanol entre deux injections successives a été effectué.

Le HPLC fonctionne selon un principe bien déterminé. En effet, les solutés à séparer, ainsi mise dans le solvant, sont induits dans la phase mobile. Elles interagissent avec les absorbants dans la colonne chromatographique.

Poussé par une pompe, la phase mobile parcourt le système chromatographique. Les solutés en solution se répartissent suivant leurs affinités entre la phase mobile et la phase stationnaire (absorbant). Ils sont détectés sous forme des pics grâce à un détecteur associé à une détection UV. Ces pics ont été identifiés selon les standards de la rutine, de l'acide chlorogénique et de l'apigénine. Ces standards phénoliques ont été obtenus chez Sigma Aldrich (Steinheim, Allemagne).

Les quantités des composés phénoliques ont été évaluées à partir des zones de pointe. En sachant que la surface des pics est proportionnelle à la quantité injectée de l'analyte correspondant on a alors :

A = km*C

Avec:

A= aire du pic,

C= concentration du composé injectée,

Km = coefficient de réponse du détecteur,

Les concentrations sont exprimées en mg par 100g de poids sec pour les feuilles et mg par 100 g de poids frais pour les fruits.

Méthode

La composition en polyphénols (rutine, acide chlorogénique, apigénine, quercétine) est déterminée par la méthode HPLC (photo 17). Les extraits ont été filtrés à travers des filtres à membrane dont la taille des pores est de 0,45 μm (Vivascience AG, Hanovre, Allemagne). La solution filtrée a été injectée dans un appareil HPLC DIONEX (P680_ASI 8100_Agilent) équipé d'un détecteur UV et d'une colonne Agilent Eclipse XDB - C18 (150 x 46 mm, 5 μm). L'extraction se réalise en double et les analyses se déroulent en triple.





(a)



(b)

Photo 17 : extraits (a) injectés sur la chaine HPLC (b) (équipement du laboratoire ENSIACET, Toulouse, 2010).

2.3.4.9. Analyse des sucres par la méthode HPLC

Méthode d'extraction

L'extraction des sucres se fait en double par macération de 1 g de poudre végétale (feuilles, graines ou pulpes) dans 50 mL de l'eau UHQ (photo 18). Le macérât obtenu est centrifugé. Le surnageant ainsi filtré, à l'aide d'un papier filtre de type Wattman, est stocké au congélateur jusqu'aux analyses.





Graines Fruits







Extrait concentré avec l'azote

Photo 18 : Extraction des sucres à partir des pulpes et des graines de Z. jujuba étudiés.

Analyse des sucres

L'extrait a été injecté sur une chaine HPLC Dionex de type P199. La chaîne HPLC, pour l'analyse des sucres, fonctionne avec un ajout post-colonne de NaOH à 300 mM.

Les caractéristiques de l'appareil sont les suivantes :

*Colonne: Carbo Pac PA1 (250*4mm);

*Etalon: Standard externe;

*Volume d'injection : 25 µL;

*Débit : 1 mL/min;

La quantité des différents sucres détectés est déterminée en suivant la même démarche décrite pour la détection et l'intégration des pics de la rutine.

2.3.5. Analyse statistique

Le traitement statistique des paramètres morphologiques est réalisé grâce au logiciel STATISTICA (version 5.1) (StatSoft France 1998). L'ensemble des mesures a fait l'objet d'une analyse de la variance(ANOVA) à un ou deux facteurs selon le paramètre mesuré. Le test F de Fisher est utilisé pour vérifier l'hypothèse d'égalité des moyennes au seuil de risque de 5%. L'ANOVA est complétée par des comparaisons multiples des moyennes à l'aide du test de Newman et Keuls quand l'hypothèse d'égalité des moyennes est rejetée, selon Steel Robert et James (1980) et Dagnélie (1986).

Quand les résultats obtenus ne répondent pas aux critères d'utilisation de l'analyse de la variance, notamment la normalité de la répartition des données ou quand la présence de grandes variations des valeurs mesurées intra écotype est observée, les différences significatives entre les écotypes ont été recherchées par le test non-paramétrique de Kruskal-Wallis (Wannacott, 1990). Cette méthode du test non-paramétrique de Kruskal-Wallis se base sur l'introduction des rangs au lieu des valeurs trouvées ou calculées pour l'analyse de la variance. C'est une forme de transformation des données de base qui n'affecte en rien les résultats des comparaisons des écotypes.

Toutes les analyses des composés chimiques sont faites en trois répétitions et la comparaison des moyennes est réalisée par Analyse de la Variance (ANOVA). Le test multirange de Duncan est utilisé au seuil de significativité de 0,05.

L'analyse de variance à deux et à trois facteurs est utilisée pour l'étude des effets combinés des stades de développement, des facteurs environnementaux et des variétés (interactions d'ordre

deux et d'ordre trois) sur la variation des caractéristiques morphopondérales des différents organes et l'évolution des composés phytochimiques.

Troisième partie : Résultats et discussion

3.1. Caractérisation morphologique

L'étude de la variabilité morphologique a porté sur des caractères liés aux arbres étudiés et leurs différentes parties végétatives et reproductrices (rameaux, feuilles et fruits mûrs).

3.1.1. Caractérisation dendrométrique

L'observation des données, consignées sur le tableau 17, montre que la hauteur des individus varie entre 1,12 m et 1,48 m. EC (écotype Choutrana) possède les individus les plus hauts. Ceux de ES (écotype Sfax) sont les plus courts. Les autres écotypes (EH (écotype Mahres) et EM (écotype Mahdia) présentent des hauteurs intermédiaires.

Tableau 17 : Paramètres morphologiques liés aux jeunes arbres des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, $moy \pm ET$).

Paramètres (cm) Ecotypes	Hauteur	d1	d2	d3
EC	148,3 ± 4,26a	$34,1 \pm 1,42a$	$22,3 \pm 0,86a$	$7,4 \pm 0,39a$
EM	$121,4 \pm 3,46b$	29,3 ± 1,01a	$6,3 \pm 0,47$ b	9,41 ± 0,32b
EH	138,8 ±4,88c	$32,3 \pm 1,16a$	$17,1 \pm 0,44c$	$7,4 \pm 0,31a$
ES	$112,3 \pm 3,29d$	$27,2 \pm 0,79a$	$15,6 \pm 0,46d$	$6,3 \pm 0,14a$

EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

d1 : diamètre à 30 cm du sol ; d2 : diamètre au milieu ; d3: diamètre au sommet. Dans la même colonne, les valeurs portant des lettres différentes sont significativement différentes à p < 0.05.

L'analyse statistique ne montre aucune différence significative du diamètre à 0,30 m du sol. EC et EH possèdent les sujets les plus gros à 30 cm du collet (34,1 cm et 32,3 cm respectivement). Pour le diamètre au milieu (d2), EC enregistre la valeur la plus élevée (22,3 cm) et EM la valeur la plus faible (6,3 cm). Le diamètre (au sommet) varie entre 6,3 cm (ES) et 9,4 cm (EM).

La morphologie de *Z. jujuba* a été très peu étudiée. Mahajan (2009) a montré que la hauteur des arbres varie de 3 à 4 m alors que le diamètre du tronc varie de 50 à 60 cm. Laamouri (2009) a signalé que les individus originaire de Mahdia pouvaient atteindre de 4 m à 9,5 m de hauteur. Le diamètre (du tronc) reste relativement faible par rapport à celui obtenu par Saied et *al.* (2008) pour *Z. spina-christi* (45 cm).

Les hauteurs mesurées de nos arbres de *Z. jujuba* (1,12 à 1,48 m) restent relativement plus faibles que celles d'autres jujubiers comme *Z. mauritiana* et *Z. spina-christi*. Les arbres de *Z. mauritiana* peuvent atteindre 10 m de hauteur (Kalinganire et *al.*, 2011) alors que ceux de la deuxième espèce (*Z. spina-christi*) ne dépassent pas les dix mètres (Saied et *al.*, 2008).

3.1.2. Caractérisation des rameaux

La variabilité entre les arbres est accentuée par des paramètres liés aux rameaux (tableau 18).

Tableau 18 : Paramètres morphologiques liés aux rameaux des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Paramètres (cm)	Longueur	d1	d2	d3
Ecotypes	moyenne	moyenne	moyenne	moyenne
EC	34,41±2,52d	$0,78 \pm 0,32c$	0,56±0,25c	0,25±0,07d
EM	22,54±7,25d	0,58±0,22d	0,40±0,1cd	0,26±0,09d
ЕН	30,68±10,33d	$0,77 \pm 0,16$ cd	0,50±0,14c	0,33±0,11d
ES	24,35±8,85d	$0,77 \pm 0,14$ cd	0,61±0,14d	$0,39 \pm 0,12c$

EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

d1 : diamètre à la base ; d2 : diamètre au milieu ; d3 : diamètre à l'extrémité

Dans la même colonne, les valeurs portant des lettres différentes sont significativement

différentes à p< 0,05.

Les résultats consignés au tableau 18, montrent que EC possède les rameaux les plus longs (34,41 cm) et les plus gros (le diamètre à la base est de 0,78 cm), tandis que EM possède les rameaux les plus courts (22,54 cm) et les moins gros (0,58 cm). La longueur moyenne des rameaux de EH est de 30,68 cm et celui de ES est de 24,35 cm. Les diamètres moyens au milieu sont très rapprochés pour tous les écotypes. Ils varient de 0,4 cm (EM) à 0,61 cm (ES). Les diamètres au sommet varient de 0,25 cm (EC) à 0,39 cm (ES).

3.1.3. Caractérisation des feuilles

L'analyse statistique des paramètres morphologiques des feuilles montre une différence significative entre les quatre écotypes. Elle souligne la supériorité de ES par rapport aux autres écotypes (tableau 19).

Tableau 19 : Paramètres morphologiques liés aux feuilles des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Paramètres Ecotypes	Longueur moyenne (cm) d'une feuille	Largeur moyenne (cm) d'une feuille	Longueur moyenne du pétiole (cm)	Surface foliaire moyenne d'une feuille (cm²)
EC	$2,19 \pm 0,44d$	$1,33 \pm 0,26d$	$0,28 \pm 0,06d$	$2,70 \pm 2,32d$
EM	$1,84 \pm 0,25c$	$1,17 \pm 0,18c$	$0,15 \pm 0,05c$	$3,77 \pm 1,55c$
ЕН	$2,05 \pm 0,27$ b	$1,26 \pm 0,16b$	0,20± 0,01b	$5,16 \pm 2,21b$
ES	$2,78 \pm 0,50a$	$1,34 \pm 0,26a$	$0,19 \pm 0,05a$	5,79 ± 1,48a

Chaque valeur est calculée sur la base de la moyenne de 50 feuilles par écotype soit 5 feuilles / individu. Dans la même colonne, les valeurs portant des lettres différentes sont significativement différentes à p < 0.05.

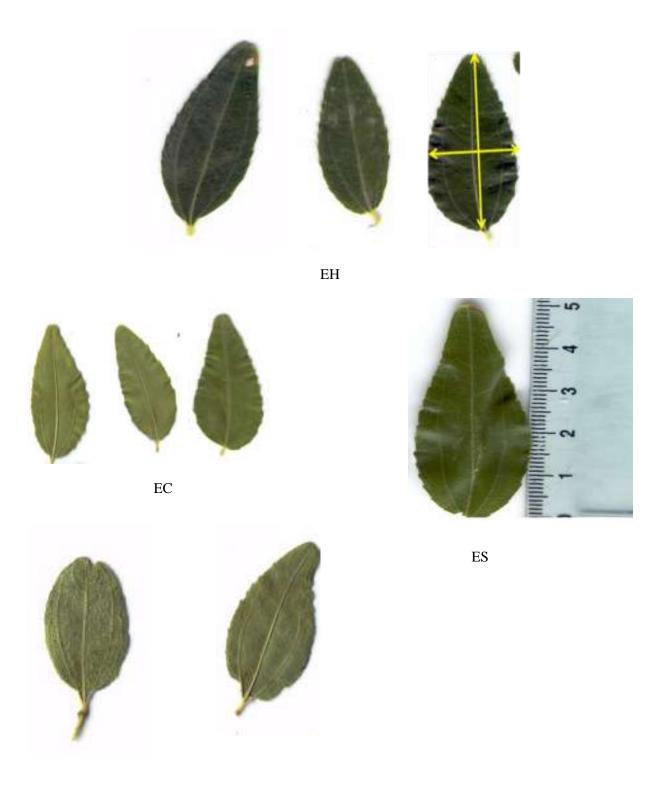
Les individus issus de ES sont caractérisés par les feuilles les plus longues (2,78 cm). Celles les plus courtes sont observées pour les individus de EM (1,26 cm). Les longueurs moyennes des feuilles de EH et EC ne dépassent pas, respectivement, 2,05 et 1,84 cm.

Les feuilles les plus larges sont observées chez les individus de ES et EC chez lesquels elles atteignent une largeur de 1,34 cm. EM possèdent les feuilles les moins larges (1,17 cm).

Ces résultats permettent de déterminer un rapport longueur / largeur des feuilles qui varie de 1,57 (EM) à 2,07 (ES), indiquant une grande variabilité de la forme des feuilles ovoïdes à allongé-ovales.

Les feuilles ayant les surfaces les plus importantes sont enregistrées chez EH et ES, elles sont, respectivement, de l'ordre de 5,16 cm² et 5,79 cm². Les feuilles de EC sont plus petites et ne dépasse pas les 2,7 cm².

La longueur du pétiole est très variable d'un écotype à un autre. Elle atteint une valeur de 0,29 cm chez EC tandis qu'elle ne dépasse pas 0,15 cm chez EM. Un échantillon des feuilles des quatre écotypes est illustré sur la photo 19.



EM

Photo 19: Formes des feuilles des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés.

Les mesures dimensionnelles effectuées sur les feuilles de *Z. jujuba* de notre station restent légèrement faibles par rapport à celles signalées dans la littérature. Elles sont plus faibles que celles trouvées par Dinarvand et *al.* (2006) (longueur allant de 2,5 cm à 5 cm et une largeur de 3 cm).

La longueur moyenne du pétiole des individus de notre station reste légèrement faible (0,3 cm) par rapport à celle signalée par Dinarvand et *al*. en 2006 (2,5 cm) puis par Mahajan et *al*. en 2009 (0,5 cm à 1,1 cm).

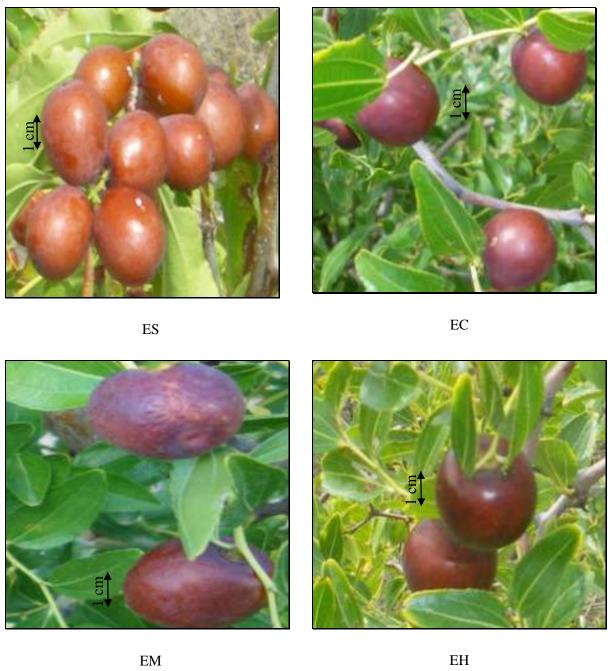
Les résultats obtenus montrent que les feuilles de EM ont une longueur de 1,17 cm et une largeur de 0,15 cm. Une étude similaire a été effectuée, sur des individus plus âgés (de 2,6 m de hauteur), par Laamouri (2009) qui a trouvait que la longueur des feuilles de EM variait de 4 cm à 5 cm et la largeur oscillait entre 1,5 cm et 2 cm.

L'analyse de la variance effectuée sur les feuilles a révélé une forte hétérogénéité entre les individus des quatre écotypes. Cette variabilité est encore plus marquée lorsqu'on considère les caractères reproducteurs.

3.1.4. Caractérisation des fruits

Tous les écotypes offrent des fruits de forme ovoïde-oblongue avec une couleur de la pulpe variant du crème-clair (ES) au rouge-noir (EH) (photo 20). A maturité, la baie pulpeuse, charnue et épaisse à saveur sucrée, est fortement adhérente au noyau pour tous les écotypes exception faite pour EM qui présente un noyau facilement détachable de la pulpe. La description de l'endocarpe permet de distinguer deux principaux groupes. Le premier groupe est formé essentiellement par EM dont l'aspect de l'endocarpe est rigoureux. Le deuxième groupe est formé par les trois autres écotypes (ES, EH et EC) dont l'endocarpe est lisse.

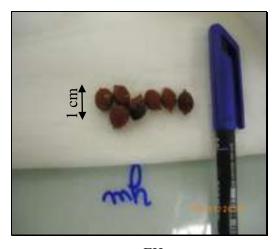
Résultats et discussion



EC : Choutrana ; EM : Mahdia ; EH : Mahres ; ES : Sfax

Photo 20 : Formes des fruits des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés.

Cette description phénotypique des fruits s'ajoute à celle des feuilles pour distinguer les quatre écotypes. Une comparaison par observation des noyaux montre aussi une large variabilité. La couleur du noyau est marron-noire à extrémité pointue pour EH, EM et EC, alors que pour les individus relevant de l'écotype ES, le noyau a une couleur crème-clair et a un sommet aplati (photo 21).





EH







EC

ES

 $EC: Choutrana\ ; EM: Mahdia\ ; EH: Mahres\ ; ES: Sfax$

Photo 21 : Formes des noyaux des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés.

Cette étude descriptive est suivie par une mesure quantitative visant à comparer certains paramètres tels que la longueur, la largeur du fruit et le nombre de graines par noyau. Les résultats sont consignés sur la fig. 6.

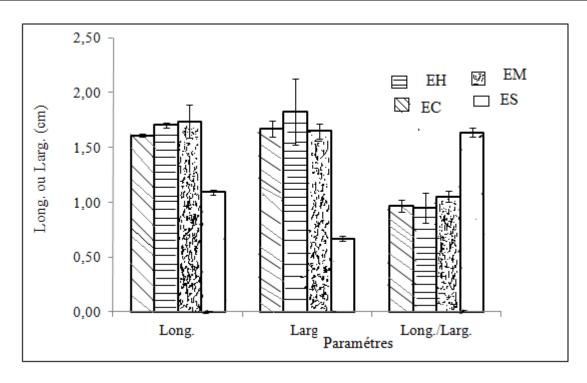


Fig. 6 : Différents paramètres morphologiques mesurés sur les fruits des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, $moy \pm ET$).

L'analyse de ces résultats montre que les fruits de EM sont les plus longs (1,74 cm). ES donnent les fruits les plus petits dont la longueur et la largeur moyennes ne dépassent pas, respectivement, 1 et 0,7 cm. Les fruits de EC ainsi que ceux de EH ont les largeurs et les longueurs comparables de 1,7 cm chacune.

Le rapport longueur / largeur des fruits varie de 1 (EH) à 1,6 (ES) et offre une variabilité des fruits allant de la forme arrondie (longueur /largeur <1,5) pour EC, EH et EM à la forme ovoïde pour ES (longueur /largeur variant entre 1,5 et 1,8). EM produit les noyaux les plus longs, EH en produit les moins longs alors que ES possède les noyaux les plus larges (1 cm) (tableau 20).

Tableau 20 : Différents paramètres morphologiques mesurés sur les noyaux des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Paramètres Ecotypes	LMN (cm)	DMN (cm)	Nb. de graines/ 100 noyaux
EC	$0,96 \pm 0,04$ b	$0,76 \pm 0,03$ b	5,61±0,02 a
EH	$0.86 \pm 0.05c$	0,69 ±0,02b	$11,25 \pm 0,04b$
EM	$1,19 \pm 0,01a$	$0.92 \pm 0.08a$	$41,3 \pm 1c$
ES	$1,13 \pm 0,05a$	$1,05 \pm 0,06a$	$8,37 \pm 2,12ab$

LMN : Longueur moyenne d'un noyau (en cm); DMN : Diamètre moyen d'un noyau (en cm); Nb. Nombre.

Sur une même colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

Le nombre de graines par 100 noyaux accentue cette variabilité (tableau 20); ainsi EM présente le nombre moyen le plus élevé (41,3 graines / 100 noyaux) alors que d'autres, comme certains noyaux de EC sont vides et possèdent donc le nombre moyen de graines par 100 noyaux le plus faible (5,6 graines par 100 noyaux).

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Laamouri (2009) qui a étudié les différents écotypes dans leur site d'origine (Sfax, Mahdia, Mahres et Choutrana). Il a noté que les fruits de EM présentent les valeurs les plus élevées.

Ces résultats concordent aussi avec ceux trouvés par Mahajan (2009) qui a signalé que les fruits de *Z. jujuba* présentent, en moyenne, 2 cm de long et 1,5 cm de diamètre.

Les résultats trouvés pour les fruits de *Z. jujuba* restent faibles par rapport à ceux de *Z. mauritiana* dont les valeurs peuvent atteindre 5 cm de long et 3 cm de diamètre (Kalinganire et *al.*, 2011).

L'étude des différents paramètres basée sur les caractères reproducteurs s'ajoute à ceux des paramètres végétatifs pour accentuer la variabilité entre les quatre écotypes de *Z. jujuba* en question.

Nous pouvons conclure que les individus issus de EM constituent un groupe à part ayant des fruits bien développés, de gros diamètres et présentant des endocarpes rigoureux. Les trois autres écotypes ES, EH et EC constituent un deuxième groupe.

Les caractères morphologiques considérés montrent une variabilité entre les quatre écotypes surtout pour les paramètres liés aux : arbres (hauteur), feuilles et fruits. Cette hétérogénéité morphologique peut être confirmée par des variations des différents cycles biologiques dégagées par le suivi phénologique des individus relevant de nos quatre écotypes.

3.2. Déroulement des cycles phénologiques

Le suivi phénologique des rameaux réalisé approximativement tous les quinze jours durant trois années (2008, 2009 et 2010) montre un léger décalage entre les quatre écotypes. La comparaison entre les quatre écotypes prouve que ES est l'écotype le plus précoce. Il présente une phase de floraison étalée. Malgré le débourrement le plus tardif de EH, cet écotype est caractérisé par des fruits précoces qui peuvent mûrir même à la fin du mois d'août. EC est un écotype à maturation intermédiaire alors que EM est l'écotype le plus tardif (tableau 21).

3.2.1. Ecotype Sfax

Pour cet écotype, le réveil végétatif débute à la fin du mois de février (tableau 21). Il est caractérisé par l'apparition de nouvelles pousses terminales et le débourrement de bourgeons auxiliaires. Ces bourgeons ont une couleur verdâtre à jaunâtre (photo 22).



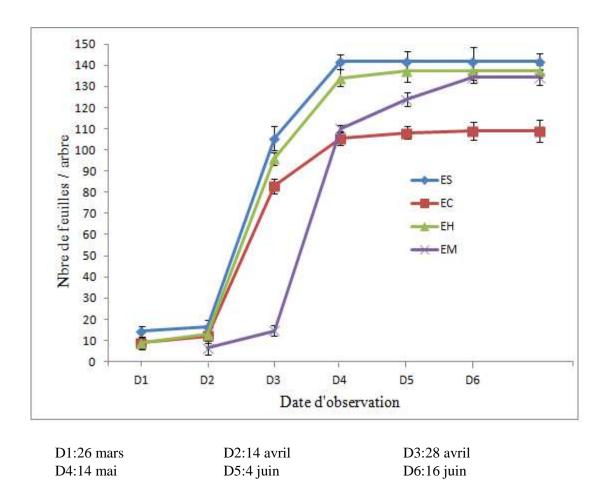
Photo 22 : Les différentes étapes du débourrement de Z. jujuba étudiés.

Tableau 21 : Suivi de la phénologie des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés.

Ecotypes Stades	ES	ЕН	EC	EM
Débourrement	Début mars jusqu'au début avril	Entre le 6 et le 10 mars	Mi- mars	Mois d'avril
Feuillaison	Fin mars - avril jusqu'au 28 avril		mars jusqu'à la aine du mois de ai.	Du 14 avril au 16 juin
Floraison	Début mai jusqu'au la fin du mois.	Vers le 9 mai jusqu'au la première semaine du	La troisième semaine du mois de mai et s'étale	La fin du mois de mai jusqu'a la fin du mois de juin.
		mois du juin.	jusqu'au 8 juin.	
Nouaison	A partir du 23 juin jusqu'à mi juillet.	Entre le 20 et le 30 août.	A partir du 8 juillet jusqu'au 20 mai.	Vers la fin du mois de juillet jusqu'au 15 août.
Maturation	Entre le 6 et le 13 septembre jusqu'au fin septembre	Vers le 3 septembre	A partir du 22 septembre jusqu'a la fin du mois.	Début octobre
Défoliation	Entre le 23 novembre et début décembre jusqu'au fin décembre	Entre le 2 et le 13 décembre	_	erniers jours de embre

Les premiers bourgeons apparaissent vers la première semaine du mois de mars et les derniers au début du mois d'avril. Les premières feuilles apparaissent vers le 25 mars avec un nombre

moyen de 14 feuilles. Ce nombre augmente à la troisième date d'observation (vers le 28 avril) jusqu'à atteindre 105 feuilles par arbre (Fig. 7).

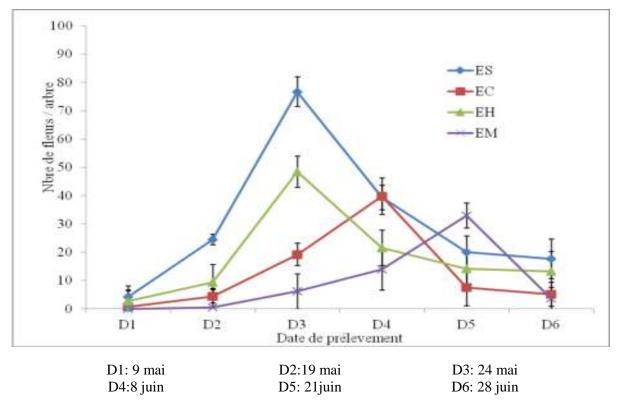


EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

Fig. 7: Evolution avec le temps du nombre de feuilles par écotype (n= 3; moy \pm ET)

Le maximum de ce processus (141 feuilles par 50 rameaux) s'observe à la fin de la deuxième semaine du mois de mai. Ainsi, ce stade s'achève. Tous les arbres sont recouverts de feuilles. Vers la première semaine du mois de mai certains arbres commencent à fleurir. Tous les individus sont au maximum de floraison à raison de 77 fleurs /50 rameaux à partir du 24 mai. Ce processus s'échelonne jusqu'au mois de juillet. Pour cette raison, ES est considéré comme un écotype à fructification prolongée. Les premiers pétales chutent après le 24 mai. Les boutons floraux gonflent puis la nouaison commence vers la quatrième semaine du mois de juin (23 juin). La maturation des fruits commence au début de la deuxième semaine du mois de septembre (entre le 6 et le 15 septembre) et s'étale jusqu'a la fin du mois. Les premières

feuilles chutent entre le 23 novembre et le 2 décembre et les dernières chutent au début du mois de décembre.



EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

Fig. 8: Evolution avec le temps du nombre de fleurs par écotype (n = 3; moy \pm ET)

3.2.2. Ecotype Mahres

Les premiers signes d'activité des bourgeons de EH sont observés presqu'à la même période que ceux de ES avec un décalage de 6 à 10 jours (tableau 21). Le déploiement des feuilles commence légèrement en retard par rapport à ES pour atteindre le nombre moyen de 9 feuilles par arbre le 25 mars. Ce nombre est de 96 feuilles à la troisième date d'observation. Il atteint 134 feuilles par arbre vers le 10 mai. Le maximum de ce processus (137 feuilles par arbre) est observé vers la première semaine du mois de juin soit trois semaines en retard par rapport à ES. Les bourgeons gonflent et les arbres fleurissent à la première décade du mois de mai. Le maximum des fleurs s'observe à la fin du mois de mai (photo 23).

EH est l'écotype le plus précoce. Les premiers fruits commencent à apparaître les dix derniers jours du mois d'août. La majorité des fruits atteignent la couleur marron-foncée vers le 3 septembre et la récolte s'achève à cette période. Les premières feuilles jaunissent puis chutent au cours de la première moitié de décembre.



Photo 23 : Floraison et nouaison de Z. jujuba étudiés.

3.2.3. Ecotype Choutrana

Contrairement aux deux écotypes précités, les individus de EC ne commencent à débourrer qu'à la mi- mars, soit cinq jours en retard par rapport à EH (tableau 21). Les bourgeons foliaires gonflent. On note l'apparition des premières feuilles avec un nombre moyen de 9 feuilles par arbre durant la même date d'observation. Cette période coïncide avec celle observée pour EH. Le nombre moyen des feuilles atteint 83 pendant la troisième date d'observation. Ce processus passe par un optimum (109 feuilles) au début de la deuxième décade du mois de juin (vers le 10 juin).

La floraison commence à la troisième semaine du mois de mai. Le maximum du processus peut être observé vers le 8 juin soit avec un retard de deux semaines par rapport aux deux autres écotypes (ES et EH). La nouaison commence à partir du 8 juillet. La maturation des fruits de couleur jaunâtre débute vers le début de la troisième décade de septembre. La chute des feuilles commence à la mi-décembre et s'achève à la fin du même mois.

3.2.4. Ecotype Mahdia

Cet écotype est le plus tardif. Il ne démarre sa croissance qu'au début du mois d'avril soit 15 jours en retard par rapport à EC. Les premiers individus se recouvrent de feuilles vers la miavril avec un nombre moyen de 7 feuilles par arbre. A la troisième date d'observation, ce nombre est en moyenne de 15 feuilles. Le stade de feuillaison s'étale jusqu'à la mi-juin avec

un nombre moyen de 134 feuilles par arbre. La floraison débute vers la fin du mois de mai pour atteindre un maximum de 33 fleurs par individu soit un mois plus tard (fig. 8).

La nouaison de EM apparaît vers la fin du mois de juillet et la maturation des fruits ne peut être observée qu'au début du mois d'octobre. Les feuilles jaunissent et chutent à la même période que EC (photo 24).







Photo 24: Jaunissement et chute progressive des feuilles de Z. jujuba étudiés.

Une comparaison entre les trois années d'études (2008, 2009 et 2010) montre un léger décalage de 7 à 12 jours (tableau 22, 23 et 24). Cette étude montre que les premières feuilles de *Z. jujuba* apparaissent vers la fin du mois de mars. Cette phase peut se déclencher avec un décalage de deux semaines pour l'année 2008. Le maximum de ce processus est atteint vers le début juin (2008), la mi-mai (2009) et la fin juin (2010).

Au niveau de la station de Rouhia, la température tend à augmenter à partir du mois d'avril pour atteindre son maximal (33 °C) durant le mois juin, juillet et août ce qui coïncide bien à la phase de maturation des fruits de *Z. jujuba*. La pluviométrie maximale (100 ml) est atteint durant les mois de décembre et janvier et ce à cette période que les individus de *Z. ziziphus* se préparent au revêt végétatif.

Tableau 22 : Effectifs moyens des feuilles des 50 rameaux étudiés en fonction du temps au cours de l'année 2008.

Date d'observation Ecotypes	05/04	16/04	01/05	16/05	07/06	20/06	07/07
ES	6,12	13,26	82,48	•	TE	6,7	
EC	0,525	8,96	44,1	79,92		24,02	
ЕН	1,56	12,98	60,78	90,5	•	123,92	
EM	-	0,2	11,94	58,84	119,92	132	,32

Tableau 23 : Effectifs moyens des feuilles des 50 rameaux étudiés en fonction du temps au cours de l'année 2009.

Date d'observation Ecotypes	26/03	14/04	28/04	10/05	04/06	16/06	30/06
ES	14,22	16,45	105,51		141	,69	•
EC	8,81	12,2	82,9	105,46		09,15	
ЕН	8,75	12,94	95,9	133,92	•	37,18	
EM	-	6,56	14,7	110,2	120,64	134	,20

EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

Tableau 24 : Effectifs moyens des feuilles des 50 rameaux étudiés en fonction du temps au cours de l'année 2010.

Date d'observation	011/04	07/04	20/04	04/05	18/05	02/06	21/06	1/07
Ecotype								
ES	13,12	17,86	66,40	145,90	155,78		168,46	
EC	5,30	9,16	46,78	124,80	130,80	146,54	148,5	
ЕН	7,45	10,38	55,88	133,38	149,51		59,58	
EM	-	3,50	12,00	87,60	100,14	137,44	144,	22

La floraison de *Z. jujuba* commence, pour la majorité des écotypes, entre le 9 et 14 mai en 2008 et 2009 alors qu'elle est décalée de 1 mois en 2010. Cette phase peut se poursuivre jusqu'au mois de juillet avec un maximum de fleurs vers le mois de juin pour ES, EC et EH. Chez EM, le maximum de la floraison est observé au mois de juillet. Les résultats sont consignés sur les tableaux 25, 26 et 27. Les fleurs perdent leurs pétales vers la fin du mois de juin-début juillet.

Cette étude prouve que suivant les années, la différence de dates du débourrement est d'une dizaine de jours avec des valeurs extrêmes en 2009, année la plus précoce et 2008 année la plus tardive. La cinétique pour l'ensemble des écotypes est la même quelle que soit l'année. L'étude phénologique montre que pour tous les écotypes, le nombre de fleurs augmente, atteint un maximum puis commence à diminuer. Les effectifs de fleurs les plus élevés atteints différent d'un écotype à un autre.

La comparaison des écotypes, en matière de floraison, montre que ES est le plus précoce alors que EM est le plus tardif. Cette précocité de 15 jours environ peut être expliquée par des différences génétiques et / ou environnementales.

Tableau 25 : Effectifs moyens des fleurs des 50 rameaux étudiés en fonction du temps au cours de l'année 2008.

Date d'observation	14/05	24/05	08/06	21/06	28/06	12/07	16/07
Ecotype							
ES	8,34	22,6	30,52	37,64	41,92	39,46	38,66
EC	2,8	13,6	18,4	25,9	33,1	37,2	34,9
ЕН	4,7	17,5	24,4	31,7	35,5	34,7	32,4
EM	-	3,1	10,6	20,2	28,6	或.1	30,5

Tableau 26: Effectifs moyens des fleurs des 50 branches étudiées en fonction du temps au cours de 2009.

Date d'observation	09/05	19/05	24/05	08/06	21/06	28/06
Ecotypes						
ES	4,26	24,5	76/72	39,38	20	17,64
EC	0,6	4,38	19,18	39,72	7,46	5,10
ЕН	2,69	9,31	48,45	21,5	14,1	13,3
EM	-	0,52	6,2	14,0	32.9.	3,6

Tableau 27 : Effectifs moyens des fleurs des 50 rameaux étudiés en fonction du temps au cours de 2010.

Date d'observation							
Ecotypes	18/04	26/04	18/05	30/05	15/06	27/06	12/07
ES	4,1	21,24	45,84	54,72	300	55,72	34,06
EC	1,16	9,64	33,42	41,7	48,34	51.8.	46,7
ЕН	1,85	17,87	38,62	45,15	14.22	54,24	46,90
EM	0,12	12,52	19,28	29,40	40,42	12	39,86

Cette étude montre que les premiers signes d'activité des bourgeons de *Z. jujuba* peuvent apparaître fin mars début avril. Ce phénomène est observé chez plusieurs espèces ligneuses comme le chêne-vert (Yann, 2002). Laamouri (2009) a effectué une comparaison entre les trois espèces de *Ziziphus* existantes en Tunisie. Il a noté que le débourrement de *Z. jujuba* se produit au cours du mois de mars et la feuillaison a lieu au cours du mois d'avril.

La floraison de *Z. jujuba* débute au mois de mars. Ces résultats semblent être en accord avec ceux trouvés par Laamouri (2009) qui signale les mêmes périodes et note que cette phase peut se prolonger jusqu'aux mois de juin et juillet. La fructification commence vers la fin d'août et se poursuit jusqu'à la fin du mois de septembre.

La nouaison puis la maturation des fruits de *Z. jujuba* peuvent être observées entre la fin du mois de juillet et la mi-octobre. Ces résultats sont fortement décalés par rapport à ceux signalés par Kalinganire et *al.* (2011) pour la même espèce plantée à l'Afrique Subsaharienne où les fruits mûrissent de décembre à janvier. Ceci peut être expliqué par des différences climatiques. Ces stades phénologiques sont comparables à ceux des espèces oléagineuse ainsi que la majorité des céréales (young et *al.*, 1990).

3.3. Caractérisation chimique des organes

Certains travaux suggèrent que les fruits, les feuilles et les graines de *Z. jujuba* ainsi que leurs produits ont des effets protecteurs contre le cancer, les accidents vasculaires cérébraux... (Kalt et *al.*, 1999). Malgré cette importance, la composition chimique de ces différents organes reste ignorée (San et *al.*, 2010).

Dans l'objectif de contribuer à l'amélioration de nos connaissances en la matière, dans ce qui suit nous nous intéressons à l'analyse des lipides, des sucres, des polyphénols, des protéines, des éléments minéraux et des composés pariétaux des différents organes de *Z. jujuba* (feuilles, pulpes et graines). Ce travail vise la caractérisation et l'évaluation de la composition qualitative et quantitative de ces organes en mettant l'accent sur l'amélioration de la valeur potentielle en tant qu'aliment de l'espèce étudiée.

3.3.1. Compositions en matières grasses

La composition en acides gras représente un critère de classification des huiles végétales (saturées, mono ou polyinsaturées) déterminée selon la dominance d'un acide gras donné.

3.3.1.1. Composition en acides gras libres

3.3.1.1.1. Acides gras des graines

3.3.1.1.1. Rendement d'extraction

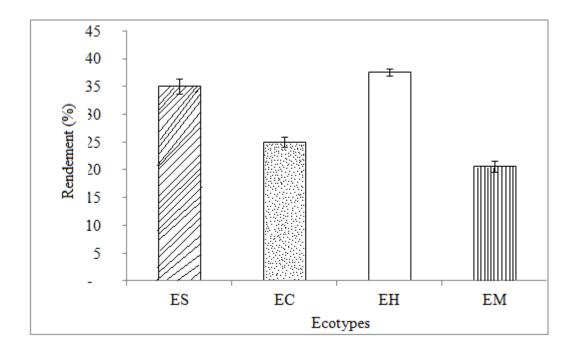
L'huile, isolée à partir des graines, est de couleur jaune pâle (photo 25). Son rendement est compris entre 20,58 % et 37,54 %.



Photo 25 : Huile extraite de différents organes des écotypes de Z. jujuba étudiés.

La comparaison entre les quatre écotypes montre que les graines de EH sont les plus huileuses avec un rendement de l'ordre de 37,54 %. Celles de EM sont les plus pauvres (20,58 %). ES et EC présentent des taux intermédiaires soient respectivement 35,00 % et 25,00 % (fig. 9).

Un tel résultat peut permettre une exploitation à l'échelle industrielle de cette huile à vertus alimentaires et pharmaceutiques.



ES= écotype Sfax, EC= écotype Choutrana; EH= écotype Mahres; EM= écotype Mahdia

Fig. 9 : Rendement d'extraction des huiles des graines des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

3.3.1.1.1.2. Profil des acides gras

Le profil des acides gras, récapitulé sur le chromatogramme 1, montre une grande variation quant à leurs teneurs dans les graines des quatre écotypes (ES, EC, EH et EM). Cette analyse montre la dominance des acides oléique (oméga - 9) et linoléique (oméga - 6) dont les taux dépassent les 40 % (tableau 28).

Tableau 28 : Distribution de la composition en acides gras (%) de la fraction lipidique des graines des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Acides gras	Saturation		Pourcentage	s des acides gras	
		ES	EC	ЕН	EM
Myristique	C14:0	$0,14 \pm 0,01a$	$0,14 \pm 0,01a$	$0,13 \pm 0,01b$	$0,15 \pm 0,01a$
Palmitique	C16:0	$4,67 \pm 0,03c$	$4,89 \pm 0,06b$	$4,57 \pm 0,01d$	$4,87 \pm 0,02a$
Palmitoléique	C16:1	$0.06 \pm 0.01a$	0.05 ± 0.01 b	$0.07 \pm 0.01a$	$0.06 \pm 0.01a$
Stéarique	C18:0	$2,64 \pm 0,02c$	$2,60 \pm 0,04$ b	$2,64 \pm 0,01c$	$2,82 \pm 0,02a$
Oléique (oméga-9)	18:1n	$46,55 \pm 0,07a$	$43,55 \pm 0,03c$	45,47 ± 0,47b	$46,60 \pm 0,22a$
Linoléique (oméga-6)	18:2n	$40,77 \pm 0,07$ bc	$44,00 \pm 0,12a$	$41,31 \pm 0,83b$	$40,34 \pm 0,2c$
Arachidique	C20:0	$0,78 \pm 0,05a$	$0,78 \pm 0,02a$	$0,75 \pm 0,02a$	$0,78 \pm 0,02a$
Linolénique (oméga-3)	18:3n3	$0,36 \pm 0,03b$	$0,42 \pm 0,01a$	$0,29 \pm 0,01c$	$0,28 \pm 0,01c$
Gadoléique	C20:1	$3,13 \pm 0,11a$	$2,70 \pm 0,03c$	$2,86 \pm 0,03b$	$2,83 \pm 0,14d$
Béhénique	C22:0	$0,98 \pm 0,01b$	0.87 ± 0.01 b	$0,79 \pm 0,01b$	$0,78 \pm 0,01a$
∑poly - insat.	1	41,13	44,42	41,60	40,62
∑mono - insat.		49,74	46,30	48,40	49,49
\sum sat.		9,21	9,28	8,88	9,40
I/S		9,86	9,77	10,13	9,59

Le premier nombre indique la longueur de la chaîne d'acide gras et le second indique le nombre de doubles liaisons avec signification de l'emplacement de la double liaison (s).

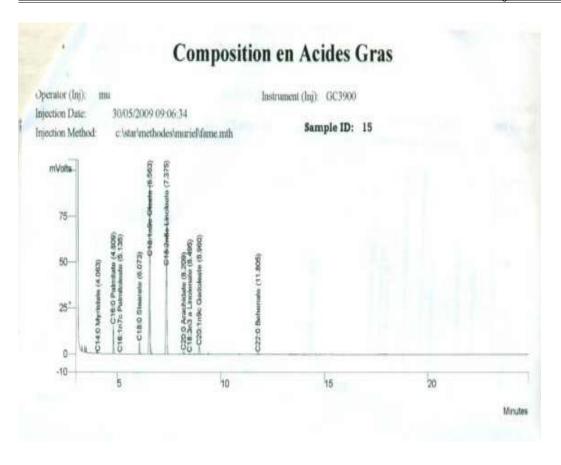
 \sum mono-insat.: Acides gras mono-insaturés = 16:1 + 18:1 + 20:1

 \sum poly-insat. : Acides gras poly- insaturés = 18:2 + 18:3

 Σ sat. : Acides gras saturés = 14:0 + 16:0 + 18:0 + 20:0 + 22:0

I/S = Acides insaturés / Acides saturés

Les moyennes suivies par lettres différentes dans une même ligne sont significativement différentes les unes des autres au niveau p < 0.05.



Chromatogramme 1 : Profil des acides gras dans les graines de Z. jujuba étudiés.

L'acide oléique (C18 : 1) est majoritaire chez EM et ES avec un pourcentage de 46,60 %. Son taux diminue légèrement pour atteindre les proportions de 43,55 % et 45,47 % pour EC et EH respectivement. L'acide linoléique (C18: 2) est défini comme majoritaire chez EC avec un taux de 44 %.

Ces graines présentent également d'autres acides gras comme les séries C20 et C16. La série C20 a été essentiellement formée par une faible dose de l'acide arachidique (C20 : 0) et de l'acide gadoléique (C20 : 1). Le premier composant (acide arachidique) oscille entre 0,75 % et 0,89 % pour EH et EC respectivement. Le second varie de 2,7 % à 3,13 % pour EC et ES respectivement. La série C16 dont l'acide palmitique (C16:0) varie de 4,53 % (EH) à 4,84 % (EM). L'acide palmitoléique (C16 :1) est le moins présent (ne dépasse pas 0,07 %). Par ailleurs, la distribution des acides gras insaturés est très variable. Leur taux est de l'ordre de 90,00 % pour EH, ES et EC. Le bilan des acides gras polyinsaturés oscille entre 40,62 % (EM) et 44,42 % (EC). Celui des acides mono-insaturés varient de 46,30 % (EC) à 49,74 % (ES). Par contre, ces huiles restent pauvres en acide gras saturés qui ne présentent que 9,40 %

(EM) et même 8,88 % (EH). Cette richesse en acides gras mono-insaturés confère à cette huile une action préventive contre les maladies cardiovasculaires en diminuant leur taux de cholestérol (Watkins et *al.*, 2003 ; Tapiero et *al.*, 2002).

Le calcul du ratio acides insaturés / acides saturés (I/S) varie de 9,59 (EM) à 10,13 (EH). Ce rapport est comparable à celui mentionné par Feng et *al.* (2011) qui en caractérisant les huiles de *Z. spinosa*, ont trouvé un rapport de l'ordre de 8,45.

Cette composition en acides gras est proche de celle citée par Zhao et *al.* (2006) pour l'espèce *Z. spina christi (Z. spinosa)*. Néanmoins, elle se distingue par la présence des acides docosanoïque (146 mg/ml) et laurique (110 mg/ml) d'une part et l'absence des acides gadoléique et béhénique d'autre part. Cependant, Wang et *al.* (1989) ont trouvé des acides caprique (10:0), laurique (12:0) et palmitique (16:1) en faibles quantités dans l'huile de *Z. jujuba*.

En outre, les quatre écotypes sont riches en oméga-3, ce qui confère aux *Ziziphus* un intérêt médicinal important. En effet, plusieurs auteurs comme Bell et *al.* (2008), affirment que ce type d'huile intervient dans le traitement des maladies cardiovasculaires. Gertz et Kochhar (2001) notent qu'un tel profil riche en acide oléique est plus stable qu'un autre riche en acide linoléique.

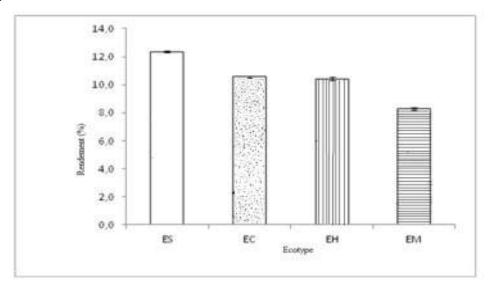
Cette richesse en acide oléique est similaire à celle de l'huile d'argon dont le taux est de l'ordre de 43 % (Rahmani, 2005). Il a signalé aussi que le pourcentage de l'oméga-6 ne dépasse pas 29,3 % et ceci est plus faible par rapport à l'huile des écotypes de *Z. jujuba* étudiés. La présence des acides oléique et linoléique a été également confirmée par Zhao et *al.* (2006) mais avec des taux assez élevés de 51,35 % et 50,19 % respectivement pour les acides linoléique et oléique. En 2002, Su et *al.* ont signalé la présence de l'acide stéarique dans cette composition. Ces résultats sont analogues à ceux obtenus par Goncharova et *al.* (1990) qui ont insisté sur l'importance de l'acide oléique comme composant majoritaire avec un taux de 24,9 %.

Par contre, ces résultats restent relativement faibles par rapport à ceux mentionnés pour d'autres espèces comme *Z. spina christi* qui sont riches principalement en acides linoléique et linolénique avec des proportions de 45 % et 20 % respectivement (Saied et *al.*, 2008).

3.3.1.1.2. Acides gras de la pulpe

3.3.1.1.2.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction des huiles (fig. 10) montre une richesse de la partie charnue du jujube en huiles de couleur jaune-orange. Ce rendement oscille entre 8,31 % et 12,35 %. Les individus de ES sont les plus rentables par rapport aux autres écotypes contrairement à ceux de EM qui sont les moins rentables.



EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

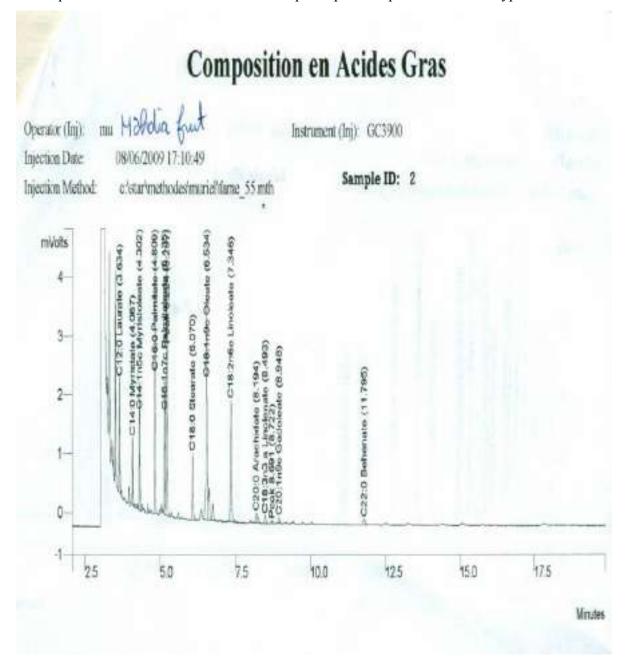
Fig. 10 : Rendement d'extraction (%) des huiles de la pulpe des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés. (n = 3, $moy \pm ET$).

3.3.1.1.2.2. Profil des acides gras

La composition en acides gras exprimée en pourcentage de l'huile extraite de la pulpe a été établie sur le chromatogramme 2. Cette composition note la richesse des quatre écotypes étudiés en 12 acides gras libres. Ces acides sont: l'acide laurique (C12 : 0), l'acide myristique (C14 : 0), l'acide myristoléique (C14 : 1), l'acide palmitoléique (C16 : 1), l'acide stéarique (C18 : 0), l'acide elaidique (C18 : 1t9), l'acide oléique (C18 : 1cis9), l'acide linoléique (C18 : 2), l'acide arachidique (C20 : 0), l'acide linolénique (C18 : 3), l'acide gadoléique (C20 : 1) et l'acide béhénique (C22 : 0).

Dans chacun des quatre écotypes, l'acide oléique a été le principal composant. EH possède le pourcentage le plus élevé (plus de 50 %). La pulpe de EC est aussi riche en cet acide avec un taux de 42,82 %. L'acide palmitique varie faiblement dans les fruits issus de ES, EC et EM. Son taux baisse légèrement (15,58 %) pour EH. On note aussi la dominance de l'acide linoléique avec un taux majoritaire de 18,13 % (EC). Pour les autres écotypes ES, EH et EM, le pourcentage de cet acide atteint 10,88 %, 13,29 % et 13,6 % respectivement. D'autre part,

ES se distingue par la présence de l'acide élaidique avec un taux de 1,39 %. L'acide béhénique se trouve à l'état de trace et ne dépasse pas 1 % pour tous les écotypes.



Chromatogramme 2 : Profil des acides gras dans les pulpes de Z. jujuba étudiés

La pulpe de *Z. jujuba* est également riche en acides gras mono-insaturés. Leurs taux varient de 48,33 % à 59,89 % dont ES présente le pourcentage le plus élevé, alors que EM possède le taux le plus faible (tableau 29).

Tableau 29 : Distribution de la composition en acides gras de la fraction lipidique des pulpes de Z. jujuba étudiés. (n = 3 , moy \pm ET).

		Pourcentages des acides gras				
Acide gras	Saturation	ES	EC	ЕН	EM	
Laurique	C 12:0	$4,68 \pm 0,13b$	$3,19 \pm 01c$	$3,29 \pm 0,02c$	$5,76 \pm 0,99a$	
Myristique	C14:0	$2,91 \pm 0,37a$	$1,23 \pm 0,02b$	$1,31 \pm 0,01b$	$3,29 \pm 0,41a$	
Myristoléique	C14:1n5	$8,53 \pm 0,79a$	$1,52 \pm 0,14c$	$1,3 \pm 0,01c$	6,45 ± 1,19b	
Palmitique	C16:0	$18,67 \pm 0,08a$	$18,59 \pm 0,16a$	$15,58 \pm 0,2b$	$18,36 \pm 0,31a$	
Palmitoléique	C 16:1n7	$8,69 \pm 0,79a$	$2,91 \pm 0,08b$	$2,59 \pm 0,01b$	8,45 ± 1,6a	
Stéarique	C18:0	$8,43 \pm 0,58a$	$7,29 \pm 0,13b$	8,13 ± 0,08ab	$7,66 \pm 0,72ab$	
Elaidique	C 18 : 1n9t	2,7 ± 0,01a	Trace	trace	Trace	
Oléique	C 18 : 1n9	38,67 ± 1,59b	$42,82 \pm 0,28b$	$50,68 \pm 0,28a$	$32,37 \pm 6,33c$	
Linoléique (oméga-6)	C 18 : 2n6	$10,88 \pm 0,89c$	$18,13 \pm 0,51a$	13,29 ± 0,04b	13,6 ± 1,76b	
Arachidique	C20:0	$1,59 \pm 0,55a$	$1,06 \pm 0,05b$	$0,73 \pm 0,02b$	$1,64 \pm 0,06a$	
Linolénique (oméga-3)	C18: 3 n3a	$1,63 \pm 0,07a$	$1,33 \pm 0,05b$	$1,76 \pm 0,04a$	$0.86 \pm 0.29c$	
Gadoléique	C20 :1c	$1,3 \pm 0,15a$	$1,08 \pm 0,08a$	$0,77 \pm 0,04c$	0.9 ± 0.13 bc	
Béhénique	C22:0	$0,56 \pm 0,92a$	$0.85 \pm 0.05a$	$0.58 \pm 0.01a$	$0,67 \pm 0,67a$	
Oméga-6/Oméga-3		6,67	13,63	7,55	15,81	
∑polyinsat.		12,51	19,46	15,05	14,46	
∑moninsat.		59,89	48,33	55,34	48,17	
∑sat.		36,84	32,21	29,62	37,38	
I/S		1,97	2,1	2,37	1,68	

Le premier nombre indique la longueur de la chaîne d'acide gras et le second indique le nombre de doubles liaisons avec signification de l'emplacement de la double liaison (s).

 Σ sat. : Acides gras saturés = 12:0 + 14:0 + 16:0 + 18:0 + 20:0 + 22:0

 Σ monoinsat. : Acides gras monoinsaturés = 14:1 + 16:1 + 18:1 + 20:1

 \sum polyinsat. : Acides gras polyinsaturés = 18:2 + 18:3

I/S = Acides insaturés/Acides saturés

Les moyennes suivies par des lettres différentes dans une même ligne sont significativement différentes les unes des autres au niveau p < 0.05.

Ainsi, le bilan des acides gras polyinsaturés, monoinsaturés et saturés fait ressortir respectivement les variations de 12 % à 20 %, de 48 % à 60 % et de 30 % à 37 % d'où le ratio 16:54:33 (polyinsaturé: mono-insaturé : saturé). De même, cette étude met en évidence un rapport I/S de l'ordre de 1,68 (EM) à 2,37 (EH). Ce rapport reste un peu élevé par rapport à celui signalé par Gusakova et *al.* (1999) qui ont trouvé une égalité entre les acides mono et polyinsaturés.

Cette abondance en acides gras insaturés et saturés a été aussi notée par San et *al.* (2010) dans les fruits de *Z. jujuba* avec les proportions suivantes : de 68,54 % à 72,44 % et de 26,39 % à 30,22 % respectivement.

Cette richesse en acides gras insaturés confère à ces fruits un rôle protecteur contre les maladies coronariennes (Berra, 1998; Jacot, 2001). Par comparaison à d'autres études ultérieures, San et *al.* (2010) ont affirmé que cette huile n'est qu'un mélange des acides oléique, linoléique, palmitique et palmitoléique. D'autres part, les taux des acides gras trouvés dans les pulpes de *Z. jujuba* sont plus élevés que ceux de *Z. mauritiana* (Guil-guerrero et *al.*, 2004) dont l'étude du profil en acides gras montre la composition suivante :

C12:0 (18,3 %), C10:0 (12,5 %), C18:2 (9,27 %), C16:1 (8,50 %), C16:0 (7,25 %) et C18:1 (5,34 %).

Enfin, la détermination du rapport oméga-6/oméga-3 aboutit à une gamme très large variant de 5/1 (ES) à 14/1 (EM). Ce rapport concorde avec les résultats publiés par Roberts et Yazicioglu (1995). Ils ont signalé des rapports de 7/1 et 8/1 pour l'huile du soja et d'olive respectivement.

Selon Jacot (2001), un régime alimentaire à base de jujubes protège l'organisme contre les risques du cancer du sein, de la prostate et du colon.

3.3.1.1.3. Acides gras des feuilles

3.3.1.1.3.1. Rendement d'extraction

La composition chimique des huiles extraites des feuilles montre une légère variabilité entre les quatre écotypes étudiés (fig. 11). Le rendement d'extraction varie de 10,09 à 10,31 % respectivement pour EH et ES. Ce taux baisse légèrement à 9,33 % (EM) et même à 8,61 % (EC).

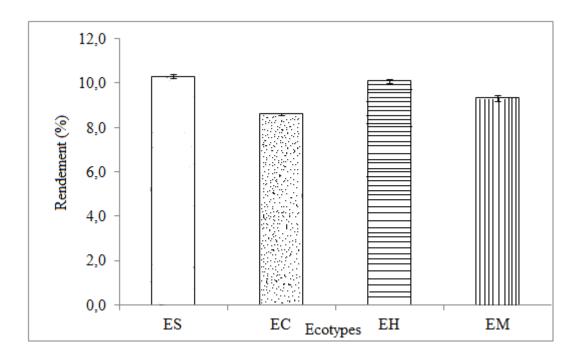


Fig. 11 : Rendements d'extraction des huiles issues des feuilles des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET)

3.3.1.1.3.2. Profil des acides gras

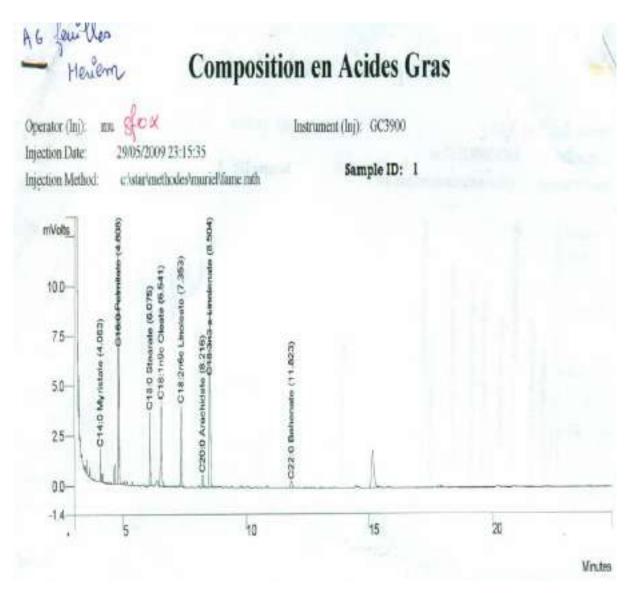
L'analyse de cette huile par GC consignée dans le chromatogramme 3, montre sa caractérisation par un taux élevé en acides linoléique (C18:3) et palmitique (C16:0).

Les pourcentages les plus importants sont attribués à EH (42,04 %) et à EM (39,55 %). L'acide palmitique a été aussi détecté avec la même importance (21,00 %) dans les trois écotypes EM, EH et EC (tableau 29). Il est présent dans ES avec une légère supériorité (23,04 %). Les acides oléique ainsi que linoléique restent aussi importants dans ES avec des pourcentages de 13,08 % et 12,19 % respectivement. Dans les feuilles, on trouve aussi d'autres acides gras comme les acides béhénique et myristique. Le premier composant varie de 1,98 % (ES) à 3,47 % (EM). Le second oscille entre 2,14 % (EC) et 2,5 % (ES et EM). Le chromatogramme 3 montre aussi quelques traces de l'acide laurique dans les quatre écotypes. Cette richesse en oméga-3 (acide gras essentiel) comme acide majoritaire accorde aux feuilles un atout médicinal important. Ceci conduit à des utilisations aussi bien dans l'immunité et la guérison des blessures que dans les réactions allergiques et inflammatoires (Bell et *al.*, 2009). Par ailleurs, le taux de l'oméga-6 oscille entre 9,75 % (EC) et 12,50 % (EM). Les autres écotypes ES et EH en contiennent 9,79 % et 10,9 % respectivement. D'où un rapport oméga-6/oméga-3 allant de 0,26 % à 0,35 %. D'autre part, des taux élevés en acides gras

polyinsaturés (52,97 % et 51,60 %) ont été notés dans les feuilles de EH et de EM respectivement.

Quant aux acides gras saturés, leurs taux restent aussi élevés soit de l'ordre de 40,12 % (ES) et 38,78 % (EC). Les feuilles de EM et de EH gardent presque les mêmes proportions en ces acides (tableau 29). Ces résultats permettent de déterminer un rapport I/S variant de 1,41 (EC) à 1,5 (EH). Ce rapport est plus faible par rapport à d'autres espèces comme la vigne (4,16) (Koussa et *al.*, 2002).

Les feuilles de *Z. jujuba* sont riches en acide linolenéique. Cette richesse a été notée par Koussa et *al.* (2002) dans les feuilles de la vigne avec des proportions plus faibles (56,5 %). Ils ont signalé aussi la présence des acides linoléique et palmitique avec les taux de 19,8 % et 17,0 % respectivement.



Chromatogramme 3 : Profil des acides gras dans les feuilles de Z. jujuba étudiés.

Tableau 30 : Distribution de la composition en acides gras de la fraction lipidique des feuilles de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Acides gras	Saturation	ES	EC	EH	EM
Laurique	C 12:0	$0,40 \pm 0,43a$	$0.74 \pm 0.07a$	$0,69 \pm 0,02a$	$0,69 \pm 0,03a$
Myristique	C 14: 0	$2,50 \pm 0,12a$	$2,14 \pm 0,1b$	$2,39 \pm 0,04a$	2,48 ± 0,02a
Palmitique	C 16:0	$23,04 \pm 0,39a$	20 ± 1,67a	$21,12 \pm 0,32a$	$21,17 \pm 0,5a$
Stéarique	C18:0	$9,82 \pm 0,26a$	9,80 ± 1a	$9.5 \pm 0.23a$	$9,5 \pm 0,35a$
Oléique					
(oméga-9)	C 18: 1n9	$13,08 \pm 1,29a$	$8,88 \pm 1,23b$	$7 \pm 0,31b$	$7,76 \pm 0,67b$
Linoléique (oméga-6)	C 18: 2n6	$12,19 \pm 0,15a$	9,79 ± 0,81c	$10,93 \pm 0,05b$	$12,05 \pm 0,13a$
Arachidique	C20:0	$2,38 \pm 0,07b$	$2,47 \pm 0,15b$	$3,13 \pm 0,08a$	$3,24 \pm 0,08a$
Linolénique (oméga-3)	C18:3 n3	$34,38 \pm 0,1b$	34,4± 1,58b	42,04 ± 0,83a	39,55 ± 1,3a
Béhénique	C22:0	$1,98 \pm 0,18d$	$2,61 \pm 0,06c$	$3,22 \pm 0,03b$	$3,47 \pm 0,07a$
oméga-6/oméga-3		0,35	0,28	0,26	0,30
∑polyinsat.		46,57	44,19	52,97	51,60
∑mono-insat.		13,08	8,88	7,00	7,76
∑sat.		40,12	37,76	40,05	40,55
I/S		1,48	1,41	1,50	1,46

Le premier nombre indique la longueur de la chaîne d'acide gras et le second indique le nombre de doubles liaisons avec signification de l'emplacement de la double liaison (s).

 Σ sat. : Acides gras saturés =12:0 + 14:0 + 16:0 + 18:0 + 20:0 + 22:0

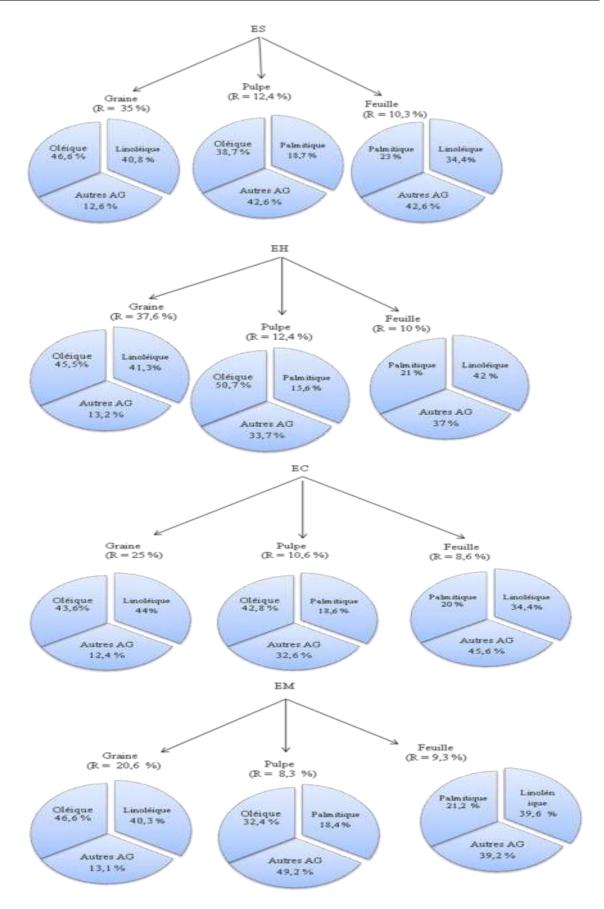
∑mono insat. : Acides gras mono-insaturés 18:1

 \sum polyinsat.: Acides gras polyinsaturés = 18:2 + 18:3

I/S = Acide insaturés / acides saturés

Les moyennes suivies par lettres différentes dans une même ligne sont significativement différentes les unes des autres au niveau p < 0.05.

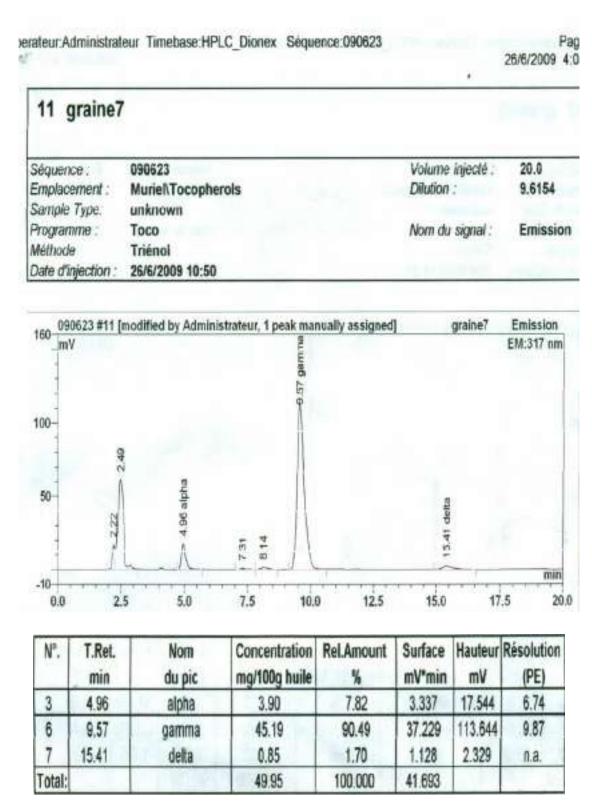
Une comparaison entre les quatre écotypes de Z. ziziphus est établie dans la fig. 12



EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax; R: rendement; AG; acide gras Fig. 12: Bilan de la composition des différents organes de *Z. ziziphus* en Acides Gras (AG).

3.3.1.2. Composition en tocophérols (Vitamine E)

Cette analyse intéresse essentiellement les graines. Les feuilles et les pulpes sont dépourvues des tocophérols (chromatogramme 4).



Chromatogramme 4 : Fraction tocophérolique des graines de Z. jujuba étudiés.

L'analyse de la fraction tocophérolique des graines de Z. jujuba (tableau 31) fait ressortir un taux de tocophérols totaux de l'ordre de 510 à 593 mg/kg. Ces valeurs, situées entre celles de l'olivier (300 mg/kg) et du pépin de raisin (700 mg/kg), peut conférer à cette huile un intérêt pharmaceutique et cosmétique (Rahmani, 2005).

Tableau 31 : Composition tocophérolique (mg/100g huile) dans les graines des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

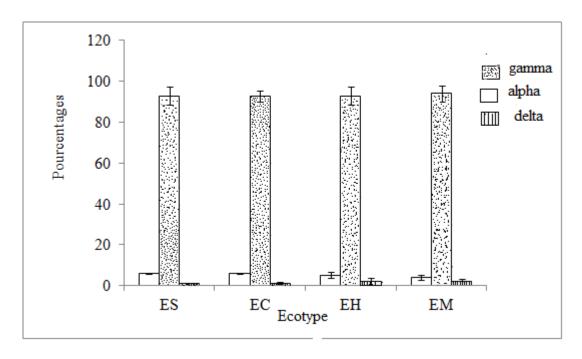
Ecotypes Composés	ES	EC	ЕН	EM
Alpha	$2,96 \pm 0,2 \text{ ab}$	$3,24 \pm 0,33$ a	$3,02 \pm 0,45 \text{ ab}$	$2,33 \pm 1,01b$
Gamma	47,39 ± 1,2 c	$51,14 \pm 0,11b$	55,03 ± 2,19 a	53,06 ± 3,74 ab
Delta	0.7 ± 0.3 a	0.73 ± 0.1 a	1,26 ± 1,04 a	1,08 ± 1,3 a

EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

Suite à cette analyse, trois types de tocophérols (alpha, gamma et delta) ont été déterminés dont le gamma tocophérol est le composé le plus actif (55,03 mg/100g pour l'huile de EH). Cette valeur est légèrement plus basse chez EM et EC (53,03 et 51,14 mg/100g d'huile). Le taux le plus faible est enregistré chez les graines de ES (47,39 mg/100g d'huile) respectivement. Les taux du tocophérol gamma trouvés pour *Z. jujuba* sont comparables à ceux obtenus par Bramley et *al.* (2000) pour l'huile de la noix de coco.

La comparaison des teneurs en tocophérols chez les graines des quatre écotypes de *Z. jujuba* montrent que le tocophérol gamma est présent avec les mêmes pourcentages (93 %) dans les graines de ES, EC et EH. Elle augmente légèrement (94 %) chez EM. Les tocophérols alpha et delta existent en faibles quantités. Le tocophérol alpha varie de 4,13 % (EM) à 5,8 % (EC et ES). Le tocophérol delta reste minime avec des proportions de l'ordre de 2,12 % pour EH (fig. 13). Le taux élevé en tocophérol gamma et la faible teneur en acide linolénique (acide gras très sensible à l'oxydation) dans l'huile de *Z. jujuba* lui confère une grande stabilité pendant la conservation (Rahmani, 2005).

Cette composition est différente de celle citée par San et *al.* (2010) qui ont pu déterminer uniquement l'alpha-tocophérol dans les fruits de *Z. jujuba* avec des proportions faibles variant de 0,04 à 0,07 mg/100 g en utilisant comme éluant le mélange méthanol/ acetonitrile / tetrahydrofuran (73:20:7,134 v/v).



EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

Fig. 13 : Composition tocophérolique (en %) des huiles extraites des graines des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Un autre type de tocophérol (β -tocophérol) a été détecté par d'autres auteurs chez d'autres espèces de *Ziziphus*. Chouaibi et *al.* (2011) ont trouvé un taux de β -tocophérol dans les graines de *Z. lotus* de 130,47 mg 100 g⁻¹. Feng et *al.* (2011) ont signalé un taux de β -tocophérol de 3,73 % chez *Z. spinosa*.

Cette variation quali-quantitative en tocophérols entre les quatre écotypes peut être expliquée par une variabilité génétique comme cela a été avancé par Velasco et *al.* (2002) et Bergman et Xu (2003) pour quelques espèces cultivées : colza, soja, avoine, blé, maïs et riz.

3.3.1.3. Composition en stérols

Les stérols végétaux appelés aussi les phytostérols, fraction majoritaire des insaponifiables, tiennent une place primordiale dans la nutrition humaine. En effet, ces composés agissent en diminuant le taux du cholestérol total dans le sang (Hachicha et *al.*, 2007). Ils sont aussi utilisés comme anti-cancérigènes et anti-inflammatoires.

Dans ce paragraphe, nous nous intéressons à l'analyse des stérols obtenus à partir des huiles extraites des feuilles, des pulpes et des graines des quatre écotypes de *Z. jujuba* étudiés (photo 26).



Photo 26: Stérols extraits des différents organes de Z. jujuba étudiés.

3.3.1.3.1. Stérols des graines

L'huile extraite à partir des graines (tableau 32) présente une teneur en stérol total (TS) de l'ordre de 221,4 mg/100g de la matière grasse. Cette richesse quantitative est située entre celle de l'olive (150 mg/100g) celle de l'arachide (229 mg/100g) et (Phillips et *al.*, 2005).

Tableau 32: Stérols des graines de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Ecotypes Composés	ES	EC	ЕН	EM
Cholestérol	$0,22 \pm 0,03$ b	$0.32 \pm 0.03a$	$0,23 \pm 0,09$ ab	Trace
Campestérol	19,24 ± 4,13ab	$20,33 \pm 0,47a$	15,32 ± 1,34b	$16,29 \pm 0,31$ ab
Stigmastérol	27,32 ± 5,82a	$25,66 \pm 0,06a$	$18,25 \pm 1,59c$	23,21 ± 0,51ab
β-Sitostérol	214,32 ± 1,3a	$170,37 \pm 2,41b$	$140,31 \pm 8,26d$	$151,62 \pm 3,57c$
Δ-5- Avénastérol	10,41 ± 1,89a	8,86 ± 0,1ab	$7,93 \pm 0,35$ b	$9,86 \pm 0,25a$
β-sitost. /camp.	11,1	8,4	9,2	0,6

EC : Choutrana ; EM : Mahdia ; EH : Mahres ; ES : Sfax

Les moyennes suivies par des lettres différentes dans une même ligne sont significativement différentes les unes des autres au niveau p <0,05. Ces résultats sont exprimées en mg/100g d'huile. β -sitost./camp.= β -Sitostérol/ Campestérol.

Cette diversité qualitative fait ressortir cinq principaux stérols où le β -sitostérol est majoritaire pour les quatre écotypes étudiés. D'autre part, nous avons noté une supériorité en stérols des graines de ES (214,32 mg/100g d'huile), alors que EC et EM en contiennent 170,37 et 151,62

mg/100g d'huile respectivement. L'écotype EH est le moins riche en ce stérol avec un pourcentage de 140,31 mg/100g d'huile. Le stigmastérol a été détecté avec des proportions importantes (27,32 ; 25,66 ; 23,21 et 18,25 mg /100g d'huile chez ES, EC, EM et EH respectivement).

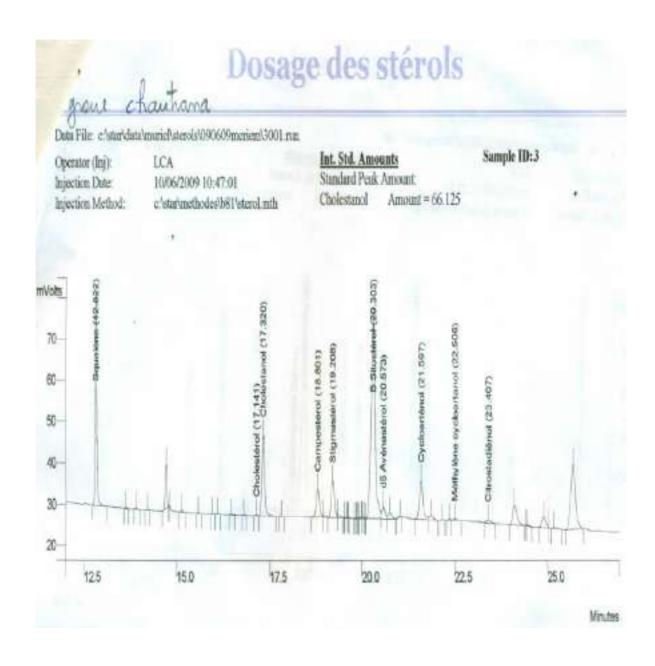
Par comparaison à d'autres espèces, le β -sitostérol a été détecté en quantités importantes dans les germes de blé, de soja et de maïs (Verleyen, 2002; Phillips et al., 2005). Pour le tournesol, ce composé varie de 100 à 187 mg $100g^{-1}$ d'huile (Phillips et al., 2005).

Signalons par ailleurs que le campestérol est détecté avec des valeurs oscillant entre 20,33 mg/100g d'huile chez EC et 15,32 mg/100g d'huile chez EH. En fait, cette composition en campestérol s'oppose à la majorité d'autres espèces citées dans la littérature comme les graines de maïs et du germe de blé dont les taux de ce stérol sont de l'ordre de 309,2 et 122 mg/100g respectivement (Verleyen, 2002).

D'autres stérols ont été aussi détectés en quantités non négligeables (Chromatogramme 5). Parmi ces composés, on cite le Δ-5 avénastérol dont le taux est de l'ordre de 10,41 mg/100g d'huile chez ES. Dans les graines issues des trois autres écotypes, le stérol reste dans le même ordre de grandeur (9,86; 8,86 et 7,93 mg/100g d'huile pour EM, EC et EH respectivement).

Le cholestérol a été enregistré comme le stérol le moins représenté dans les trois écotypes. Il ne dépasse pas 0,32 mg/100g et même 0,22 mg/100g dans EC, ES et EH. Il est totalement absent dans les graines de EM.

D'autre part, le rapport β -sitostérol/campéstérol varie de 8,4 à 9,3. Un tel rapport est plus élevé que celui obtenu par Roche et *al.* (2010) dans les graines de tournesol (6,3).



Chromatogramme 5 : Profil des stérols dans les graines de Z. jujuba étudiés.

3.3.1.3.2. Stérols des pulpes

Les pulpes présentent une faible diversité des compositions phytostéroliques avec un taux de stérols totaux de l'ordre de 14 mg/100g. Les résultats sont illustrés sur le chromatogramme 6. La composition en phytostérols varie significativement, avec une augmentation du β -sitostérol et une diminution des teneurs en campestérol. La lecture du tableau 33 montre que le β -sitostérol est présent avec des proportions importantes (10,65 mg/100g d'huile et 9,69 mg/100g d'huile) dans les pulpes de EC et ES. Ce taux devient minime et ne dépasse pas 4,14 mg/100g d'huile et même 3,02 mg/100g d'huile dans les pulpes de EH et de EM.

Tableau 33: Stérols des pulpes de Z. jujuba étudiés (n = 3 moy \pm ET)

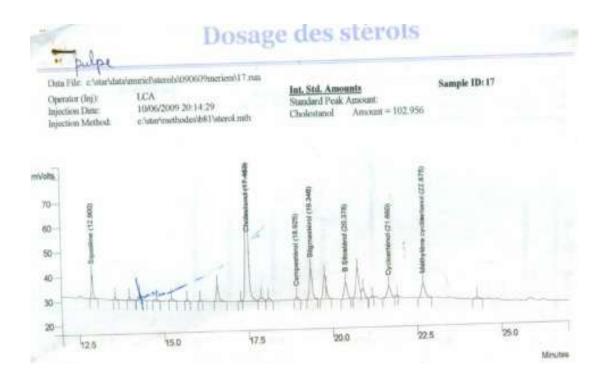
Ecotypes				
Composés	ES	EC	ЕН	EM
Campestérol	$1,37 \pm 0,11b$	2,4 ± 0,64a	trace	Trace
Stigmastérol	16,12 ±0,87a	$4,69 \pm 1,18b$	$1,35 \pm 0,9c$	$1,81 \pm 0,16c$
β-Sitostérol	$9,69 \pm 0,45a$	$10,65 \pm 2,86a$	$4,14 \pm 0,91b$	$3,02 \pm 0,09b$
d- 7- Stigmasténol	trace	$0.82 \pm 0.01a$	trace	Trace

EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

Les moyennes suivies par lettres différentes dans une même ligne sont significativement différentes les unes des autres au niveau p < 0.05.

Ces résultats sont exprimées en mg/100g d'huile.

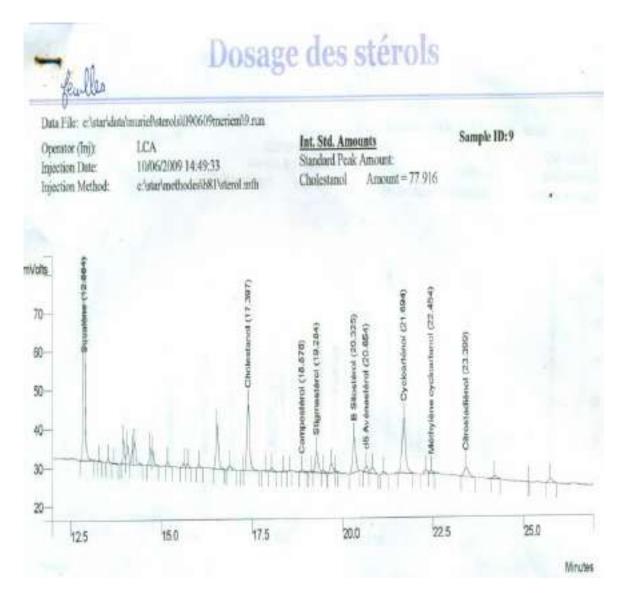
Quant au stigmastérol, composé major de ES (16,1 mg/100g d'huile), il donne des proportions de 4,69 mg/100g d'huile, 1,81 mg/100g d'huile et 1,35 mg/100g d'huile pour EC, EM et EH, respectivement. Le D-7- stigmastérol a été détecté avec une très faible valeur (0,82 mg/ mg d'huile) chez EC seulement.



Chromatogramme 6 : Profil des stérols dans les pulpes de Z. jujuba étudiés.

3.3.1.3.3. Stérols des feuilles

L'huile extraite des feuilles (chromatogramme 7) présente un taux de stérols totaux de l'ordre de 64 mg/100 g dont le profil se caractérisant par la prédominance de deux principaux stérols : le stigmastérol et le β -sitostérol.



Chromatogramme 7: Profil des stérols dans les feuilles de Z. jujuba étudiés.

La composition en stérol des feuilles montre que le stigmastérol varie de 18,06 (ES) à 24,18 mg/100g d'huiles (EM). Le β -sitostérol est élevé dans tous les écotypes, atteignant un maximum pour EM (40,36 mg/100g de l'huile). Chez les feuilles de EH, ce taux est de 37,32 mg/100g. Il est aussi détecté avec des valeurs élevées (32,25 mg/100g d'huile et 33,77 mg/100g d'huile) dans les feuilles de EC et ES respectivement. Les autres stérols comme le delta-5-avenastérol existent avec des proportions moins importantes soit de l'ordre de 6,91 mg/100g d'huile ; 6,19 mg/100g d'huile, 5,2 mg/100g d'huile et 3,88 mg/100g d'huile pour

EM, ES EH et EC respectivement. Le campestérol (1,5 mg/100g d'huile, 0,8 mg/100g d'huile et 0,5 mg/100g d'huile) est détecté uniquement dans les feuilles de ES, de EC et de EM (tableau 34).

Tableau 34: Les stérols des feuilles de Z. jujuba étudiées (n = 3, moy \pm ET).

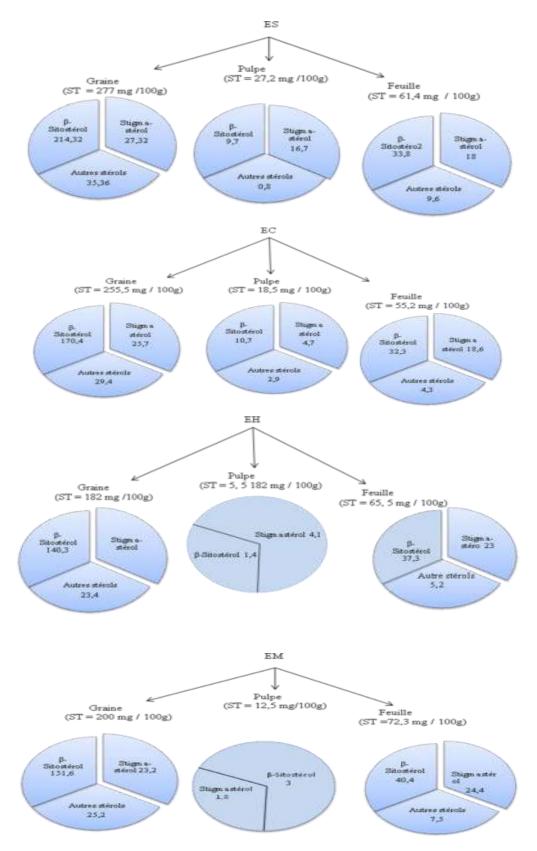
Ecotypes Composés	ES	EC	ЕН	EM
Stigmastanol	$2,29 \pm 0,16b$	trace	trace	Trace
Campestérol	$1,11 \pm 0,24a$	$0,55 \pm 0,1b$	trace	0.81 ± 0.11 a,b
Stigmatérol	18,06 ± 1a	$18,55 \pm 0,01$ b	$22,94 \pm 0,03a$	24,18 ± 1,21a
β-Sitostérol	$33,77 \pm 0,1c$	$32,25 \pm 0,07d$	$37,32 \pm 0.8b$	$40,36 \pm 0,66a$
d-5- Avénastérol	$6,19 \pm 0,7a$	$3,88 \pm 0,08c$	$5,2 \pm 0,12b$	$6,91 \pm 0,05a$

EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

Les moyennes suivies par des lettres différentes dans une même ligne sont significativement différentes les unes des autres au niveau p <0,05.Ces résultats sont exprimées en mg/100g d'huile.

Les résultats trouvés pour les feuilles de *Z. jujuba* restent faibles par rapport à d'autres espèces comme le genre *lotus*. Chouaibi et *al.* (2011) ont signalé que l'huile extraite des graines de *Z. lotus* a été riche en $\Delta 7$ -campestérol et β -sitostérol (147,82 mg/100g d'huile et 82,10 mg 100 g⁻¹ d'huile), respectivement. Par contre, ces analyses sont comparables à la composition des feuilles de *Z. spina christi* qui contient 37,39 mg/100g d'huile de β -sitostérol (Feng et *al.*, 2011).

La comparaison entre les quatre écotypes étudiés est résumée sur la fig. 14



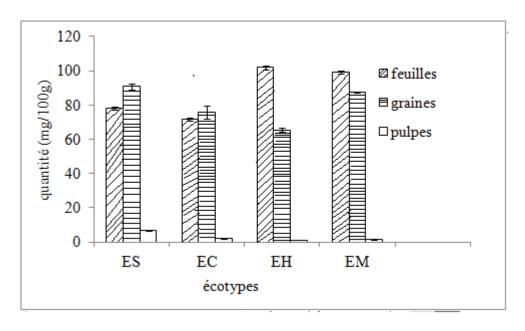
Les résultats sont exprimé en mg/ 100g ; EC : Choutrana ; EM : Mahdia ; EH : Mahres ; ES : Sfax; ST :, Sterols totaux

Fig. 14 : Bilan de la composition des différents organes de Z. jujuba en stérols.

3.3.1.4. Composition en alcools triterpéniques et méthylstérols

3.3.1.4.1. Alcools triterpéniques

Les alcools triterpéniques présentent des effets biologiques multiples comme antiinflammatoires (Manez et *al.*, 1997; Recio et *al.*, 1995), antimicrobiens (Li et *al.*, 1997; Suksamrarn et *al.*, 2006) et antioxydants (Bowen-Forbes et *al.*, 2009; Liu et *al.*, 2010). L'analyse fait ressortir deux principaux alcools triterpéniques qui sont le squalène et le méthylène cycloartanol. Les résultats sont illustrés sur les fig. 15 et 16.

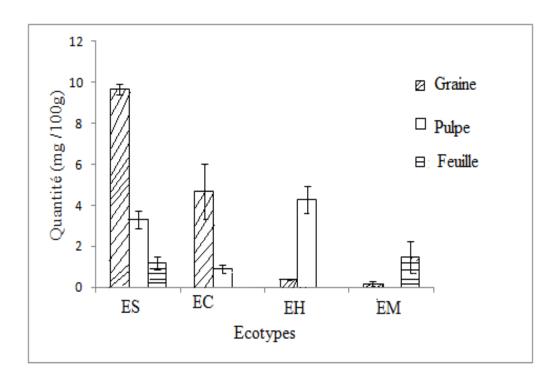


EC : Choutrana ; EM : Mahdia ; EH : Mahres ; ES : Sfax Fig. 15 : Composition en squalène des graines, des feuilles et des pulpes des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Les feuilles sont les principales sources de squalène. Les valeurs les plus élevés (101,82 et 99,28 mg/100g d'huile) ont été enregistrées dans les feuilles de EH et de EM respectivement. Les graines sont aussi riches en squalène dont le taux oscille entre 90,91 mg/100g (ES) et 65,52 mg/100g (EH). Toutefois, ce composé reste assez faible (de 1,09 à 6,46 mg/100g) dans l'endocarpe pulpeux (fig. 15).

Z. jujuba est riche en squalène stocké essentiellement dans les feuilles. Ces taux restent élevés par rapport à ceux cités pour Z. spina christi (30,79 %) (Feng et al., 2011).

Cest proportions élevées en squalène accordent au Z. jujuba une importance nutritionnelle. Cette idée a été affirmée par plusieurs auteurs qui ont insisté sur l'effet cytotoxique de ce composé dans le traitement des tumeurs (Suksamrarn et *al.*, 2006; Lee et *al.*, 2003; Lee et *al.*, 2004 et Eiznhamer et Xu, 2004).



EC : Choutrana ; EM : Mahdia ; EH : Mahres ; ES : Sfax Fig. 16 : Composition en méthylène cycloartanol des graines, des feuilles et des pulpes des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Le méthylène cycloartanol est stocké principalement dans les graines. Il varie de 0,2 % (EM) à 4,68 % (EC) et 9,65 % (ES). Dans les pulpes, il est présent dans trois écotypes seulement (EH, ES et EC). EH est l'écotype le plus riche (5,5 mg/100g) alors que EC est l'écotype le plus pauvre (0,9 mg/100g). Les feuilles sont les organes les plus pauvres en méthylène cycloartanol, ayant été détecté seulement dans les écotypes ES (1,2 mg/100g) et EM (1,8 mg/100g).

3.2.1.4.2. Méthylstérols

L'étude des trois organes (graines, feuilles et fruits) met en évidence deux composés qui sont le cycloarténol et le citrostadiénol (tableaux 35, 36 et 37). Les graines sont plus riches en cycloarténol. EC présente le taux le plus élevé (31,27 mg/100g). EM et EH en contiennent respectivement 23,95 et 21,4 mg/100g. ES présente les pourcentages les plus faibles (14,15 %). L'autre composé (le citrostadiénol) existe seulement dans les graines de ES, EC et EH mais avec des proportions faibles (tableau 35).

La richesse des jujubes en citrostadiénol reste comparable à celle mentionnée par Rahmani (2005) dans les graines d'huiles d'argon (3,9 %).

Tableau 35 : Méthylstérols présents dans les graines de Z. jujuba étudiés (n =100, moy \pm ET).

Ecotypes				
Composés	ES	EC	ЕН	EM
Cycloarténol	$14,15 \pm 2,74c$	$31,27 \pm 0,95a$	$21,40 \pm 0,26$ bc	$23,95 \pm 0,18b$
Citrostadiénol	$2,84 \pm 0,66a$	2,49 ± 0,01a	$0,70 \pm 0,7b$	Trace

EC : Choutrana ; EM : Mahdia ; EH : Mahres ; ES : Sfax

Les moyennes suivies par des lettres différentes dans une même ligne sont significativement différentes les unes des autres au niveau p <0,05. Ces résultats sont exprimés en mg/100g d'huile.

Les feuilles présentent la même composition qualitative que les graines. Le citrostadiénol a été enregistré en proportions allant de 6,61 mg/100g (EC) à 10,76 et même 12,27 mg/100g chez les individus issus respectivement de EM et EH. D'autre part, nous avons noté une différence significative entre les quatre écotypes quant à la distribution du cycloarténol. En effet, des taux minimes (8,78 mg/100g) ont été enregistrés dans les feuilles de EM. Ces taux sont plus élevés chez les autres écotypes (tableau 36).

Tableau 36: Méthylstérols présents dans les feuilles de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Ecotypes Composés	ES	EC	ЕН	EM
Cycloarténol	56,18±2,42c	64,99±0,76b	68,55±0,06a	8,78±1,42d
Citrostadiénol	10,46±2,16a	6,61±1,87b	12,27±0,7a	10,76±0,56a

EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

Les moyennes suivies par des lettres différentes dans une même ligne sont significativement différentes les unes des autres au niveau p <0.05. Ces résultats sont exprimés en mg/100g d'huiles.

Des similitudes qualitatives sont aussi remarquées entre les composés issus des feuilles, des graines et des pulpes de *Z. jujuba*. En effet, les mêmes substances déjà citées sont présentes avec l'existence d'une différence quantitative. Le cycloarténol se présente comme composé major dans l'endocarpe pulpeux de *Z. jujuba*. Aussi, des différences se rapportant à la présence de citrostadiénol qui n'existe, en faible pourcentage, que dans les pulpes de EC, ont été constatées.

Ecotypes Composés	ES	EC	ЕН	EM
Cycloarténol	$7,94 \pm 0,41b$	$19,51 \pm 6,32c$	$2,95 \pm 0,24b$	$2,26 \pm 0,21b$
Citrostadiénol	Trace	$0,12 \pm 0,1a$	trace	Trace

Tableau 37: Méthylstérols présents dans les pulpes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

Les moyennes suivies par des lettres différentes dans une même ligne sont significativement différentes les unes des autres au niveau p <0.05. Les résultats sont exprimées en mg/100g d'huile.

La composition en méthylstérols présents dans les pulpes de *Z. jujuba* étudiés est différente de celle mentionnée par Guo et *al.* (2010) qui ont isolé d'autres composés triterpéniques comme les acides pomonique, ursolique et ursonique à partir des fruits de *Z. jujuba*. Lee et *al.* (2004) ont pu isoler d'autres acides triterpéniques comme l'acide oléanolique, l'acide betulonique, l'acide oléanonique, l'acide zizyberenalique et l'acide betulinique. Cette richesse en acides triterpéniques confère au *Z. jujuba* une activité anticarcinogénique (Fulda et *al.*, 2009; Kassi et *al.*, 2007). Ces acides sont souvent utilisés dans la fabrication des produits cosmétiques (Romero et *al.*, 2010).

3.3.2. Composés phénoliques

Les composés phénoliques présentent des usages multiples. Outre le fait qu'ils améliorent la qualité nutritionnelle des fruits, ils leur assurent plusieurs rôles : antioxydants, anticancéreux et antibactériens (kamiloglu et al., 2009). Ils sont aussi utilisés dans le traitement des maladies cardiaques et inflammatoires (Lopez et al., 2003; Zheng et al., 2007). Vue les intérêts qu'ils détiennent, nous avons dosé et analysé les ployphénols dans les différents organes de Z. jujuba (feuilles, pulpes et graines).

3.3.2.1. Dosage des composés phénoliques

La comparaison entre les trois organes (graines, feuilles et pulpes) a été effectuée. Les résultats, représentés sur la fig. 17 et exprimés en équivalent acide gallique (EAG), montrent que les graines sont les meilleures sources des polyphénols dont la concentration varie de 23,28 mg/L à 31,14 mg/L.

Parmi les quatre écotypes, EM est le plus riche en polyphénols, suivi par ES, alors que EC et EH présentent les taux les plus bas.

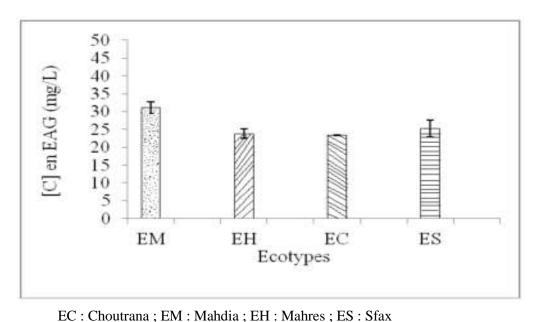


Fig. 17: Variation du pourcentage des polyphénols en équivalent acide gallique dans les graines des quatre écotypes de *Z zizyphus* étudiés (n = 3, moy ± ET).

La pulpe est le deuxième organe de stockage des polyphénols. Les résultats sont consignés sur la fig. 18. ES et EM sont les plus riches par rapport aux autres écotypes. EH et EC possèdent les taux les moins élevés.

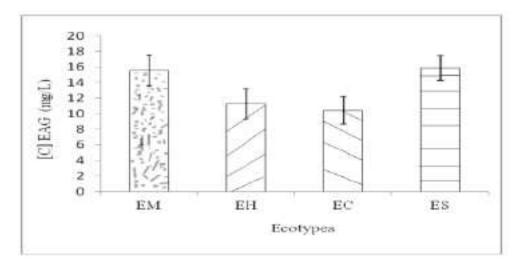
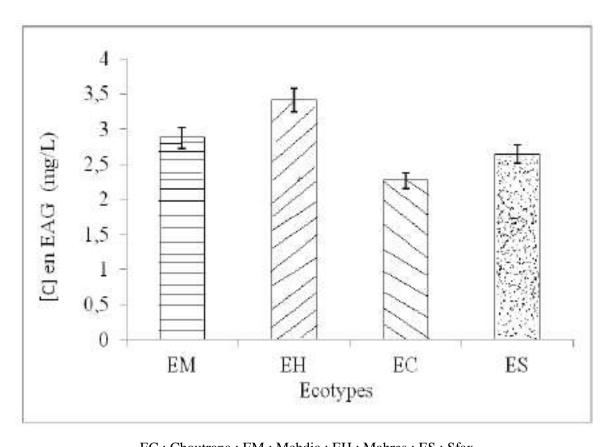


Fig. 18 : Variation du pourcentage des polyphénols en équivalent acide gallique dans les pulpes des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Les polyphénols des pulpes de *Z. jujuba* varient de 10,43 mg/L à 15,85 mg/L. Ces valeurs sont légèrement plus basses que celles signalées par Kamilolu et *al.* (2009) (25 mg GAE g⁻¹ à 42 mg GAE g⁻¹) qui a travaillé sur des génotypes sélectionnés en Turkey. Le taux des polyphénols obtenu pour les pulpes de *Z. jujuba* (15,85 mg/L) est nettement élevé par rapport aux valeurs trouvées chez *Z. lotus* (8,96 %) par Djemai (2009).

En dehors du genre *Ziziphus*, les fruits d'Eucalyptus camaldulensis sont doublement plus riches (34 mg/100 g) (Ahmed et *al.*, 2001) en polyphénols, les feuilles de *Myrtus communis* L., en contiennent 4 % (San et *al.*, 2010). Zadernowski (2005) a lié cette variabilité à plusieurs facteurs comme l'origine de l'espèce, les conditions de croissance (sols, géographie et environnement), le degré de maturité et essentiellement les différences génétiques.

Pour les feuilles, les résultats consignés sur la fig. 19, montrent qu'elles sont les organes les plus pauvres en polyphénols. Elles contiennent entre 2,3 et 3,6 mg/L, celles relevant de EH sont les plus riches en polyphénols alors que celles de EC sont les plus pauvres.



 $EC: Choutrana \; ; EM: Mahdia \; ; EH: Mahres \; ; ES: Sfax \\ Fig. 19: Variation du pourcentage des polyphénols en équivalent acide gallique dans les feuilles des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy <math>\pm$ ET).

Une analyse des polyphénols des feuilles de *Z. jujuba* effectuée par Li et *al.* (2007) a montré un taux élevé par rapport à nos résultats (8,53 mg/L).

Notre analyse montre que *Z. jujuba* est riche en polyphénols qui sont essentiellement stockés dans les graines et la pulpe de EM. Une telle propriété peut conférer à cet écotype une résistance aux facteurs stressants et principalement une activité antioxydante importante (Li et *al.*, 2006).

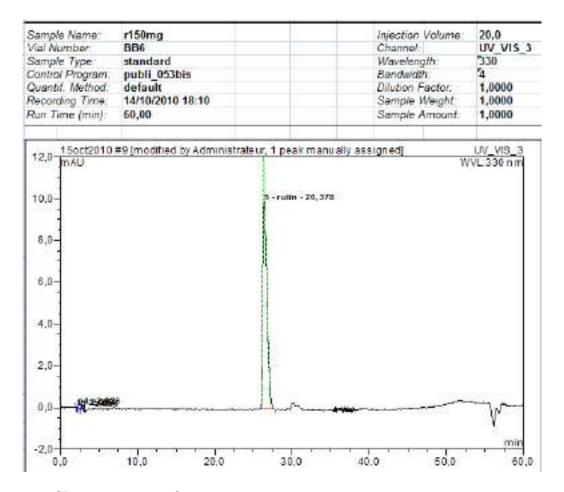
3.3.2.2. Identification des composés phénoliques

Différentes phases mobiles (acétonitrile-eaux, méthanol-eaux,...) ont été testées en HPLC afin de séparer les composés phénoliques à partir des extraits bruts des graines, des feuilles et des pulpes de *Z. jujuba*. Les résultats indiquent que ces composés pourraient obtenir une bonne résolution lorsque la phase mobile est de 3 % acides acétiques et 100 % méthanol à une longueur d'onde égale à 330 nm. Ce programme nommé «publi_053bis3» (tableau. 38) a été appliqué d'abord aux standards puis aux trois organes de *Z. jujuba* durant 60 min.

Tableau 38 : Programme «publi_053bis3» appliqué aux standards et aux trois organes de *Z. jujuba* étudiés.

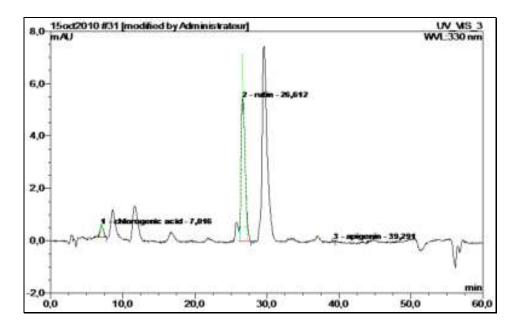
Day Time Ret.Tin	ne CommandiMessage	
08:57:16	Audit trail of sample SNP: PClocaNHPLC/Célneldivers/Zyziphus_2010/FRU(TS2 SEQ)13. Executed 2010/11/4 on finebase HPLC (server PC-H62	26CU).
03:57:16	Start of sample 15 "R 100", using program "publi_063bis3".	
03:57:16 0.400	Pressure LowerLind = 0	
03:57:16 0:400	Pressure UpperLimit = 400	
03:57:16 0.400	MaximumFlowRamp = 1008.00	
03:57:18 0.400	%A Equate = "%A eau 3%ac acetic"	
03:57:16 0:000	%B.Equate = "MB"	
03,57:16 0.000	%C.Equate = "MC MeOH"	
03:57:16 0:000	DispSpeed = 10:00	
03:57:16 0.000	DrawSpeed = 10.00	
03:57:16 0.400	SampleHeight = 0.50	
03:57:16 0:400	SyringeDelay = 5	
03:57:15 0.400	UpSpeed = 10:00	
03:57:18 0:400	DownSpeed = 10.00	
03:57:16 0:100	RadiaSpeed = 20.00	
03,57:16 0.000	SyncWthPump = On	
03:57:16 0.000	PumpDevice = "Pamp"	
03:57:16 0.000	Pump_Pressure Step = Auto	
03:57:16 0.400	Pump Pressure Average = On	
03:57:16 0:400	UV_LampRequired = Yes	
03:57:16 0.400	Visible_LampRequired = Yes	
03:57:18 0:400	30FELD.SRWigth = 4	
03:57:16 0:000	30FELD Peak/Width = 0.10	
03:57:16 0.400	UV_VIS_1.Wavelength = 250	
03:57:16 0:400	UV_VIS_1.Bandwidth = 4	
03:57:16 0.000	UV_VIS_1.RefWavelength = 360	
03:57:16 0.400	UV_VIS_1.RefBandwidth = 100	
03:57:16 0:400	UV_VIS_1.Step = Anto	
00:57:16 0:400	UV_VIS_1.Average = On	
03:57:18 0.400	UV_VIS_2:Warelength = 278	
03:57:16 0.000	UV_VIS_2.Bandwidth = 4	
03,57:16 0.400	UV_VIS_2.RefWavelength = 360	
03:57:16 0:400	UV_VIS_2.RefBandwidth = 100	
03:57:16 0.000	UV_VIS_2.Step = Auto	
03:57:16 0:400	UV_VIS_2.Average = On	
03:57:16 0:400	UV_VIS_3.Wavelength = 330	
03:57:16 0:400	UV_VIS_3.Bandwidth = 4	
03:57:18 0.000	UV_VIS_3.RefWavelength = 360	
03:57:16 0:000	UV_VIS_3.RefBandwidth = 100	
03:57:16 0.400	UV_VIS_3.Step = Auto	
03:57:16 0:000	UV_VIS_3.Average = On	
03:57:16 0.000	UV VIS 4.Wavelength = 350	

Le HPLC C18 permet d'identifier la présence de quelques substances dans chacun des trois extraits étudiés par comparaison entre le temps de rétention des standards (chromatogramme 8) et les chromatogrammes des extraits.

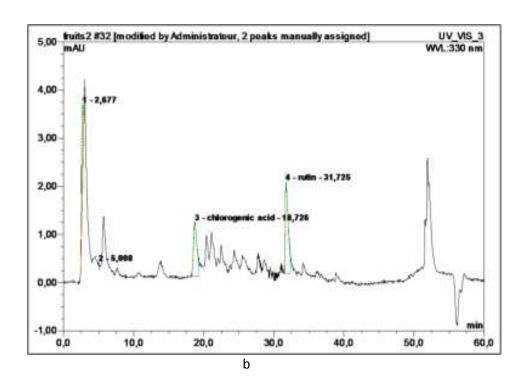


Chromatogramme 8 : Pics de la rutine injectés détectés par la chaine HPLC.

Plusieurs pics ont été détectés, mais le plus visible et le plus quantifiable est la rutine (chromatogramme 9). Les autres composés phénoliques comme l'acide chlorogénique, l'épigénie et la quercetine ont été détectés mais leurs taux étaient au-dessus de la gamme étalon.



а



Colonne C18, volume d'injection = 20µl, débit = 0,8 ml/min, phase mobile = méthanol/eau-3 % acide acétique, gradient d'élution (programme Publi 053 bis 3).

Chromatogramme 9 : Pics détectés dans les extraits des feuilles (a) et des fruits (b) de *Z. jujuba* injectés à la chaine HPLC.

Le traçage de la courbe d'étalonnage de la rutine (fig. 20) permet de quantifier le taux de ce composé dans les extraits des pulpes, des feuilles et des graines de *Z. jujuba* testés. Les résultats obtenus ont été exprimés en milligramme par 100 g de feuilles sèches et en milligramme par 100 g de pulpes fraîches.

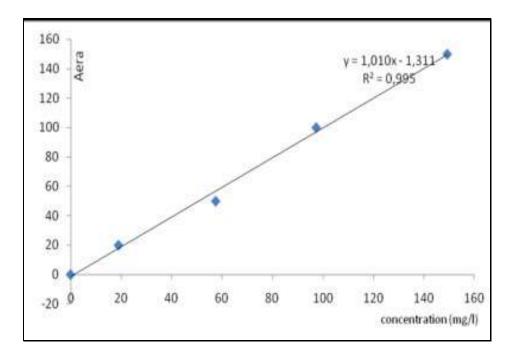
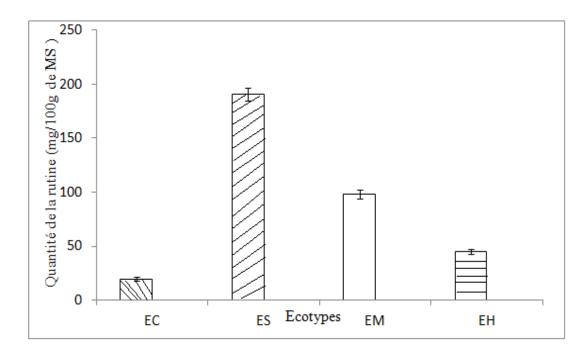


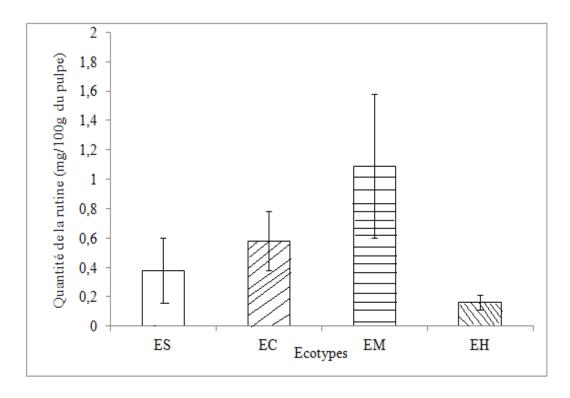
Fig. 20: Courbe d'étalonnage de la rutine

L'examen des résultats obtenus permet de mettre en évidence une variation très étendue entre les quatre écotypes d'une part et les deux organes d'autre part. En effet, la quasi-totalité de la rutine est stockée dans les feuilles de l'écotype ES (191,12 mg/100g). En seconde position, on trouve EM avec un taux de 89,35 mg/100g puis EH (45,12 mg/100g). EC est l'écotype le plus pauvre avec un taux ne dépassant pas 19,59 mg/100g de matières sèches (fig. 21).



EC : Choutrana ; EM : Mahdia ; EH : Mahres ; ES : Sfax Fig. 21 : Taux de la rutine (mg/100g) dans les feuilles des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Par ailleurs, pour les extraits des pulpes, EM est le plus riche en rutine avec un taux de l'ordre de 1,09 mg / 100g de matières fraîches. Les pulpes de EC présentent un taux intermédiaire de l'ordre de 0,58 mg / 100g de matières fraîches. La valeur la plus faible (0,16 mg /100g) a été observée chez les individus de EH (fig. 22).



EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

Fig. 22 : Taux de la rutine (mg/100g) dans les pulpes des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Les graines contiennent quelques traces de rutine (tableau 39). Le taux de rutine est situé en dessous de la gamme des standards. Son pic ne peut être détecté qu'à une gamme supérieure à 31,79 mg/100g ce qui est difficile pour les extraits testés dont les concentrations ne dépassent pas 30,4 mg/100g. Ces taux, légèrement inférieurs à la gamme standard, donnent une mauvaise intégration des pics. Certains auteurs, comme Liu et *al.* (2007), ont pu isoler d'autres flavonoïdes à partir des fruits de *Z. jujuba*.

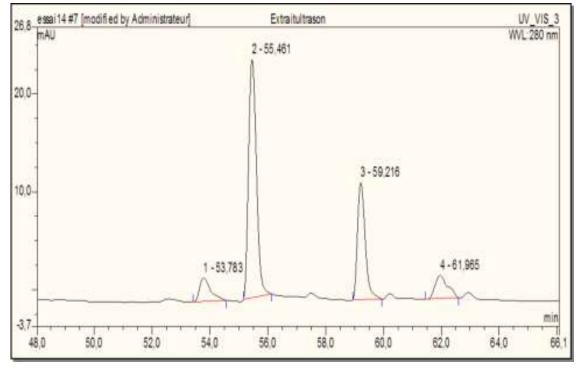
Tableau 39 : Composition des graines de Z. jujuba étudiés en rutine.

No.	Sample Name	Ret.Time min rutin UV_VIS_3	rutin			Area mAU*min rutin UV VIS 3	rutin UV VIS 3	rutin IV VIS	(EP) rutin UV VIS 3
1	MeOH	n a	n a	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
2	MeOH	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n a	n.a.	n.a
3	MeOH	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4	AP5	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
5	AP10	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
6	AP20	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
7	graine ch	n a	n.a.	n.a	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a
8	AP50	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a
9	AP100	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n a
10	AP150	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a
11	MeOH	n.a.	n a	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
12	MeOH	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
13	R5	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a
14	R10	31,820	0,4000	n.a.	n.a.	0,400	11,9070	BM **	24636
15	R20	31,794	0.5995	n.a.	n.a.	0.599	17,8477	BM **	26294
16	R50	31,779	1,9547	n.a.	n.a.	1,955	58,1932	BM **	27630
17	R100	31,788	3.5303	n.a.	n.a.	3,530	105,1014	BM **	24986
18	R150 MeOH	31,788	4,6295	n.a.	n.a.	4,630	137,8256	BM **	25779
20	MeOH	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a	n.a.	n.a.
21	ch10	n.a.	n.a. n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
22	graine ch	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
23	R50	n.a.	0.0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
24	ch10	n.a	n.a.	n.a	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a
25	graine ch	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
26	R50	па	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
27	ch20	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a
28	graine ch	n a	n a	n.a	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
28	graine ch	n.a.	n.a.	n a	n.a.	n.a.	n.a	-	n.a
29	R50	29.773	2.3045	n.a	n.a.	2,304	68.6066	MB*A	21065
30	ch20	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a	A STATE OF THE PARTY OF	n.a
31	MeOH	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a		n.a.
32	MeOH	n.a.	n.a		n.a.	0.8		-	100000
33	ch5			n.a.			n.a		n.a
	ch10	n,a	n a	n.a	n.a.	n.a.	n.a	and the state of t	n.a
34		n.a.	n.a.	n.a	n a	n.a.	n.a		n.a
35	ch20	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a	n.a		n.a
36	ch50	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a		n.a
37	ch100	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a	1 1 2 3 3 3 3	n.a
38	ch150	n.a.	n.a	n.a.	n.a.	n.a.	n.a		n.a
39	MeOH	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a	-	n.a
40	MeOH	n.a.	n.a	n.a.	n.a.	n.a.	n.a		n.a
41	graine s	30,342	16,5002	n.a	n.a.	16,500	491,2269	BMB**	
42	graine ch	30,292	47,8791	n.a.	n.a.	47,879	1425,4117	MB**	29351
43	graine md	30,244	33,8525	n.a	n.a.	33,852	1007,8228	MB**	25900
44	graine mh	18,350	0,5646	n.a.	n.a.	0,565	16,8098	BMB**	10199
45	graine s2	n.a.	n.a	n.a	n.a.	n.a.	n.a	n.a.	n a
46	graine ch2	30,322	48,5993	n.a.	n.a.	48,599	1446,8527	MB**	26531
47	graine md2	30,420	43,3700	n.a	n.a.	43,370	1291,1697	MB*	25600
48	graine mh2	30,370	50,5629	n.a.	n.a.	50,563	1505,3095	MB**	22600
49	graine s3	30,361	19,2869	n.a.	n.a.	19,287	574,1901	MB**	21226
50	graine ch3	30,303	53,4184	n.a.	n.a.	53,418	1590,3200	MB**	23160
51	graine md3	30,356	43,9506	n.a.	n.a.	43,951	1308.4548	MB**	24462
52	graine mh3	30,330	51,3984	n.a	n.a.	51,398	1530,1826	MB**	32390
53	graine mh3+cf		41,2229	n.a.	n.a.	41,223	1227,2475	MB**	27577
54	graine s3+r50	30,220	13,2541	n.a.	n.a.	13,254	394,5889	BM **	26798
55	MEOH	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a		n.a
56	MEOH			n.a					1
0.0		30.050	25,120		747,846	n.a.	75189	n.a.	n.a
	Average:	30,050	85,168 %		85,168 %		18,919 %	1	

n.a. non identifié

R : rutine

Par contre, ces analyses par HPLC montrent la présence d'autres composés phénoliques. Le chromatogramme 10 résume cette composition.



Chromatogramme 10 : Pics détectés dans les extraits des graines de *Z. jujuba* injectés à la chaîne HPLC.

Les teneurs en rutine trouvées dans les feuilles de *Z. jujuba* restent relativement faibles par rapport à celles trouvées par San et *al.* (2010) (269 à 367,9 mg/100g). D'autres auteurs comme Capanoglu et *al.* (2006) ont réussi à isoler l'acide caféique à partir de l'extrait de *Z. jujuba*.

La composition phénolique des pulpes de *Ziziphus* donne un taux de 1,09 mg / 100g de matières fraîches. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par San et *al*. (2010) qui ont identifié des proportions allant de 0,88 à 3,6 mg / 100g pour la rutine. D'autre part, Pawlowska et *al*. (2009) ont montré que les pulpes de *Z. jujuba* étaient essentiellement riches en quercétine.

Les extraits issus des graines de Z. jujuba sont dépourvus de la rutine alors que Bai et al. (2010) ont pu isoler trois flavonoïdes en utilisant la méthode de HSCCC (High-Speed Counter-Current Chromatography) et l'ethyl acetate-n-butanol-eau (3:2:5, v/v/v) comme solvant d'extraction. Zadernowski et al. (2005) pensent que ces différences qualitatives peuvent être soit d'origine externe (géographique et environnementale, condition expérimentale) soit d'origine interne (degré de maturité et différence d'origine génétique).

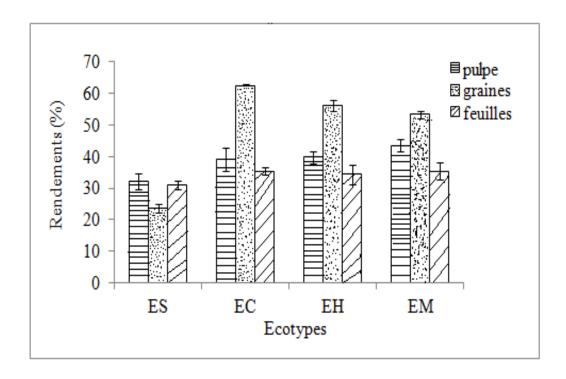
Les résultats obtenus montrent que *Z. jujuba* est riche en composés phénoliques, essentiellement la rutine localisée dans les feuilles, ce qui peut lui accorder un rôle thérapeutique et médicinal important (San et *al.*, 2010).

3.3.3. Composition en sucres et rendement d'extraction

La comparaison du rendement d'extraction entre les trois organes (graines, fruits et feuilles) est résumée par la fig. 23. On constate que les graines sont les principaux organes de stockage des sucres chez EC, EH et EM. En effet, elles présentent le rendement le plus élevé dont le taux dépasse 62 % chez EC. Les graines de ES présentent le taux le plus faible (23,25 %).

Ces pourcentages restent un peu élevés par rapport à ceux obtenus dans les pulpes où EM présente le rendement le plus élevé (43,52 %). Ce taux chute à 39 % dans EC et EH. ES présente le rendement le plus faible (32,17 %).

Les feuilles sont les organes les plus pauvres en sucres dont le rendement d'extraction reste comparable chez les trois écotypes EM, EH et EC, alors qu'il ne dépasse pas 23,52 % pour ES.

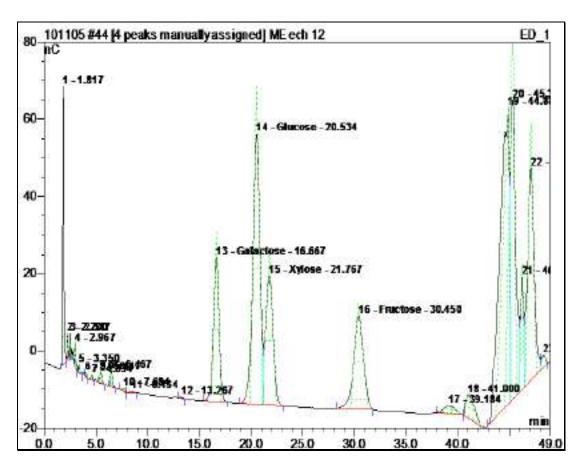


EC : Choutrana ; EM : Mahdia ; EH : Mahres ; ES : Sfax Fig. 23 : Rendement d'extraction (%) des sucres à partir des graines, des feuilles et des pulpes des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Par comparaison à des travaux antérieurs (Li et *al.*, 2007), la composition des graines de *Z. jujuba* en sucres reste faible (80,86 % à 85,63 %). Catoire et *al.* (1999) ont obtenu des proportions comparables dans les graines de *Z. lotus* (de 20 % à 32 %). Chouaibi et *al.* (2011) ont signalé un taux de 40,87 % dans la pulpe de *Z. lotus*.

3.3.3.1. Profil des sucres

L'analyse par chromatographie (chromatogramme 11) a permis d'identifier quatre principaux sucres dans ces extraits aqueux : le glucose, le galactose, le saccharose et le fructose. Cette composition (tableaux 40 et 41) varie d'un organe à un autre et d'un écotype à un autre.



Colonne = Carbo Pac PA1, volume injection = 25μl, débit = 1 ml/min.

Chromatogramme 11 : GC des extraits aqueux (en mg/L) des sucres solubles existants dans les solutions testées des quatre écotypes de *Z. jujuba* étudiés.

3.3.3.1.1. Dans les feuilles

Les feuilles contiennent essentiellement du glucose et du saccharose (tableau 40).

Tableau 40 : Composition en sucres (mg/L) des feuilles des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Sucres Ecotypes	Glucose	Saccharose
EM	$20,82 \pm 0,03c$	$15,38 \pm 0,12c$
ЕН	$23,82 \pm 0,27b$	$17,26 \pm 0,7b$
ES	$20,77 \pm 0,26c$	$14,87 \pm 0,28c$
EC	$31,2 \pm 0,16a$	$23,44 \pm 0,3a$

EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

Sur une même colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %.

Le glucose est le composant le plus dominant dont le taux dépasse 20 mg/L pour ES, EM, EH et peut même atteindre 31,2 mg/L pour EC. Le saccharose oscille entre 14,87 mg/L (ES) et 23,44 mg/L (EC). EM et EH présentent, respectivement, 15,38 et 17,26 mg/L.

Ces résultats peuvent être comparés à plusieurs travaux antérieurs. Diallo et *al.* (2004) ont signalé que les extraits des feuilles de *Z. mauritiana* contenaient 27,17 % des polysaccharides dont les principaux sucres étaient le glucose (25,98 %), le rhamnose (24,55 %) et l'acide galacturonique (19,19 %). Ces proportions sont légèrement supérieures à celles obtenues par Ele-Ekouna et *al.* (2011) dans les feuilles du thé vert : le galactose (7,2 %), l'arabinose (43,2 %), le rhamnose (4,9 %), le xylose (1,2 %), le fructose (0,8 %) et le glucose (1,6 %).

3.3.3.1.2. Dans les pulpes

L'extrait issu des pulpes est un mélange de glucose et de saccharose avec quelques traces de galactose (0,45 mg/L). Le glucose est le sucre le plus dominant, en particulier chez EM (136,51 mg/L). Les valeurs les plus faibles (88,3 mg/L) ont été enregistrées dans les pulpes de ES (tableau 41). Ce sucre semble être l'élément principal contribuant au goût sucré des jujubes. A part sa richesse en glucose, EM se distingue par la présence du saccharose avec un taux maximum de l'ordre de 113,28 mg/L. Ce sucre a été détecté avec des quantités égales (92 mg/L) dans EC et EH.

Tableau 41 : Teneurs en sucres (mg/L) des pulpes des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, $moy \pm ET$).

Sucres Ecotypes	Galactose	Glucose	Saccharose
EM	$0,45 \pm 0,00a$	$136,51 \pm 1,18a$	$113,28 \pm 2,56a$
ЕН	$0,41 \pm 0,01b$	$131,01 \pm 0,7b$	91,71 ± 1,13b
ES	0.2 ± 0.00 d	$88,3 \pm 1,97c$	$78,48 \pm 2,64c$
EC	$0.36 \pm 0.00c$	$115,4 \pm 0,47d$	$91,08 \pm 0,45$ b

EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

Sur une même colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %.

En dehors du jujubier, Ayaz et *al.* (1999) ont identifié, chez *Arbutus unedo* L., quatre principaux sucres qui sont le fructose, le glucose, le saccharose et le maltose avec les proportions de 27,8 %; 21,5 %; 1,8 % et 1,11 %, respectivement.

De Villiers et *al.* (1974) ont noté que le saccharose est synthétisé principalement dans les feuilles puis il subit, lors de son stockage dans les fruits frais, une hydrolyse donnant ainsi naissance au glucose et au fructose. D'autres analyses effectuées sur les pulpes de *Z. jujuba* par Zhao et *al.* (2004) ont mis en évidence l'existence de huit sucres qui sont le galactose (3,19 %), le fructose (0,75 %), le rhamnose (5,13 %), le xylose (0,9 %), l'arabinose (1,74 %), le glucose (2,21 %), le saccharose (2,34 %) et le mannose (4,11 %). Le contenu en sucres solubles des fruits de *Z. jujuba* a été aussi étudié par Laamouri (2009). Il a signalé que ces organes contiennent 18,3 mg/g de matières sèches. D'autres analyses effectuées par Nour et *al.* (1987) puis par Abdelmuti (1991) sur des fruits de *Z. spina christi* ont donné la composition suivante : le saccharose (21,8 %), le glucose (9,6 %) et le fructose (16 %). Dini et *al.* (1989) affirment que cette composition varie selon l'âge de l'espèce, la maturité et les conditions climatiques.

3.3.3.1.3. Dans les graines

L'analyse des graines a montré que trois écotypes seulement (EC, ES et EH) contiennent des sucres. Le sucre majeur était le fructose dont le taux a varié de 11,81 mg/L (ES) à 8,02 mg/L (EC). Le galactose, le glucose et le fructose ont été détectés avec des pourcentages minimes dans les graines de EH soient 2,65; 5,65 et 6,14 mg/L respectivement (tableau 42). Le taux

élevé du fructose accorde aux graines des vertus médicinales principalement dans les traitements diabétiques (Naglaa, 2002).

Tableau 42 : Teneurs en sucres (mg/L) des graines des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés

 $(n = 100, moy \pm ET).$

Sucres			
Ecotypes	Galactose	Glucose	Fructose
EM	Traces	traces	Traces
ЕН	$2,65 \pm 0,06a$	$5,65 \pm 0,25c$	$6,14 \pm 0,26c$
ES	$1,71 \pm 0,09c$	$6,4 \pm 0,34$ b	$11.8 \pm 0.5a$
EC	$2,41 \pm 0,07b$	$7,15 \pm 0,16a$	$8,02 \pm 0,25$ b

EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

Sur une même colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

3.3.4. Analyses des protéines

3.3.4.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction des protéines à base de phénols montre une grande variation entre les quatre écotypes (EC, EM, EH et ES) d'une part et les trois organes (feuilles, pulpes et graines) d'autre part.

Les graines sont les meilleures sources de protéines avec un pourcentage variant de 0,006 % à 0,013 %. Les graines de EH sont les plus riches. Celles de ES possèdent les taux les plus faibles. EC et EM contiennent des taux intermédiaires (0,008 %) (fig. 24).

L'analyse quantitative des protéines dans les graines de *Z. jujuba* a fait l'objet de plusieurs études. Vidrih (2008) a trouvé des taux variant de 0,73 % à 1,1 %. Chang et *al.* (2010) ont signalé que ces taux pouvaient varier de 2,9 % à 6,6 %.

Les résultats obtenus pour *Z. jujuba* sont faibles par rapport à ceux mentionnés par Naglaa (2002) dans les graines de *Z. spina christi* (15,9 %) et Catoire et *al.* (1999) dans les graines de *Z. lotus* (19,11 %).

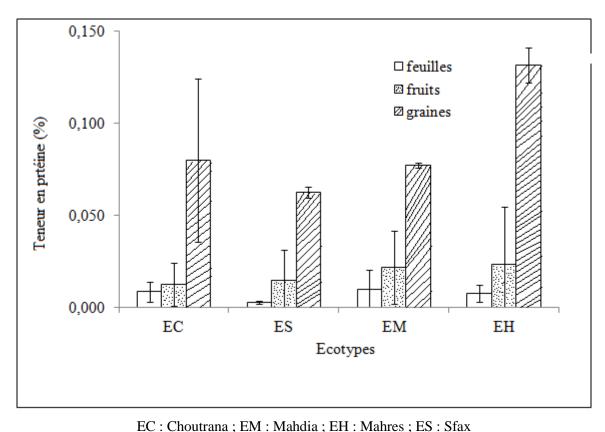


Fig. 24: Teneurs en protéines (%) dans les feuilles, les graines et les pulpes des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Les feuilles de *Z. jujuba* sont les organes les plus pauvres en protéines. En effet, la quantité des protéines accumulées dans les feuilles ne dépasse pas 0,001 %.

La lecture de la fig. 24 fait ressortir aussi quelques protéines dans la pulpe de *Z. jujuba*. EH reste toujours l'écotype le plus rentable (0,002 %). EC possède un taux de 0,001 %.

Ces résultats sont faibles par rapport à ceux obtenus par Laamouri (2009). En effet, en réalisant une analyse des fruits de trois espèces de *Ziziphus* (Z. *lotus*, Z. *jujuba* et Z. *spina christi*), il a noté des proportions de 0,19 %, 0,46 % et 0,88 %, respectivement. Berry-Koch et al. (1990) ont trouvé 4,8 g/ 100 de fruits de *Z. spina-christi*. Ces valeurs restent faibles à celles signalées par Catoire et al. (1999) dans la pulpe de *Z. lotus* (0,8 % à 2,1 %).

D'autres études faites sur *Z. mauritiana* montrent que les taux des protéines dans la pulpe varient de 2,91 % à 4,24 % (Ecevit et *al.*, 2008) et même de 1,24 % à 2,96 % (Kundi et *al.*, 1989b). Li et *al.* (2007) ont signalé que ces organes contiennent de 4,75 % à 6,86 % de protéines. Shewry et *al.* (1995) ont trouvé des proportions plus élevées par rapport à nos résultats et ils ont noté des taux qui oscillent entre 10 % et 40 % pour la pulpe de *Z. jujuba*.

3.3.4.2. Profils des acides aminés

L'analyse des acides aminés, effectuée dans les trois organes (feuilles, pulpes et graines) de *Z. jujuba*, montre l'existence d'une différence quantitative et non qualitative entre les quatre écotypes.

3.3.4.2.1. Acides aminés des pulpes

Dans les pulpes de *Z. jujuba*, les acides aminés dominants sont la proline (Pro), l'acide aspartique (Asp), l'acide glutamique (Gly), la glucine (Glu), la leucine (Leu) et l'alanine (Ala) (chromatogramme 12a et 12b).

La proline est l'acide aminé le plus dominant dont le taux varie de 12,83 mol à 17,40 mol avec une supériorité de EC par rapport aux autres écotypes. L'acide aspartique est le principal composant de la pulpe de ES (16,49 mol). D'autres acides aminés sont distribués, avec une légère variation, entre les quatre écotypes. Ces acides sont la glucine (9,38 mol à 9,79 mol), la leucine (7,27 mol à 7,30 mol), la valine (6,17 mol à 6,44 mol). La méthionine, la cytosine et la tyrosine sont aussi détectées avec des taux minimes (fig. 25).

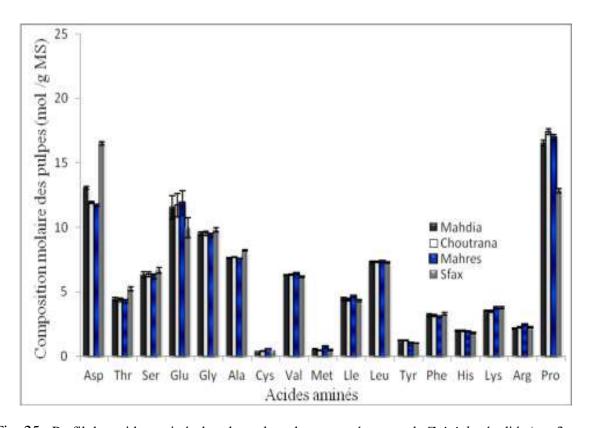
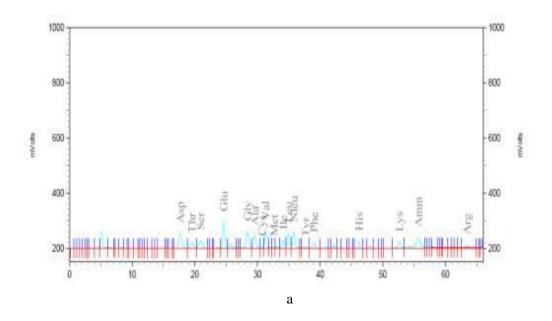


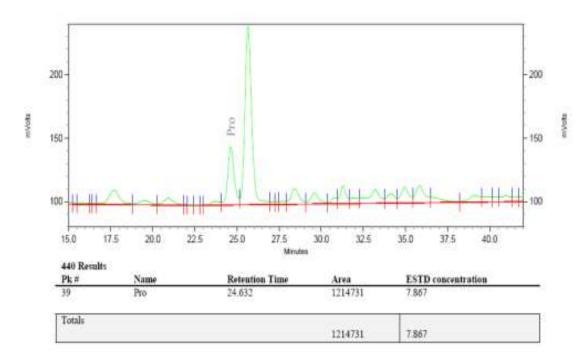
Fig. 25 : Profil des acides aminés dans les pulpes des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Biochrom 30

Method: C:\Data_Biochrom_30\Method\99610 NaOxHP.met Standard: C:\Data_Biochrom_30\Data\M7_20110713.dat Date: 22\07\2011 16:49:44

Instrument Serial No : 99610 Column No : u-2664 Resin No : 13605





b

Chromatogramme 12 : Profil des acides aminés (a) et en proline (b) des pulpes des quatre écotypes de *Z. jujuba* étudiés.

Magdi et *al.* (2009) ont également mis en évidence l'importance des acides aminés essentiels (32,96 %) et non essentiels (61,25 %) dans la pulpe de *Z. lotus*.

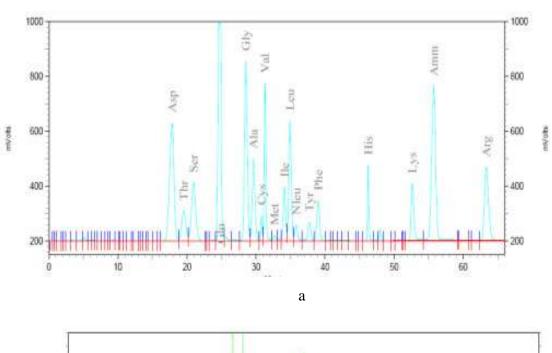
3.3.4.2.2. Acides aminés des feuilles

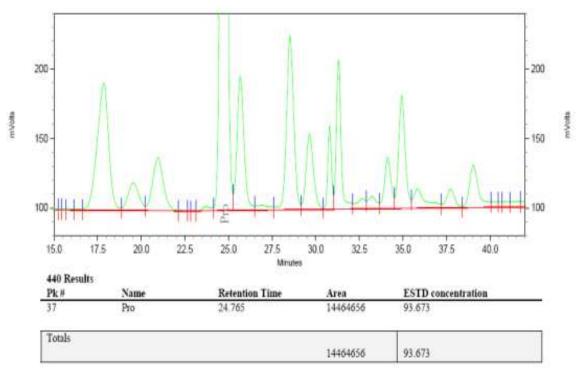
Dans les feuilles, l'acide aspartique domine. Il est localisé essentiellement dans les feuilles de ES (chromatogrammes 13a et 13b).

Biochrom 30

Method: C:\Data_Biochrom_30\Method:99610 NaOxHP.met Standard: C:\Data_Biochrom_30\Data\M10_20110713.dat Date: 22/07/2011 16:49:49

Instrument Serial No : 99610 Column No : u-2664 Resin No : 13605





b

Chromatogramme 13 : Composition en proline (a) et en acides aminées (b) des feuilles de *Z. jujuba* étudiés.

Il existe aussi d'autres acides comme la proline, la glucine, la glutamine, l'alanine et la leucine. Pour tous ces acides, ES reste toujours l'écotype le plus riche avec des proportions de 9,92 mol, 9,15 mol, 8,39 mol, 8,30 mol et 7,37 mol, respectivement (fig. 26).

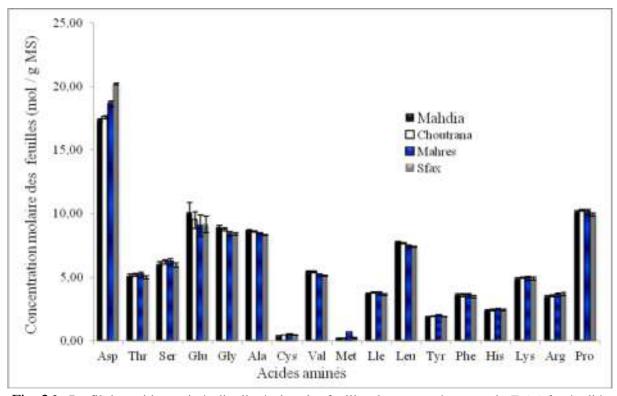
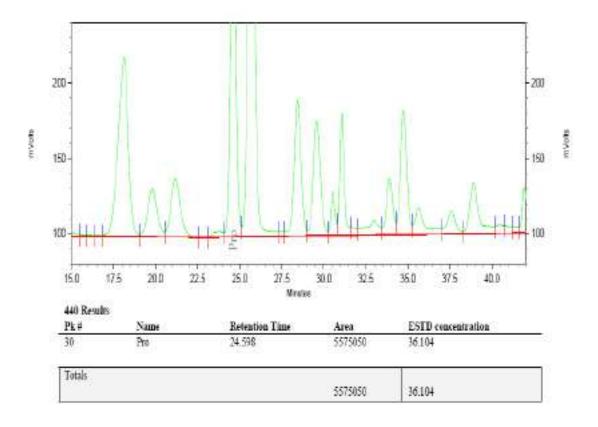


Fig. 26 : Profil des acides aminés distribués dans les feuilles des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés $(n = 3, moy \pm ET)$.

3.3.4.2.3. Acides aminés des graines

L'analyse des acides aminés des graines a été effectuée pour trois écotypes seulement EC, EM et ES à cause d'une insuffisance de matériel végétal de EH. Les chromatogrammes 14a et 14b résument cette composition.

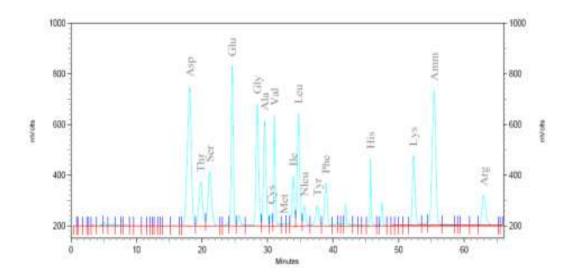


a

Biochrom 30

Method: C:\Data_Biochrom_30\Method\99610 NaOxHP.met Standard: C:\Data_Biochrom_30\Data\Meriem1_20110706.dat Date: 22/07/2011 16:52:53

Instrument Serial No : 99610 Column No : u-2664 Resin No : 13605



Chromatogramme 14 : Profil du proline (a) et des acides aminés (b) et des graines de *Z. jujuba* étudiés.

La liste des acides aminés, consignée à la fig. 27, est dominée par la proline dont le taux le plus élevé a été enregistré chez ES (21,97 mol). Cet écotype est aussi riche en glutamine (15,71 mol).

Les principaux acides aminés détectés sont : la valine (4,42 %), la méthionine (0,75 %), l'isoleucine (1,15 %), la leucine (4,75 %), la phénylalanine (1,75 %), l'histidine (12,3 %) l'arginine (4,85 %), l'acide aspartique (0,12 %), la sérine (10,8 %), la proline (11,3 %), la glycine (17,1 %), l'alanine (7,45 %) et la tyrosine (1,15 %).

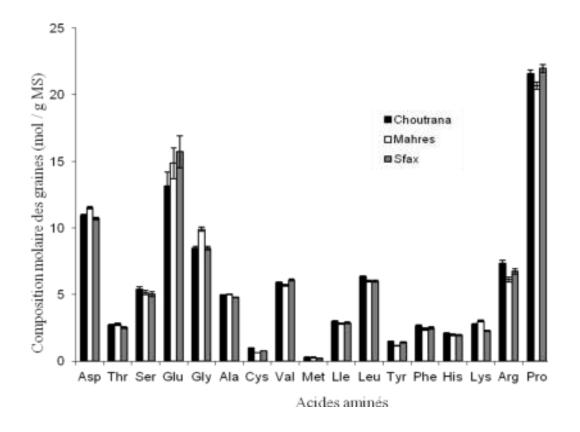


Fig. 27 : Profil des acides aminés dans les graines des quatre écotypes de Z. zizyphus étudiés (n = 3 moy \pm ET).

La composition obtenue pour les graines de *Z. zyziphus* est légèrement plus élevée que celle obtenue par Naglaa (2002) dans les graines de *Z. spina-christi*, qui a montré que les pourcentages des acides aminés essentiels, semi et non essentiels sont de 12,8 %, 17,1 % et 70 % respectivement. Li et *al.* (2007) ont signalé 12 acides aminés dominés principalement par la thréonine (31 mol %), la sérine (15 mol %), la glutamine (10,02 mol %), l'aspartine (6,38 mol %) et la leucine (5,52 mol %).

Par comparaison à d'autres *Ziziphus*, Chouaibi et *al*. (2011) ont signalé que l'extrait protéique des graines de *Z. lotus* est riche en thréonine, glutamine, leucine, arginine et acide aspartique avec les proportions suivantes de 26,73 %, 17,28 %, 13,11 %, 9,47 % et 7,76 %, respectivement.

3.3.5. Caractérisation minérale de Z. jujuba

L'analyse foliaire est nécessaire pour détecter les carences en matière minérale afin d'éviter une production limitée. Malgré cette importance, la composition minérale des fruits et des feuilles a été peu étudiée (Sena et *al.*, 1998). Les résultats de l'analyse minérale des feuilles et des fruits des quatre écotypes de *Z. jujuba* sont consignés aux tableaux 43 et 44.

Tableau 43 : Teneurs moyennes (en % de la matière sèche) des principaux éléments minéraux des feuilles des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, $moy \pm ET$).

Eléments					
Ecotypes	Fe	Ca	Mg	K	N
ES	$0.19 \pm 0.94a$	$1,81 \pm 0,68a$	$0,57 \pm 0,07a$	$1,18 \pm 0,26a$	$2,48 \pm 1,03b$
EC	$0,14 \pm 1,60a$	$1,51 \pm 0,70$ b	$0,52 \pm 0,14b$	$1,43 \pm 0,2ab$	$1,94 \pm 1,23b$
			0,55 ±		
ЕН	$0,20 \pm 0,41a$	$1,61 \pm 0,69b$	0,08ab	$1,46 \pm 0,26$ a	$1.8 \pm 0.09a$
EM	0 ,25 ± 1,06a	$1,66 \pm 0,51a$	$0,54 \pm 0,1ab$	$1,31 \pm 0,36$ ab	$1,9 \pm 0,06a$

EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

K= Teneur en potassium ; Ca= Teneur en calcium ; Mg= Teneur en magnésium ; Fe= Teneur en fer; N= Teneur en azote.

Sur une même colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

L'analyse du tableau 43 montre une légère variation entre les quatre écotypes. L'azote et le calcium sont les éléments majeurs des feuilles de *Z. jujuba*. Ils sont les éléments les plus importants de ES avec des taux de 2,48 % et 1,81 % respectivement. Le fer est l'élément majeur de EM (0,25 %). La teneur en potassium est élevée dans les feuilles de EH (1,46 %). Le taux de magnésium reste faible dans tous les écotypes avec une valeur maximale de l'ordre de 0,57 % pour ES. Le taux le plus élevé en potassium (1,46 %) est signalé dans EH, alors que le plus faible (1,18 %) est observé dans les feuilles de ES.

San et *al.* (2009) ont détecté dans les feuilles de *Z. jujuba* les teneurs suivantes : azote (2,35 %), potassium (1,08 %), phosphore (0,13%) et calcium (4,96 %). Ces valeurs sont élevées par rapport à celles publiées par Li et *al.* (2007). Par comparaison à d'autres espèces comme *Z. mauritiana*, Sena et *al.* (1998) ont signalé que les feuilles sont riches principalement en phosphore, potassium, calcium, cuivre, fer et magnésium avec les proportions de 0,178 %, 0,073 %, 0,44 %, 0,007%, 0,004 % et 0,112 % respectivement. Une analyse similaire, effectuée sur les feuilles de *Z. spina-christi*, a montré leur richesse en calcium, en fer et magnésium avec des proportions de 1,27 mg 100 g⁻¹, 7,2 mg 100 g⁻¹ et 169 mg 100 g⁻¹ respectivement (Anonymous, 1992).

L'analyse des pulpes (tableau 44) montre que la teneur en fer varie entre 0,69 % (EH) et 0,25 % (EM). Celle en calcium varie entre 0,73 % (EC) et 2,12 % (EM). Le potassium et le magnésium ont été aussi détectés dans les fruits mais avec des proportions plus faibles. Le potassium oscille entre 0,72 % et 0,91 % alors que le magnésium varie de 0,19 % à 0,7 %. EM est l'écotype le plus riche en ces deux éléments minéraux.

Tableau 44 : Teneurs moyennes (en % de la matière sèche) des principaux éléments minéraux des pulpes des quatre écotypes étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Eléments					
Ecotypes	Fe	Ca	Mg	K	N
ES	0,18 ± 1,28ab	1,78 ± 1,28ab	$0,35 \pm 0,3b1$	$0,72 \pm 0,30a$	$2,53 \pm 0,15c$
EC	$0,073 \pm 0,77ab$	0,73 ±0,77ab	$0,19 \pm 0,03b$	$0,91 \pm 0,02a$	$1,62 \pm 0,07c$
ЕН	$0,69 \pm 0,70b$	1,73 ±0,01b	$0,19 \pm 0,24b$	$0.89 \pm 0.24a$	$1,63 \pm 0,00b$
EM	$0.25 \pm 0.01a$	2,12 ±0,04a	$0,70 \pm 0,08a$	$0.91 \pm 0.59a$	$1,23 \pm 0,04a$

EC: Choutrana; EM: Mahdia; EH: Mahres; ES: Sfax

K= Teneur en potassium; Ca= Teneur en calcium; Mg = Teneur en magnésium; Fe = Teneur en fer; N = Teneur en azote.

Sur une même colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

Ces valeurs semblent faibles par rapport à celles trouvées par Laamouri (2009). Il a travaillé sur la même espèce, mais sur des individus plus âgés, et il a trouvé les proportions suivantes : 0,062 %; 0,98 %; 0,65 % et 0,15 % pour le phosphore, le potassium, le magnésium et le fer,

respectivement. Il a aussi détecté d'autres éléments comme le sodium (0,94 %) et le cuivre (0,05 %).

D'autres études antérieures réalisées par Li et *al.* (2007) ont signalé une composition (exprimée en mg / 100g) formée par le potassium (458), le calcium (118), le manganèse (51,2), le sodium (7,61), le zinc (0,63) et le fer (0,42). En 2009, San et *al.* ont signalé que 93 % de la fraction minérale est formée par l'azote, le potassium, le calcium et le magnésium (15,77 mg à 20,87 mg). Une telle différence serait le résultat du climat, du type de sol, du temps de la récolte et en particulier des différences génotypiques.

3.3.6. Analyse ADF/NDF

L'analyse des composés pariétaux par la méthode de Van Soest et Wine des différents organes (pulpes, feuilles et graines) de *Z. jujuba* a abouti aux résultats consignés sur les tableaux 44, 45 et 46.

3.3.6.1. Dans la pulpe

La pulpe de *Z. jujuba* est essentiellement riche en cellulose dont les taux varient de 3,85 % (ES et EM) à 6,75 % (EC). Les taux des hémicelluloses varient de 1,78 % (EC) à 5,91 % (ES) (tableau 45). Ces analyses montrent aussi que les pulpes de *Z. jujuba* sont pauvres en lignines. Son pourcentage varie entre 1,16 % (EH) et 1,22 % (EC).

Ces taux restent faibles par rapport à ceux publiés pour le figuier de barbarie en 1998 par El kossori. Elle a affirmé que la pulpe de cette plante contient 15,5 % d' hémicelluloses et 14,2 % de celluloses.

D'autre part, le taux des NDF (Neutral Detergent Fiber) oscille entre 8,27 % (EH) et 10,94 % (ES). Le taux ADF (Acid Detergent Fiber) ne dépasse pas 8 %. Les valeurs maximales sont notées chez EC, alors que les plus faibles (5,03 %) sont chez ES et EM.

Tableau 45 : Répartition des composés pariétaux (celluloses, hémicelluloses et lignines) dans les pulpes des quatre écotypes de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Composés Ecotypes	NDF	ADF	% cellulose	% hémicellulose	% lignine
ES	10,94 ± 1,41a	$5,03 \pm 2,82a$	$3,85 \pm 2,2b$	5,91 ± 1,41a	$1,18 \pm 0,62a$
EH	$8,27 \pm 2,82a$	$6,45 \pm 0,92a$	$5,29 \pm 0,49$ ab	$1,82 \pm 1,9b$	$1,16 \pm 0,43a$
EM	$8,65 \pm 1,55a$	$5,04 \pm 1,09a$	$3,85 \pm 1,08b$	$3,61 \pm 2,64ab$	$1,19 \pm 0,01a$
EC	$9,75 \pm 0,16a$	$7,98 \pm 0,06a$	$6,75 \pm 0,11a$	$1,78 \pm 0,09b$	$1,22 \pm 0,04a$

EC : Choutrana ; EM : Mahdia ; EH : Mahres ; ES : Sfax ; ADF : Acid Detergent Fiber ; NDF : Neutral Detergent Fiber

Sur une même colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

3.3.6.2. Dans les feuilles

Les feuilles de *Z. jujuba* sont constituées de fibres majoritairement holocellulosiques (celluloses + hémicelluloses) (plus de 14 %). Cette teneur élevée en holocellulose est nettement supérieure à celle rencontrée dans *Atriplex numularia* (8,2 %) alors qu'elle est inférieure à celle rencontrée dans *Ziziphus numularia* (17,04 %) et *Acacia cyanophylla* (25 à 30 %) (Tahar, 1997). Une comparaison entre les quatre écotypes montre que les feuilles de EC sont les plus cellulosiques (14 %) alors que celles de ES sont les plus lignifiées (2,77 %). Le taux des hémicelluloses est comparable dans les trois écotypes EH, EM et ES. Pour EC, ce pourcentage ne dépasse pas 5,85 % (tableau 46).

Tableau 46 : Répartition des composés pariétaux (celluloses, hémicelluloses et lignines) dans les feuilles de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Composés				%	
Ecotypes	NDF	ADF	% cellulose	hémicellulose	% lignine
ЕН	$23,6 \pm 0,26ab$	$12,56 \pm 0,15$ b	$11,96 \pm 0,46c$	$11,04 \pm 0,11a$	0.6 ± 0.3 b
EM	23,43 ± 1b	$12 \pm 0,83b$	$10,98 \pm 0,2c$	11,44 ± 1,8a	$1,01 \pm 0,63b$
ES	$25,55 \pm 2,5a$	$13,09 \pm 1,23b$	$10,32 \pm 1,34a$	$12,46 \pm 3,72b$	$2,77 \pm 0,12a$
EC	21,73 ± 1,29b	$15,88 \pm 0,94a$	$14,28 \pm 1,42b$	5,85 ±2,23b	$1,60 \pm 1,00b$

EC: Choutrana~;~EM: Mahdia~;~EH: Mahres~;~ES: Sfax~;~NDF~;~Neutral~Detergent,~ADF: Fiber~Acid~Detergent~Fiber~

Sur une même colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

La lecture de ce tableau montre que les feuilles sont plus riches en NDF et ADF que les pulpes. Le premier composant peut atteindre jusqu'à 25,55 pour ES. Le taux des ADF est comparable pour tous les écotypes (entre 12 % et 15%).

3.3.6.3. Dans les graines

Dans les graines, les taux des composés pariétaux montrent une grande variation entre les quatre écotypes (tableau 47). La cellulose domine avec des proportions majeures variant de 7,03 % (EC) à 15,05 % (ES). EH et EM présentent des taux de 10,58 % et 12,63 % respectivement. EH est l'écotype le plus riche en hémicelluloses (6,2 %). Les graines de EM sont les plus pauvres en ces composés (2,05 %). EC présente une quantité similaire en cellulose et en hémicellulose (7 %).

Le taux des NDF varie entre 19,1 % et 25,35 %. Les valeurs les plus importantes sont notées chez ES alors que les plus faibles sont chez EC. Le taux des ADF montre une large variation de 12,82 % (EC) à 21,63 % (EM).

Tableau 47: Répartition des composés pariétaux (celluloses, hémicelluloses et lignines) dans les graines de Z. jujuba étudiés (n = 3, moy \pm ET).

Composés Ecotypes	NDF	ADF	% cellulose	% hémicellulose	% lignine
ES	$24,20 \pm 0,19b$	$20,92 \pm 2,18a$	$15,05 \pm 2,35a$	$3,28 \pm 2,37b$	$5,87 \pm 0,17b$
ЕН	$25,35 \pm 5,65a$	$19,16 \pm 2,2a$	$10,58 \pm 0,85b$	$6,2 \pm 3,45a$	$8,57 \pm 3,06a$
EM	$23,68 \pm 0,33b$	$21,63 \pm 0,06a$	$12,63 \pm 0,9b$	$2,05 \pm 0,4b$	9 ± 1a
EC	19,1 ± 0,42c	$12,82 \pm 1,03b$	$7,03 \pm 0,61c$	$7,17 \pm 0,6a$	5.8 ± 0.56 b

EC : Choutrana ; EM : Mahdia ; EH : Mahres ; ES : Sfax ; NDF : Neutral Detergent, ADF : Fiber Acid Detergent Fiber

Sur une même colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

Ces analyses montrent que les taux de la lignine sont légèrement supérieurs à ceux obtenus dans les feuilles et les pulpes. Ils oscillent entre 5,8 % pour ES et EC et 9 % pour EM.

Par comparaison à d'autres espèces comme le pistachier (15 % de celluloses), ces valeurs restent légèrement faibles (Roche, 2005). Les graines de *Lathyrus sativus* en contiennent seulement 1,1 % (Campbell, 1997; Hanbury et *al.*, 1999). La composition des graines de *Z. jujuba* en cellulose, hémicellulose et lignine est nettement différente de celle rencontrée dans la coque de tournesol (47 % de celluloses), (23 % d'hémicelluloses) et (29 % de lignines) (Bazus et *al.*, 1993).

Conclusion générale

Le suivi phénologique réalisé sur les quatre écotypes de *Z. jujuba* montre un décalage entre les quatre écotypes (EC (écotype Choutrana), ES (écotype Sfax), EH (écotype Mahres) et EM (écotype Mahdia)). Les premiers signes d'activité des bourgeons de *Z. jujuba* peuvent apparaître vers la fin du mois de mars début avril. La floraison commence, pour la majorité des écotypes à la deuxième semaine du mois de mai. Elle peut se poursuivre jusqu'au mois de juillet avec un maximum de fleurs vers le mois de juin pour ES, EC et EH. EM atteint le maximum de la floraison vers le mois de juillet. La nouaison puis la maturation des fruits peuvent être observées entre la fin du mois de juillet et la mi-octobre. La comparaison entre les quatre écotypes montre que ES est l'écotype le plus précoce. Ces décalages peuvent être attribués à des conditions génétiques puisque les quatre écotypes sont cultivés dans les mêmes conditions climatiques et édaphiques.

L'étude morphologique s'ajoute à ce suivi phénologique pour accentuer la variabilité entre les quatre écotypes étudiés. Les individus du Nord tunisien (EC) offrent des sujets plus vigoureux, plus haut et plus de ramures. L'écotype EM offre les fruits les plus gros de couleur marron foncé et à endocarpes rigoureux. L'écotype ES donne les fruits les plus petits de couleur marron clair et à endocarpes lisses.

Cette variabilité entre les écotypes peut être expliquée d'avantage en s'appuyant sur d'autres études tel que l'analyse caryotypique, l'analyse chimique....

L'étude de la composition chimique réalisée sur les trois organes : feuilles, pulpes et graines des quatre écotypes en question a relevé une grande diversité.

L'huile extraite à partir des différents organes de *Z. jujuba* étudiés (feuilles, pulpes et graines) se distingue par sa richesse en acides oléique et linoléique ce qui explique son utilisation en médecine traditionnelle et en phytothérapie. Cette richesse quantitative est plus accentuée par la présence d'une gamme des stérols comme le stigmastérol, le β-sitostérol le campestérol…où le β-sitostérol est majoritaire pour les quatre écotypes étudiés. Quelque soit l'organe étudié (graine, pulpe ou feuille), ES est l'écotype le plus riche en ces composé. La richesse des tocophérols dans ces huiles s'ajoute à cette composition en permettant ainsi une meilleure conservation de l'huile lors des stockages et assure un bon apport alimentaire d'antioxydants.

La quantification des protéines montre une gamme d'acides aminés comme la proline, l'acide aspartique, l'acide glutamique...

D'autre part l'analyse minérale fait ressortir que l'azote, le fer et le calcium sont les éléments majeurs avec la supériorité toujours de ES par rapport aux autres écotypes.

Cette composition s'ajoute à d'autres composés chimiques comme la rutine, les sucres peuvent traduire la réaction des arbres (adaptation facile ou pas, état de stress...) aux conditions du milieu.

Ces résultats soulignent l'importance de la préservation des ressources génétiques de *Z. jujuba*. Ils notent que les jujubes peuvent être exploités pour le développement des divers aliments fonctionnels, pouvant jouer un rôle important dans la nutrition humaine.

Ainsi des efforts de valorisation et de sauvegarde (mise en défens, plantation) peuvent être suggérés pour permette l'expansion de cette espèce menacée. D'autre part, il est nécessaire d'encourager l'industrie pharmaceutique et / cosmétique à fabriquer des produits à base de jujubier.

Références Bibliographiques

Abdelmuti O.M.S., 1991 - Biochemical and nutritional evaluation of famine foods of the Sudan. Doctoral dissertation in Biochemistry and Nutrition, University of Khartoum, Sudan. Abdul-galil F. M et El-jissary M.A. 1991- Cyclopeptide alkaloids from Zyziphus spina-christi. Phytochemistry, 30 (4): 1348-1349. Abdel-Zaher A.O., Salim S.Y., Assaf M.H. et Abdel-Hady R.H., 2005 -Antidiabetic activity and toxicity of Ziziphus spina-christi leaves. Journal of Ethnopharmacology, 3 (101), 129-138. Ahmed A.A., Khattab A.M., Grace M.H. et Sahl M.M., 2001 - A new eudesmanolide from Crataegus flava fruits. Fitoterapia, 72: 756-759. Anonymous 1992 - Nutritional study on Ziziphus spina-christi. Eden Foundation, Sweden. Available from http://www.eden-foundation.org/index.html. Ansari T.M., Ikram N., Najam-ul-Haq M., Fayyaz I., Fayyaz Q., Ghafoor I. et Khalid N., 2004 - Essential Trace Metal zinc, Manganese, Copper and Iron Levels in Plants of Medicinal Importance. Journal of Biological Sciences, 4 (2), 95-99. Ayaz F.A., Kadioglu A., Dogru A. 1999 - Soluble sugar composition of *Elaeagnus* angustifolia L. var. orientalis (L.) Kuntze (Russian olive) Fruits. Tr. J. of Botany 23, 349-354. Azam-Ali S., Bonkoungou E., Bowe C., Dekock C., Godara A., Williams J.T., 2006- Ber and other jujubes SO17 1BJ, UK. Centre for Underutilised Crops, 289 P. Bahorum T., 1997 - Substances naturelles actives. La flore Mauricienne : une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council Mauritias p 83-94. Bai H. L., Wang J., Liu Ch. M. and Li L., 2010 - Isolation and purification of flavonoids from Ziziphus jujuba by High-Speed Counter-Current Chromatography. Journal of the *Chinese Chemical Society*, 57 (5), 1071-1076. Bakhshi J.C. et Singh P., 1974 - The ber - a good choice for semi-arid and marginal soils. Indian Horticulture, 19, 27-30. Bazus A., Rigal L., Gaset A., Fontaine T., Wieruszeski J.M. et Fournet B., 1993 -Isolation and characterization of hemicelluloses from sunflower hulls. Carbohydrate Research, 243, 323-332. Belford R., 1994 - Chinese herbal medicine treatment of chronic hepatitis. Australian Journal of Medical Herbalism, 6 (4), 94-98. Bell S., Cooney J., Packard C.J., Caslake M., Deighan C.J., 2009 - Omega-3 fatty acids improve postprandial lipaemia in patients with nephrotic range proteinuria Atherosclerosis

205, 296-301.

Bergman C.J. et Xu Z., 2003 - Genotype and environment effects on tocopherol,
tocotrienol and gamma-oryzanol contents of Southern US rice. Cereal Chemistry 80 (4): 446-
449.
Berra B., 1998 - Les composants mineurs de l'huile d'olive : aspect biochimiques et
nutritionnels. Olivae, 73, 29-30.
Berry-koch A., Moench R., Hakewill P. et Dualeh M., 1990-Alleviation of nutritional
deficiency diseases in refugees. Food Nutr Bull, 12, 106-112.
Bhansali A.K., 1975 - Monographic Study of the family Rhamnaceae of India. Ph.D.
thesis, University of Jodhpur, India.
\square Bouet C., 1998 - Une expérience de plantation des jujubiers de chine en Languedoc, Rev .
Fruit publié, 5p.
Boukef K., 1986. Les plantes dans la médicine traditionnelle tunisienne : médicine
traditionnelle et Pharmacopée. Agence de Coopération Culturelle et Technique,
Paris, p. 61.
Bowen-Forbes C., Mulabagal V., Liu Y.; Nair M., 2009 - Ursolic acid analogues: non-
phenolic functional food components in Jamaican raspberry fruits. <i>Food Chem.</i> 116, 633-637.
Bradford M., 1976 - A rapid and sensitive method for the Quantitation of Microgram
Quantities of protein utilizing the principle of protein-Dye Binding. Anal. Biochem., 72, 248-
254.
Bramley P.M.I., Elmafda A., Kafatos F.J., Kelly Y., Manios H.E., Roxborough W.,
Schuch P.J.A. et Wagner K.H., 2000 - Vitamin E. Journal of the Science of Food and
Agriculture; 80: 913-38.
Brufau G., Canela M.A. et Rafecas M., 2008 - Phytosterols: physiologic and metabolic
aspects related to cholesterol-lowering properties. <i>Nutrition Research</i> , 28 (4), 217-225.
Campbell C. G., 1997 - Grass pea. <i>Lathyrus sativus L</i> . Promoting the conservation and
use of underutilized and neglected crops. <i>In</i> GIPGR Institute, ed. Institute of Plant Genetics
and Crop Plant Research.
Capanoglu E., Nilufer D. et Boyacioglu D., 2006 - Phenolic content and antioxydant
activity of dry jujube fruit (Zizyphus vulgaris) consumed in Turkey. 2nd International
Congress on Functional Foods and Nutraceuticals.
Catoire C., Zwang H. et Bouet C., 1999 - Les jujubiers ou le Zizyphus, fruits oubliés
.Article du n°1.

Cetkovic G., Canadanovic-Brunet J., Djilas S., Savatovic S., Mandic A. et Tumbas V.,
2008 - Assessment of polyphenolic content and in vitro antiradical characteristics of apple
pomace. Food Chemistry, 109, 340-347.
Chang S.C., Hsu B.Y. et Chen B.H., 2010 - Structural characterization of polysaccharides
from Ziziphus jujuba and evaluation of antioxidant activity. International Journal of
Biological Macromolecules 47, 445-453.
Cheng G., Bai Y., Zhao Y., Tao J., Liu Y., Tu G., Ma L., Liao N. et Xu X., 2000 -
Flavonoids from Ziziphus jujuba Mill var. spinosa. Tetrahedron, 56 (45), 8915-8920.
Chouaibi M., Mahfoudhi N., Rezig L., Donsi F., Ferrari G. et Hamdi S., 2011 -
Nutritional composition of Zizyphus lotus L. seeds. Journal of the Science of Food and
Agriculture DOI: 10.1002/jsfa.4659.
Clark R., Frost C., Collins R., Appleby P. et Peto R., 1997 - Dietary lipids and blood
cholesterol: Quantitative meta-analysis of metabolic ward studies. BMJ, 314, 112-117.
Croueour G.L., Thepenier P., Richard B., Petermann C., Ghedira K. et Zeches-Hanrot M.,
2002 - Lotusine G: A new cyclopeptide alkaloid from Zizyphus lotus. Fitoterapia, ISSN 0367-
326X, 73 (1), 63-68.
Dagnelie P 1986 Théorie et méthodes statistiques. Applications agronomiques. Vol.2, p : 463 Presse Universitaire de Gembloux. Belgique.
Daood H., Vinkel M., Markus F., Hebshi E.A. et Biacs P.A., 1996 - Antioxidant vitamin
content of spice red pepper (paprika) as affected by technological and varietal factors. Food
Chemistry, 55 (4), 365-372.
Dawd K.Y., Musimba N.K.R., Ekaya W.N. et Farah K.O., 2003. La valeur nutritive de Z.
spina spnina pour la production de chèvre parmi les éleveurs du district de Kalu, Sud Wello,
Ethiopie. Revue Africaine de Science Gamme et fourragères, 20 (3), 265-270.
DeVilliers O.T., Meynhardt J.T. et Debruyn J.A., 1974 - The metabolism of sorbitol and
sugars in Santa Rosa plums, Agroplantae 6, pp. 51-54.
Diallo D, Sanogo R., Yasambou H, Traore A, Coulibaly K et Maïga A., 2004 - Étude des
constituants des feuilles de Ziziphus mauritiana Lam. (Rhamnaceae), utilisées
traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali, 7, (10-11), 1073-1080.
Dinarvand M. et Zarinkamar F., 2006 - Anatomy-taxonomy of the genus Ziziphus in Iran.
Iran. Journ. Bot., 12 (1), 36-41.
Dini A., Simone D.F., Ramundo E. et Senatore F., 1989 - Oligosaccharides in Five
Different Vicia faba L. Cultivars, Biochem. Syst. And Ecol. 17, 559-561.
Djemai zoughlache S., 2009 - Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de

Zizyphus lotus L. magister en biologie 90p.

Drissa D., Rokia S., Hamsétou Y., Aminata T., Kassoum C. et Ababacar M., 2004 - Etude des constituants des feuilles de Ziziphus mauritiana Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. C. R. Chimie, 7 (10-11), 1073-1080. Ecevit F.M., San B., Dilmaç Ünal T., Hallaç Türk F., Yildirim A.N., Polat M. et Yildirim F., 2008 - Selection of superior ber (Ziziphus jujuba L.) genotypes in Civril region. Tarim Bilimleri Dergisi, 14 (1) 51-56. Edward F., Gilman G.W. et Dennis G.W., 1994- Ziziphus jujube. Fact Sheet ST-680. Eiznhamer D. et Z. Xu., 2004 - Betulinic acid: A promising anticancer candidate. *Int* Drugs, 4, 359-373. EL Aloui M., Laamouri A., Albouchi A. et Hasnaoui B., 2010 -Variabilité morphologique de quatre écotypes de Ziziphus zizyphus (L.) H. Karst en Tunisie (poster). 1^{er} colloque International sur les Ressources Sylvopastorales et Développement Durable en Méditerranée, Tabarka. El Aloui M., Mguis K., Laamouri A., Albouchi A., Cerny M., Mathieu C, Vilarem G. et Hasnaoui B., 2012 - Fatty acids and sterols oils compositions of four Tunisian ecotypes of Ziziphus zizyphus (L.) H. Karst., Acta Bot. Gallica, 159 (1). El Atyky M., 2007- Chimie alimentaires Mozilla Firefox: www. Azaquar.com. Ele-Ekouna J.P., Pau-Roblot C., Courtois B. et Courtois J. 2011 - Chemical characterisation of pectin from green tea (Camellia sinensis). Carbohydrate Polymers, 83, 1232- 1239. El kossori R.L., Villaume C.H., Essadiq El boustani E., Sauvaire Y. et Méjean L., 1998 -Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (Opuntia ficus indica sp.). Plant Foods for Human Nutrition, 52: 263-270. El Rhouat N., 2002 - Les jujubiers au Maroc: état actuel, germination des graines, valeur pastoral du feuillage et relations hydriques cas de Ziziphus vulgaris, Mémoire de 3^{ieme} cycles, Ecole National Forestier d'Ingénieurs 178p. Erenmemisoglu A., Kelestimur F., Koker A.M., Ustun H., Tekol Y. et Ustdal M., 1995 -Hypoglycemic effect of Zizyphus jujuba leaves. Journal of pharmacy and pharmacology, 47 (1), 72-74.Evreinoff V.A., 1964 - Notes sur le jujubier (Ziziphus jujuba Gaertner). Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliqué, 11, 177-187. Feng W., Xuesong L., Yong Ch. et Longhu W., 2011 -Characterization of fatty oil of Zizyphi spinosi semen obtained by Supercritical Fluid Extraction. J. Am Oil Chem., 88 (4),

476-472. Fulda S., 2009 - Betulinic acid: a natural product with anticancer activity. Mol. Nutr.

Food Res., 53, 140-146.

Fulda S., 2009 - Betulinic acid: a natural product with anticancer activity. <i>Mol. Nutr. Food</i>
Res., 53, 140-146.
Gertz C. et Kochhar S.P., 2001 - A new method to determine oxidative stability of
vegetable fats and oils at simulated frying temperature. OCL, 8 (1), 82-88.
Goncharova N.P., Isamukhamedov A.S.H. et Glushenkova A.I., 1990 - Lipids of Ziziphus
jujuba. Chemistry of Natural Compounds, 26 (1), 16-18.
Grice A.C., 1998 - Ecology in the management of Indian jujube (Ziziphus mauritiana),
Weed Science, 46, 467-474.
Grundy S.M., 1986 - Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for
lowering plasma cholesterol. N. Engl. J. Med., 314, 745-748.
Guil-guerrero J.L., Diaz delgado A., Matallana gonza lez M.C., et Torija isasa M.E., 2004
- Fatty Acids and Carotenes in Some Ber (Ziziphus jujuba Mill) Varieties. Plant Foods for
Human Nutrition, 59: 23-27.
Guo S., Tang Y.P., Duan J.A., Su S. et Ding W., 2010 - Two new terpenoids from fruits
of Ziziphus jujube. Chinese Chemical letters, 20 (2), 197-200.
Gusakova S.D., Sagdullaev Sh.Sh., Aripov K.N., Basher K.H.C., Kurkcuoglu M. et
Demirci B., 1999 - Isomers of palmitolic acid in lipids and volatile substances from the fruits
of Ziziphus jujuba, Chemistry of Natural Compounds, 35 (4), 401-403.
Hachicha S.F., Barrek S., Skanji T.Z., Ghrabi G. et Zarrouk H., 2007 - Composition
chimique de l'huile des graines d'onopordon nervosum subsp. platylepismurb (astéracées).
Journal de la Société Chimique de Tunisie, 9, 23-28.
Han B.H. et Park M.H., 1986 - In Folk medicine: The art and science (p. 206).
Washington: The American Chemical Society.
Hanbury C.D., Siddique K.H.M., Galwey N.W. et Cocks P.S. 1999 - Genotype-
environment interaction for seed yield and ODAP concentration of Lathyrus sativus L. and
L.cicera L. in Mediterranean-type environments. Euphytica, 110: 45-60.
Huang Y.L., Yen G.H., Sheu F. et Chau Ch.F., 2008 - Effet of watter-soluble
carbohydrate concentrate from Chinese Jujube on different intestinal and fecal indices, J.
Agric, Food Chem, 56 (5), 1734-1739.
Hurkman W.J. et Tanaka C. 1986. Solubilisation of plant membrane proteins for analysis by
two-dimensional gel electrophorosis. Plant physiology 81-802-806;
☐ Ikram M., Ogihara Y. et Yamasaki K., 1981 - Structure of a new saponin from Ziziphus
vulgaris. Journal of Natural Products, 44 (1), 91-93.
Jacot B., 2001 - Intérêt nutritionnel de l'huile d'olive. <i>Olivae</i> , 86, 27-29

Jawanda J.S. et Bal J.S., 1978 - The ber - highly paying and rich in food value. <i>Indian</i>
Horticulture, 23(3): 19-21.
Kalinganire A. et Koné B., 2011 - Ziziphus mauritiana, jujubier. Conservation et
utilisation durable des ressources génétiques des espèces ligneuses alimentaires prioritaires de
l'Afrique Subsaharienne.
Kalt W., Forney C.F., Martin A., et Prior R.L., 1999 - Antioxidant capacity, vitamin C,
phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. Journal of Agricultural and
Food Chemistry, 47, 4638-4644.
Mamiloglu O., Ercisli S., Sengul M., Toplu C. et Serce S., 2009 - Total phenolics and
antioxidant activity of jujube $(Zizyphus\ jujube\ Mill.)$ genotypes selected from Turkey. $African$
Journal of Biotechnology, 8:303-307.
🚇 Kassi E., Papoutsi Z., Pratsinis H., Aligiannis N., Manoussakis M. et Moutsatsou P.,
2007-Ursolic acid, a naturally occurring triterpenic, demonstrates anticancer activity on human
prostate cancer cells. J. Cancer Res. Clin. Oncol., 113, 493-500.
Min W.S., Kim Y.S., Lee U.G. et Yang W.M., 1982a - Studies on domancy, seasonal
fluctuation of carbohydrate contents and activity of hydrolytic enzymes in Ziziphus jujuba
miller, Journal of the korean society for horticultural sciences, 23 (3), 221-229.
lim, J. K., Jung, V. T., Son, I. S. and Yun, E. S., 1989 - The cultivation status and
characteristics of jujube grown on soils of the chief producing area of Yeongnam. $Research$
Reports of the Rural Development Administration, Soils and Fertilizers, 31(1): 29-36.
🚇 Kim, D. S. H. L., Pezzuto, J. M., Pisha, E. 1998 - Synthesis of betulinic acid derivatives
with activity against human melanoma. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 8: 1707-
1712.
Ling A. et Young ; Su et al., 2002 G., 1999 - Characteristics and occurrence of phenolic
phytochemicals. Journal of the American dietetic association, 99 (2), 213-218.
$\hfill \Box$ Kirkbride J.H., Wiersema J.H. et Turland N.J., 2006 - Proposal to conserve the name
Ziziphus jujuba against Z. jujuba, Taxon, 55 (4), 1027-1052.
Moussa T. Dubos B. et Cherrad M., 2002 - Les teneurs en acides gras, en eau et en acide
abscissique des feuilles de vigne (Vitis vinifera L. var. Cabernet Sauvignon) infectées par
Eutypa lata. Vitis 41, (3), 143-146.
Mundi A.H.K., Wazir F.K., Abdul G. and Wazir Z.D.K., 1989b - Physico-chemical
characteristics and organoleptic evaluation of different ber (Zizyphus jujuba Mill.) cultivars.
Sarhad. Journal of Agriculture, 5(2): 149-155.
Laamouri A. et Boudet C., 1999 - Fruits oubliés, jujubiers méditerranéens : un patrimoine

en péril, rev. de pomologie vivante, 4, 4-8.

Laamouri A., 2009 - Contribution à l'étude des jujubiers en Tunisie : Identification, caractérisation, adaptation au déficit hydrique et multiplication. Thèse de Doctorat, INAT, 272 p. Lebourgeois F., Differt J., Granier A., Bréda N. et Ulrich E., 2002 - Premières observations phénologiques des peuplements du réseau national de suivi à long terme des écosystèmes forestiers, Rev. For. Fr. LIV., (5), 407-418. Lee S., Park J., Lee Y., Lee C., Min B., Kim J. et Lee H., 2004 - Anticomplementary activity of triterpenoids from fruits of Zizyphus jujuba. Biol. Pharm. Bull., 27, 1883-1886. Lee S., Min B., Lee C., Kim K., Kho Y., 2003 - Cytotoxic triterpenoids from the fruits of Zizyphus jujuba. Planta Med., 69, 1051-1054. Le Floc'h E., 1969 - Caractérisation morphologique des stades et phases phénologiques dans les communautés végétales. CNRS-CEPE, doc. n°45. Thèse de 3^{eme} cycle, universite des sciences et techniques du Languedoc, Montpellier II. Li X., Cai L. et Wu C., 1997 - Antimicrobial compounds from *Ceanothus americanus* against oral pathogens. Phytochemistry, 46, 97-101. Li J.W., Ding S.D. et Ding X.L., 2006 - Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of chinese jujube. *Process Biochemistry*, 40 (11), 3607-3613. Li J.W., Fan L.P., Ding S.D.et Ding X.L., 2007 - Nutritional composition of five cultivars of Chinese jujube. Food Chemistry, 103 (2), 454-460. Liu C., Yen M., Tsang S., Gan K., Hsu H. et Lin C., 2010 - Antioxidant triterpenoids from the stems of Momordica charantia. Food Chem., 118, 751-756. Liu M.J. et Cheng C.Y., 1995 - A taxonomic study of the genus Ziziphus. Acta Horticulturae, 390, 161-165. Lopez M., Martinez F., Del Valle C., Ferrit M., Luque R., 2003. Study of phenolic compounds as natural antioxidants by a fluorescence method. Talanta, 60, 609-616 Magdi A., Osman M. et Asif A., 2009 - Chemical and proximate composition of Zizyphus spina-christi Fruits' nabag'. Nutrition & Food Science, 39 (1), 70 - 75. Mahajan R.T. et Chopda M.Z., 2009 - Phyto-Pharmacology of Ziziphus jujuba Mill., 3 (6), 320-329. Malik A., Kuliev Z.A., Akhmedov Yu.A., Vdovin A.D., et Abdullaev N.D., 1997 -Proanthocyanidins of Ziziphus jujube. Chemistry of Natural Compounds, Vol. 33, No. 2. Malik A., Kuliev Z.A., Akhmedov Yu.A., Vdovin A.D. et Abdounllaiev N.D., 2002 -Chemical and spectral data establish the structure of an oligomeric proanthocyanidine PZ-5 isolated from Ziziphus jujube. Chemistry of Natural Compounds, 38 (1), 40-42.

Manez S., Recio M.C., Giner R.M. et Rios J.L., 1997 - Effect of selected triterpenoids on
chronic dermal inflammation. Eur. J. Pharmacol. 334, 103-105.
Mengjun L., Liu M., Forsline J., Fideghelli P.L., Richards C., Meerow A., Nienhus, J.,
Williams D., Thorn E., Tombolato A.F.C., Knupffer H. et Stoner A., 2003a - Genetic
diversity of Chinese jujube (Ziziphus jujuba Mill.). Acta Horticulturae, 6 (23), 351-355.
Mengjun L., 2006 - Chinese jujube: botany and horticulture. Horticultural Reviews 32,
229-298.
\square Mood S.G., 2008 - A contribution to some ethnobotanical aspects Pak. of Birjand flora. J .
Bot., 40 (4), 1783-1791.
Naglaa M.N., 2002 - Phytoconstituents of Zizyphus spina-christi L. fruits and their
antimicrobial activity. Food Chemistry, 76, (1), 77-81.
Nawwar M.A.M, Ishak M.S., Michael H.N. et Buddrust J., 1984 - Leaf flavonoids of
Zizyphus spina-christi. Phytochemistry, 23 (9), 2110-2111.
Nour A., Ali A.O. et Ahmed A.H.R., 1987 - A chemical study of Ziziphus spina-christi
(Nabag) fruits grown in Sudan. Trop Sci, 27:271-273.
Qudhia P., (2001 - 2003) - Research Note on Medicinal herb of Chhattisgarh, India
having less known traditional uses, IX. Boir (Ziziphus nummularia, family : Rhamnaceae).
Pareek O.P., 2001 - Fruits for the Future 2: Ber, International Centre for Underutilized
Crop. Redwood Books, Wiltshire, pp 42, 38, 15, 20, 34, 45, 52-58.
Paroda R.S. et Mal B., 1989 - New plant sources for food and industry in India. In:
Wickens GE, Haq N, Day P (eds). New crops for food and industry. Chapman and Hall,
London, pp 135-149.
Pawlowska A.M., Camangi F., Bader A. et Braca A., 2009 - Flavonoids of Zizyphus
jujuba L. and Zizyphus spina-christi (L.) Willd. (Rhamnaceae) fruits. Food Chemistry, 112,
858-862.
Peng W.H., Hsieh M.T., Lee Y.S., Lin Y.C. et Liao J., 2000 - Anxiolytic effect of seed of
Ziziphus jujuba in mouse models of anxiety. Journal of Ethnopharmacology, 72 (3), 435-441.
Phillips K.M., Ruggio D. M. et Ashraf-Khorassani M., 2005 - Phytosterol composition of
nuts and seeds commonly consumed in the United States. Journal of Agricultural and Food
Chemistry 53 (24): 9436-9445.
Rahmani M. 2005 - Composition chimique de l'huile d'argane « vierge ». Cahiers
Agricultures vol. 14, n° 5.
Recio M., GinerS R. et Manez S., 1995 - Investigations on the steroidal anti-

inflammatory activity of triterpenoids from Diospyros leucomelas. Planta Med., 61, 9-12.

Robert J.B. et Yazicioglu T., 1995 - Cannabi sativa (Moraceae) In Ucciani E. nouveau
diction des huiles végétales, 106-107.
Roche J., Alignan M., Bouniols A., Cerny M., Mouloungui Z., Merah O. 2010. Sterol
concentration and distribution in sunflower seeds ($Helianthus\ annuus\ L$.) during seed
development Food Chemistry 119, 1451-1456.
Romero C., Garcia A., Medina E., Ruız-Mendez M., Castro A. et Brenes M., 2010 -
Triterpenoid acids in table olives. Food Chem., 118, 670-674.
Saied A.S., Gebauer J., Hammer A., Buerkert A., 2008 - Ziziphus spina-christi (L.)
Willd.: a multipurpose fruit tree Genet Resour Crop Evol, 55: 929-937.
San B., Yildirim A.N., Polat M. et Yildirim F., 2009 - Mineral composition of leaves and
fruits of jujube. Asian Journal of Chemistry, Vol. 21, N° 4.
🚨 San B. et Yildirim A.N., 2010 - Phenolic, alpha-tocophérol, beta-carotène and fatty acid
composition for four promising jujube (Ziziphus jujuba miller) selections. Journal of food
composition and analysis, 23 (7), 706-710.
🚨 Sarni-Manchado P. et Cheynier V., 2007 - Les polyphénols en agroalimentaire. Revue
suisse Agric., 39 (2), 94.
Sena L.P., Vanderjagt D.J., Rivera C. Tsin A.T.C., Muhamadu I., Mahamadou O.,
Millson M., Pastuszyn A. et Glew R.H., 1998 - Analysis of nutritional components of eight
famine foods of the republic of Niger. Plant Foods Human Nutr., 52, 17.
Schirarend C. 1991 - The systematic wood anatomy of the Rhamnaceae Juss
(Rhamnales).1. Tribe Zizipheae. IAWA Bulletin, 12 (4): 359-388.
Shen X., Tang Y., Yang R., Yu L., Fang T. et Duan J.A., 2009 - The protective effect of
Zizyphus jujube fruit on carbon tetrachloride-induced hepatic injury in mice by anti-oxidative
activities. Journal of Ethnopharmacology, 122 (3), 555-560.
Shewry P.R., Napier J.A. et Tatham A.S., 1995 - Seed storage proteins: structures and
biosynthesis. Plant Cell, 7:945-956.
Singh R.R., Jain R.K. et Chauhan K.S., 1983 - Flowering and fruiting behaviour of ber
(Ziziphus mauritiana Lamk.) under Gurgaon conditions. Haryana Agricultural University
Journal of Research, 13 (1), 112-114.
Smadi A., 2007 - Etude de l'extrait chloroformique d'Oudneya Africana, Memoir de
Magister en chimie organique, 54-55.

Steel Robert G. D et James H. Torrie. – 1980 Principles and procedures of statistics. A
biometrical approach. McGraw-Hill Book Campany. 633 P
Su B.N., Cuendet M., Farnsworth N.R., Fong H.H.S., Pezzuto J.M. et Kinghorn A.D.,
2002 - Activity-guided fractionation of the seeds of $\it Ziziphus~\it jujuba~\it using~a~cyclooxygenase-2$
inhibitory assay. Planta Med., 68 (12), 1125-1128.
Sudhir K., Sharma V.P. et Kumar S., 1999 - Biochemical study of ber cultivars in relation
to protein. Annals of Agricultural Research, 20 (3), 266-269.
Suksamrarn S., Panseeta P., Kunchanawatta S., Distaporn T., Ruktasing S. et Suksamrarn
A., 2006 - Ceanothane- and lupane-type triterpenes with antiplasmodial and antimycobacterial
activity from Ziziphus cambodiana. Chem. Pharm. Bull. 54, 535-537.
Tahar A., 1997 - Contribution à l'étude écologique et socioéconomique des espèces à
usage multiples utilisés en conservation des eaux et sol et leurs impacts sur la production
céréalière dans la zone de Goubellat (Tunisie septentrionale). Mémoire de 3^{ieme} cycle à
1'E.N.F.I.
$\hfill \Box$ Tapiero H., Tew K.D., Nguyen Ba.G. et Mathé G., 2002 - Polyphenol: do they play a role
in the prevention of human pathologies? Biomed Pharmacother, 56:200-207.
Tripathi M., Pandey M.B., Jha R.N., Pandey V.B., Tripathi P.N. et Singh J.P., 2001 -
Cyclopeptide alkaloids from Zizyphus jujuba, Fitoterapia, 72 (5), 507-510.
$\hfill \square$ Van Soest P.J. et Wine R. H., 1967 - Use of detergents in the analysis of fibrous feeds.
IV. Determination of plant cell-wall constituents. J. Assn. Offic. Anal. Chem. 50:50-5.
Welasco L., Fernández-Martinez J.M., Garcia-Ruiz R. et Dominguez J., 2002 - Genetic
and environmental variation for tocopherol content and composition in sunflower commercial
hybrids. Journal of Agricultural Science, 139: 425-429.
\square Verleyen T., 2002 - Stability of minor components during vegetable oil refining. <i>Applied</i>
biological sciences: chemistry. University of Gent. Gant. 277.
Widrih R., Ulrih N.P., Zlatic E., Hribar J. et Prgomet Z., 2008 - The nutritional and
physico-chemical properties of ripe (Ziziphus jujube) fruits grown in Istria, ISHS Acta
Horticulturae, 840.
Wines R.A., 1960 - Trees, shrubs and woody vines of the Southwest. Austin: University
of Texas Press. 1104p.
Wang S., 1989 - Description of one new genus and three new species of the Achilidae
from China (Homoptera: Achilidae). Acta Univ. Agric. Septentrionali Occident. 17(2): 93-96.
Wannacott T. H. et Wannacott, R. J. ; 1990. Statistique. Economie – Gestion – Sciences –

Médecine (avec exercices d'applications). Edit Economica. USA. 925p.

- Watkins B.A., Li Y., Lippman H.E. et Feng S., 2003 Modulatory effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids on osteoblast function and bone metabolism, Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 68, 387-398. Yann V., 2009 - Déterminismes environnemental et génétique de la phénologie des arbres de climat tempéré. Thèse de doctorat 375p. Yamaoka Y., Kawakita T., Kaneko M. et Nomoto K., 1996 - A polysaccharide fraction of Zizyphi Fructus in augmenting natural killer activity by oral administration. Biol. Pharm. Bull., 19, 936-939. Young M.R., Duffie P., Lozano Y., Young M.E., Wright M.A, 1990 - Association of a functional prostaglandin E2 protein kinase A coupling with responsiveness of metastatic Lewis lung carcinoma variants to prostaglandin E2 and to prostaglandin E2 producing nometastatic Lewis lung carcinoma variants, Cancer Res., 50, S. 2973. Zadernowski R., Naczk M. et Nesterowicz J., 2005 - Phenolic acid profiles in some small berries. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53 (6), 2118-2124. Zhang P., Wang Y., Zhan J., Wang X. et Wu P., 2010 - Scheduling irrigation for jujube (Ziziphus jujuba Mill.). African Journal of Biotechnology, 9 (35), 5694-5703. Zhao R., Liu M., Wei G.E., Cui T., Liu W., 2004 - Determination of Carbohydrates in Chinese Jujube by Using HPLC. Zhao J., Li S.P., Yang F.Q., Li P. et Wang Y.T., 2006 - Simultaneous determination of saponins and fatty acids in Ziziphus jujube (Suanzaoren) by high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detection and pressurized liquid extraction. Journal of Chromatography A, 1108, 188-194. Zhao Z.H., Liu M.J. et Tu P.F., 2008 - Characterization of water soluble polysaccharides from organs of Chinese jujube (Ziziphus jujuba Mill. cv. Dongzao). European Food Research and Technology, 226 (5), 985-989.
- □ Zheng J.B., Liu X.X., Zhou Y.Z., Suo Z.R., 2007. Simultaneous determination of four phenolic compounds and Tanshinone IIA in Guanxintong Tablets by LC using Combined Electrochemical Detection and DAD, *Chromatographia*, 65:707-712.

Annexes

Annexes

Annexe 1 : Conditions climatiques de notre station d'étude

Température Max moyenne

ANNEE	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUN	JUL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC	MOY
1997	12,8	13,9	13,2	15	25,8	30,6	33,3	30	23,7	19,8	13,8	12,1	20,3
1998	11	13,2	12,9	21,2	21,3	30,9	31,3	32	28,2	20,1	14,4	10,5	20,6
1999	11,3	10,9	12,7	17,1	28,8	35,2	32,1	36,2	28	24,5	14,3	10,3	21,8
2000	8,7	11,1		19,7	25,3	28	33,5	33,7	27,7	19,9	17,5	14,9	21,8
2003		9	15	18,7	23,7	31,6	36,7	35,1	27,3	24,1	16,8	10,8	22,6
	10,95	11,62	13,45	18,34	24,98	31,26	33,38	33,4	26,98	21,68	15,36	11,72	21,42

Température min moyenne

ANNEE	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUN	JUL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC	MOY
199	7 5,4	5,7	4,9	5,5	13,5	16,7	18,7	17,4	15,8	11,8	7,1	5,3	10,7
199	8 4,1	5,8	4,8	9,4	11	17,1	17,8	19,6	17,5	11,5	8,3	4,2	10,9
199	9 4,7	3,9	3,6	6,1	15,1	17,8	18,1	22	18,6	15	7,7	4,8	11,5
200	0 2,1	4,4		8	14	15,4	19,2	19,9	15,8	11,9	9,2	6,9	11,5
200	3 -	2,3	5,3	8,7	12,7	18,2	21,9	21,2	16,3	14,9	8,8	4,5	12,3
moy	4,075	4,42	4,65	7,54	13,26	17,04	19,14	20,02	16,8	13,02	8,22	5,14	11,38

Température moyenne mensuelle

	ANNEE	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUN	JUL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC	MOY
ſ	1997	9,1	9,8	9,1	10,2	19,6	23,6	26	23,7	19,7	15,8	10,4	8,7	15,5
	1998	7,6	9,4	8,8	15,3	16,2	23,9	24,5	25,8	22,8	15,8	11,3	7,3	15,7
	1999	8	7,4	8,1	11,6	21,9	26,5	25,1	29,1	23,2	19,7	11	7,5	16,6
	2000	5,4	7,7		13,8	19,6	21,7	26,3	26,8	21,7	15,8	13,3	10,9	16,6
	2003		5,7	10,1	13,7	18,2	24,9	29,3	28,2	21,8	19,5	12,8	7,6	17,4
		7,525	8	9,025	12,92	19,1	24,12	26,24	26,72	21,84	17,32	11,76	8,4	16,36

Pluviométrie

ANNEE	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUN	JUL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC	moy
1997	120,6	31,8	15,2	66	17,7	9	5,1	66	103,9	42,4	80,3	49,9	50,658
1998	44,7	26,2	65,8	27,2	27,3	24,9	0	22,9	81,1	41,2	76,9	33,3	39,292
1999	227,7	30,6	54	12,6	21,5	34,9	10,3	43,4	57,5	6,5	104	59,8	55,233
2000	6,8	24,5	-	28,1	77,9	6	0	13	110,2	35,9	10,2	38,6	31,927
2003	-	84,5	28,5	119,5	14,4	33,8	7,5	3	82,6	88,8	41,6	179,5	62,155
	99,95	39,52	40,875	50,68	31,76	21,72	4,58	29,66	87,06	42,96	62,6	72,22	47,853

Evaporation

ANNEE	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUN	JUL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC	moy
1997	155,4	158,5	150	168,7	175,9	218,8	255	217,6	158,3	185,9	127,3	159,4	177,57
1998	164,1	153,1	176,1	163,1	130,2	172	173,9	202	183,8	109	93	64,5	148,73
1999	61,3	65,6	120,4	99,7	218,6	261,3	261,6	261,5	176	107,2	40	41,9	142,93
2000	31,2	49,4		131,5	110	177,2	226,5	250,5	126,7	72,4	69	67,8	119,29
2003	53,2	43,9	118,7	95,4	133,3	213	240,8	203,5					137,73
	103	106,65	148,83	140,75	158,68	207,33	229,25	232,9	161,2	118,63	82,325	83,4	145,25

Annexe 2 : dosage et analyse des protéines

*Solution d'extraction Tris-Hcl pH 7,5 (1M)

	11	500ml	250ml
Tri-HCl Ph 7,5 (1M)	121 ,14	60,57	30 ,285

* Bouillon d'extraction (Hurkman and Tanaka 1986, Hence and Bevington 1992, Saravanan and Rose 2004)

Sucrose	11,98	23,96	59,9	119,8	239
Tri-Hcl	25	50	125	250	500
EDTA	0,7306	1,4612	3,653	7,306	14,6
kCl	0,3728	0,7456	1,864	3,728	7,45
PMSF	0,0174	0,0348	0,087	0,174	0,348
2 mercaptoethanal	1	2	5	10	20
Dans l'eau déionisée	50	100	250	500	1000

NB: Le PMSF et le 2 mercaptoethanal sont additionnés en dernier lieu juste avant la réaction.

^{*} Bouillon de précipitation (Hurkman et Tanaka 1986)

Ammonium d'acétate (g)	0 ,7708	1,5416	2,3124	3,0832	3 ,894
Mekanal (ml)	100	200	300	400	500

*Tonpon de resupension (saravanou et rose 2004)

urée	4,2042	8,4084	12,6126	16,8168	21,021
Thiourea	1,5221	3,0442	4,5663	6,0884	7,6105
CHAPS	0,4	0,8	1,2	1,6	2
DTT	0,0808	0,1616	0,2424	0,3232	0,404
CA Ph 5-7 ml	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
CA Ph 3-10 ml (Carrier Ampholate)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Eau déionisée	10	20	30	40	50

NB: préparer la solution puis séparer en épandaff et stoker au congélateur

Annexe 3 : Courbe d'étalonnage

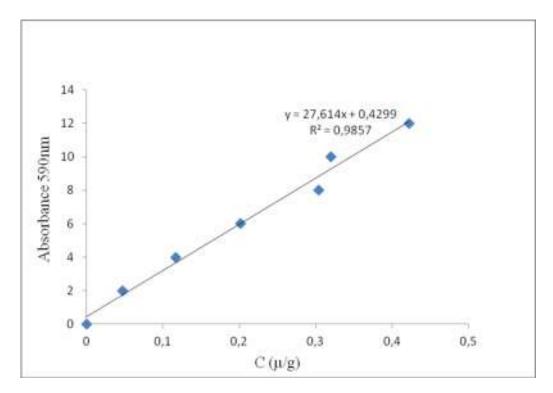


Fig. Courbe d'étalonnage de la gamme étalon du sérum d'albumine bovine.

* Composition de la gamme étalon

tube	0	2	4	6	8	10	12
H2O				800µ1			
Reactif Brad Ford (µl)			200	Oμl (1mg/	ml)		
BSA (1mg/ml)	0	2	4	6	8	10	12

Nb BSA: Bovin Sérum Albumine